Aus der Universitätsklinik für Allgemeine Chirurgie Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. H. D. Becker

Eine neue Methode zur Injektion und Markierung in der Chirurgie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Doğan Beyhan Özmen
aus
Hamm/Westfalen

2002

Dekan:	Professor Dr. C D. Claussen
Erster Berichterstatter:	Professor Dr. K. E. Grund
Zweiter Berichterstatter:	Professor Dr. G. Köveker

Aus der Universitätsklinik für Allgemeine Chirurgie Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. H. D. Becker

Eine neue Methode zur Injektion und Markierung in der Chirurgie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Doğan Beyhan Özmen
aus
Hamm/Westfalen

2002

Meiner Mutter und meinem Vater
in großer Dankbarkeit

Alles denkbare ist machbar.
- Albert Einstein -

Inhaltsverzeichnis

1	**Problemstellung**	1
1.1	**Zielsetzung**	1
1.1.1	Injektionseinrichtung	2
1.1.2	Tusche	3
2	**Material und Methoden**	4
2.1	**Injektionseinrichtung**	4
2.2	**Material und Herstellung der Tusche**	7
2.2.1	Ausgangsstoffe	8
2.2.2	Gerätschaften	9
2.2.3	Herstellungsverfahren	10
2.3	**Untersuchungsmaterial**	12
2.3.1	Colon vom Schwein (schlachtfrisch)	12
2.3.2	Colon vom Mensch (OP - Präparat)	12
2.4	**Methoden (Experimenteller Aufbau)**	13
2.4.1	Injektionsverfahren nach bisherigem Standard in der Endoskopie	13
2.4.2	Realisation des Injektionsverfahrens mit der neu entworfenen Injektionseinrichtung	15
2.4.3	Experimentelle Injektion	18
2.4.3.1	Vorbereitung	19
2.4.3.2	Experimenteller Aufbau und Durchführung	20
2.5	**Auswertung**	23

2.5.1 Makroskopische Auswertung 24
2.5.2 Pathohistologische Auswertung 25
2.5.3 Statistische Aufarbeitung 26

2.6 Dokumentation 27
2.6.1 Makroskopische Dokumentation (Foto, Video, Endoskope) 27

3 Ergebnisse 28

3.1 Injektionseinrichtung 28
3.1.1 Konstruktion / Ausführung 28
3.1.2 Handhabung 29
3.1.3 Sicherheit 31

3.2 Tusche 32
3.2.1 Zusammensetzung 32
3.2.2 Eigenschaften 33
3.2.3 Handhabung / Anwendung 35
3.2.4 Sicherheit 36

3.3 Morphologische und histologische Ergebnisse 37
3.3.1 Injektionseinrichtung 37
3.3.1.1 Gewebeschäden durch mechanische Faktoren 37
3.3.1.2 Tuscheverteilung im Gewebe 39
3.3.2 Tusche 43
3.3.2.1 Sichtbarkeit 44
3.3.2.2 Eindringtiefe und Eindringweg 45

3.4 Statistik 48
3.4.1 Grafische und numerische Auswertung der einzelnen Schußsequenzen . 48

4 Diskussion 71

4.1 Einzelergebnisse 71
4.1.1 Injektionseinrichtung 71
4.1.1.1 Injektionsverfahren 72
4.1.1.2 Gerätehandhabung / Bedienbarkeit 74
4.1.1.3 Sicherheit 75
4.1.1.4 Kosten 77
4.1.2 Tusche, Toxikologie, Histologie 78
4.1.3 Klinische Bedeutung 82

4.2 Synopsis, Bedeutung 84
4.2.1 Injektionseinrichtung 84
4.2.2 Tusche 85

5 Zusammenfassung der Arbeit 86

6 Literaturverzeichnis 92

Danksagung

Lebenslauf

1 Problemstellung

In der heutigen flexiblen Endoskopie werden zahlreiche Untersuchungen ambulant durchgeführt. Durch die komplikationslose Anwendbarkeit der Endoskope und deutlich vereinfachte Untersuchungstechniken sind die Belastungen für den Patienten erheblich weniger geworden. Dennoch bestehen weiterhin ungelöste Probleme in der modernen Endoskopie. Oft ist das Colon nicht ausreichend genug vorbereitet, und die Verschmutzungen behindern die Sicht. Hier fehlt es an adäquaten Spül-Pumpen für eine effiziente Reinigung.
Auch die Injektionen sind immer noch schwierig durchzuführen und benötigen ein gut ausgebildetes Team mit erfahrenem Endoskopiker.
Das zeigt sich auch beim Markieren von Abtragungsstellen nach Polypektomien. Eine Markierung dieser Bereiche hat sich als sehr vorteilhaft erwiesen. Das Wiederauffinden der Abtragungsstelle wird wesentlich erleichtert. Das ist wichtig bei Routinenachkontrolle, aber auch bei carcinomatöser Histologie. Hierbei dient die Markierung dem Chirurgen intra operativ zur genauen Bestimmung der Absetzungsränder.

1.1 Zielsetzung

Diese Arbeit wurde durchgeführt, um zu zeigen, wie die in einem Teil der heutigen Endoskopie verwendeten Techniken zur Diagnose und Behandlung für den Patienten sicherer und einfacher durchgeführt werden können. Die häufig ambulanten Eingriffe sollen effizient sein, was vor allem durch standardisierte Verfahren und durch gut geschultes Personal zu erreichen ist. Insbesondere die Polypektomie muß sorgfältig und ohne Komplikationen durchgeführt werden. Da Colonadenome zu Rezidiven neigen und carcinomatös entarten können sind regelmäßige Nachuntersuchungen unerläßlich. Daher sollten die Abtragungsstellen nach einer Polypektomie unbedingt markiert werden [26; 44; 49]. Eine Tusche-Markierung der Abtragungsstelle ist für den Endoskopiker bei Nachuntersuchungen und für den Chirurgen bei einer Operation ein wichtiges Hilfsmittel für die exakte Lokalisation der Läsion [6; 12; 50]. Seit Jahren werden Methoden und Techniken zur Markierung in der Literatur beschrieben [20; 21; 31]. Herausragend sind die Arbeiten von WAYE [26; 53], in denen genaue Anleitungen zum korrekten Markieren gegeben werden. Klinisch zeigt sich aber auch, daß1

erfahrene Endoskopiker Schwierigkeiten bei der Durchführung einer Markierung haben und somit keine Markierungen vorgenommen oder abgebrochen werden. Weniger erfahrene Endoskopiker markieren nicht, weil sie es für zu gefährlich halten und weil ihnen die Vorgehensweise zur Tuscheinjektion im Gastro-Intestinal-Trakt unbekannt ist.
Andererseits werden beim Markieren der Abtragungsstellen immer wieder unkonventionelle Methoden und Substanzen angewandt, die nur der jeweilige Endoskopiker kennt [43]. Verwendet werden Materialien, die, wie beispielsweise flüssige Farbstoffe, nicht standardisiert sind und ein Risiko für den Patienten darstellen [21; 38; 44]. Es werden auch Clips benutzt [11; 64], die keine dauerhafte Lösung darstellen, weil ein sicherer Halt nicht gewährleistet ist und außerdem die Kosten in der Anschaffung der Verbrauchsmaterialien zu hoch sind.
Mit dieser Dissertation soll zum einen eine einfache Lösung der endoskopischen Injektion zur Markierung von Gewebe aufgezeigt werden, die leicht erlernbar bzw. durchführbar ist, gleichbleibend gut erkennbare Ergebnisse liefert und sicher ist. Zum anderen wird eine neue, dauerhaft sichtbare Markierungssubstanz vorgestellt. Dadurch ergeben sich Verbesserungen im Arbeitsablauf des Endoskopikers und eine größtmögliche Sicherheit für den Patienten.
Das neue Injektionsverfahren kann neben der Markierung auch bei anderen Interventionen, z. B. Injektion zur Unterspritzung, Blutstillung und/oder Fibrinklebung eingesetzt werden.

1.1.1 Injektionseinrichtung

Derzeit können Injektionen in der Endoskopie nur mit Injektionsnadeln vorgenommen werden. Die Verwendung solcher Nadeln ist mit einer bestimmten Technik verbunden und birgt das Risiko der Perforation [44; 73].
Der erste Teil dieser Arbeit hat zum Ziel, eine neue Injektionstechnik vorzustellen. Die Kriterien einer neuen Injektionseinrichtung definieren sich wie folgt:

- Effektivität der Injektion mit genau definierter Menge und präzise plazierbarer Injektion.
- Sicherheit der Injektion ohne die Gefahr einer möglichen Perforation für den Patienten.
- Praktikabilität in der Handhabung ohne großen Aufwand.
- Erleichterung im Arbeitsablauf des Untersuchenden und des Assistenzpersonals.

- Dauerhafte Sichtbarkeit auch nach Jahren (gilt nur für Markierungssubstanzen).
- Kostenreduktion.

1.1.2 Tusche

Bereits 2600 Jahre vor Christi Geburt wurde Tusche als Stangentusche in China hergestellt und bestand aus Lampenruß und tierischem Leim. Sie wurde mit Wasser angerührt und stellte eine wäßrige Rußsuspension da, bei welcher der Leim die Rolle des Schutzkolloids (Stabilisator) übernahm [72]. Die heute verwendeten Gasruße werden in einer kolloidalen Lösung von Schellackseife, einem Harz, in destilliertem Wasser aufgeschlämmt. Dazu kommen Schutzkolloide, die der Stabilisierung dienen und Konservierungsmittel (z. B. Phenol) [5; 48]. Seit über 1000 Jahren wird Tusche zu Tätowierungszwecken in die Haut injiziert, wobei bekanntermaßen überraschend wenig Nebenwirkungen auftreten[61].
In der Endoskopie sollte nach jeder erfolgten Polypektomie eine Markierung der Abtragungsstelle erfolgen [12; 38; 49]. Dieses Vorgehen bewirkt bei Nachuntersuchungen oder bei karzinomverdächtiger Histologie durch schnelles und eindeutiges Identifizieren des Areals größere Sicherheit für die weitere Therapie. Im weiteren dient die Markierung dem Chirurgen zur Lokalisation des zu resezierenden Darmabschnittes [6; 44; 71].
Es werden farbintensive, untoxische, chemisch stabile sowie sterilisierbare flüssige Farbstoffe benötigt. Vitalfarbstoffe eignen sich besonders, da sie lebendes Gewebe und Zellen ohne toxische Nebenwirkungen anfärben [21; 33]. Weiterhin muß dieser Farbstoff über einen lebenslangen Zeitraum sichtbar bleiben. Deswegen fallen die meisten bekannten Stoffe aus [72]. Bisher werden handelsübliche Zeichentuschen verwendet, deren Gebrauch aber mit zum Teil erheblichen Risiken für den Patienten verbunden sind. Zum einen enthält die Zusammensetzung der Tusche für den Menschen toxische Inhaltsstoffe, zum anderen birgt die unsachgemäße Anwendung Risiken für den Patienten [8; 17; 27].
Durch die Entwicklung einer verbesserten Tusche ergeben sich Vorteile bezüglich einer zuverlässigeren Anwendbarkeit, einer besseren Verträglichkeit und verbesserten Handhabung.
Die Eigenschaften einer neuen Tusche ergeben sich aus der Indikation zur Markierung:

- Gute Sichtbarkeit im Gewebe bei nur geringer Diffusion in umliegende Areale.

- Zusammensetzung aus Stoffen mit geringer oder möglichst kleiner Toxizität, dazu zählen Konservierungsmittel, Lösungsmittel und Hilfsstoffe.
- Vereinfachung der Handhabung und Möglichkeit zur Sterilisation.

Zusammengenommen ergibt sich auch daraus eine größere Sicherheit für den Patienten.

2 Material und Methoden

Im Folgenden werden die Methoden aufgeführt, mit denen einerseits eine neue Injektionseinrichtung realisiert werden soll und andererseits wird die Rezeptur einer neuen Tusche beschrieben.

2.1 Injektionseinrichtung

Eine Nadelinjektion birg immer das Risiko einer Stichkanalblutung, einer Perforation oder beispielsweise bei Ösophagusvarizen einer Varizenblutung.
Um die Injektionen sicher für den Patienten zu gestalten, lag der Gedanke an eine nadellose Injektion nahe. Diese Vorgabe führt dazu, mit einem Flüssigkeitsstrahl und genügend großem Druck die Gewebebarriere zu durchbrechen. Die in der Literatur beschriebene Anwendung des Jet-Skalpells [69] zeigt einen möglichen Weg zur Hochdruck-Injektion auf. Anstatt jedoch das Gewebe zu zerschneiden, soll nur ein kurzzeitig abgegebener Flüssigkeitsstrahl durch die ersten Gewebeschichten dringen und in einer bestimmten Tiefe ein Depot bilden. Bereits vorhandene Injektoren zur Impfung oder zur Insulinapplikation bei Diabetes mellitus dienten als Vorlage bei der Definition einer nadellosen Injektion [3; 7; 39].
Ein abgegebener Injektionsstrahl muß verschiedene Kriterien erfüllen:

- er muß scharf gebündelt sein
- er muß eine konstante Flüssigkeitsmenge beinhalten; diese darf nicht zu wenig Substanz enthalten, da sonst kein sichtbares Depot entsteht, und es darf nicht zu viel Volumen enthalten, da sonst zu viel Flüssigkeit auf das Gewebe auftrifft, aber nur ein

Teil davon eindringen kann und der Rest in das Darmlumen abfließt (Überlauf)

- er muß soviel Energie haben, daß er in das Gewebe eindringen kann ohne eine Perforation zu erzeugen
- er muß mehrfach reproduzierbar sein.

Anhand dieser Vorgaben ist die Konstruktion eines nadellosen Injektors notwendig, der im wesentlichen aus drei Teilen besteht, einer Druckerzeugungseinheit, eines Flüssigkeitsreservoirs und eines Katheters. Die Druckerzeugung und das Reservoir sind Teile, die der Untersucher in der Hand hält, während der Katheter, an dessen Ende sich eine Düse zur Bündelung des Strahles befindet, durch das Endoskop in das Darmlumen eingeführt wird.

2.1.1 Prinzip des Hochdruck-Injektionsverfahrens

In der Industrie werden scharf gebündelte Wasserstrahlen zum Zuschneiden von Stahlplatten oder zum Herauslösen von kohlehaltigem Gestein genutzt.
In der theoretischen Betrachtungsweise kann ein Flüssigkeitsstrahl, der über eine genügend große Energie oder einen genügend großen Druck verfügt und stark gebündelt ist, in ein Gewebe eindringen. Bei dauerhaft anstehender Energie (Druck) entsteht ein Strahl, der Gewebe zerschneiden kann. Dieses Prinzip wird bei dem "Jet-Skalpell" verwendet [69].
Für das Markieren einer bestimmten Stelle im Gewebe ist jedoch das Schneiden unerwünscht. Daraus ergibt sich, daß die Energie, die nötig ist um das Gewebe zu durchdringen, zusammen mit dem gebündelten Strahl nur über einen kurzen Zeitraum anstehen darf. Dieser sogenannte Impuls muß so berechnet werden, daß das Gewebe nur bis in eine genau vordefinierte Schicht durchdrungen wird und eine Markierung (Depot) in einer bestimmten Gewebeschicht entsteht.
Die nötige Kraft wird in einem bestimmten, sehr kurzen Zeitintervall benötigt, man spricht von einem Impuls.
Diese Vorgaben lassen sich durch die **Impulsgleichung $p = m * v$** darstellen.
Dabei ist der **Impuls (p)** abhängig von der **Masse (m)** der Substanz multipliziert mit deren **Geschwindigkeit (v)**.
Ebenfalls zu berücksichtigen ist die Impulsänderung oder der **Kraftstoß (F)** auf die Masse m.

Hiermit läßt sich die kurzzeitig wirkende Kraft berechnen.

Hier gilt $F * \Delta t = m * \Delta v$ oder $F * \Delta t = p$ für die Impulsänderung und nach der Kraft aufgelöst gilt für die Kraft $\mathbf{F = m * v * 1/\Delta t}$.

Die Kraft auf die Masse **m**, die während eines bestimmten **Zeitintervalls** (Δ**t**) wirkt, entspricht der **Masse m** multipliziert mit der **Geschwindigkeitsänderung** (Δ**v**) oder der **Impulsänderung** (Δ**p**). Zu Beginn befindet sich das System in Ruhe, dann erfolgt eine kurzzeitige Krafteinwirkung über das Auslösen der Feder der Hochdruck-Injektionseinrichtung und am Ende ist das System erneut in Ruhe. Dieses Prinzip wird in der Abb. 1 dargestellt. Die zu injizierende flüssige Substanz wird aus einer **Druckerzeugungseinheit 1** mit einem mechanischen **Kraftstoß** $\mathbf{F_1}$ durch einen formstabilen, flexiblen **Katheter 2** und eine strömungstechnisch optimierte **Düse 3** am distalen Ende des Katheters in das Gewebe hineingeschossen.

Die initial anstehende Kraft im System läßt sich auch alternativ über die **Federkraft** errechnen.

Die Kraft, die auf die Flüssigkeit wirkt, berechnet sich aus der **Strecke s**, die, die Feder zurücklegt und der für jede Feder vorliegenden **Federkonstanten D** ($\mathbf{F_{Feder} = s * D}$).

Die Berechnung über die Federkraft ist leichter nachzuvollziehen und unabhängig von der Masse der Flüssigkeit und der Geschwindigkeit des Kolbens. Die anstehende Kraft läßt sich durch die Auswahl der Feder bestimmen; die zurückgelegte Strecke s ist konstant. Die Umrechnung in Druck (bar) erfolgt über die Formel $\mathbf{p_{Druck} = F_{Feder}/A_{Fläche}}$. Nach Einsetzen der Federkraft ergibt sich $\mathbf{p_{Druck} = s * D / A_{Fläche}}$.

Es gelten:

$\mathbf{p_{Druck}}$:	Druck im Kolben
s:	konstant
D:	Federkonstante
A:	Fläche auf die die Feder wirkt

Zudem ist auch eine Aussage über die anfänglich vorhandene Energie zur abgegebenen Energie an der Düse zu treffen. Welche Verluste treten auf? Die potentielle Energie einer gespannten, elastischen Schraubenfeder berechnet sich wie folgt $\mathbf{E_{Feder} = ½ * D * s^2}$. Somit läßt sich ein direkter Vergleich mit der Energie der austretenden Flüssigkeit an der Düse ziehen. $\mathbf{E_{kin} = ½\ m_2 * v_2^2}$ entspricht der kinetischen Energie am Düsenende. Eindringtiefe und Applikationsmenge pro Schuß sind von der **Masse** $\mathbf{m_2}$ und **Geschwindigkeit** $\mathbf{v_2}$ der aus

der Düse herausschießenden Substanz abhängig. **Die Geschwindigkeit v_2** kann durch die Form der Düse variiert und die Masse kann über die Druckerzeugungseinheit 1 bestimmt werden. Zu berücksichtigen sind Energieverluste, die durch Schlauchdehnung, Reibungsverluste und andere Faktoren bedingt sind. Daher wird die abgegebene Energie niemals genaue der zugeführten Energie entsprechen.

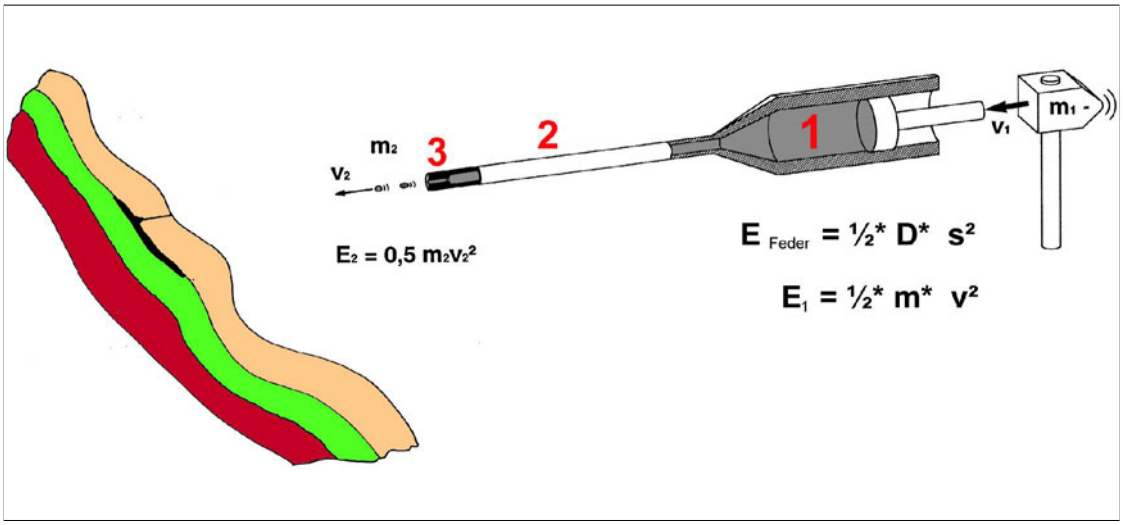

Abbildung 1 Prinzip der Hochdruckinjektion

2.2 Material und Herstellung der Tusche

Tusche wird seit Jahrtausenden zum Schreiben verwendet [61; 65; 72]. Sie besteht entweder aus fein gemahlener Kohle oder Ruß und einem Lösungsmittel, das die feinen Kohlenstoffpartikel in der Schwebe hält. Aufgrund der sehr guten Deckkraft hat sich bis heute die grundsätzliche Zusammensetzung nicht verändert.

Die Herstellung der Kohlenstoffpartikel erfolgt großtechnisch entweder über eine Vernebelung von gereinigten Mineralölen in einer Flamme aus einem Gas-Luft- oder Öl-Luftgemisch.[*1] Oder die Herstellung erfolgt über eine Hochleistungsmühlen, die Kohlepartikel zu feinsten Teilchen zermahlen können [37].

Außer in der bekannten Zeichentusche findet sich Tusche auch in Druckerpatronen und Tonern, vielen Farben und in Produkten der Kosmetikindustrie wieder.

[*1] Nach der Verbrennung erfolgt die Abscheidung mit Hilfe von Filter und Kühlsystemen, man spricht hier von Gas-, Flamm oder Furnacerußen.

2.2.1 Ausgangsstoffe

Um ein Verstopfen zu vermeiden, ist aufgrund der Applikation der Tusche über eine Düse, eine möglichst kleine Partikelgröße notwendig. Die in der Medizin vorhandenen Kohlezubereitungen können allesamt aufgrund der Partikelgröße, die zwischen 10 - 100 mal größer ist, nicht verwendet werden [15; 37]. Daher wird auf ein gereinigtes Produkt der Industrie zurückgegriffen. Die derzeit kleinste Partikelgröße haben die unten aufgeführten Produkte. Zur Herstellung der Tusche werden folgende Ausgangsstoffe benötigt:

Rußpartikel: Firma Degussa/ Frankfurt

Substanz 1: **Printex L**, Pigmentruß,
rel. Partikelgröße: 23 nm
Furnaceruß,
pH-Wert 9

Substanz 2: **Derussol AN 1-25/L**, Pigmentrußdispersion (Zubereitung mit Netzmittel) aus Pigmentruß Printex L,

Rußanteil	25 %,
Festkörperanteil	31,3 %,
pH-Wert	3,8,
Dichte	1,135 g/cm^3,
Viskosität	220(3) mPas.

Lipid: Soja-Lecithin der Firma L. Meyer, Hamburg,
(gereinigtes Phosphatidylcholin aus Soja)

Substanz:	**Epikuron 200**	
Bestandteile:	Phosphatidylcholin	min. 92%
	Lyso-Phosphatidylcholin	max. 4%
	andere Phospholipide	max. 1%
	Wasser, Restölgehalt	max. 1%

Weitere Produkte mit ähnlichen Eigenschaften:
Epikuron 180, Epikuron 100, Lipoid S100, Lipoid S75, Kryosome.

Vernetzer:	**Cholesterol** der Firma Merck, Darmstadt.
	Dicetylphosphat der Firma Sigma, Traunstein.
Volumengeber:	**Mannit** der Firma Merck, Darmstadt.
Lösungsmittel:	**Chloroform** der Firma Merck, Darmstadt.

2.2.2 Gerätschaften

Zur Herstellung einer geeigneten Tusche werden die in herkömmlichen Laboratorien üblicherweise vorhandenen Geräte verwendet. Dazu zählen Rundkolben (500 ml), Magnetrührer, Ultraschallbad (1800 Watt, Transsonic T750/H der Firma ELMA/Singen), Filter verschiedener Größen aus regenerierter Cellulose (Ultrafilter Zellulosenitrat), Membranfilterhalter (220 ml), Ampullenfläschchen, Gummistopfen, Bördelkappen, eine Feinwaage und ein Rotationsverdampfer mit Wasserbad, Kühler und Wasserstrahlpumpe, steriler Einmalfilter Minisart (0,5μm, 0,45μm und 0,2μm) der Firma SARTORIUS/ Göttingen und hochtourige Rührwerkzeuge.
Mit Hilfe des IKA-Kleinreaktors (2 l Fassungsvermögen, ausgestattet mit Ankerrührwerk, Ultraturax, Viskositätsaufnehmer, Ultrathermostaten und Vakuumanschluß der Firma IKA/Staufen) ist man in der Lage größere Mengen der Tusche herzustellen.
Mit diesen Gerätschaften ist es möglich, nicht nur gewöhnliche Dispersionen oder

Emulsionen herzustellen, sondern auch Liposomvesikel, in die sich beispielsweise nicht lösliche Partikel einschließen lassen.
Zur Bestimmung der Partikelgrößen der fertigen Tuschezubereitungen wird ein Nanosizer verwendet, der nach dem Prinzip der Coulter-Impedanzmessung arbeitet (Firma COULTER ELECTRONICS /Harpenden Herts England).

2.2.3 Herstellungsverfahren

Gemäß der Vorgabe, keine toxischen Substanzen verwenden zu wollen, ist die Zusammensetzung der Tusche besonders wichtig. Es sollten Lösungsmittel verwendet werden, die nicht kanzerogen für den Organismus sind. Atoxisch sind Cholesterol als Vernetzer, Mannit als Volumengeber und Chloroform als Lösungsmittel. Bei der Herstellung ist darauf zu achten, daß die Tusche- bzw. Rußpartikel in flüssiger Form gehalten werden, so daß sich mit der Zeit keine größeren Konglomerate und damit ein Bodensatz bilden kann. Dies kann durch Lösungsmittel oder durch eine Liposom gebundene Form erfolgen [22].
Eine Zubereitung in liposomaler Form erscheint hier am sinnvollsten. Hierbei wird ein fester wasserunlöslicher Stoff in Liposomvesikel eingeschlossen und in wässerige Dispersion gehalten. Zusätzliche Lösungsmittel sind nicht nötig. Andere Zubereitungsformen benötigen eine Reihe an Lösungsmitteln um die Rußpartikel in Dispersion zu halten[48].
Ein Liposom (auch Lipidvesikel oder Liposomvesikel genannt) ist ein kugeliges Gebilde, das sich aus Lipiden zusammensetzt. Lipide bestehen im allgemeinen aus zwei langen hydrophoben Kohlenwasserstoffresten (meist Fettsäureketten) sowie einer polaren

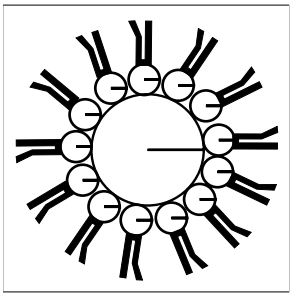

Abbildung 2: Micelle

Kopfgruppe (meist OH-Gruppen oder phosphorylierte Alkohole). Die Polarität bedingt die Entstehung der sogenannten Lipid-Doppelschicht, die durch Zusammenlagerung zweier monomolekularer Layers entsteht. In der Lipid-Doppelschicht lagern sich die hydrophoben Fettsäuren zueinander an und die hydrophilen Gruppen liegen außen, dem Wasser zugewandt. Es entsteht ein Lipidfilm auf der Wasseroberfläche. Wird nun ein Lösungsvermittler (Emulgator) hinzugefügt entstehen Micellen (siehe Abb. 2) Bei diesen sind die Fettsäureketten ebenfalls zueinander gewandt während die polare Gruppe außen steht. Die Ketten sind jedoch kugelförmig im Raum angeordnet und wesentlich kleiner [34]. Diese Tatsache wird bei der Herstellung der Tusche ausgenützt. Hierbei wird der feste Tuschefarbstoff mit an sich bekannter Technik in wässeriger Dispersion in ein Liposomvesikel eingebracht.
Zur Wahrung der Keimfreiheit werden sämtliche Geräte vor Gebrauch sterilisiert und die Verarbeitung erfolgt unter aseptischen Bedingungen.

Die Herstellungsschritte im einzelnen:
Mit dem Magnetrührer werden das Lipid und die Vernetzer Cholesterol und Dicetylphosphat zusammen mit dem Lösungsmittel Chloroform in einem Rundkolben gelöst. Danach wird diese Lösung über einem Ultrafilter steril und pyrogenfrei filtriert. Im nächsten Schritt wird in einem Rotationsverdampfer bei 50°C das Lösungsmittel abgezogen. Dem entstandenen dünnen Lecithin-Quervernetzerfilm im Rundkolben wird der Farbstoff Derussol und destilliertes Wasser hinzugegeben. Zuvor wird die wäßrige Ruß-Suspension mit Mannit oder Glukose auf einen physiologischen und gewebeverträglichen Wert eingestellt. Im Ultraschallbad bei 20°C und 1800 Watt löst sich der Lecithinfilm von der Kolbenwand und es bilden sich Liposomvesikel, die mit Tuschepartikeln beladen sind. Im letzten Schritt wird die Dispersion stufenweise bis zur Sterilität (0,2μm) filtriert. Zuletzt kann noch eine sterile Portionierung erfolgen.
Diese neue Tusche wird in Zusammenarbeit mit der Universitätsapotheke und der Abteilung für chirurgische Endoskopie der Universität Tübingen hergestellt und als "**ENDOINK**", bzw. "**ENDOINK lipos**" bezeichnet [22].

2.3 Untersuchungsmaterial

Da das nadelloses Injektionsverfahren zunächst primär bei Untersuchungen bzw. Diagnostik des Colons Verwendung findet, werden die Markierungsversuche mit Colon-Präparaten durchgeführt

2.3.1 Colon vom Schwein (schlachtfrisch)

In der ersten Phase der Versuche werden schlachtfrische Colon-Präparate des ortsansässigen Schlachthofes verwendet.
Schweinecolon unterscheidet sich nur wenig von menschlichem Colon. Der anatomische Aufbau entspricht im wesentlichen dem des humanen Dickdarmes, mit Mucosa, Submucosa, Muskularis und Serosa. Das Colon wird unter kaltem Wasser gereinigt, dabei wird so wenig Gewebe wie möglich entfernt oder verletzt. Je nach gewünschtem Versuchsaufbau wird der Darm entweder im Ganzen gelassen, oder der Länge nach durchgeschnitten und portioniert.

2.3.2 Colon vom Mensch (OP - Präparat)

In der zweiten Phase werden frische humane Colon-Präparate verwendet. Dieser Teil soll als Gegenversuch zu dem mit Schweinecolon dienen und die Richtigkeit der gemessenen Werte bestätigen. Es handelt sich um Operationspräparate nach Hemicolektomien oder Tumor extirpationen. Die Messungen werden in diesem Fall unmittelbar vor Ort vorgenommen. Im Anschluß daran werden die Präparate histologisch aufgearbeitet und die gewonnenen Schnitte mikroskopisch untersucht.

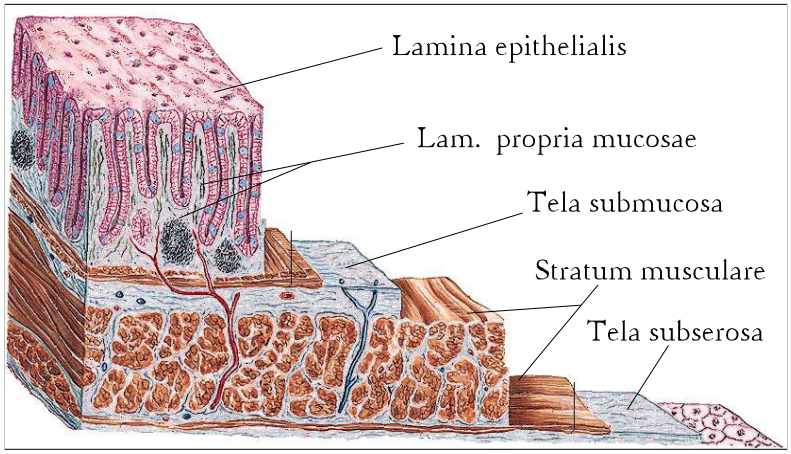

Abbildung 3 Schichtaufbau humanes Colon.

Quelle: Modifiziert nach Sobotta, Atlas der Anatomie des Menschen Band 2, 19. Aufl., U&S 1988

2.4 Methoden (Experimenteller Aufbau)

Im Folgenden werden die Vorbereitungen zur Injektion und die Art und Weise der Hochdruck-Injektion beschrieben.

2.4.1 Injektionsverfahren nach bisherigem Standard in der Endoskopie

In der Abteilung für Endoskopie der chirurgischen Klinik der Universität Tübingen wird üblicherweise nach jeder Polypektomie eine Tuscheinjektion vorgenommen. Diese Injektion erfolgt nach dem unten dargestellten Schema. Der Zeitaufwand beträgt bei einem eingespielten Team 3 min.

Zur Injektion sind nötig:

- Tusche (Steril, evtl. in 1:100 Verdünnung) [24; 43]
- 5 ml Injektionsspritze mit Tusche gefüllt
- endoskopische Injektionsnadel

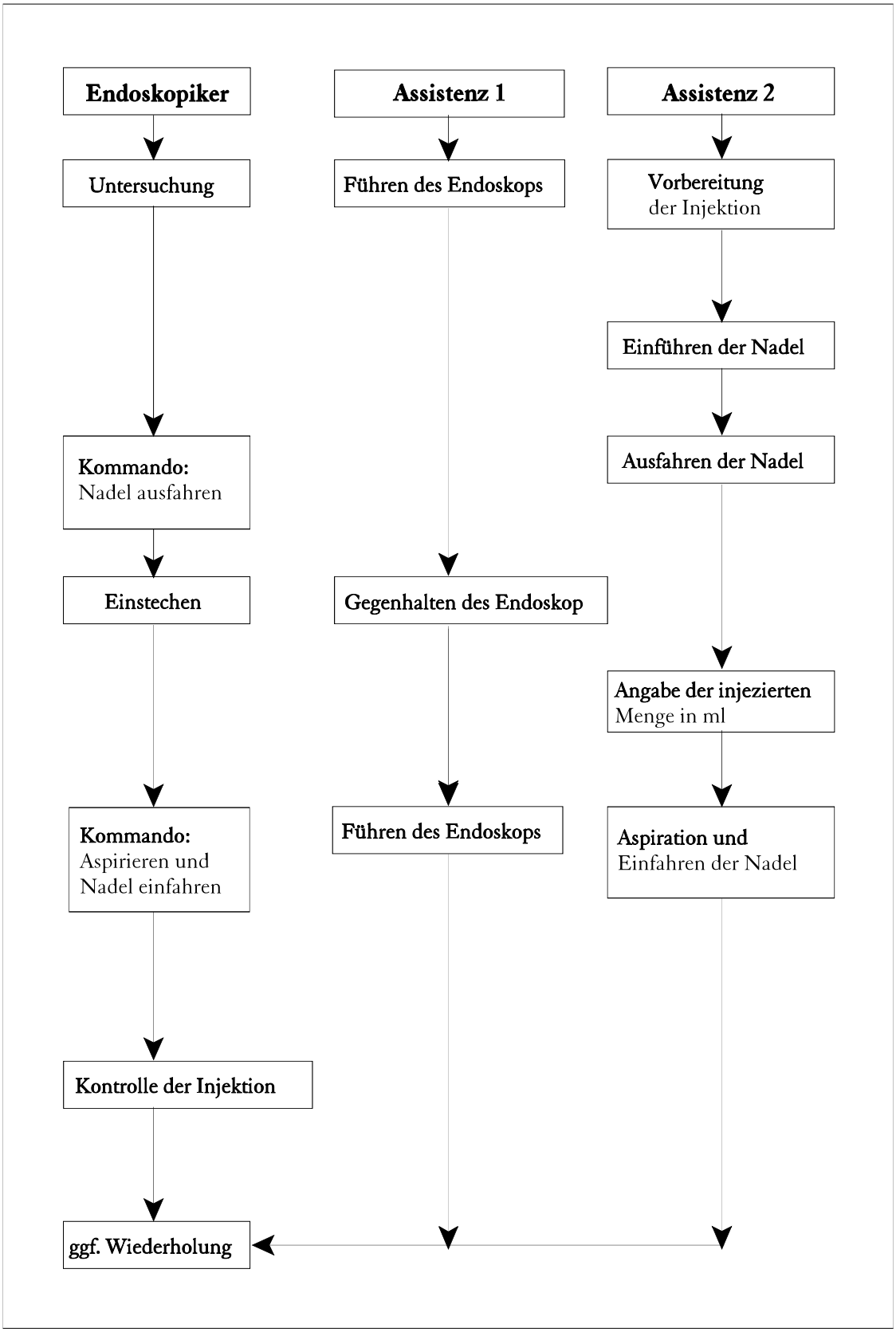

Abbildung 4: Injektion nach bisherigem Standard der Endoskopie

2.4.2 Realisation des Injektionsverfahrens mit der neu entworfenen Injektionseinrichtung

Der bisher üblichen Nadelinjektion steht ein neuentwickelter endoskopisch nadelloser Injektor (ENI) gegenüber, der gemäß dem zuvor beschriebenen Hochdruck-Injektionsverfahren arbeitet. Die Injektionen erfolgen berührungslos über einen Katheter mit strömungsoptimierter Düse. Als Grundlage des Injektors dient die Impfpistole der Firma AKRA, Pau/Frankreich, die mechanisch über eine Feder gesteuert wird.
Die Injektionseinrichtung ist aus drei Komponenten aufgebaut. Ein Teilbereich dient der Druckerzeugung (siehe Abb. 5), ein weiterer besteht aus dem Flüssigkeitsreservoir und das dritte Segment bildet ein endoskopischer Katheter, der mit einer speziellen Düse ausgestattet ist (siehe Abb. 6).

Druckerzeugungseinheit:

Die zur Injektion erforderliche Energie kann auf verschiedene Weisen bereitgestellt werden. Möglich ist die mechanische über eine Feder gesteuerte Druckerzeugung, die pneumatische über einen Druckzylinder oder die elektromagnetische Druckerzeugung. In dieser Arbeit wird in erster Linie eine mechanisch gesteuerte und eine über Pressluft gesteuerte Druckerzeugungseinheit eingesetzt. Beide Einheiten verfügen über einen fast identischen Aufbau, daher wird an dieser Stelle nur einmal die Funktionsweise beschrieben.

Der Arbeitskolben (2) am proximalen Ende der Einheit verrichtet einen definierten Hub, der derjenigen Menge an Flüssigkeit entspricht, die eingebracht werden soll. Beim Zurückziehen des Arbeitskolbens (2) füllt sich ein unterhalb des Arbeitskolbens (2) befindlicher Raum, der sogenannte Kolbenraum (1). Beim Vorwärtsbewegen des Arbeitskolbens (2) verschließt sich die Einlassöffnung (3) durch den Dichtring (12), und der Injektionsdruck kann sich aufbauen. Die Vorwärtsbewegung des Arbeitskolbens wird durch die Kolbenstange (7) des distalen Endes bewirkt. Die Kolbenstange (7) wird durch einen Hebel (6) mechanisch gespannt und mit einer Sperrklinke (9) verriegelt. Dabei spannt sich die zum Druckaufbau nötige Feder (8). Beim Lösen

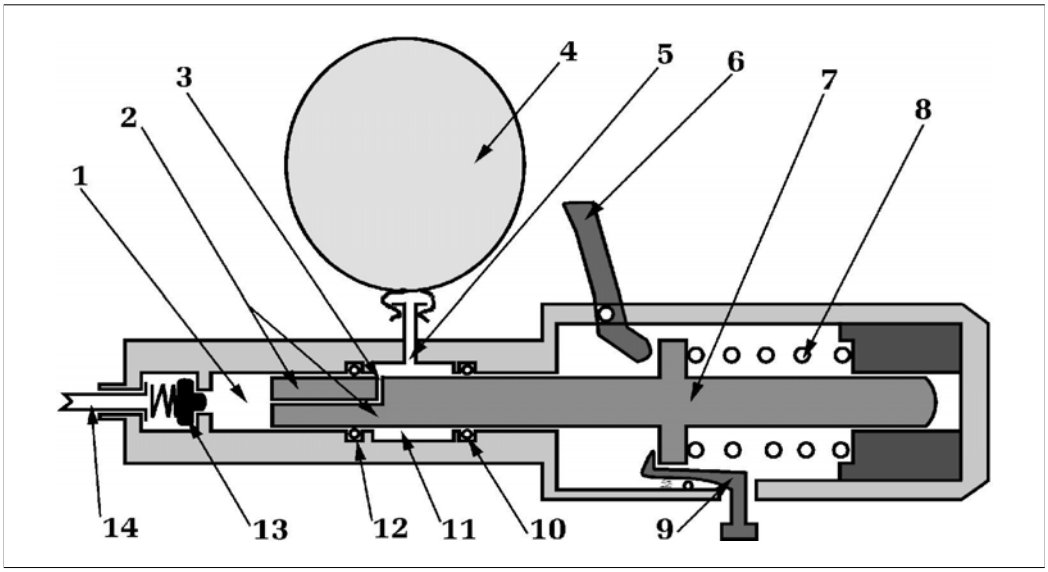

Abbildung 5: Aufbau des endoskopischen nadellosen Injektors (ENI).

Legende:

1. Kolbenraum	8. Feder
2. Arbeitskolben	9. Sperrklinke
3. Einlassöffnung	10. Dichtring
4. Reservoir	11. Einlassraum
5. Reservoiröffnung	12. Dichtring
6. Hebel	13. Ventil
7. Kolbenstange	14. Injektionskatheter

der Sperrklinke (9) entspannt sich die Feder (8) und treibt die Klobenstange (7) an, dabei wird gleichzeitig der mit der Kolbenstange (7) verbundene Arbeitskolben (2) nach vorne getrieben und die Flüssigkeit erhält einen Impuls. Das Ventil (13) verhindert das Zurückfliesen der Flüssigkeit beim Laden des Systems. Bei der pneumatisch gesteuerten Injektionseinrichtung befindet sich an der Stelle der Feder ein luftgefüllter Druckzylinder, der den nötigen Impuls erzeugt.

Flüssigkeitsreservoir:

Der Arbeitskolben (2) enthält eine Bohrung (3), die sich beim Spannen des Systems genau in

Höhe der Reservoiröffnung (5) befindet, so daß die Flüssigkeit in den Kolbenraum (1) fließen kann. Das Reservoir (4) ist bei der pneumatisch betriebenen Injektionseinheit eine mittels Luer-Lock aufschraubbare Injektionsspritze. Der mechanisch gesteuerte Injektor enthält ein integriertes Reservoir.

Katheter und Düse:

Der Injektionskatheter (14) ist an seinem proximalen Ende mit der Injektionseinheit verbunden (Abb. 6). Am distalen Ende befindet sich die Düse (15), die über ein Gewinde mit dem Injektionskatheter (14) verbunden ist (Abb. 6).

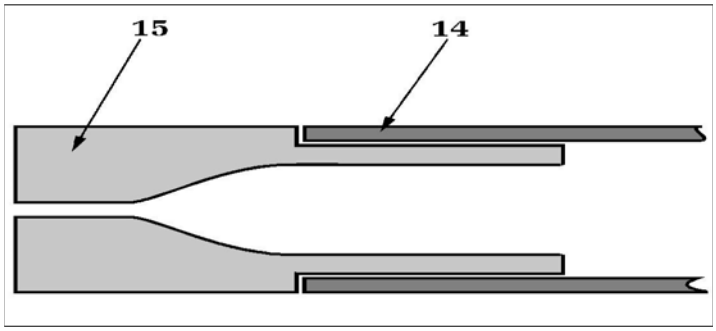

Abbildung 6: Düse am distalen Ende des Injektionskatheters

Legende:

14. Injektionskatheter 15. Düse

Dieser Aufbau erlaubt eine genaue Dosierung der Energie, des aus der Düse tretenden Strahles. Die Masse des Kolbens ist konstant. Die Kraft, die auf den Kolben (Abb. 5 (7)) wirkt, kann über die Federstärke variiert werden. Zur Druckerzeugung werden Federn mit unterschiedlichen Stärken verwendet (siehe Tabelle).

Der Strahl kann über den Düsendurchmesser verändert werden. Je kleiner der Durchmesser, desto größer ist die Strömungsgeschwindigkeit des austretenden Strahles.

Die Düsendurchmesser variieren zwischen 100μm - 400μm (100; 150; 200; 300; 400μm).

Nr.	Federkraft [N]	Erzeugter Druck [bar]	Federkonstanten [N/mm^2]
1	45,3	23,1	2,079
2	64,4	32,8	3,338
3	114,2	58,2	5,770
4	141,5	72,1	10,257
5	201,6	102,8	15,748

Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Federn

Berechnungsgrundlage:

Die Kraft einer Feder errechnet sich aus dem Produkt der Dehnungsstrecke und der Federkonstanten [F=D*s].

Die Dehnungsstrecke entspricht dem Kolbenhub und beträgt etwa 8,3mm.

Da die verschiedenen Federn unterschiedliche Längen haben muß, von der Länge in völlig entspannten Zustand l_0 die Länge in gespanntem Zustand im Gerät $l_{gespannt}$ subtrahiert werden.

Beispiel Feder Nr. 2 aus Tabelle 1 :

l_0 = 47,5 mm $\quad$ $l_{gespannt}$ = (l_0 - 28,2 mm) = 47,5 - 28,2 = 19,3 mm

D = 3,338 N/mm

F = D*s entspricht F = 3,338 N/mm * 19,3 mm = 64,42 N

Der Druck, den eine Feder erzeugen kann, berechnet sich aus der Kraft, die auf eine bestimmte Fläche wirkt [p=F/A].

p = 64,42 N/0,196 cm^2 entspricht p = 32,8 bar

2.4.3 Experimentelle Injektion

Bei den Versuchen zur nadellosen Injektion muß ein Versuchsaufbau gewählt werden, der die tatsächlichen Gegebenheiten simuliert. In drei verschiedenen Schritten und mit unterschiedlichen Aufbauten wird die in "vivo Injektion" simuliert. Die ersten beiden Versuchsaufbauten dienen der Evaluation der richtigen Druck- und Düsenauswahl. Hier werden die Federstärken beginnend bei 201,6 N entsprechend 102,8 bar Druck stufenweise reduziert, bis keine

unerwünschten Ergebnisse mehr auftreten. Unerwünscht sind Gewebeperforationen und Überlauf der Tusche, erwünscht sind gut sichtbare Depots. Der 3. Versuchsaufbau, mit geschlossenem Darm, soll die gefundene Kombination bestätigen und gegebenenfalls verbessern. Die statistische Auswertung berücksichtigt den zweiten und dritten Aufbau, der einer "in vivo Injektion" sehr nahe kommt.

2.4.3.1 Vorbereitung

Es werden für die drei Versuchsaufbauten benötigt:

Injektionseinrichtung:

Federstärke:	45,3 N; 64,4 N; 114,2 N; 141,5 N; 201,6 N
Düse:	100µm; 150µm; 200µm; 300µm; 400µm Durchmesser
Injektionskatheter:	210 cm Länge, Material PTFE, handelsüblicher endoskopischer Injektionskatheterschlauch
	Aussendurchmesser: 2,20 mm
	Innendurchmesser: 1,40 mm

Tusche:

Gefäß mit Tusche 1:10 bis 1:100 verdünnt
mehrere 5 ml, 10 ml Spritzen

Gewebe:

Gereinigtes Schweinecolon, aufgeschnitten und in gleichlange Stücke geteilt (für die Versuchsreihen 1 und 2).
Gereinigtes Schweinecolon im ganzen, an einem Ende zugebunden und an dem anderen Ende mit einem Einlaß für das Endoskop versehen (für die Versuchsreihe 3).

Unterlage:

Schaumstoff

Darüber eine Lage Fließpapier zur Perforationskontrolle.

Endoskope und endoskopische Injektionsnadeln:

Um sicherzustellen, daß die Katheterlänge und die Funktionsweise des ENI auch über ein flexibles Endoskop gegeben ist, werden einige Schußsequenzen, insbesondere mit menschlichem Colon, mit einigen flexiblen Endoskopen der Firmen Fuji und Pentax durchgeführt. Diese Sequenzen werden mit S-VHS Videorecordern aufgezeichnet.

Im Vergleich des ENI-Katheters mit herkömmlichen endoskopischen Injektionsnadeln werden einige Nadeln aus dem täglichen Gebrauch hinzugezogen. Hierzu gehören Nadeln der Firmen Endo-Technik/Solingen und Pauldrach/Garbsen.

2.4.3.2 Experimenteller Aufbau und Durchführung

Versuchsaufbau der drei Messplätze:

Ziel ist es eine gut sichtbare Markierung zu erhalten, die beliebig oft wiederholt werden kann.. Dabei soll weder eine Perforation , noch ein Auslaufen der Flüssigkeit erfolgen (Überlauf).

Versuchsaufbau 1:

Dieser erste Aufbau dient der groben Feststellung welche Federstärke und Düsengröße in Frage kommen. Der Darm liegt locker auf einer Schaumstoffunterlage, die Düse ist über ein Stativ fixiert und kann in Höhe und Injektionswinkel verändert werden (siehe Abb. 7). Die saugfähigen Unterlage ist als Indikator für eine Perforation vorgesehen, denn auch kleinste Mengen der Markierungssubstanz werden aufgesaugt und färben somit das Fließpapier.

Federstärken:	201,6 N; 141,5 N; 64,4 N
entsprechender Federdruck:	102,8 bar; 72,1 bar; 58,2 bar; 32,8 bar
Düsendurchmesser:	400 μm, 300 μm, 200 μm
Abstände zum Gewebe:	0, +1, +1,5, +2, +2,5, +3, +3,5, +4, +5 mm

0, -1, -1,5, -2, -2,5, -3 mm (Minus bedeutet Eindrücken des Katheters gegen die Darmwand und Schaumstoffunterlage)

Aufbau:

Das Colonstück liegt auf einer saugfähigen Unterlage auf . Der Katheter mit der Düse wird

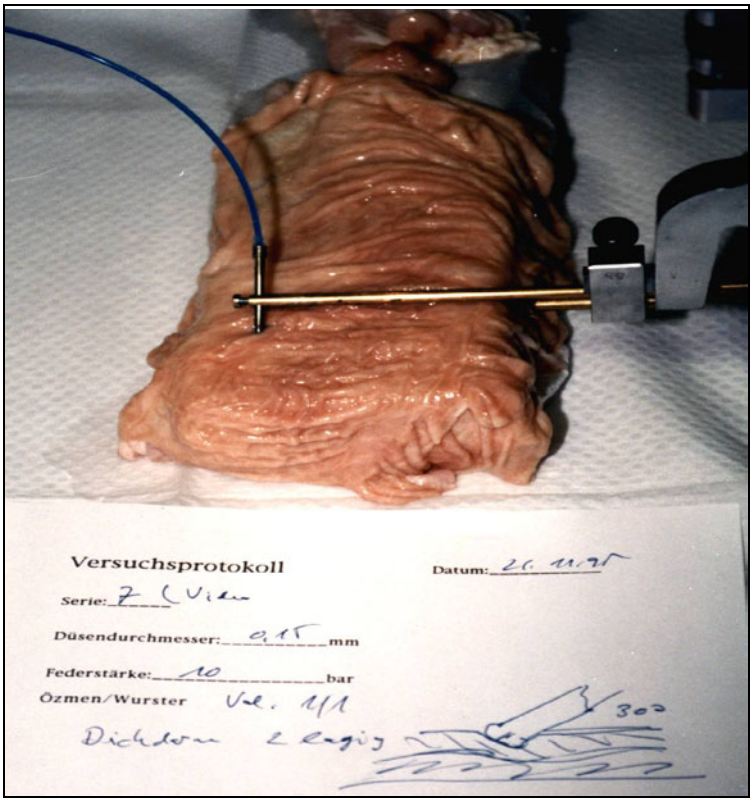

Abbildung 7: Versuchsaufbau

senkrecht in bestimmtem zuvor definierten Abstand darüber gehalten.

Versuchsaufbau 2:

Federkraft:	64,4 N, 45,3 N
entsprechender Federdruck:	32,8 bar, 23,1 bar
Düsendurchmesser	200 µm; 150 µm; 100 µm
Abstände zum Gewebe:	0, +1, +1,5, +2, +2,5, +3, +3,5, +4, +5 mm
	0, -1, -1,5, -2, -2,5, -3 mm (Minus bedeutet Eindrücken des

Katheters gegen den Darm und Schaumstoffunterlage)

Das Colon liegt auf einer saugfähigen Unterlage und auf einem weichen Schaumstoffstreifen.

Versuchsaufbau 3:

Federkraft:	64,4 N, 45,3 N
entsprechender Federdruck:	32,8 bar, 23,1 bar
Düsendurchmesser	200 μm, 150 μm, 100 μm
Abstände zum Gewebe:	0, +1, +1,5, +2, +2,5, +3, +3,5, +4, +5 mm
	0, -1, -1,5, -2, -2,5, -3 mm (Minus bedeutet Eindrücken des Katheters gegen die Darmwand)

Hier wird das Colon an den Enden zugebunden. An einem Ende wird eine spezielle Muffe eingesetzt, um ein reibungsloses Einsetzen und Vorschieben des Endoskops zu ermöglichen. Die Abbildung 8 zeigt den mit maximal 6 mm HG (entsprechend 81,6 mm H_2O) aufgeblasenen Darm und die zahlreichen endoskopisch durchgeführten Tuschemarkierungen.

Abbildung 8 : Geschlossener Darm nach endoskopischer Markierung

Durchführung:

Jede Meßreihe wird nach dem unten aufgelisteten Schema durchgeführt. Nach einer Serie von 10 - 20 Schüssen erfolgen die Auswertungen.

Durchführungsschema:

- Ausrichten des Systems
- Festlegen der Abstände
- Auslösen des Schusses
- Kontrolle
- mindestens 10 Schüsse mit denselben Parametern
- Festlegen neuer Parameter
- Wiederholung der obigen Sequenz

2.5 Auswertung

Für die Auswertung werden die Daten protokolliert und tabellarisch aufgenommen. Alle Federn, Düsendurchmesser und Abstände zum Gewebe werden miteinander kombiniert.
Es ergeben sich folgende Kombinationsmöglichkeiten:

Variabel / Konstant	Federstärke	Düsendurchmesser	Abstand zum Gewebe
Federstärke		X	X
Düsendurchmesser	X		X
Abstand zum Gewebe	X	X	

Tabelle 1: Kombinationsmöglichkeiten

Zu allen oben aufgeführten Kombinationen werden makroskopisch die weiter unten genannten Parameter bestimmt.
Sollte bei einer Schußserie immer wieder dieselben Fehler auftreten z. B. Perforationen dann wird abgebrochen und die nächste Versuchskombination durchgeführt. Das führt jedoch dazu, daß einige Datensätze unvollständig sind. Näheres hierzu im Kapitel 3.4 Statistik.

2.5.1 Makroskopische Auswertung

Die einzelnen Colon-Streifen mit den Schußsequenzen werden zunächst makroskopisch ausgewertet. Die einzelnen Schüsse werden gezählt, ausgemessen und protokolliert. Perforationen sind auf dem Fließpapier den einzelnen Schüssen gut zuzuordnen.
Die zu bestimmenden Parameter werden wie folgt festgelegt:

Depot: Deutliche Erhebung der Schleimhaut und Sichtbarkeit der Markierung.
"**Klein**" entspricht einem gemessenen Durchmesser von 2 mm (2±0,5 mm).
"**Mittel**" entspricht einem gemessenen Durchmesser von 4 mm (4±0,5 mm).
"**Groß**" entspricht einem gemessenen Durchmesser von 6 mm (6±0,5 mm).

Perforation: kleinste Mengen Tusche auf dem darunterliegenden Fließpapier.
"**Klein**" entspricht einer gemessenen Fleckgröße von 2 mm (2±0,5 mm).
"**Mittel**" entspricht einer gemessenen Fleckgröße von 4 mm (4±0,5 mm).
"**Groß**" entspricht einer gemessenen Fleckgröße von 6 mm (6±0,5 mm).

Überlauf: Zurückfließen von mehr als einem Tropfen (klein) Tusche während oder unmittelbar nach dem Schuß.

Für jeden Schuß werden Aussagen zum Vorhandensein obiger Parameter gemacht:

Depot " klein" - "mittel" - "groß" (2 mm - 4 mm - 6 mm Durchmesser)
Perforation " klein" - "mittel" - "groß" (2 mm - 4 mm - 6 mm Fleckgröße)
Überlauf " klein" - "mittel" - "groß" (1 Tropfen - mehr als ein Tropfen)
Fehlen eines Depots, einer Perforation oder Überlaufes

Anschließend erfolgt eine Kontrolle der Streifen unter dem Stereomikroskop (Abb. 9). Insbesondere auf mechanische Schäden und Mikroperforationen wird geachtet. Größere Depots werden in der Mitte durchgeschnitten, um die Tuscheverteilung im Gewebe beurteilen zu

Abbildung 9:Übersicht über eine Schußserie mit Methylenblau (Schweinecolon)

können. Die Serien werden protokolliert, skizziert und zusätzlich fotografiert.

2.5.2 Pathohistologische Auswertung

Neben der makroskopischen Auswertung der Schußsequenzen erfolgt auch eine pathohistologische Untersuchung. Aus einer zufällig ausgewählten Anzahl von Schußsequenzen sowohl vom Schweinecolon als auch vom menschlichen Colon werden histologische Schnitte gefertigt und anschließend unter dem Mikroskop begutachtet.
Die Herstellung der Schnitte entspricht der in der Pathologie der Universität Tübingen verwendeten Methode. Zunächst werden die fixierten Präparate in 5 x 5 mm große Würfel

geschnitten und danach in Paraffin gegossen. Anschließend werden aus diesem Block mit dem Mikrotom die Schnitte gewonnen. Diese werden mit Hämatoxylin/Eosin gefärbt und auf dem Objektträger fixiert.
Die Begutachtung unter dem Lichtmikroskop wird mit der Übersichtsvergrößerung begonnen. Auf wesentliche Gefügeveränderungen wird geachtet. Hierbei findet die Tuscheverteilung im Gewebe besondere Beachtung.
Bei stärkerer Vergrößerung werden besonders die mechanischen Schädigungen der jeweiligen Colonschichten betrachtet. Insbesondere Gefäßwandveränderungen und Zellschädigungen werden protokolliert.
Zum Schluß werden die besonders aussagekräftigen Schnitte abfotografiert, dokumentiert und archiviert.

2.5.3 Statistische Aufarbeitung

Neben den morphologisch-histologischen Auswertungen wird auch eine statistische Auswertung durchgeführt.
Die erhobeben Parameter werdem in zwei Gruppen zusammen gefasst. In der einen Gruppe befinden sich diejenigen Werte bei denen ein Depot, eine Perforation oder ein Überlauf eintritt und in der anderen Gruppe sind die Werte zusammengefasst bei denen die Parameter nicht auftreten. Somit liegen zwei Wertepaare vor, eines mit vorhandensein des gemessenen Parameters und eines ohne den gemessenen Parameter.
Als abhängige Variable werden die erhobenen Parameter bezeichnet (Depot; Perforation; Überlauf), die Ausprägung beträgt “ja” oder “nein”.
Die unabhängigen Variablen (Prädiktoren) sind Düsendurchmesser, Abstand zum Gewebe und Federstärke. Gesucht wird eine Kombination von Abstand, Federstärke und Düsendurchmesser bei der ein Depot entsteht, keine Perforation auftritt und der Überlauf gering ist.
Zur statistischen Auswertung wird das Modell der logistischen Regression gewählt. Hierbei wird versucht, die abhängige Variable (Y; Ja/nein) durch mehrere unabhängige Variablen (oder Prädiktoren; $X_1 ... X_n$) zu beschreiben. Für jede Ausprägung der Prädiktoren erhält man so eine Vorhersage für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines interessanten Ereignisses (hier

Depot, Perforation, Überlauf).
Die notwendige Überprüfung des Modells erfolgt mittels in der Statistik üblicher Modelltests, die dazu dienen, die Zulässigkeit der Daten für das Modell zu überprüfen. Anschließend können Signifikanztests durchgrführt werden, um zu zeigen ob alle unabhängigen Variablen (Prädiktoren) gemeinsam einen signifikanten Einfluß auf die abhängigen Variablen haben.
Die grafische Auswertung ist im Kapitel 3.4 aufgeführt. Die Darstellung über ein Kontur-Plott ermöglicht alle Parameter zu berücksichtigen und aufzuzeigen. Zudem ist diese Form schnell erfassbar und die relevanten Zusammenhange werden gut abgebildet [10]

2.6 Dokumentation

Es ist unumgänglich, neben der statistischen Auswertung in dieser Arbeit auch eine Aufzeichnung der Entstehung einer Tuschemarkierung auf Video und Dia vorzunehmen. Dazu werden aktuelle Foto- und Videoapparate verwendet.
Zusätzlich sind einige Schußsequenzen durch ein Endoskop, unter Verwendung einer Bildbox, direkt in einen PC eingespeist worden.

2.6.1 Makroskopische Dokumentation (Foto, Video, Endoskope)

Die Dokumentation der Versuche erfolgt mit den üblichen Foto-, Video- und endoskopischen Aufnahmegeräten.

Fotodokumentation

Die in vitro Versuche mit Schweinedarm und insbesondere die Schussergebnisse werden mit handelsüblichen Spiegelreflexkameras der Marke Nikon (F 801s) und Olympus (OM 3) abfotografiert. Die verwendeten Blitze stammen von den Firmen Metz und Olympus.

Videodokumentation

Ein Teil der Versuche mit Schweinedarm und die in vitro Experimente mit menschlichem Darm werden mit S-VHS Videorecordern und einer S-VHS Kamera der Marke Panasonic aufgezeichnet. Die Bildausgabe erfolgt über Monitore von Sony und Storz.

3 Ergebnisse

3.1 Injektionseinrichtung

3.1.1 Konstruktion / Ausführung

Zur Durchführung der Versuche stehen zwei unterschiedliche nadellose Injektoren zur Verfügung, ein mechanischer ENI und ein pneumatischer ENI. Grundsätzlich sind sich die beiden Geräte in der Funktionsweise sehr ähnlich. Unterschiede zeigen sich nur in der Art und Weise der Befüllung mit Farbstoff und der Krafterzeugung. Die Kraft, die auf beide Kolben wirkt, wird bei dem mechanischen ENI durch eine Feder mit konstanter Federkraft und bei dem pneumatischen ENI mittels eines Luftdruck betriebenen Kolbens erreicht. Hierbei kann der Arbeitsdruck variiert werden.
Der mechanische ENI besteht aus wenigen beweglichen Teilen. Diese sind einfach und robust ausgelegt. Zu diesen Teilen gehören der Spannhebel, der Arbeitskolben, die Sperreinrichtung und die Feder. Sie ist in wenigen Handgriffen nach dem Abschrauben des Auslöseknopfes zugänglich. Ein Auswechseln der Feder ist nur nötig, wenn andere Parameter gewünscht sind und damit veränderte Injektionsergebnisse erreicht werden sollen.
Das Befüllen des Systems erfolgt nach Abschrauben der Kartusche am proximalen Ende des mechanischen ENI.
Der pneumatische ENI besteht aus mehreren Teilen:

- Kolbeneinheit mit Druckkammern und Kolbenstange
- Kartuscheneinheit mit Luer-Lockansatz für eine Spritze
- Injektionskatheter mit Düse (in identischer Ausführung wie der mechanische ENI)
- elektronische Steuereinheit mit regelbaren Ventilen, Fußschalter und Druckflaschenansatz

Die Funktionsweise entspricht dem mechanische ENI, diese wurde in Kapitel 2.5.2 erläutert. Unterschiedlich ist die Druckerzeugung, die hier über Pressluft (normaler Klinikanschluß genügt) bewerkstelligt wird. Der Pressluftstrom wird über eine elektronisch gesteuerte Ventileinheit in einen Luftstrom zum Laden (befüllen) des Systems und einen Pressluftstrom

zur Druckerzeugung aufgeteilt. Der Arbeitsdruck ist über ein zwischengeschaltetes Manometer ables- und regelbar. Dieser kann zwischen 2 und 5 bar variiert werden.

Die Versuchsreihen zeigten, daß ein durchschnittlicher Druck von 3 - 4,5 bar die besten Ergebnisse erbrachte.

3.1.2 Handhabung

Die Handhabung des ENI ist einfach und schnell zu verstehen. Je nach Ausführung des ENI ist eine differente Bedienung angezeigt.
Beim mechanischen ENI dient eine Impfpistole als Grundlage. Hier ist die Kartusche für die Tusche von der Kolbeneinheit abzuschrauben. Die Kartusche wird gefüllt und in das System eingesetzt. Durch mehrfache Hebelbewegungen wird der Schlauch bis zur Düse mit Flüssigkeit gefüllt. Auf eine blasenfreie Füllung ist zu achten. Da die Restmenge in der Kartusche für eine größere Anzahl an Markierungen nicht ausreicht, muß die Kartusche noch einmal gefüllt werden. Der Spannhebel wird heruntergedrückt und zurückgeklappt. Der ENI ist nun einsatzbereit. Die Auslösung erfolgt über den Auslöseknopf am proximalen Ende. Das Arbeiten mit dem mechanischen ENI ist einfach. Der Katheter wird in den Arbeitskanal des Endoskops eingeführt. Nach Auswahl der Injektionsstelle und leichtes Aufsetzen der Düse auf die Darmwand erfolgt die Auslösung durch Druck auf den Auslöseknopf. Im Anschluß an die Kontrolle können nach dem Spannen der Feder weitere Injektionen erfolgen.
Die Abbildung 10 zeigt die per Video aufgezeichnete nadellose Injektion. Die Düse wird locker aufgesetzt und der Auslöseknopf betätigt. Der Einfallswinkel im oberen Teil der Abbildung liegt bei 90 Grad und im unteren bei 45 Grad.

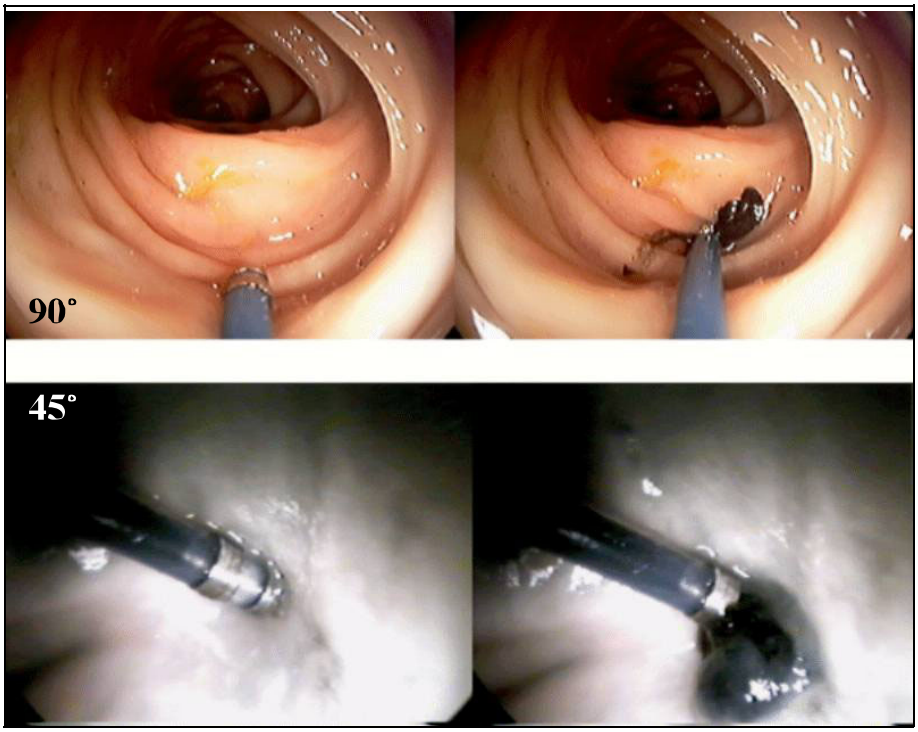

Abbildung 10: ENI-Markierung, gut sichtbare Depotentstehung vor (linke Abb.) und nach Injektion (rechte Abb.)

Beim pneumatisch arbeitenden ENI wird anstelle der Schraubkartusche eine Luer-Lock Spritze an ein dafür vorgesehenes Ansatzstück geschraubt. Das Befüllen erfolgt durch Druck auf den Spritzenstempel. Auch hier ist eine blasenfreie Füllung des Katheters notwendig. Mit einer genügend großen Luer-Lock Spritze ist ein Arbeiten ohne Nachfüllen möglich. Sollte die Spritze ausgetauscht werden, so ist bei dem erneuten Aufschrauben darauf zu achten, daß keine Luft in das System gelangt. Zusätzlich muß der Druckschlauch mit der Steuereinheit verbunden werden, ebenso der Fußschalter und der zuführende Luftschlauch (Verbindung zum herkömmlichen Druckluft-Kliniksanschluß). Nach dem Einschalten ist das System betriebsbereit. Der pneumatische ENI hat anstelle des Druckknopfes einen Fußschalter. Somit hat der Endoskopiker seine Hände frei um das Endoskop zu steuern und den Katheter zu plazierten. Nach Einführen des Katheters ist nur eine Betätigung des Fußschalters nötig, um eine Injektion vorzunehmen. Das Laden und der Druckaufbau laufen hierbei automatisch über eine Steuereinheit ab. Auch hier sind beliebig viele Injektionen durchführbar.

Nach dem Einsatz beider Systeme in der Abteilung für Endoskopie der Universität Tübingen wurde von allen Schwestern und Pflegern die Einfachheit und schnelle Einsetzbarkeit der Systeme bestätigt.

3.1.3 Sicherheit

Der Aspekt der Sicherheit hat einen großen Stellenwert. An erster Stelle steht die Sicherheit für den Patienten. Eine Perforation durch einen Schuß darf nicht stattfinden, und das Depot muß schon nach dem ersten Schuß gut in der Colonwand sichtbar sein.
Danach kommt die Sicherheit für den Endoskopiker, besonders in Bezug auf eine einfache und auch für den Ungeübten schnell zu verstehende Handhabung sowie eine schnelle Funktionsbereitschaft des ENI.
Für das Endoskopiepersonal liegt die Sicherheit des ENI in der schnellen Einsatzfähigkeit, der komplikationslosen Befüllung und der Entlastung im Untersuchungsablauf.
Am Ende der Versuchsreihen hat sich die ideale Kombination aus Düsendurchmesser und Federkraft ergeben.
Folgende Kombination erfüllt die zuvor genannten Bedingungen:

- Düsendurchmesser: 200 μm
- Federkraft: 64,4 N (entspricht einem Druck von 32,8 bar)
- für den pneumatischen ENI: 3,5 - 4,5 bar Arbeitsdruck

Genaue Aufschlüsse geben die im Kapitel 3.4 aufgeführten Statistiken.

3.2 Tusche

3.2.1 Zusammensetzung

Ergebnisse der Zusammensetzung:

Industrie-Tusche:

Die Zusammensetzung der Tusche ist folgende:

	Firma Rotring		Pelikan*[1]
Wasser	>75%	Phenol	0,5%
Farbruß	ca. 10%	Schellack	
natürliche Bindemittel	ca. 5%		
Proteinhydrolysat	ca. 3%		
höhere Diole	ca. 5%		
Konservierungsmittel gegen Pilze und Bakterien-wachstum	ca. 0,5%		

Tab. 2: Rezepturen der handelsüblichen Tuschen

*[1]: Weitere Inhaltsstoffe sind von der Firma Pelikan nicht zu erfahren gewesen.
Dennoch ist eine ähnliche Zusammensetzung wie bei der Rotring Tusche anzunehmen.

Tuschezubereitung der Universitätsapotheke [22]:

Endoink		Endoink lipos	
Derussol AN1-25/l	je nach gewünschter	Derussol AN1-25/l	je nach gewünschter
oder Printex L	Deckkraft	oder Printex L	Deckkraft
Dicetylphosphat	0,15 g	Epikuron 200	1,5 g
Cholesterol	0,22 g	Dicetylphosphat	0,15 g
Chloroform	200 g	Cholesterol	0,22 g
		Chloroform	200 g

Tab. 3: Rezeptur der neuen Tusche

3.2.2 Eigenschaften

Es zeigt sich eine gute Deckkraft der Tusche, die nahezu der industriell gefertigten entspricht. Bei der Tuschesuspension ENDOINK lipos ist im Lagerungsversuch von mehreren Monaten nur ein geringer Bodensatz feststellbar. Dieser kann durch Aufschütteln beseitigt werden. Die versuchsweise gefriergetrockneten Portionen lassen sich ohne Verklumpungen mit physiologischer Kochsalzlösung auflösen. Durch das Gefriertrocknen kann die Lagerfähigkeit beträchtlich verlängert werden. Eine Sterilisation im Autoklaven erbrachte keine Änderung im Verhalten der Tusche ENDOINK lipos. Im Gegensatz dazu zeigten die industriellen Tuschen geringe Verklumpungstendenzen. Ein wichtiger Aspekt für die Hochdruck-Injektion ist die Partikelgröße. Bei einem Düsendurchmesser von 0,2 mm (200 μm) kann die Düse bei zu großem Partikelvolumen verstopfen. Durch die Auswahl genügend kleiner Farbstoffe und der zusätzlichen Filtration wird die Partikelgröße auf ein Maß von etwa 190 nm reduziert. Das ist etwa um den Faktor 1000 kleiner als der Düsendurchmesser..
Die Filtration erfüllt zwei Zwecke, zum einen wird dadurch die Partikelgröße reduziert und zum anderen wird ab einer Filtergröße von 0,6 μm eine Pyrogenfreiheit erzielt.

Über die Grafik:

Dargestellt sind die Mediane der Partikelgrößen der verschiedenen Tuschen.

Gemessen wurden die Tusche der Firmen:

- Rotring (Art, Nr 123456789)
- Pelikan (National Pelikan, Probe)
- Endoink 1 (Zubereitung der Universitätsapotheke mit Derussol 0,6 µm sterilfiltriert)
- Endoink lipos (Zubereitung der Universitätsapotheke mit Derrusol 0,6 µm sterilfiltriert)

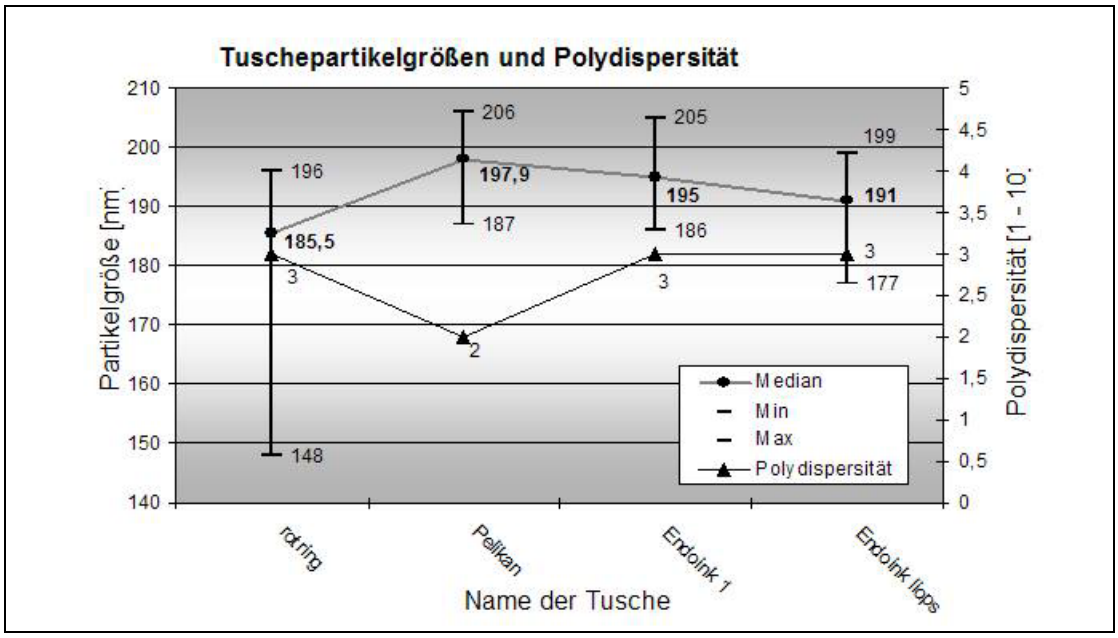

Abbildung 11: Partikelgrößen und Polydispersität der verschiedenen Tuschen

Polydispersität bedeutet:

Rate der Verteilung feiner Teilchen oder deren Konglomerate in anderen Stoffen derart, daß sie darin in Schwebe gehalten werden (Dispersität). Je kleiner der Wert, desto mehr dispergieren die Partikel, desto homogener ist ihre Größe. Es sind Werte von 0-9 möglich. 0 oder 1 beschreiben eine Suspension von im wesentlichen gleichgroßen Teilchen, während 8 oder 9 andeuten, daß es sich um eine sehr breite Verteilung von unterschiedlich großen, inhomogen Konglomeraten handelt und die Dispersität geringer ist.

Die Partikel der Rotring Tusche sind mit 185,5 nm kleiner als alle anderen, während die Partikel der Pelikantusche mit 197,9 nm die obere Grenze bilden. Die beiden Zubereitungen der Universitätsapotheke sind mit 191 nm bzw. 195 nm im mittleren Bereich angesiedelt. Die Polydispersität liegt bei Rotring, Endoink und Endoink lipos bei 3. Nur Pelikan hat eine Polydispersität von 2. Daraus folgt, daß auch die neue Tuschezubereitung eine relativ feine und homogene Partikelverteilung aufweist, und daß die Partikelgröße mit 191 bzw.195 nm zwischen den beiden handelsüblichen Produkten liegt.
Die neue Tusche zeigt in der Farbsättigung und in den Partikeleigenschaften ähnliche Ergebnisse wie die handelsübliche Tusche. Die Farbsättigung kann aber auch durch den Anteil an Rußpartikeln variiert werden.

3.2.3 Handhabung / Anwendung

Die neu entwickelten Tuschen Endoink und Endoink lipos sind besonders einfach zu handhaben. Dadurch, daß die Tuschen im Rezepturmaßstab von der Universitätsapotheke zubereitet werden, kann die für die Injektion benötigte Darreichungsform im voraus, dem genauen Bedarf entsprechend, bestimmt werden.
Diese Darreichungsformen sind:
10 ml Luer-Lock Fertigspritze mit Tusche gefüllt
20 ml Luer-Lock Fertigspritze mit Tusche gefüllt
10 ml Fläschchen mit Tusche, flüssig
10 ml Fläschchen mit Tusche, gefriergetrocknet
20 ml Fläschchen mit Tusche, flüssig
20 ml Fläschchen mit Tusche, gefriergetrocknet

Die Tusche wird steril filtriert und unter sterilen Bedingungen abgefüllt.
Daraus ergibt sich eine besonders einfache Handhabung und Lagerung der Tusche. Bei der Verwendung muß nur die steril verpackte Spritze entnommen werden und auf den Luer-Lock-Ansatz des ENI aufgesetzt werden. Nach dem Füllen des Katheters ist das System einsatzbereit. Bei den gefriergetrockneten Darreichungsformen ist es notwendig 10 ml bzw. 20 ml NaCl-

Lösung in das Fläschchen zu geben und die trockene Tusche aufzuschütteln. Anschließend werden die benötigten Spritzen aufgezogen und auf den Luer-Lock-Ansatz gesetzt.

3.2.4 Sicherheit

Unter Berücksichtigung, daß keine Aussage über die Wirkung der Tusche Endoink und Endoink lipos in lebendem Gewebe gemacht werden kann, sind folgende Aspekte in Bezug auf die Sicherheit zu nennen.

Die Zusammensetzung der Tusche besteht aus vollständig untoxischen Substanzen, diese werden durch das körpereigene Abwehrsystem problemlos abgebaut. Die Rußpartikel sind als reiner Kohlenstoff anzusehen und ebenfalls untoxisch. Der Farbstoff wird mit hoher Sicherheit immer in die richtige Schicht eingebracht, er dringt nicht in das Gefäßsystem ein und führt somit nicht zu einer Verunreinigung des Blutes. Es kommt auch nicht zu Gefäßverletzungen, die zu Blutungen führen könnten.

Zu Sicherheit trägt auch bei, daß die Zusammensetzung von Endoink und Endoink lipos genau bekannt ist und auch bei Bedarf variiert werden kann. Die Deckkraft im Gewebe entspricht genau der der handelsüblichen Tuschen. Die intraluminale Sichtbarkeit ist demnach über genau die gleichen Zeiträume (lebenslang) wie die bisher verwendeten Farbstoffe gegeben.

Die Langzeituntersuchungen zur Lagerung haben gezeigt, daß der Farbstoff sehr stabil ist. Auch nach mehreren Monate ist eine sofortige Einsatzfähigkeit und völlig problemlose Injektionen möglich. In der gefriergetrockneten Ausführung ist eine sehr lange Lagerungsfälligkeit gegeben und nach vorschriftsmäßiger Zubereitung auch eine sichere Handhabung vorhanden.

Als Ergebnis bleibt festzuhalten, daß Endoink und Endoink lipos eine hohe Sicherheit in Bezug auf die Zusammensetzung, die Sichtbarkeit, die Handhabung und den Schutz des Patienten bieten.

3.3 Morphologische und histologische Ergebnisse

Die morphologischen und histologischen Ergebnisse können in zwei Kategorien aufgeteilt werden. Erstens bewirkt der von der Injektionseinrichtung abgegebene Schuß eine mechanische Gewebeveränderung. Zweitens entstehen durch die Tusche und das dabei entstehende Depot Veränderungen innerhalb der verschiedenen Gewebeschichten und des Zellgefüges selbst.

3.3.1 Injektionseinrichtung

Ein scharf gebündelter Flüssigkeitsstrahl kann Gewebe durchdringen [69]. Im Fall des ENI ist jedoch kein Schneiden wie bei einem Jet-Skalpell [69] erwünscht, sondern ein Depot in der Lamina Submucosa oder in der Lamina Subserosa.

3.3.1.1 Gewebeschäden durch mechanische Faktoren

Hier sind die durch Druck, Flüssigkeitsstrahl und das Flüssigkeitsvolumen hervorgerufenen Gewebeschädigungen zu beachten.
Im unten dargestellten histologischen Schnitt (Abb. 12) durch humanes Colon zeigt sich entlang der Krypten innerhalb der Falte eine gefächerte Tuscheverteilung. Das Gewebe ist intakt, es sind keine Gewebeeinrisse oder längeren Gewebedurchtrennungen ersichtlich. Die Tusche dringt zwischen den Zellen hindurch in die Lamina Submucosa ein und bildet dort ein flaches Depot.

Abbildung 12: Gewebeschäden im Bereich der Mucosa (V=50)

In den Abbildungen 13 und 14 werden unter stärkerer Vergrößerung mögliche Schädigungen im Bereich der Lamina Submucosa ersichtlich. Es zeigt sich, daß Arterien, Venen und auch die kapillar Gefäße und kleine Lymphgefäße völlig unbeschädigt sind. Insbesondere in der Abbildung 14 wird dies deutlich. Die Tusche verteilt sich homogen direkt in der Lamina Submucosa. Eine Gewebeverdrängung durch die geringe Menge der injizieren Tusche ist bei keinem der

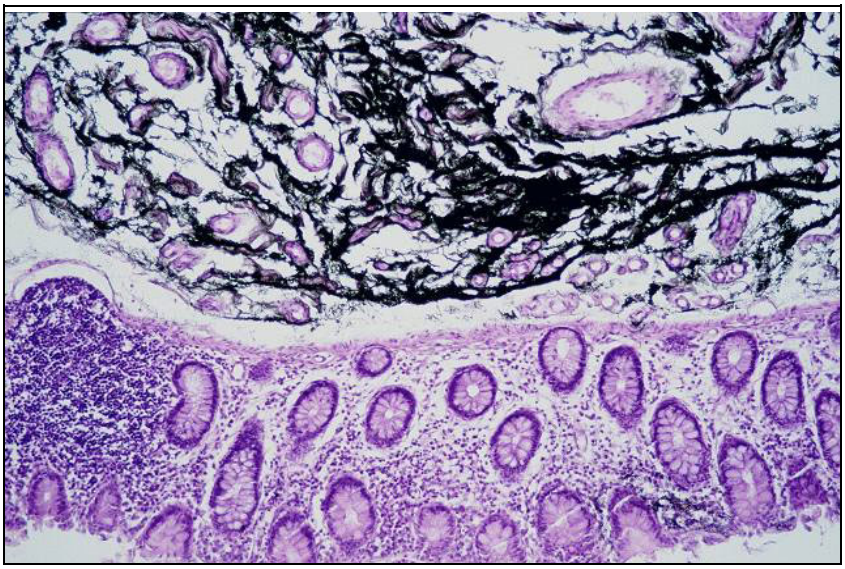

Abbildung 13: Tuschemarkierung im Bereich der Submucosa (V=100)

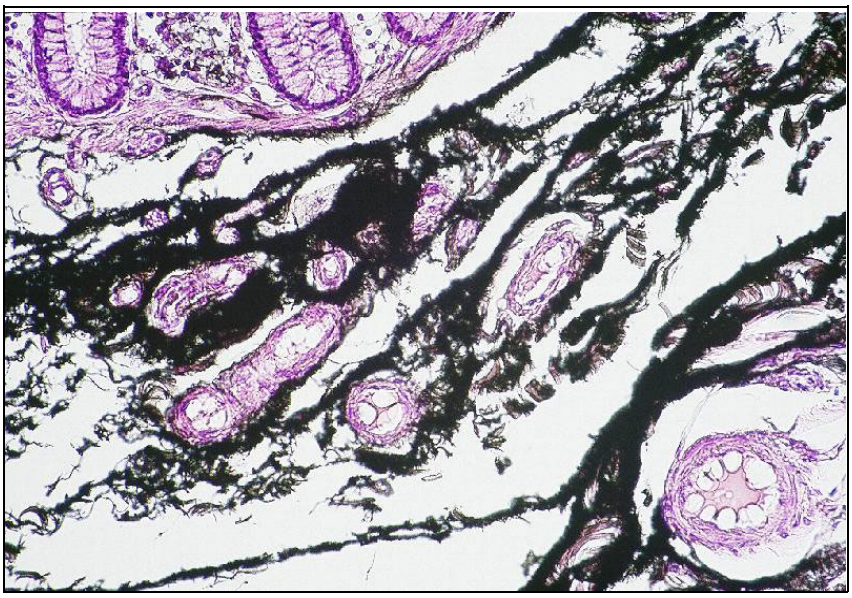

Abbildung 14: Tuschemarkierung im Bereich der Submucosa (V=200)

histologischen Schnitte ersichtlich. Erst bei einer wiederholten Injektion an derselben Stelle kommt es zu einem morphologisch großen Depot mit Gewebeverdrängung, aber ohne jede Gefäßwandverletzung.

3.3.1.2 Tuscheverteilung im Gewebe

Um eine gut sichtbare Markierung zu erhalten, muß die Tusche genau in der richtigen Wandschicht, der Submucosa gelegen sein. In der Abbildung 15 ist eine exakt submucös gelegene Markierung im histologischen Schnitt zu sehen. Die Markierung ist mittig

Abbildung 15: Tuscheverteilung in der Übersichtsvergrößerung (V=25)

innerhalb der Lamina Submucosa gelegen.

In der untendargestellten Abb. 16 wird noch einmal das Injektionsverfahren verdeutlicht. Die linke Zeichnung zeigt einen aus einer Düse austretenden Flüssigkeitsstrahl, der auf das Gewebe auftrifft und ein Depot in einer bestimmten, genau definierbaren Tiefe erzeugt. Die Markierungsflüssigkeit tritt dabei zwischen den einzelnen Zellen hindurch und sammelt sich in der betreffenden Schicht.

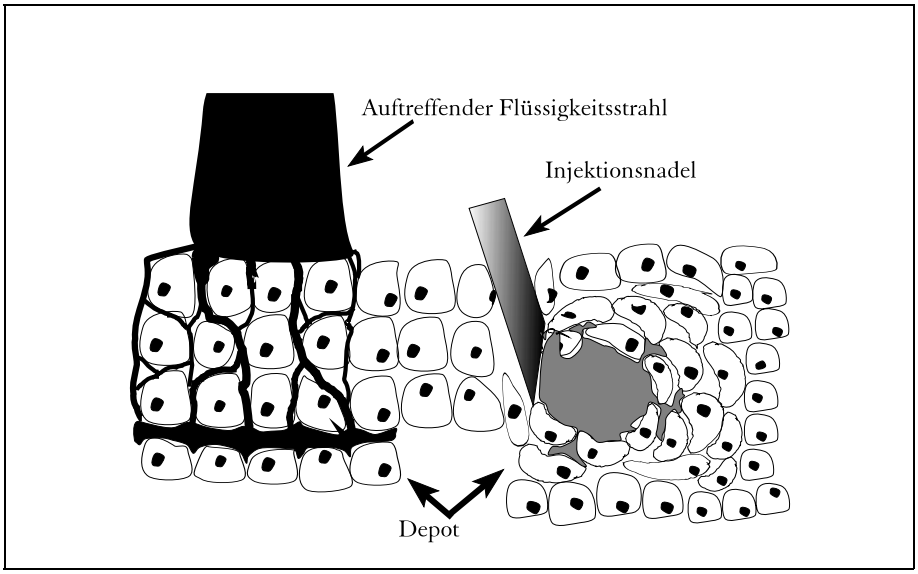

Abbildung 16: Injektion

Das Zellgefüge wird hierbei nur unwesentlich verändert, weil der Flüssigkeitseintritt über eine im Verhältnis zum Hohlnadeldurchmesser größere Fläche erfolgt. Die rechte Zeichnung zeigt die herkömmliche Injektion mit einer Injektionsnadel. Hierbei wird durch eine Injektion mit einer Injektionsnadel ein Depot gesetzt. Die Injektionstiefe ist abhängig von der Injektionstechnik des Endoskopikers, vom jeweiligen Kraftaufwand und von der Endoskopführung des Endoskopiepersonals. Das kann einerseits zu einer oberflächlichen Injektion führen und anderseits kann eine subseröse Injektion später weniger gut sichtbar sein. Schon bei der Injektion entsteht ein Stichkanal und das Zellgefüge wird zerstört. Durch das plötzliche Eindringen von Flüssigkeit werden die Zellen am Rande des Depots auseinander gedrängt, und es entstehen Risse im Bindegewebe.

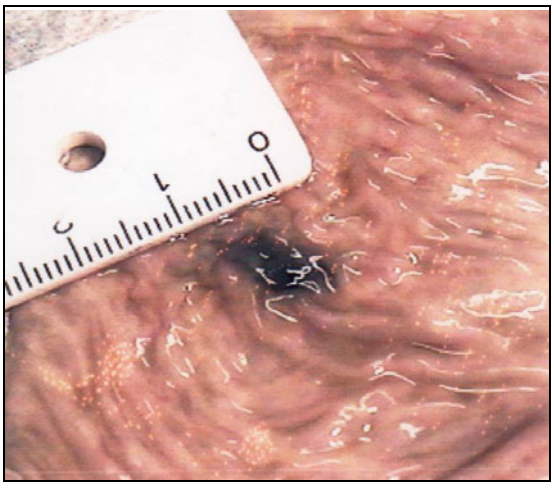

Abbildung 17: Größe einer einzelnen Tuschemarkierung

Abb. 17 zeigt die Größe einer einzelnen Tuschemarkierung im Colon. Der Durchmesser beträgt etwa einen halben Zentimeter und ist gut sichtbar.

Die Abbildung 18 zeigt die Depotbildung im histologischen Schnitt. Das Depot ist wenige mm groß, dabei wird das Gewebe verdrängt. Bei guter endoskopischer Sichtbarkeit kommt es nicht zu einer übermäßig großen Vorwölbung in das Darmlumen.

Abbildung 18: Depotbildung im Colon (V=50)

Eine subseröse Markierung ist in Abbildung 19 gezeigt. Hier findet sich neben der Tuschemarkierung der Submucosa auch ein kleiner Anteil Tusche in der Subserosa. Innerhalb der Muskularis ist trotz der Artefaktebildung der Verlauf der Tusche gut zu sehen. Das Depot ist un-

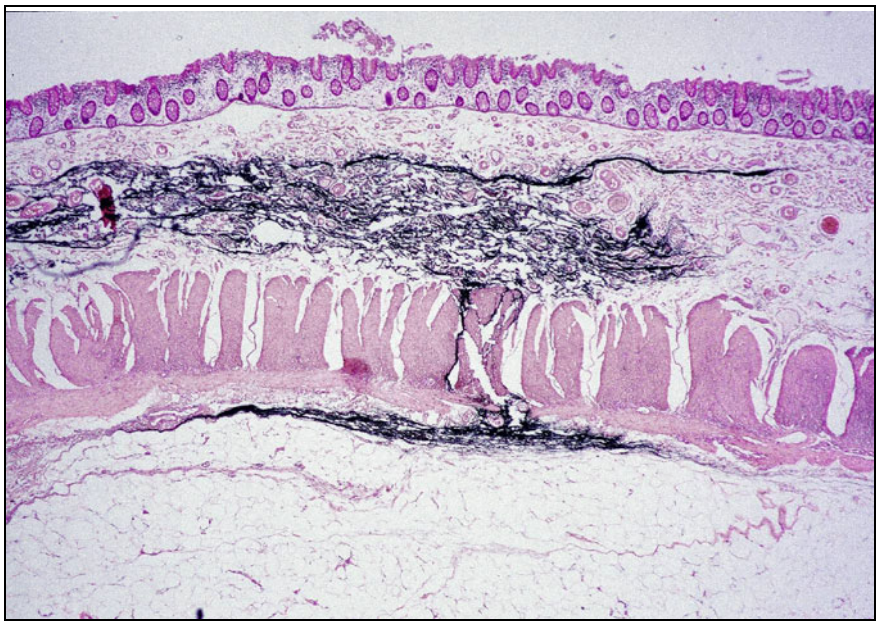

Abbildung 19: Submucöse Injektion mit Markierung der L. Subserosa (V=25)

mittelbar nach der Lamina Muskularis entstanden. Es ist davon auszugehen, daß die Tusche entlang eines selbstgeschaffenen "Kanals" durch die Muskularis dringt und sich erst nach Erreichen der bindegewebigen Serosa zirkuläre horizontal verteilt.
Es ist anzunehmen, daß es bedingt durch die relative Festigkeit der einzelnen Muskelfasern nicht zu einem Depot in der Muskelschicht selbst kommt. Zeichen einer Perforation sind nicht zu erkennen. Diese Markierung ist bei einem chirurgischen Eingriff sehr gut zu sehen.

3.3.2 Tusche

Die Abb. 21 zeigt eine Übersicht über Tätowierungen im Colon. Deutlich sind die einzelnen Markierungen zueinander abgrenzbar. Sowohl die serösen Markierungen als auch die submucösen Markierungen sind zuerkennen. Die Größe der Depots wird durch die Anzahl der aufeinanderfolgenden Schüsse bestimmt. In Abbildung 20 sind durchschnittlich jeweils fünf Schüsse

Abbildung 20: Übersicht Tuschemarkierung
oberer Teil: Markierungen in der Serosa
unten links: Submucosamarkierung
pro Markierung ca. 5 Schüsse

abgegeben worden.
Die Depots sind nahezu kreisrund und scharf von der Umgebung abgrenzbar.

3.3.2.1 Sichtbarkeit

Aus endoskopischer Sicht zeigt sich ebenfalls eine klar umschriebene deutlich die Submucosa anfärbende schwarz-bläuliche Markierung. In Abbildung 21 ist eine ENI-Markierung nach mehreren aufeinanderfolgenden Schüssen zu sehen. Die Mucosa ist nur mäßig vorgewölbt, die Markierung ist scharf begrenzt, und es ist keine Tusche im Lumen vorhanden.

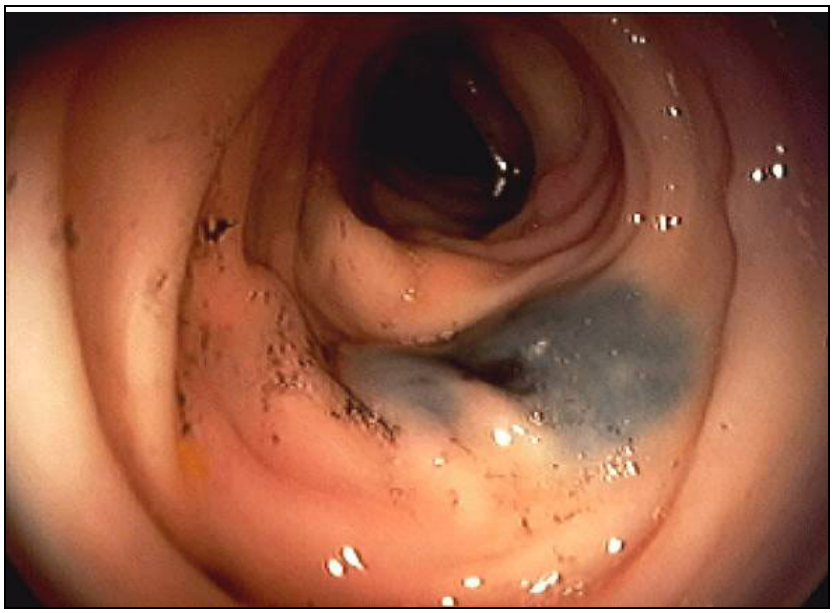

Abbildung 21 ENI Markierung im Colon; endoskopische Sicht

In der nächsten Abbildung 22 ist nochmals die horizontale Tuscheverteilung in der Submucosa zu erkennen. Auch nach der histologischen Aufarbeitung zeigt sich, daß die Tusche als deutlich sichtbare, tief schwarze Substanz zurückbleibt.
Die Tuscheverteilung nimmt zu den Rändern des Depots hin sichtbar ab.

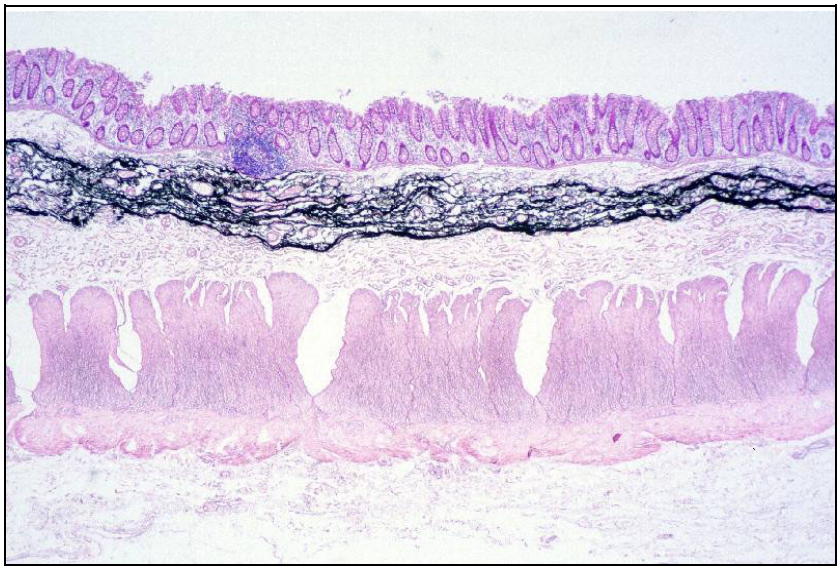

Abbildung 22: Tuschemarkierung in der Submucosa (V=25)

3.3.2.2 Eindringtiefe und Eindringweg

Der aus der Düse austretende Strahl breitet sich kegelförmig aus. Daher ist im histologischen Schnitt (Abb. 23, rote Pfeile) ein fächerförmiges Eindringen der Tusche in das Gewebe zu beobachten.

Abbildung 23: Eindringweg, fächerförmig (rote Pfeile) (V=50)

Die Tusche durchdringt die Lamina Mucosa und verteilt sich in der Submucosa. Die Verteilung

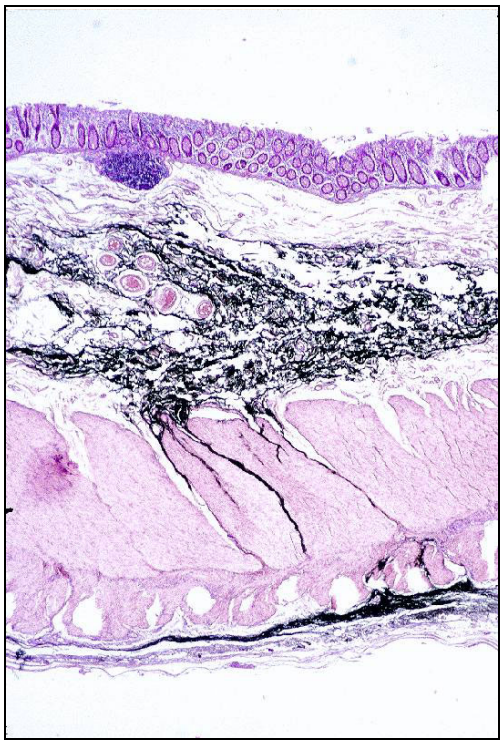

Abbildung 24: Tuschemarkierung in der Serosa (V=25)

ist kreisförmig, horizontal und bis zu 5 mm im Durchmesser messend (siehe Abb. 17). Bei Schüssen mit höherer Energie (siehe Abb. 19 und 24) durchdringt die Tusche die Muskularis und lagert sich in der Subserosa ein. Wie weiter oben beschrieben durchdringt die Tusche die Muskelfasern entlang umschriebener Wege, um dann in der bindegewebigen Serosa ein weiteres Depot zu bilden. Das Depot entsteht unmittelbar am Übergang Muskularis zu Serosa (Abb. 24). Bei stärkerer Vergrößerung zeigt sich kein Hinweis auf eine Perforation. Makroskopisch ist in Abbildung 25 die zweifache seröse Markierung des Colon zusehen. Auch bei den frischen Operationspräparaten ist bei keinem Schuß eine Perforation aufgetreten.

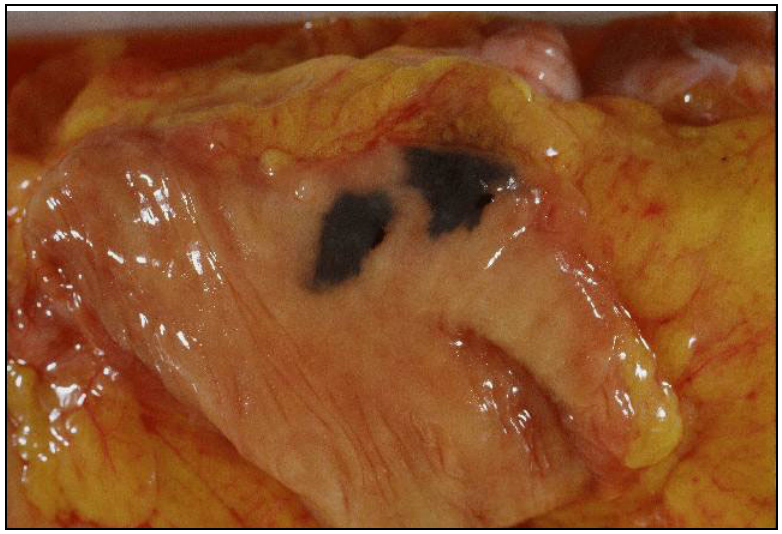

Abbildung 25: ENI Markierung in der Serosa (OP-Präparat)

Als Beispiel für mißlungene Nadelinjektion steht die Abb. 26. Sie stellt die intraluminale Verdunkelung bei frühzeitigem Zurückziehen der Nadel dar. Die Sicht wird sofort getrübt und der Darm ist durch die Tusche schwarz gefärbt. Es ist kein sinnvolles Arbeiten mehr möglich.

Abbildung 26: Tuschesee im Colon

Auf der Abb. 27, ist die großflächige, überschießende Organmarkierung zusehen. Hier kann nicht von einer exakten Tumormarkierung ausgegangen werden. Die Markierung geht weit über die kleine Kurvatur hinaus und behindert den Chirurgen bei der Durchführung einer sicheren Operation. Eine überschießende Markierung eines Organs kann die Operationsbedingungen erschweren.

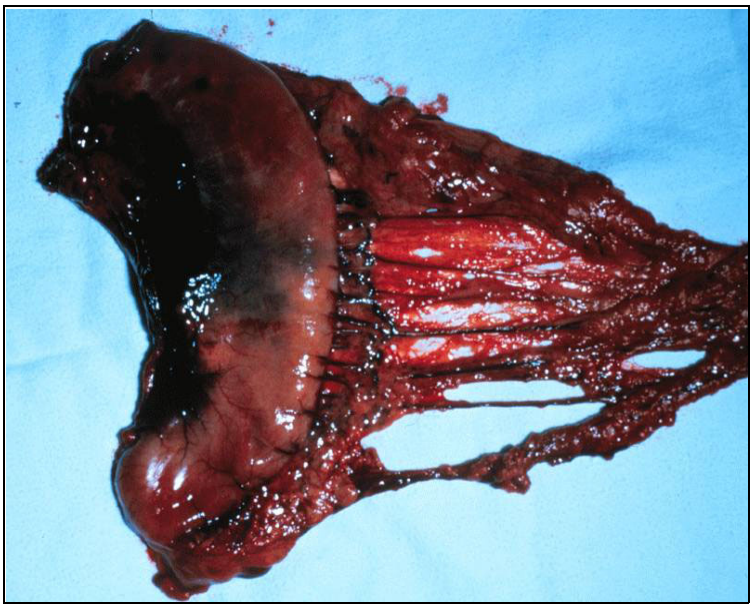

Abbildung 27: Großflächige Magenmarkierung

3.4 Statistik

3.4.1 Grafische und numerische Auswertung der einzelnen Schußsequenzen

Zur statistischen Auswertung wird das Modell der logistischen Regression gewählt. Hierbei wird versucht, die abhängige Variable (Y; Ja/nein) durch mehrere unabhängige Variablen (oder Prädiktoren; $X_1 ... X_n$) zu beschreiben. Abhängige Variablen sind Depotbildung, Perforation und Überlauf, deren Auftreten jeweils mit ja oder nein bewertet werden. Prädiktoren sind Federdruck, Düsendurchmesser und Entfernung zum Gewebe, diese können variiert werden. Für jede Ausprägung der Prädiktoren erhält man so eine Vorhersage für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines interessanten Ereignisses der abhängigen Variable.
Die notwendige Überprüfung des Modells erfolgt mittels in der Statistik üblicher Modelltests, die dazu dienen, die Zulässigkeit der Daten für das Modell zu überprüfen. Anschließend können Signifikanztests durchgeführt werden, um zu zeigen, ob alle unabhängigen Variablen (Prädiktoren) gemeinsam einen signifikanten Einfluß auf die abhängigen Variablen haben.
Die Statistik gliedert sich in drei Bereiche. Zuerst wird die grafische Auswertung dargestellt, als nächstes werden alle p-Werte tabellarisch aufgelistet, und zuletzt werden die Berechnungen der logistischen Regressionsanalyse abgehandelt.

Die grafische Auswertung:
Mit dem Kontur-Plot lassen sich gut die Beziehungen zwischen den einzelnen Parametern darstellen.
Beispielsweise ist in Abb. 28 die **Depotentstehung** bei einem Düsendurchmesser von 0,5 mm in Abhängigkeit von Entfernung und Federkraft dargestellt.
Die Auftrittswahrscheinlichkeit der Ereignisse sind farblich unterteilt.
Rot ($p <= 0{,}1$) bedeutet eine **niedrige** Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des Ereignisses (Depot, Perforation, Überlauf).
Lila ($p > 0{,}81$) bedeutet ein **hohe** Auftrittswahrscheinlichkeit des Ereignisses.

Auswertung:

Abb. 28/29/30:

Über 80% Wahrscheinlichkeit, daß ein **Depot** entsteht bei einer Federstärke von 32, 8 bar bei den Düsendurchmessern von 0,5 und 0,2 mm über allen Abständen. Bei der 0,15 mm Düse bildet sich nur bei der 23,1 bar Feder ein sicheres Depot (< 81%) bei Abständen zwischen -1 und 1 mm vom Gewebe.

Ein gut sichtbares Depot entsteht bis zu einem Federdruck von 32,8 bar und einer Düse von 0,2 - 0,5 mm Durchmesser. Hierbei sind Abstände von bis zu 3 mm vom Gewebe möglich.

Abb. 31/32/33:

Weniger als 20% Wahrscheinlichkeit, daß eine Perforation auftritt bei der 23,1 bar Feder und allen drei Düsendurchmessern. Bei zunehmendem Abstand verringert sich auch die Perforationswahrscheinlichkeit (Abb. 31). Für die 32,8 bar Feder liegt ein unter 45% betragendes Risiko zur Perforation vor. Eine Ausnahme bildet bei einem Abstand von 0,5 mm die 0,2 mm Düse, hier ist das Risiko gleichbleibend zwischen 18% und 27%.

Bei zunehmendem Abstand vom Gewebe verringert sich die Perforationswahrscheinlichkeit. Ab einem Federdruck von mehr als ca. 37 bar treten in über 50% der Fälle Perforationen auf.

Abb. 34/35/36:

Hier ist bei der 0,5 mm Düse insgesamt eine sehr geringe Überlaufwahrscheinlichkeit gegeben. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Fallzahlen geringer sind als bei den anderen Düsendurchmessern.

Bei der 0,20 mm Düse zeigt sich überraschenderweise bei einem Abstand von 0,5 - 1,0 mm die geringste Wahrscheinlichkeit für einen Überlauf. Der benötigte Federdruck beträgt zwischen 23,1 und 32,8 bar.

Bei der 0,2 mm Düse nimmt der Überlauf mit steigendem Federdruck zu. Ebenso steigt die Überlaufwahrscheinlichkeit bei Abständen zwischen 0 und 0,5 mm und größer 1 mm an.

Das Bild kehrt sich bei der 0,15 mm Düse um. Hier liegt bei den kleinen Federdrücken eine deutliche Überlaufwahrscheinlichkeit vor. Ab einem Druck von mehr als 100 bar tritt weniger Überlauf auf.
Für die 0,5 und 0,2 mm Düse gilt, daß eine geringe Überlaufwahrscheinlichkeit bei den Federdrücken von 32,8 bar oder weniger und bei Abständen um 0,5 bis 1mm vorliegen.

Aus Tabelle 5 geht hervor, daß die Wechselwirkungen zwischen Federstärke, Düsendurchmesser und Abstand zum Gewebe zum Teil signifikant in ihrer Auswirkung auf Depotentstehung, Perforation oder Überlauf sind (**Effect Likelihood-Ratio Tests**).

Zusammenfassung:

Nach der statistischen Auswertung ergibt sich folgende Kombination:

- **Düsendurchmesser: zwischen 0,5 und 0,2 mm**
- **Federstärke: zwischen 23,1 und 32,8 bar (entspricht 45,2 und 64,4 N)**
- **Abstand: zwischen 0,5 und 1 mm**

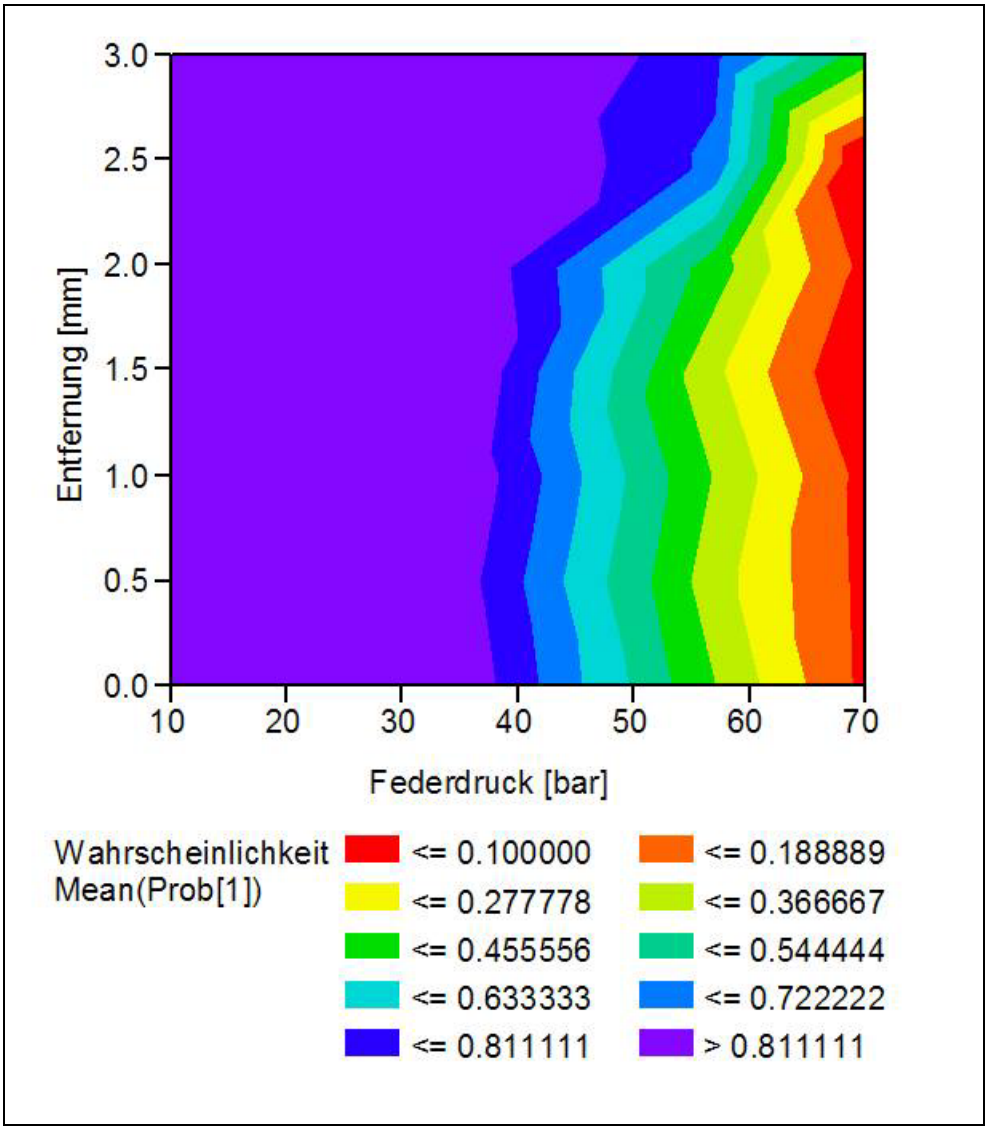

Abbildung 28:Depotentstehung bei einem Düsendurchmesser von 0,5 mm

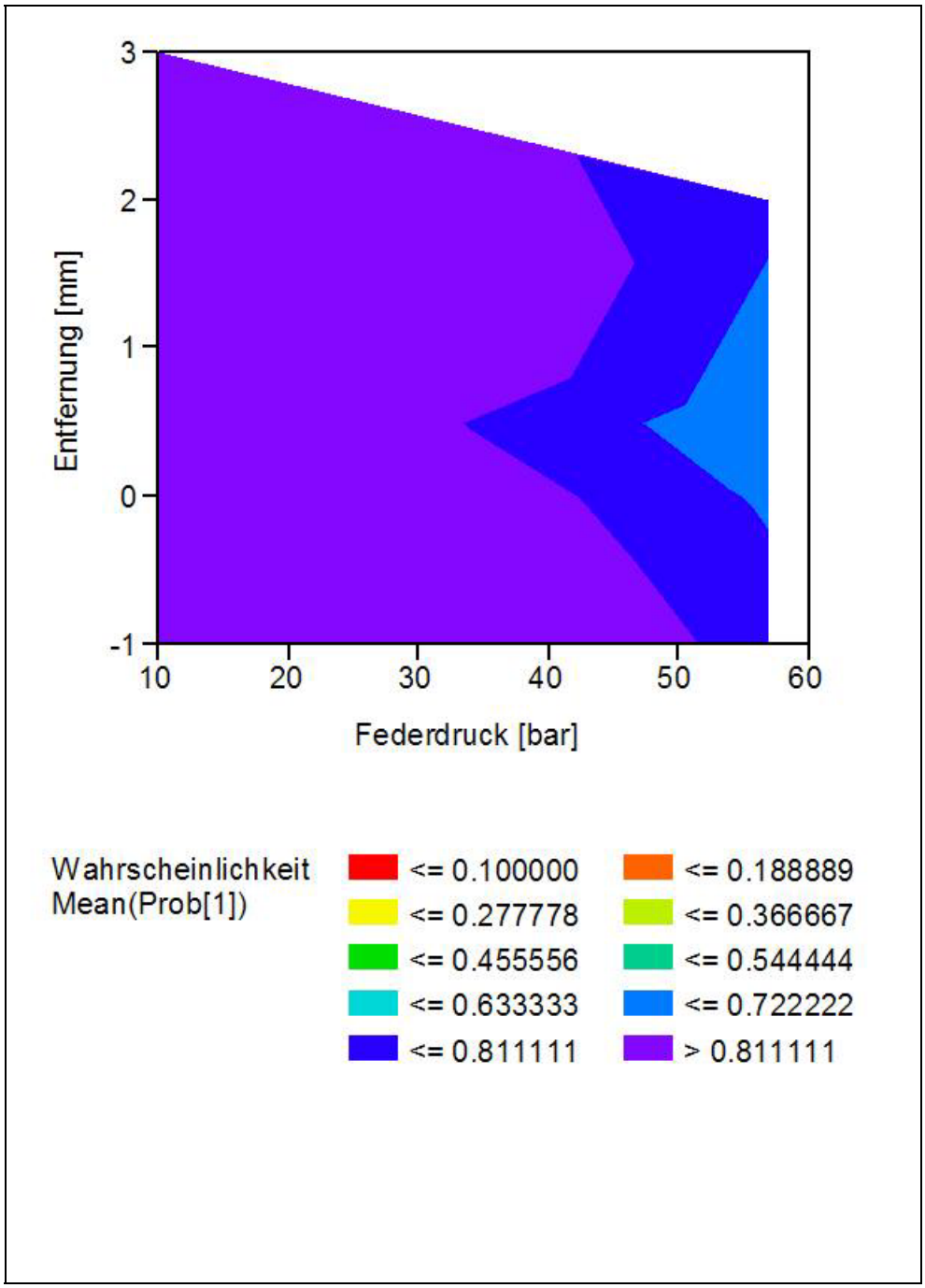

Abbildung 29: Depotentstehung bei einem Düsendurchmesser von 0,2 mm

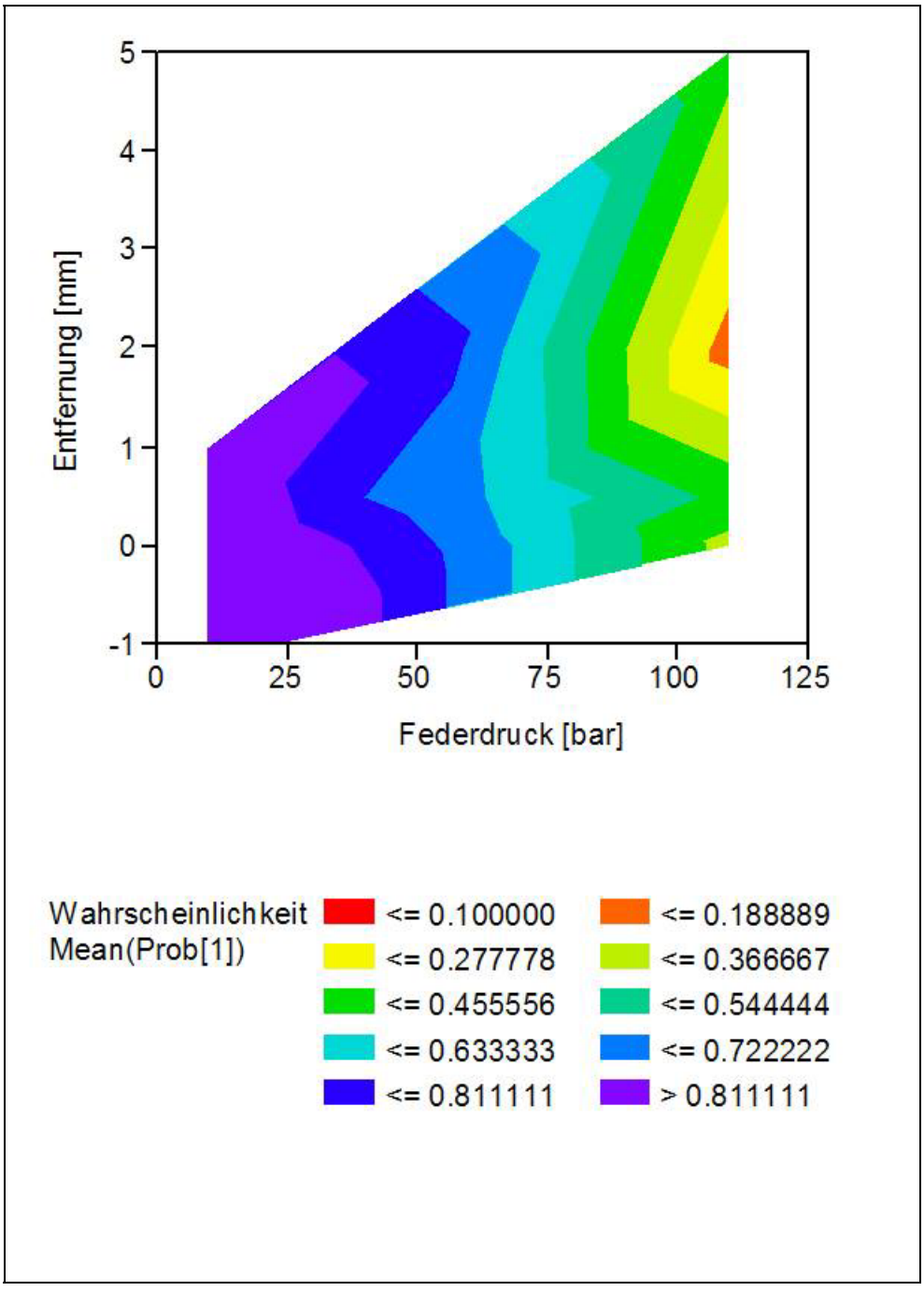

Abbildung 30: Depotentstehung bei einem Düsendurchmesser von 0,15 mm

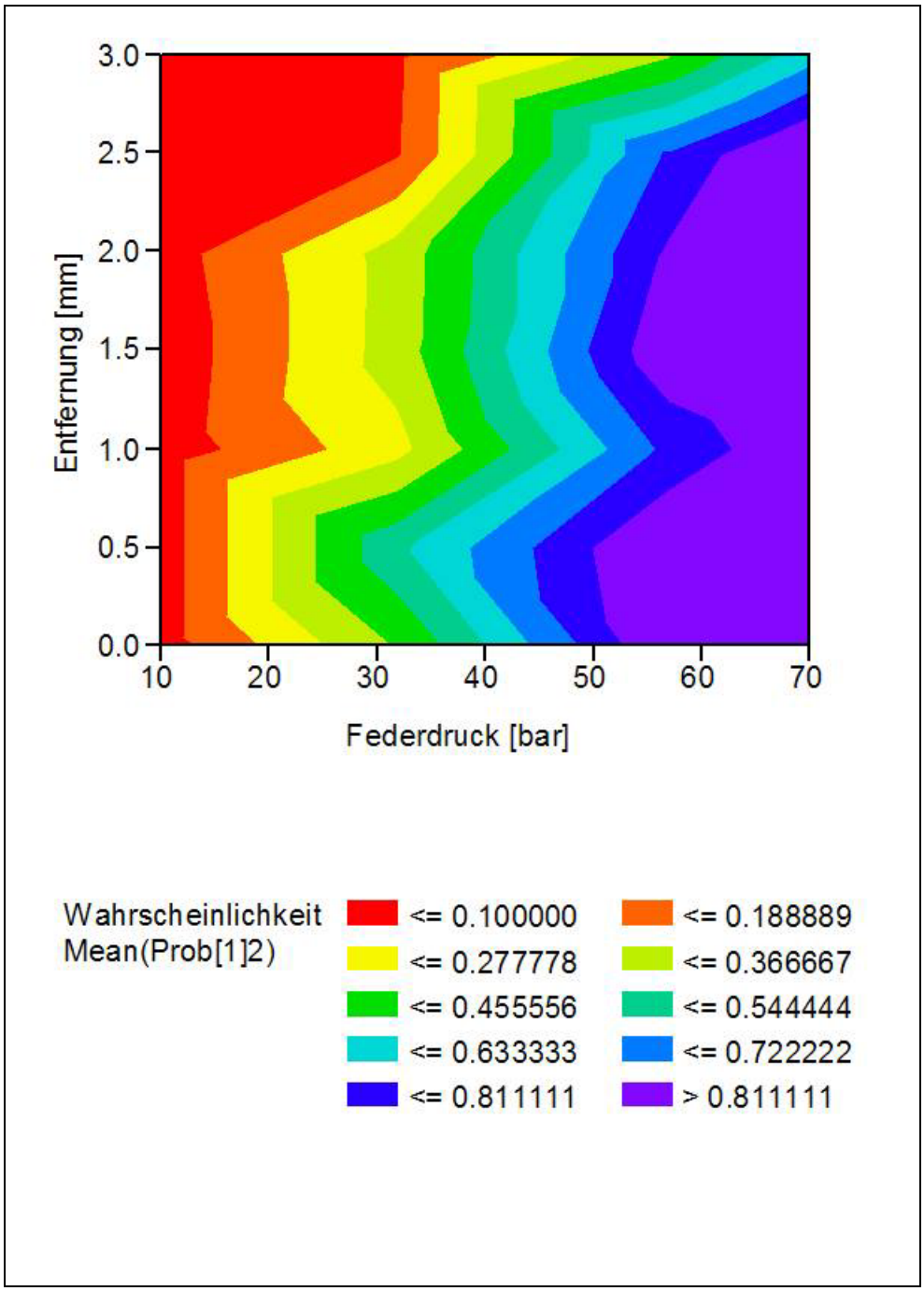

Abbildung 31: Perforationswahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0.50mm

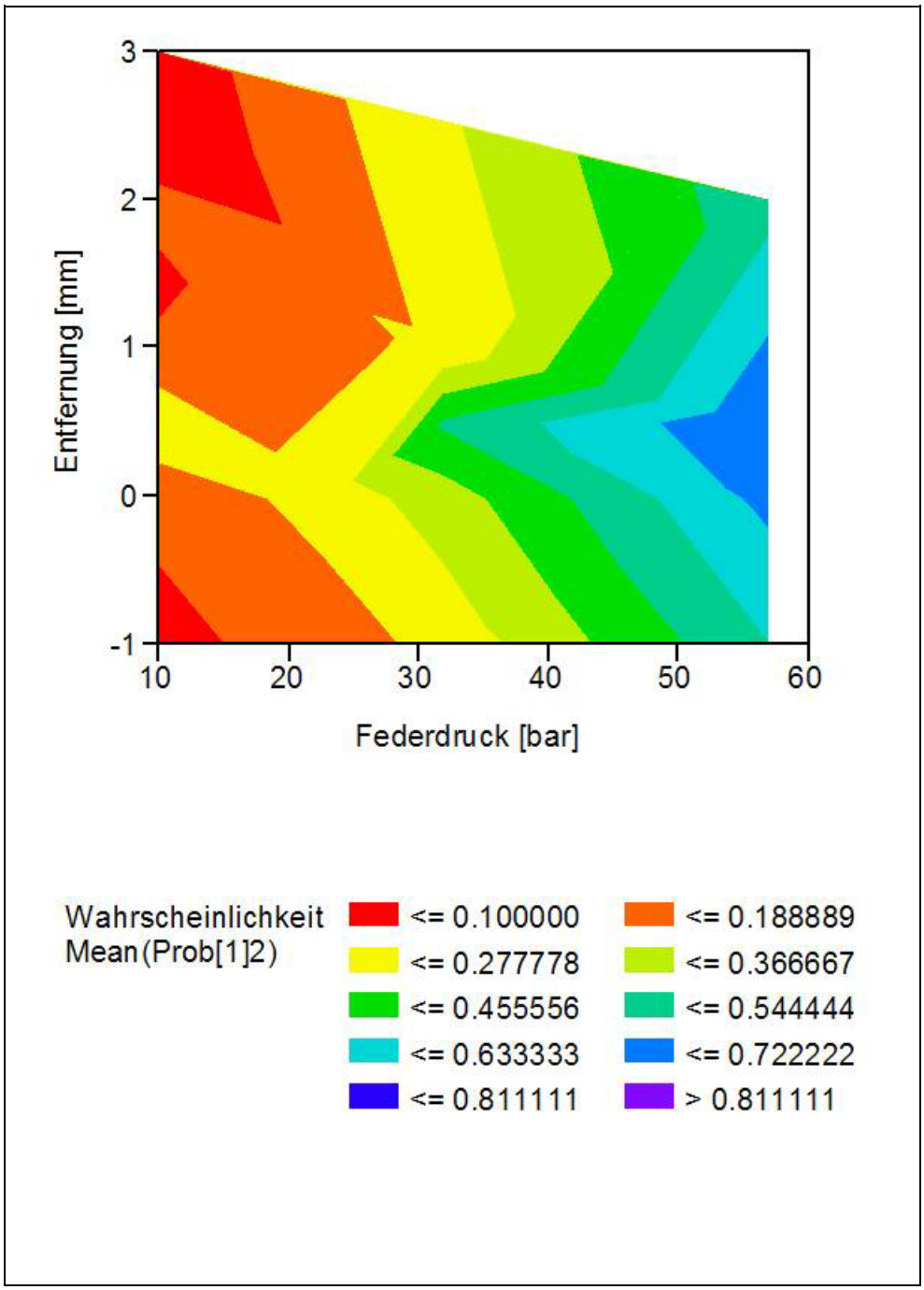

Abbildung 32: Perforationswahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0.20 mm

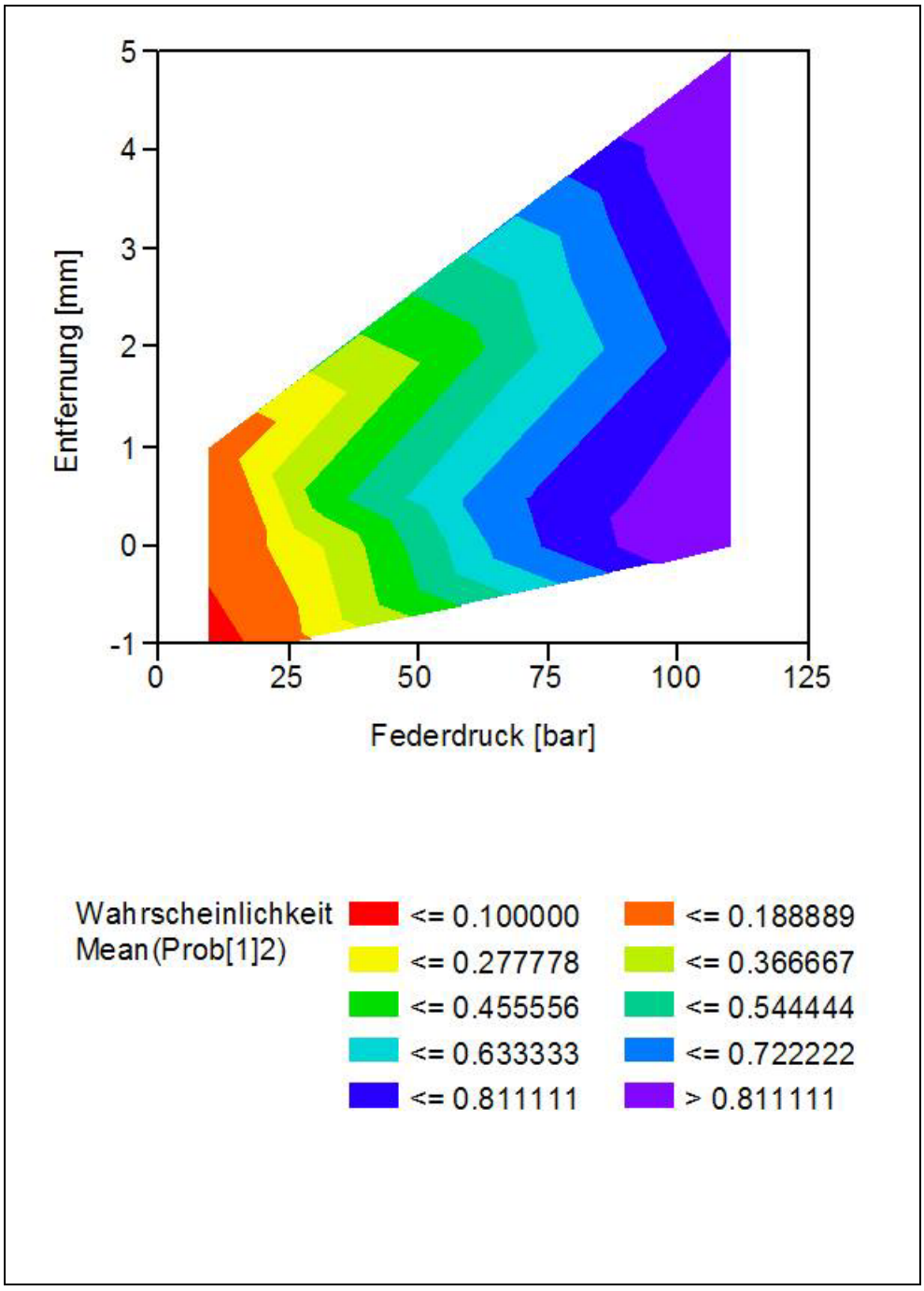

Abbildung 33: Perforationswahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0.15mm

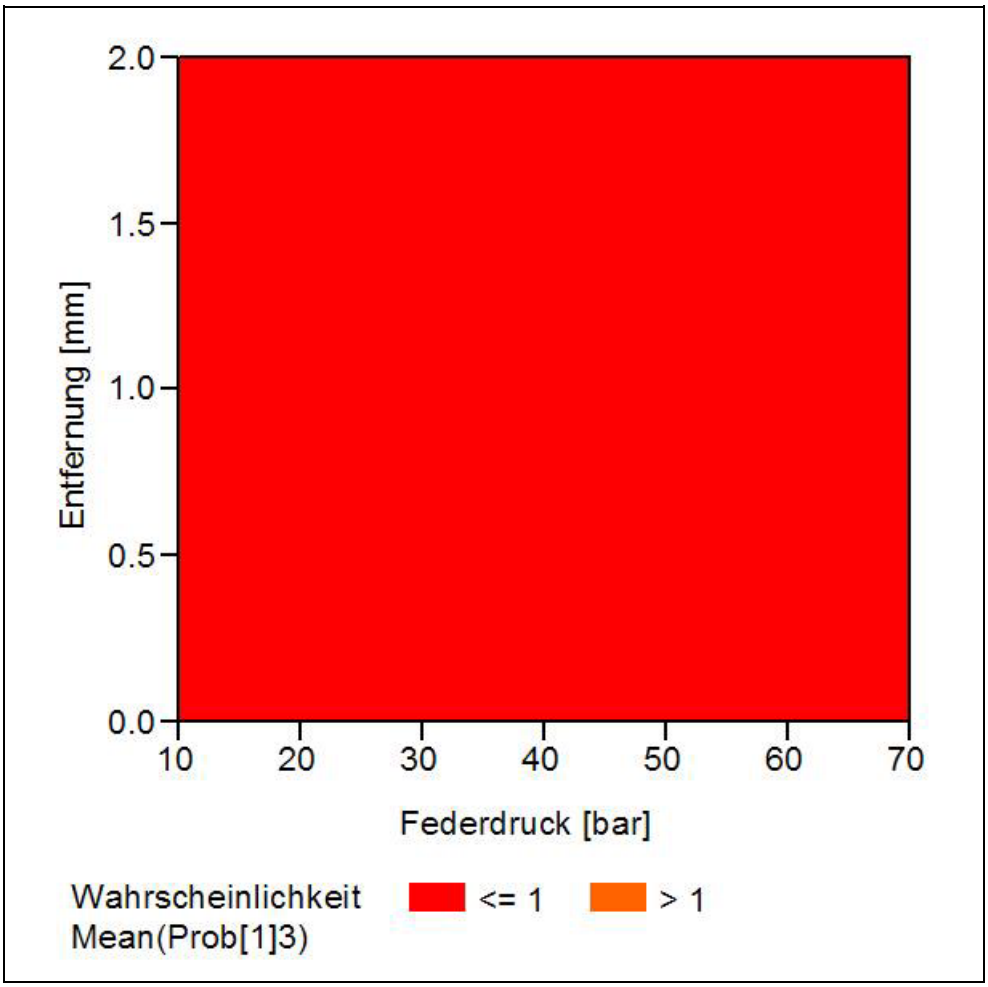

Abbildung 34: Überlaufwahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0,50 mm

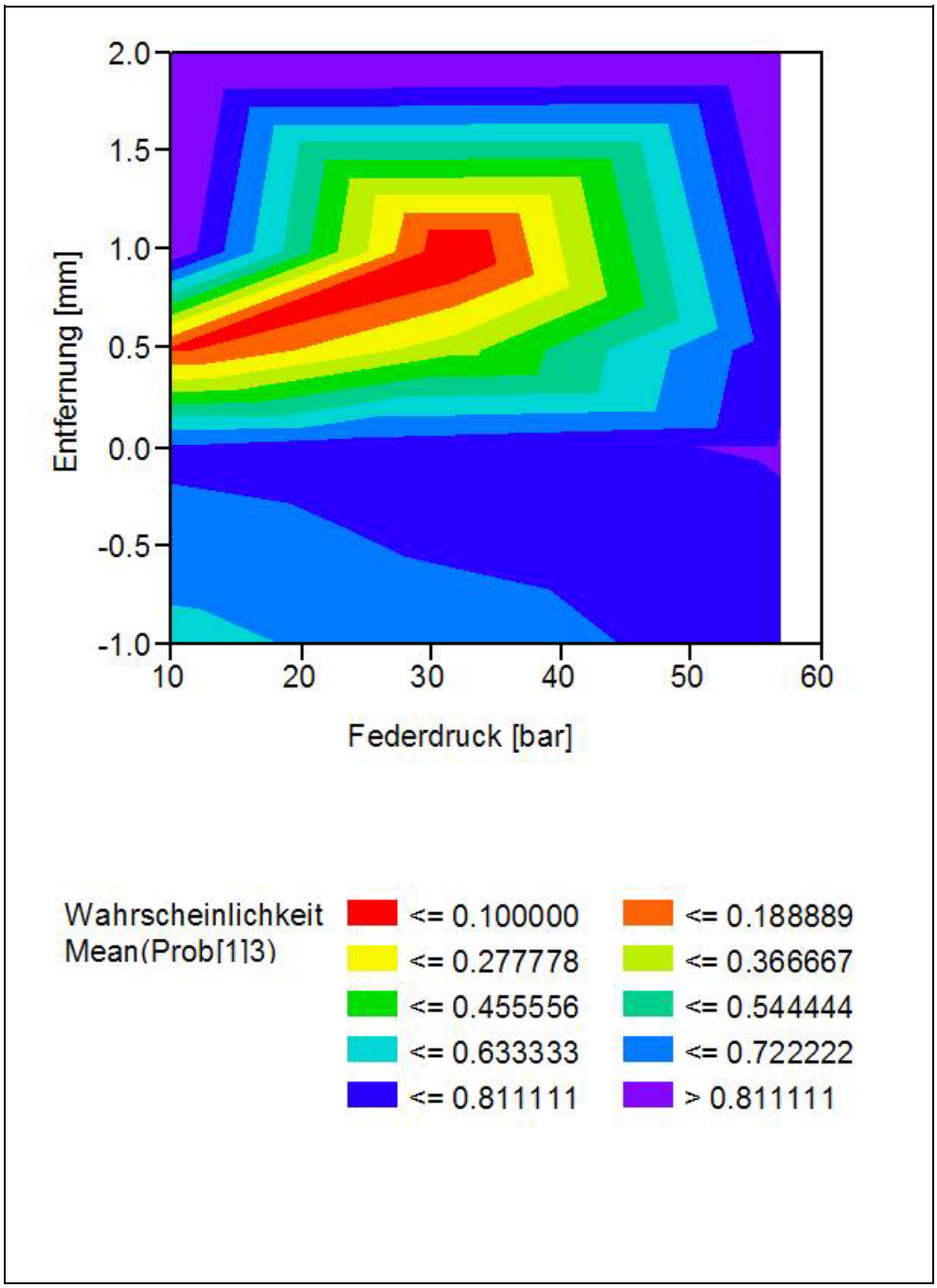

Abbildung 35:Überlaufwahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0,20 mm

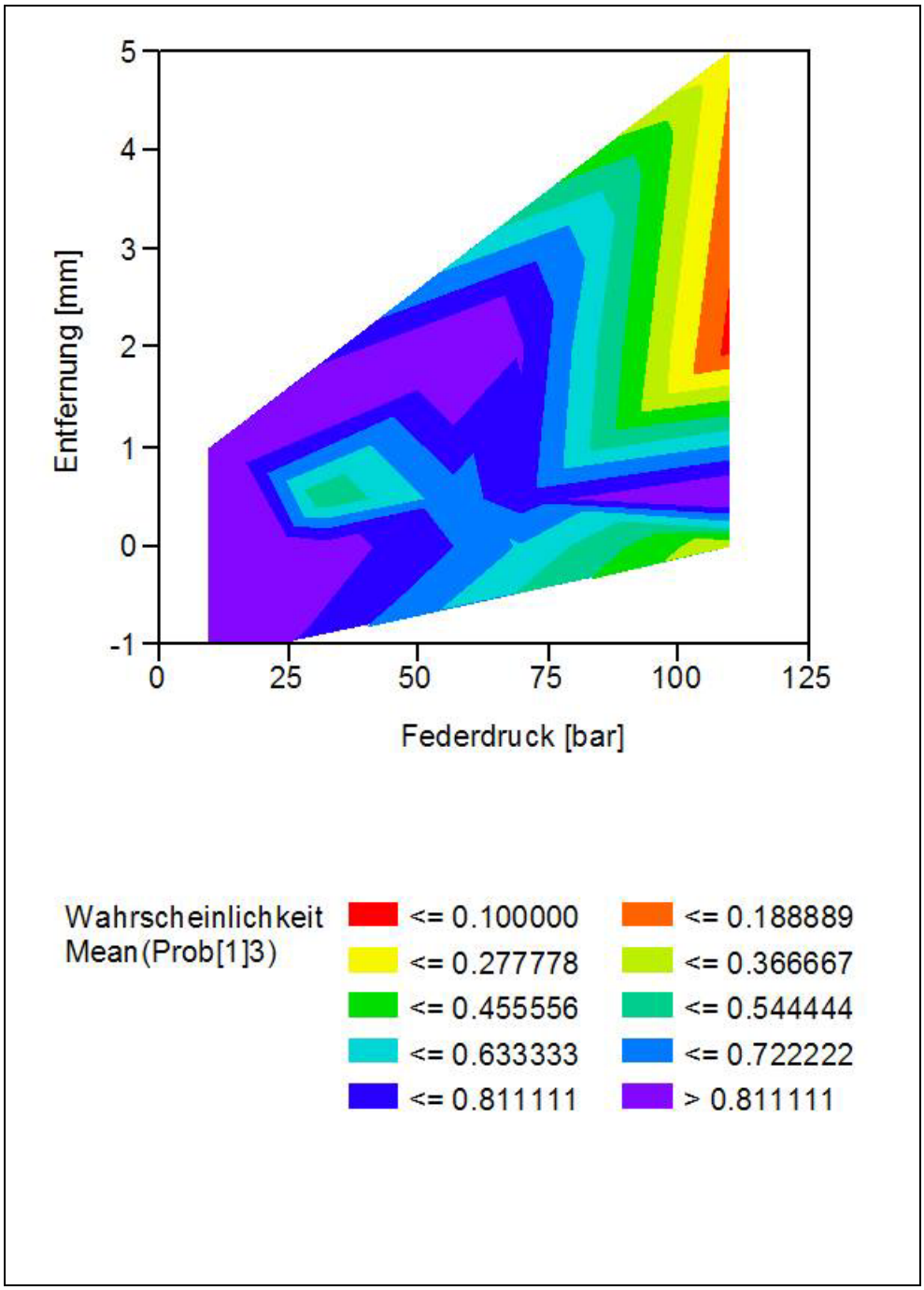

Abbildung 36: Überlaufwahrscheinlichkeit bei einem Düsendurchmesser von 0,15 mm

Düse [mm]	Feder [bar]	Entfernung [mm]	N Rows	Depot	Perforation	Überlauf
0.10	**72,1**	0.0	10	0.65749	0.564346	0.999978
0.10	72,1	0.5	9	0.641437	0.583287	0.999989
0.10	72,1	2.0	10	0.628707	0.373991	0.999992
0.15	**10**	-1.0	7	0.978732	0.07074	0.875489
0.15	10	0.0	11	0.907164	0.11974	0.932275
0.15	10	1.0	3	0.940635	0.106367	0.974498
0.15	**23,1**	-1.0	16	0.957157	0.126232	0.828884
0.15	23,1	0.0	16	0.869252	0.201109	0.896887
0.15	**32,8**	0.0	10	0.83586	0.278232	0.863574
0.15	32,8	0.5	10	0.75132	0.416911	0.465482
0.15	**58,2**	0.0	20	0.708296	0.557356	0.723619
0.15	58,2	0.5	10	0.659737	0.620753	0.680981
0.15	58,2	2.0	10	0.743246	0.408224	0.945405
0.15	**72,1**	0.0	16	0.62293	0.699718	0.623264
0.15	72,1	0.5	18	0.606227	0.715738	0.772856
0.15	72,1	2.0	8	0.59304	0.517993	0.818757
0.15	**102,8**	0.0	10	0.335596	0.939338	0.28719
0.15	102,8	0.5	9	0.430898	0.904527	0.934565
0.15	102,8	2.0	5	0.149907	0.807843	0.067447
0.15	102,8	5.0	5	0.4	0.999726	0.2
0.20	**10**	-1.0	15	0.99016	0.072587	0.602454
0.20	10	0.0	39	0.955293	0.122698	0.747907
0.20	10	0.5	10	0.907072	0.26182	0.078568
0.20	10	1.0	37	0.971948	0.109035	0.891722
0.20	10	1.5	10	1	0.086075	.
0.20	10	2.0	20	0.986962	0.124957	0.997924
0.20	10	2.5	20	1	0.013914	.
0.20	10	3.0	10	0.959128	0.043425	.
0.20	**23,1**	-1.0	20	0.975209	0.142259	0.650519
0.20	23,1	0.0	48	0.921298	0.224203	0.769713

0.20	**32,8**	-1.0	18	0.953553	0.218103	0.682152
0.20	32,8	0.0	40	0.885288	0.323252	0.784015
0.20	32,8	0.5	20	0.820746	0.469765	0.333062
0.20	32,8	1.0	30	0.907947	0.209587	0.000014
0.20	**58,2**	-1.0	3	0.771278	0.541755	0.76117
0.20	58,2	0.0	18	0.708106	0.658559	0.820313
0.20	58,2	0.5	10	0.659531	0.714877	0.788226
0.20	58,2	2.0	10	0.743071	0.513778	0.967943
0.50	**10**	0.0	10	0.998238	0.054194	1
0.50	10	1.0	10	0.998913	0.047745	1
0.50	10	1.5	10	1	0.037153	.
0.50	10	2.0	10	0.999502	0.055272	1
0.50	10	2.5	20	1	0.005748	.
0.50	10	3.0	10	0.998396	0.018259	.
0.50	**32,8**	0.0	10	0.957764	0.374835	1
0.50	32,8	0.5	10	0.930814	0.526538	1
0.50	32,8	1.0	10	0.966646	0.249726	1
0.50	32,8	1.5	10	1	0.317618	.
0.50	32,8	2.0	10	0.979696	0.313862	1
0.50	32,8	2.5	10	1	0.093271	.
0.50	32,8	3.0	10	0.980936	0.084243	.
0.50	**58,2**	0.0	10	0.369132	0.896281	1
0.50	58,2	0.5	10	0.318441	0.918256	1
0.50	58,2	1.0	10	0.363291	0.740955	1
0.50	58,2	1.5	10	0.299999	0.887449	.
0.50	58,2	2.0	10	0.410922	0.825609	1
0.50	58,2	2.5	10	0.7	0.730484	.
0.50	58,2	3.0	10	0.751768	0.361363	.
0.50	**72,1**	0.0	10	0.080341	0.971914	1
0.50	72,1	0.5	10	0.075282	0.973953	1

0.50	72,1	1.0	10	0.06891	0.897474	1
0.50	72,1	1.5	10	0.000034	0.971705	.
0.50	72,1	2.0	10	0.071546	0.941035	1
0.50	72,1	2.5	10	0.000071	0.936921	.
0.50	72,1	3.0	10	0.409772	0.59271	.

Tab. 4: Gesamttabelle der p-Werte

Berechnungen zur Überlaufwahrscheinlichkeit

Schätzwerte (Parameter Estimates)

Term		Estimate	Std Error	ChiSquare	Prob>ChiSq	Odds Ratio
Intercept	Unstable	426.855061	40738254	0.00	1.0000	2.4032e185
Düse [mm]	Unstable	832.963403	3477.0615	0.06	0.8107	1.49672e36
Feder [bar]	Unstable	-4.3215408	370347.77	0.00	1.0000	2.079e-188
Entfernu[-1.0-5.0]	Unstable	-503.03405	40738254	0.00	1.0000	0
Entfernu[0.0-5.0]	Unstable	-503.7723	40738254	0.00	1.0000	0
Entfernu[0.5-5.0]	Unstable	-499.5111	40738254	0.00	1.0000	0
Entfernu[1.0-5.0]	Unstable	-510.93558	40738254	0.00	1.0000	0
Entfernu[2.0-5.0]	Unstable	-509.54039	40738254	0.00	1.0000	0
Düse [mm*Feder [b		-0.8896457	0.3061272	8.45	0.0037	0.0000016
Feder [b*Entfernu[-1.0-5.0]	Unstable	4.48365279	370347.77	0.00	1.0000	¥
Feder [b*Entfernu[0.0-5.0]	Unstable	4.49030009	370347.77	0.00	1.0000	¥
Feder [b*Entfernu[0.5-5.0]	Unstable	4.41912459	370347.77	0.00	1.0000	¥
Feder [b*Entfernu[1.0-5.0]	Unstable	5.10453048	370347.77	0.00	1.0000	¥
Feder [b*Entfernu[2.0-5.0]	Unstable	4.55835101	370347.77	0.00	1.0000	¥
Düse square	Unstable	-2266.7805	9934.1812	0.05	0.8195	2.9275e-30

Effect Test

Source	Nparm	DF	Wald ChiSquare	Prob>ChiSq
Düse [mm]	1	1	0.057389	0.8107
Feder [bar]	1	1	0.000000	1.0000
Entfernung [mm]	5	5	76.139513	0.0000
Düse [mm]*Feder [bar]	1	1	8.445599	0.0037
Feder [bar]*Entfernung [mm]	5	5	24.545242	0.0002
Düse square	1	1	0.052066	0.8195

Effect Likelihood-Ratio Tests

Source	**Nparm**	**DF**	**L-R ChiSquare**	**Prob>ChiSq**
Düse [mm]	**1**	**1**	**18.791229**	**0.0000**
Feder [bar]	**1**	**1**	**0.000000**	**1.0000**
Entfernung [mm]	**5**	**5**	**63.509199**	**0.0000**
Düse [mm]*Feder [bar]	**1**	**1**	**9.361750**	**0.0022**
Feder [bar]*Entfernung [mm]	**5**	**5**	**85.976294**	**0.0000**
Düse square	**1**	**1**	**16.220374**	**0.0001**

Berechnungen zur Perforationswahrscheinlichkeit

Schätzwerte (Parameter Estimates)

Term		Estimate	Std Error	ChiSquare	Prob>ChiSq	Odds Ratio
Intercept	Unstable	-6.1932997	6086530.2	0.00	1.0000	0.00204307
Düse [mm]		-2.3887045	8.9590007	0.07	0.7898	0.38462679
Feder [bar]		0.06114959	55332.092	0.00	1.0000	452.577325
Entfernu[-1.0-5.0]		9.39291486	6086530.2	0.00	1.0000	144072864
Entfernu[0.0-5.0]		8.7930571	6086530.2	0.00	1.0000	43406258.5
Entfernu[0.5-5.0]		7.72027176	6086530.2	0.00	1.0000	5078586.41
Entfernu[1.0-5.0]		8.71973088	6086530.2	0.00	1.0000	37485388.2
Entfernu[1.5-5.0]		9.25308926	6086530.2	0.00	1.0000	108925914
Entfernu[2.0-5.0]		8.63977256	6086530.2	0.00	1.0000	31945603.3
Entfernu[2.5-5.0]		11.3281058	6086530.2	0.00	1.0000	6909835585
Entfernu[3.0-5.0]		9.57765331	6086530.2	0.00	1.0000	208470193
Düse [mm*Feder [b		-0.1696474	0.046414	13.36	0.0003	0.00340269
Feder [b*Entfernu[-1.0-5.0]		-0.0849866	55332.092	0.00	1.0000	0.00000069
Feder [b*Entfernu[0.0-5.0]		-0.08305	55332.092	0.00	1.0000	0.00000001
Feder [b*Entfernu[0.5-5.0]		-0.0688311	55332.092	0.00	1.0000	0.00000027

Feder [b*Entfernu[1.0-5.0]	-0.0623664	55332.092	0.00	1.0000	0.00001332
Feder [b*Entfernu[1.5-5.0]	-0.0895131	55332.092	0.00	1.0000	0.0000001
Feder [b*Entfernu[2.0-5.0]	-0.0698037	55332.092	0.00	1.0000	0.00000021
Feder [b*Entfernu[2.5-5.0]	-0.1071825	55332.092	0.00	1.0000	4.18042e-9
Feder [b*Entfernu[3.0-5.0]	-0.0489898	55332.092	0.00	1.0000	0.00014802
Düse square	10.0851767	12.338582	0.67	0.4137	11.2508356

Effect Test

Source	Nparm	DF	Wald ChiSquare	Prob>ChiSq
Düse [mm]	1	1	0.071090	0.7898
Feder [bar]	1	1	0.000000	1.0000
Entfernung [mm]	8	8	8.333034	0.4016
Düse [mm]*Feder [bar]	1	1	13.359697	0.0003
Feder [bar]*Entfernung [mm]	8	8	5.813455	0.6681
Düse square	1	1	0.668092	0.4137

Effect Likelihood-Ratio Tests

Source	Nparm	DF	L-R ChiSquare	Prob>ChiSq
Düse [mm]	1	1	0.071305	0.7894
Feder [bar]	1	1	-0.000000	¥
Entfernung [mm]	8	8	10.087046	0.2590
Düse [mm]*Feder [bar]	1	1	15.913370	0.0001
Feder [bar]*Entfernung [mm]	8	8	5.983538	0.6491
Düse square	1	1	0.673476	0.4118

Berechnungen zur Wahrscheinlichkeit der Depotentstehung

Schätzwerte (Parameter Estimates)

Term		Estimate	Std Error	ChiSquare	Prob>ChiSq	Odds Ratio
Intercept	Biased	13.1684643	29.888981	0.19	0.6595	523590.056
Düse [mm]		-23.703679	9.9611863	5.66	0.0173	0.00007625
Feder [bar]	Biased	-0.0704445	0.0352676	3.99	0.0458	0.00087224
Entfernu[-1.0-5.0]	Biased	-14.301397	29.881788	0.23	0.6322	3.7841e-13
Entfernu[0.0-5.0]	Biased	-12.492208	29.834468	0.18	0.6754	1.4106e-11
Entfernu[0.5-5.0]	Biased	-11.589877	29.837618	0.15	0.6977	8.5735e-11
Entfernu[1.0-5.0]	Biased	-13.083769	29.843415	0.19	0.6611	4.321e-12
Entfernu[1.5-5.0]	Biased	-45.187396	260.92466	0.03	0.8625	5.6328e-40
Entfernu[2.0-5.0]	Biased	-13.988815	29.862592	0.22	0.6395	7.0708e-13
Entfernu[2.5-5.0]	Biased	-51.108014	182.65402	0.08	0.7796	4.0564e-45
Entfernu[3.0-5.0]	Biased	-12.256051	29.723272	0.17	0.6801	2.2622e-11
Düse [mm*Feder [b		0.33333216	0.0718958	21.50	<.0001	70730.1509
Feder [b*Entfernu[-1.0-5.0]	Biased	0.07603167	0.0514548	2.18	0.1395	326860.486
Feder [b*Entfernu[0.0-5.0]	Biased	0.05006932	0.0294796	2.88	0.0894	60794.2066
Feder [b*Entfernu[0.5-5.0]	Biased	0.03818634	0.0300279	1.62	0.2035	4451.49102
Feder [b*Entfernu[1.0-5.0]	Biased	0.06088907	0.0338275	3.24	0.0719	57528.3307

Feder [b*Entfernu[1.5-5.0]	Biased	0.62913153	4.1399296	0.02	0.8792	1.51741e49
Feder [b*Entfernu[2.0-5.0]	Biased	0.07324162	0.0345386	4.50	0.0340	9950727.36
Feder [b*Entfernu[2.5-5.0]	Biased	0.70327221	2.8779907	0.06	0.8070	9.48207e54
Feder [b*Entfernu[3.0-5.0]	Zeroed	0.01708398	0	99999	0.0000	21.6523924
Düse square		13.4917707	13.482764	1.00	0.3170	25.4833417

Effect Test

Source	Nparm	DF	Wald ChiSquare	Prob>ChiSq	
Düse [mm]	1	1	5.662515	0.0173	
Feder [bar]	1	1	3.989723	0.0458	
Entfernung [mm]	8	8	29.086316	0.0003	
Düse [mm]*Feder [bar]	1	1	21.495521	0.0000	
Feder [bar]*Entfernung [mm]	8	7	7.045342	0.4242	LostDFs
Düse square	1	1	1.001337	0.3170	

Effect Likelihood-Ratio Tests				
Source	**Nparm**	**DF**	**L-R ChiSquare**	**Prob>ChiSq**
Düse [mm]	**1**	**1**	**5.550118**	**0.0185**
Feder [bar]	**1**	**1**	**0.000000**	**1.0000**
Entfernung [mm]	**8**	**8**	**15.112045**	**0.0570**
Düse [mm]*Feder [bar]	**1**	**1**	**34.734323**	**0.0000**
Feder [bar]*Entfernung [mm]	**8**	**7**	**13.614929**	**0.0585**
Düse square	**1**	**1**	**0.992851**	**0.3190**

Tab.5: Berechnungsgrundlagen, logostische Regression, Darstellung der Wechselwirkungen

4 Diskussion

4.1 Einzelergebnisse

Bisher werden in der Literatur keine nadellosen Injektionsverfahren dieser Art beschrieben. Daher werden Untersuchungen betrachtet, die mit herkömmlichen Impfpistolen durchgeführt wurden. Hier kann nur annäherungsweise die Injektion wie sie bei Impfpistolen und anderen Injektoren Verwendung findet zu den Ergebnissen des ENI in Bezug gesetzt werden. Etwaige Fehlerquellen werden der konventionellen Injektion gegenübergestellt und diskutiert.
Zudem ist in dieser Arbeit die Diskussion der neuentwickelten Tusche (Endoink und Endoink lipos) zu führen.
Die Entwicklung des endoskopischen nadellosen Injektors (ENI) ist für medizinische Zwecke durchgeführt worden. In der Diskussion werden daher die zu erwartenden medizinischen Resultate und die für den Patienten relevanten Eigenschaften herausgestellt. Die notwendigen physikalischen Grundlagen und technischen Gegebenheiten werden nur dort eingebracht, wo sie der Schlüssigkeit der Diskussion dienen.

4.1.1 Injektionseinrichtung

Als Grundlage der nadellosen Injektion dient ein Injektor aus französischer Produktion. Ähnliche Geräte existieren für Diabetiker in kleiner dimensionierter Form, der sogenannten " Pen-Ausführung ". Es finden sich auch pistolenartig aufgebaute Geräte, die heute noch zur Massenimpfung von Tieren [3; 45; 47] eingesetzt werden. In den fünfziger und sechziger Jahren wurden solche Geräte auch zur Massenimpfung beim Menschen beispielsweise Pockenimpfung verwendet. Aufgrund der zahlreich aufgetretenen Hepatitis B Infektionen, die durch nicht austauschbare Aufsatz-Kartuschen hervorgerufen wurden, sind diese Geräte vom Markt verschwunden. In den letzten Jahren kamen Impfpistolen wieder verstärkt zum Einsatz. Insbesondere die Firmen Bioject ® und Imule ® bieten zahlreiche Geräte für unterschiedliche Einsatzzwecke an. Zur Infektionsprophylaxe wird ein auswechselbares Ansatzstück verwendet. Das

Einsatzspektrum ist weitgefächert. In der Anästhesie werden Geräte zur Hautbetäubung vor Nadelinjektion verwendet. Es gibt Insulininjektoren und bei Impfungen werden sie wieder verstärkt eingesetzt [3; 39; 45].
Diese Geräte sind allesamt dazu konstruiert, die feste und dicke menschliche Haut zu durchdringen und das Medikament in die Subkutis einzubringen. Der benötigte Druck ist hierbei um ein Vielfaches höher als bei einer nadellosen Markierung im Darm. Trotz des ähnlichen Aufbaues des ENI sind wesentliche Dinge zu Verwendung in der Endoskopie verändert worden. Sämtliche Parameter (Injektionsdruck, Düsendurchmesser, Injektionsmenge, Injektionstiefe) sind so aufeinander abgestimmt, daß ein immer wieder reproduzierbares Ergebnis entsteht. Die genaue Abstimmung der Parameter zueinander ist daher so wichtig, weil zu große Schwankungsbreiten entweder zu Darmperforationen führen oder keine gut sichtbaren Markierungen entstehen.
Als Grundlage zur Konzeption des nadellosen endoskopischen Injektors dient das Prinzip der Impfpistolen, mit einer Druckerzeugungseinheit, einem Reservoir für Medikamente und einer Düse.

4.1.1.1 Injektionsverfahren

BAKER und SAUNDERS haben 1999 die Fluß-, Strömungs- und Druckmechanismen von federbetriebenen Jet-Injektoren untersucht [2]. Sie haben dabei zwei Denkansätze verwendet. Die Kontinuum-Analyse zeigt, daß der maximale Injektionsstrahldruck von der Federkonstanten, der initialen Kolbengeschwindigkeit und dem Kolbendurchmesser abhängig ist. Die Zeit, um den maximalen Injektionsdruck zu erreichen, ist hingegen von der Länge und dem Durchmesser der Injektionskammer, der initialen Kolbengeschwindigkeit und auch vom Kolbendurchmesser abhängig.
Die zweite Untersuchung beschäftigt sich mit der Schockwellenanalyse innerhalb des Kolben-Kammersystems. Hier zeigt sich eine Beziehung zwischen der Hauptdruckwelle und den an den Wänden der Kammer reflektierten Wellen. Hier kann es zur Auslöschung und auch Verstärkung der Druckwellen kommen. Durch diese Analyse kann eine gezielte Modifikation der Druckerzeugungseinheit eines Jet-Injektors erfolgen.

Eine Beziehung zwischen Druckkammergröße, Kolbenlänge bzw. Durchmesser und Federstärke besteht auch bei dem ENI. Der Düsendurchmesser hat zudem einen nicht unerheblichen Einfluß auf die Wirksamkeit des Systems. Es hat sich gezeigt, daß die Zunahme der Federstärke zu einer Zunahme der Perforationen führt. Eine gleichzeitige Reduktion des Düsendurchmessers (bei hohem Federdruck) führt *nicht* zu einer Vergrößerung des Depots, eher zu *gar keinen Depots*. Variiert man die Düsendurchmesser bei gleichbleibendem Federdruck erkennt man bei kleinen Federdurchmessern (0,1 mm; 0,15 mm) eine Verringerung des Depots und einen mäßigen Überlauf. Umgekehrt ist auch bei einer Vergrößerung des Düsendurchmessers, über 0,3 mm, eine Depotabnahme und ein vermehrter Überlauf feststellbar.
Anhand der Schockwellentheorie, der Wirkungsweise und Richtung der Kräfte lassen sich diese Ergebnisse erklären.
Ein Teil dieser Kräfte führt zu verstärkten Dehnungsphänomenen im Kunststoffkatheter, da die gesamte Flüssigkeit nicht auf einmal austreten kann und auch nicht die gesamte Energie in den Austrittstrahl übergeht. Das führt zu einer Kraftrichtung entlang des Katheters und so zu einer Längenausdehnung. Ein weiterer Effekt sind die oben genannten Schockwellen, die entgegengesetzt zur Austrittsrichtung wirken und einen Teil der Energie absorbieren. Man spricht von Energieauslöschung. Letztendlich tritt weniger Flüssigkeit mit geringerer Energie aus dem System aus als theoretisch berechnet. Die Berechnungen dieser bei einem Schuß auftretenden Vorgänge erfordert einen erheblichen technischen Aufwand, der bei dieser Arbeit nicht im Vordergrund steht.
Bei großen Düsendurchmessern ist die durch die Querschnittsverkleinerung bedingte Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit der hindurchtretenden Flüssigkeit nicht ausreichend genug, so daß der Energiezuwachs zu gering ausfällt. Auch hier treten entgegengesetzt wirkende Schockwellen- und Dehnungsphänomene im Katheter auf. Diese bewirken ebenfalls eine Energiereduktion.
Die systematisch durchgeführten Untersuchungen erbrachten bei einer Katheterlänge von 2,20 Meter, 0,2 mm Düsendurchmesser und einem Federdruck von 32,8 bar gleichbleibend präzise reproduzierbare Ergebnisse.

4.1.1.2 Gerätehandhabung / Bedienbarkeit

Voraussetzungen für ein "alltagstaugliches" Gerät in der Medizin sind einfache Bedienbarkeit, sichere Anwendbarkeit, Sterilisier- bzw. gute Reinigungsfähigkeit und Kostengünstigkeit.
Die Gerätebedienung sollte selbsterklärend sein. Die Bedienung des ENI und pneumatischen ENI ist sehr einfach, dennoch sind gewisse Bedienungsabläufe genau zu beachten. Hierzu zählt zunächst das korrekte Befüllen des Systems, denn sobald sich etwas Luft darin befindet, ist kein korrektes Arbeiten des Systems zu erwarten. Luft ist komprimierbar und die Energie wird dabei absorbiert. Zudem ist der Füllungszustand der Kartusche zu beachten, um hier ebenfalls das Eindringen von Luft in das System zu vermeiden. Bei Beachtung dieser Vorgaben laufen die weiteren Arbeitsschritte flüssig ab. Der Untersucher wird nicht durch komplizierte Anwendungsmechanismen des Gerätes abgelenkt.
Der mechanische ENI muß nach jedem Schuß neu gespannt werden. Hierzu wird der Spannhebel einmal betätigt. Das kann auch durch Assistenzpersonal erfolgen. Eine Kartuschenfüllung reicht für etwa 50 bis 70 Markierungen.
Die Schußauslösung des pneumatischen ENI erfolgt mittels Fußschalter, so daß der endoskopierende Arzt jederzeit eine Markierung oder Injektion vornehmen kann. Die Einstellungen am Gerät sind nur einmal zu Beginn der Untersuchung vorzunehmen. Hierzu zählt genau wie beim mechanischen ENI das luftfreie Befüllen des Katheters und das Wählen des Injektionsdruckes am Manometer. Mit einer 10 ml Luer-Lock-Spritze können etwa 100 bis 150 Markierungen durchgeführt werden.
Die Handhabung des Katheters (Einführen des Katheters in das Endoskop) unterscheidet sich nicht von anderen Kathetern, die in der Endoskopie verwendet werden. Im Vergleich zur Nadelinjektion ist durch das einfache Aufsetzen der Düse auf die zu markierende Stelle eine enorme Vereinfachung erreicht worden. Ohne Druck und Gegenhalten kann eine Markierung durchgeführt werden. Durch einfaches Mehrfachauslösen auf derselben Stelle lassen sich auch größere Depots erzeugen. Dies ist insbesondere bei der Polypektomie zum abheben von der Muskularis ("lift-off"), aber auch bei der Blutstillung erforderlich.
Die Reinigung des Katheters und der Kartuschen erfolgt in der Desinfektionslösung. Hierbei ist insbesondere darauf zu achten, daß die Tusche aus allen zuführenden Teilen entfernt wird, da es sonst zur Verstopfung des Systems kommen kann. Der Katheter wird einfach durchge-

spült. Wegen der aufsitzenden Düse ist das Durchspülen oftmals schwierig, so daß es sinnvoll erscheint, zur Säuberung die Düse abzuschrauben. Die Reinigung erfolgt dann mittels Durchziehen eines Schwämmchens. Der Aufwand für das Desinfizieren der einzelnen Teile ist sehr gering. Hierbei nimmt die Reinigung des Katheters mit dem Abschrauben der Düse die größte Zeit in Anspruch. Insgesamt verlängert sich die gesamte Desinfektionszeit für alle endoskopischen Gerätschaften nur unwesentlich.
Die Herstellung und Verwendung von Einmalkathetern, Düsen und Kartuschen sollte zwischen Produktionskosten, Umweltbelastung und entstehendem Abfall abgewogen werden.

4.1.1.3 Sicherheit

Die Sicherheit des Systems auf technischer Basis ist im wesentlichen abhängig vom Auslösedruck (Federkraft). Zu hoher Druck führt zu Perforationen und damit unter Umständen zu einer vitalen Gefährdung des Patienten. Daher ist eine exakte Abstimmung des Injektionsdruckes notwendig.
Nach den bisher durchgeführten Schußserien von über 2000 Schüssen ergibt sich eine ideale Kombination von Düsendurchmesser und Injektionsdruck.
Diese liegt bei einem Durchmesser von 0,2 mm und 32,8 bar Federdruck, entsprechend einer Energie von 64,4 N für den mechanischen ENI.
Für den pneumatischen ENI gelten folgende Werte:

- **Düsendurchmesser 0,2 mm**
- **3 - 4,5 bar Arbeitsdruck am Manometer**

Der Abstand zum Gewebe sollte 0 - 1 mm betragen.
Hier treten selbst bei sehr dünnwandigem Colon keine Perforationen auf.
Die Bedienungssicherheit wird zum einen durch die einfache Handhabung gewährleistet, zum anderen führt eine Fehlbedienung beispielsweise Luft im System zu keiner Markierung und somit zu keiner Gefährdung des Patienten. Eine mögliche Gefahrenquelle ist der über das Manometer einstellbare Injektionsdruck beim pneumatischen ENI. Beim Prototyp ist der Druck weit unter und oberhalb des ermittelten optimalen Bereiches wählbar. Hier ist es sinnvoll, eine Begrenzung vorzunehmen. Denkbar wäre eine Schaltmöglichkeit zum Umschalten der

Druckparameter für bestimmte Injektionssituationen -beispielsweise höherer Druck um eine Markierung in der Magenwand vorzunehmen und etwas niedrigerer Druck um das Colon zu markieren.

Ein versehentliches Betätigen des Fußschalters bei einer nicht auf die Darmwand aufgesetzten Düse führt ebenfalls zu keiner Gefährdung, da die Energie des austretenden Strahles schon nach wenigen Millimetern Abstand von der Düse deutlich abgebaut ist. Dies bezieht sich auch auf ein versehentliches Auslösen im Arbeitskanal des Endoskops. Die Kunststoffummantelung des Arbeitskanals kann der Injektionsstrahl nicht durchdringen. Hier ist das Risiko mit der Injektionsnadel statt mit dem Injektiosstrahl eine Perforation im Arbeitskanal zu produzieren deutlich erhöht.

Versehentliche Auslösungen des Injektors führen nur zur Verunreinigung des Darmes oder des Arbeitskanals.

Da der Endoskopiker das System selbst steuert, ist auch hier das Risiko für eine versehentliche Auslösung minimal. Bei einer Nadelinjektion kann es bei zu frühem Ausfahren der Nadel beispielsweise noch im Arbeitskanal zu einer Beschädigung des Endoskops kommen. Das Ausfahren der Nadeln ohne Sichtkontakt kann im Darm zu Perforationen oder Schleimhautverletzungen führen. Das Gelingen der Nadelinjektion ist nicht alleine vom Endoskopiker abhängig, sondern auch vom Assistenzpersonal, welches das Endoskop führt und die Nadel ein- und ausfahren muß. Falsches Gegenhalten, zu frühes Aus- oder Einfahren der Injektionsnadel kann zu Verletzungen und auch Perforationen der Darmschleimhaut führen.

Durch Injektion einer zu großen Menge an Markierungssubstanz kann, wenn diese beim Zurückziehen der Nadel in das Darmlumen strömt, die Sicht so stark beeinträchtigt werden, daß die Untersuchung abgebrochen werden muß. Bei der vordefinierten kleinen Injektionsmenge wie sie beim ENI verwendet wird, ist selbst bei einer versehentlichen intraluminalen Injektion mit keiner Sichtminderung zu rechnen.

Es besteht auch die Möglichkeit, daß die Düse sich aus der Halterung löst und in das Darmlumen fällt. Ein Risiko für den Patienten besteht jedoch nicht, da die Energie viel zu klein ist, um mit der Düse eine Perforation zu erzielen. Das Verletzungsrisiko der Darmschleimhaut ist gering, da sämtliche Kanten der Düse abgerundet sind.

Insgesamt sind die Gefahren, die durch die nadellose endoskopische Injektion entstehen können geringer als bei der Nadelinjektion.

Im Vergleich der Injektionstechniken ist die von BOTOMAN [6] beschriebene die sicherste. Anhand frischer Operationsresektate wird der sicherste Einstichwinkel im Zusammenhang mit der ausgefahrenen Nadellänge untersucht. Bei einem Winkel von 90 Grad und einer ausgefahrenen Nadel von 8 mm Länge zeigt sich bei über 40 Prozent der Fälle (zwei von 5) ein Eindringen in die Serosa und damit eine stark erhöhte Perforationsgefahr. Eine deutliche Reduktion der Perforationsgefahr ist mit einem Einstichwinkel von 45 Grad und einer Nadellänge von fünf Millimetern zu erzielen. Die zahlreichen Schritte, die beachtet werden müssen, beispielsweise 5 mm Ausfahren der Nadeln, exaktes Einhalten des Injektionswinkels, erfordern einen erfahrenen Untersucher. Jeder Schritt der obengenannten Vorgehensweise birgt potentielle Fehlerquellen in sich. Die Verwendung des nadellosen endoskopischen Injektors schafft durch das einfache, leichte Aufsetzen der Düse auf die zu markierende Stelle -unabhängig vom Winkel -und anschließend durch das Betätigen des Auslösers eine erhebliche Risikominimierung für den Patienten.

4.1.1.4 Kosten

Die Diskussion der Kosten, die dieses neue Verfahren verursacht, kann nur ansatzweise geführt werden, da sich das System noch in einem Prototypstadium befindet.
Die Produktionskosten für ein derartiges System sind stark abhängig von der jeweiligen Ausführung. Der mechanische ENI, der über eine einfache Mechanik verfügt, ist sicherlich kostengünstiger zu produzieren als ein elektronischer bzw. elektromechanisch arbeitender Injektor. Neben den Kosten für das Gerät müssen auch die Verbrauchsmaterialien wie Katheter und Kartuschen mitgerechnet werden. Dazu ist es notwendig, die Berechnung zum einen für wiederverwertbare Artikel und zum anderen für Einmalartikel durchzuführen. Für den Arbeitsablauf und die Handhabung ist der Einmalgebrauch von Kathetern mit Düsen und von Fertigkartuschen anzustreben. Hierbei ist jedoch zu beachten, daß die Fertigung der Düse sehr präzise durchgeführt werden muß und auch die Abfüllung der Markierungssubstanz in bestimmte, dem System entsprechende Luer-Lock Spritzen erfolgen muß.
Wie bereits in Kapitel 4.1.1.2 erwähnt, ist bei der Säuberung des Katheterschlauches unter Umständen das Abschrauben der Düse notwendig. Hieraus ergeben sich möglicherweise zusätzliche

Schwierigkeiten. Ein mehrfaches Herein- und Herausdrehen der Düse kann zur Undichte führen und somit den Katheterschlauch unbrauchbar machen. Dazu kommen als Kostenfaktor der zusätzliche Arbeitsaufwand des Endoskopiepersonals für die Reinigung des Schlauches und der Luer-Lock Spritzen.
Der Aspekt der Umweltverträglichkeit ist ebenfalls von zwei Seiten zu betrachten. Eine zusätzliche Menge an Reinigungsmittel bei der Säuberung führt zu einer weiteren Grundwasserbelastung. Demgegenüber steht die Abfallbelastung durch die Kunststoffschläuche und Kunststoffspritzen. Bei der Materialauswahl ist möglicherweise eine Vorauswahl in Bezug auf Umweltverträglichkeit zu treffen.
Auf der anderen Seite der Kostenkalkulation stehen die Untersuchungszeit und die Zeit, die für eine Markierung benötigt wird.
Hier kann von einer Verlängerung der behandlungszeit um fünf Minuten bei Durchführung einer Markierung ausgegangen werden. Das führt zunächst scheinbar zu höheren Lohn- und Arbeitskosten, aber durch die permanent vorhandene Markierung ist die Nachuntersuchungszeit erheblich kürzer, so daß eher von einer Verkürzung der Untersuchungszeit auszugehen ist. Dieser entscheidende Vorteil kommt in erster Linie dem Patienten zugute, denn eine verkürzte Untersuchungszeit ist weniger belastend, und das sofortige Wiederauffinden der markierten Stelle sichert das Untersuchungsergebnis. Insgesamt wird die Qualität der Untersuchung und der Therapie deutlich verbessert.
Die Kosten eines nadellosen endoskopischen Injektors (ENI) werden durch verbesserte Qualität in Bezug auf Untersuchung und Therapie mehr als ausgeglichen, so daß der Kostenfaktor zugunsten des ENI angesehen werden sollte.

4.1.2 Tusche, Toxikologie, Histologie

Die Diskussion der Tusche ist in die zwei relevanten Teilbereiche Rezeptur und Toxikologie aufgeteilt. Diese Unterscheidung ist wichtig, da die neuen Tuschen (Endoink, Endoink lipos) in ihrer liposomalen Zubereitung von den handelsüblichen Tuschen abweichen. Die Inhaltsstoffe sind in Bezug auf eine geringe Toxizität ausgewählt worden. Da die einzelnen Tuschen

in ihrer Zusammensetzung nicht genau erfaßbar sind, wird auf die in der Literatur vorhandenen Untersuchungen verschiedener Tuschen zur Tätowierung zurückgegriffen.
Daraus ergeben sich Schwierigkeiten, weil keine sicheren Erkenntnisse über die garantierte Atoxizität von Endoink oder Endoink lipos vorliegen.

Bereits in den sechziger und siebziger Jahren beschreiben KNOERSCHILD [31] und PONSKY [49] die Möglichkeit einer präoperativen Markierung des Colon. UJJIE [67; 68] beschreibt erstmals 1970 die intramurale Injektion von Substanzen im oberen Verdauungstrakt. Hierbei verwendet er eine eigens entwickelte Injektionssonde. Von den verwendeten Farbstoffen ist Tusche der einzige, der über längere Beobachtungszeiträume hinaus sichtbar bleibt.
Im Jahre 1975 untersuchten WALDMANN und OEHLERT [71; 72] eine Reihe von Vitalfarbstoffen bezüglich ihrer Verwendbarkeit zur präoperativen Markierung. Die bei lebenden Kaninchen und Hunden durchgeführte Untersuchung führt ebenfalls zu dem Ergebnis, daß sich Tusche als Langzeitmarkierungssubstanz am besten eignet. Die aufgetretenen entzündlichen Reaktionen sind im Vergleich zu den anderen Farbstoffen als gering zu bewerten.
Eine weitere große Studie über Colonmarkierungen ist von HAMMOND [21] 1989 durchgeführt worden. In der ersten Phase der Studie wurde Methylenblau verwendet. Bereits 24 Stunden nach der Injektion ist der blaue Fleck nicht mehr sichtbar. Im zweiten Teil der Untersuchung werden acht weitere Farbstoffe auf Haltbarkeit in der Markierungsstelle untersucht. Hier zeigt sich, daß nur Tusche und Indocyaningrün mehr als sieben Tage sichtbar bleiben. Während Indocyaningrün so gut wie keine Gewebereaktion hervorruft, tritt bei Tusche eine signifikante entzündliche infiltrative Gewebereaktion mit Mikrohaemorrhagie und lokaler Thrombose auf. HAMMOND favorisiert Indocyaningrün als Markierungssubstanz zur Lokalisation von Colontumoren. In einer Folgestudie 1993 berichtet HAMMOND [20] über die Injektion von Indocyaningrün bei 12 Patienten. Zusammenfassend wird die präoperative Markierung von Colonläsionen als komplikationsarme Methode zum Auffinden von nicht palpablen Colontumoren dargestellt.
Weitere Studien befassen sich u. a. mit der Markierung von Polypektomiestellen. Hierzu erscheint POULARD [50] 1985 und PONSKY [49] 1975 die präoperative bzw. Postpolypektomiemarkierung mit Tusche am sinnvollsten.

Weitere Autoren berichten zum Teil in kleineren Studien, aber auch anhand von Falldarstellungen, über den Nutzen und die entscheidenden Vorteile der Markierung einer Läsion im Colon [38; 40; 46; 53; 60]

In einem umfassenden Artikel faßt NIZAM [44] 1996 die seit den sechziger Jahren berichteten Tuscheinjektionen zusammen. Insgesamt werden 447 Fälle von Tuschemarkierung des Colon in der Literatur aufgeführt. Die Hauptindikation war präoperatives Markieren der Tumorstelle. Außerdem wird auf die Vorbereitung der Tusche eingegangen. Hier findet insbesondere die Verdünnung und Sterilisation besondere Beachtung. Der Autor beschreibt weiterhin die verschiedenen Injektionsmöglichkeiten der Tusche in die Colonwand. Die Komplikationsrate wird mit 0,22 Prozent angegeben. Andere Markierungsmethoden beispielsweise Metallclips [11; 64], fluoreszierende Farbstoffe [51] und Barium- Kontrasteinlauf [16] werden kurz aufgegriffen. Diese Methoden sind für eine genaue Lokalisierung nur unzureichend geeignet. Metallclips lösen sich häufig von der Darmwand und gehen verloren. Die Anbringungstechnik von Metallclips ist ebenfalls schwierig, so daß sie ein unkomfortables und unsicheres Markierungsinstrument sind. Andere Markierungstechniken mit Barium [51] oder fluoreszierenden Farbstoffen [16] lassen nur indirekt Rückschlüsse auf die Lokalisation der zu markierenden Stelle zu.

Insgesamt bestehen verschiedene Ansätze in der Auswahl eines geeigneten Markierungsmediums, in der Zubereitung und Sterilisation der zur Injektion verwendeten Tusche und in der Injektionstechnik an sich. Tusche wird in der Endoskopie als relativ sichere Markierungssubstanz verwendet [44; 72; 73], denn dabei treten Komplikationen mit einem Risiko von 0,22 Prozent auf [44]. Häufig wird über granulomatöse entzündliche Reaktionen, Fettgewebsnekrose, vaskulärer Thrombose und hämorrhagische Infiltrationen berichtet [17; 20; 25; 33; 42].

Einige Artikel beschreiben Fälle von toxischem Schock [8], lokaler Peritonitis und lokalem Abszeß [46]. Alle Autoren legen diesen Reaktionen den in der handelsüblichen Tusche vorkommenden Zusatzstoffen zugrunde. In erster Linie sind Schellack, die organischen und anorganischen Lösungsmittel und die Konservierungsstoffe sowie Fungizide als Auslöser zu nennen [21; 33; 41; 53]. Tusche ist zudem leicht alkalisch. Zur Minimierung dieser Gefahren hat NAVEAU [43] eine patentierte reine Kohlenstoffsuspension zur endoskopischen Markierung entwickelt. Im Gegensatz zu Endoink oder Endoink lipos handelt es sich hier um eine wässerige Suspension mit einer Partikelgröße von zwei bis fünf Mikrometern. Die Suspension muß vor Gebrauch

gut geschüttelt werden, und die Injektion sollte sofort danach erfolgen. Die Partikelgröße ist ca 1000 fach größer als bei der neuen Tuschezubereitung.

Endoink und Endoink lipos brauchen im Gegensatz dazu nicht geschüttelt zu werden, da sie durch natürliche organische Lösungsmittel bzw. durch die liposomale Zubereitung in der Schwebe gehalten werden. Der Sterilisations- und gegebenenfalls Filtrationsvorgang erfolgt vor der sterilen Portionierung. Ein weiterer Vorteil von Endoink besteht darin, daß die Tusche bereits fertig abgefüllt in Kartuschen bzw. Luer-Lock Spritzen aufbewahrt werden kann und diese sofort einsatzbereit sind. Die Partikelgröße von Endoink und Endoink lipos liegt im Mittel bei 190 nm und ist damit deutlich kleiner als in der von NAVEAU [43] beschriebenen Kohlenstoffsuspension. Die Partikelgröße ist entscheidend, um ein Verstopfen der Düse zu vermeiden. Daher sind kleinere Partikelgrößen vorzuziehen.

Es kann davon ausgegangen werden, daß bei Endoink und Endoink lipos die obengenannten Komplikationen nicht auftreten, denn bei der Auswahl der Inhaltsstoffe wurde streng auf Verträglichkeit und natürliches Vorkommen der Materialien geachtet. Der Vernetzer Cholesterol und das Dicetylphosphat, die Lipide Phosphatidylcholin aus Soja und der Volumengeber Mannit sind natürliche zum Teil im Organismus selbst vorkommende Stoffe. Konservierungsstoffe werden nicht verwendet. Der pH-Wert wird auf ein physiologisches Maß eingestellt. Haltbarkeit der Tusche wird durch Sterilisation und Filtration gewährleistet. Die Kanzerogenität der Rußpartikel ist nach Prof. Bock [4] nahezu ausgeschlossen, da die eingebrachte Menge sehr gering ist und der Ruß bzw. der feine Kohlenstoffstaub unter kontrollierten Bedingungen industriell hergestellt wird. Auch in der Literatur, die sich mit den dermatologischen Komplikationen von Schmucktätowierungen beschäftigt, sind die Komplikationen, die durch schwarze Tusche hervorgerufen werden, sehr gering. Häufig treten allergische Reaktionen, granulomatöse Entzündungen und ganz selten maligne Melanome bei Hauttätowierungen auf [1; 9; 14; 27; 35; 62; 65]. Diese Reaktionen sind vorwiegend bei den verwendeten Farben rot, grün, blau, gelb und den Mischungen daraus aufgetreten. Vielfach finden sich Chromat-und Schwermetallverbindungen in diesen Zusammensetzungen [36; 62; 72]. Die jahrtausendealte Tradition der Hauttätowierung, insbesondere mit schwarzen Farbpigmenten zeigt, daß Hautreaktionen, die auf schwarze Schmucktätowierungen zurückzuführen sind, selten vorkommen. In früheren Zeiten wurde Kohlestaub in eine wässerige Suspension überführt und dann mit einem spitzen Gegenstand z. B. einer Nadel oder einer geschärften Fischgeräte, in die Haut eingebracht. Erst durch

das Entstehen der chemischen Industrie ist es möglich geworden, den Ruß oder Kohlestaub in einer stabilen Dispersion zu halten [57]. Bei der industriellen Herstellung von Tusche ist primär nicht an eine Verwendung als Schmucktätowierungssubstanz gedacht worden. Erst in neuerer Zeit werden Substanzen speziell für diese Anwendungen produziert [36].
Endoink und Endoink lipos erfüllen die zwei wesentlichen Forderungen, zum einen ist es eine stabile Dispersion, welche leicht anzuwenden ist und zum anderen ist die Rezeptur so gewählt, daß das Risiko einer Komplikation auf ein Minimum reduziert worden ist.
Im histologischen Bild einer Tuscheinjektion zeigt sich eine gleichmäßige Verteilung der Tusche im Bereich der Submucosa und Mucosa des Colon. Die Markierung ist sowohl mucosawärts als auch serosawärts sichtbar [21; 44; 71]. Auch bei der nadellosen Injektion ist die Tusche submucös verteilt, aber auch in geringen Mengen bis in die Muskularis sowie in die Subserosa zu verfolgen. Eine Pigmentablagerung in der Mucosa zeigt sich nur im Bereich der Einsatzstelle der Düse. Hinweise auf Verletzungen wie sie durch den Stichkanal entstehen können gibt es keine.
Die in der Literatur beschriebenen Zellveränderungen wie beispielsweise lokale Entzündung, Nekrose oder granulomatöse Veränderungen sind in dieser Arbeit nicht untersucht worden. Es ist jedoch anzunehmen, daß keine der genannten Veränderungen entstehen, da eine völlig andere Rezeptur der Tuschen verwendet wird. Hierzu sind jedoch weitere klinische Experimente nötig.
Zusammen genommen sind die Eigenschaften von Endoink lipos in Bezug auf Farbsättigung, Teilchengröße und Dispersionsverhalten denen handelsüblicher Tuschen ähnlich; die toxikologischen Eigenschaften sind jedoch deutlich niedriger.

4.1.3 Klinische Bedeutung

Die klinische Bedeutung für eine neue Injektionseinrichtung und Tusche ist sehr hoch, denn aus klinischen Erfahrung heraus zeigt sich, daß ohne durchgeführte Markierung bei Nachuntersuchungen bereits nach zwei bis drei Tagen die Schleimhaut vollständig und narbenlos verheilt ist, und so ein Auffinden der exakten Polypektomiestelle unmöglich ist. Das führt zwangsläufig zur Notwendigkeit der Markierung [40; 44]. Diese wird aber aus verschiedenen Gründen nicht

praktiziert. Die Gründe dafür sind verschieden. Unwissenheit über die Möglichkeit der Markierung, für zu schwierig gehaltene Durchführung oder die Annahme den Patienten damit zu gefährden sind nur einige Argumente. Manchmal wird nicht markiert, weil die Perforationsgefahr und eine damit möglicherweise verbundene Peritonitis als Risiko angesehen wird. Markierungen werden auch aufgrund der intraluminalen Verdunkelungsgefahr bei frühzeitigem Herausgleiten der Nadel oder wegen der vollständigen, langstreckigen Organeinfärbung, insbesondere im Bereich der Serosa, nicht durchgeführt (siehe Abb. 26 und 27 in Kapitel 3.3.2.2). Es wird darauf hingewiesen, daß keine zugelassene Substanz vorhanden ist und Markierung werden aus diesem Grund unterlassen. Zusätzlich wird auf die Kanzerogenität der Tusche hingewiesen. Nicht zuletzt wird eine endoskopische Markierung als zeitaufwendig und kostenintensiv angesehen. Aus klinischer Sicht ist die Markierung ein probates und absolute notwendiges Mittel, um die Qualität der Untersuchung und die Gewähr in Bezug auf die Diagnose für den Patienten zu sichern.

Fazit: es ist notwendig eine verbesserte Injektionstechnik zu entwickeln, die gut durchführbar und sicher für den Patienten ist und es muß eine ungefährliche, leicht zu handhabende, Substanz zur Markierung verwendet werden.

Der nadellose endoskopiche Injektor (ENI) erfüllt diese Forderungen und geht in seinem Einsatzspektrum darüber hinaus (siehe 4.2.1).

Die neuen Tuschen Endoink und Endoink lipos sind Substanzen ohne toxische Inhaltsstoffe und in ihrem Färbeverhalten denen handelsüblicher Tuschen ebenbürtig.

4.2 Synopsis, Bedeutung

Welche Fortschritte bringen die hier erarbeiteten Ergebnisse für oben aufgeworfenen Fragen in der modernen endoskopischen Medizin?

4.2.1 Injektionseinrichtung

Nachdem die Hochdruckinjektion beispielsweise mit Impfpistolen in den siebziger Jahren eine starke Ablehnung erfahren hat, werden heute wieder vermehrt Impfpistolen und Injektoren eingesetzt. Zahlreiche Modelle stehen zur Verfügung. Die Verwendungsbereiche sind dabei breitgefächert. So sind insbesondere die Modelle von Imule® und Bioject ® im Einsatz.
Der endoskopische nadellose Injektor (ENI) kann neben der Markierung nach einer Polypektomie auch zu Injektionszwecken verwendet werden.
Zukünftige Systeme können beispielsweise mit austauschbaren, sterilisierbaren Kartusche-Katheter-Systemen ausgestattet werden. Auch vorstellbar ist die Variation des Injektionsdruckes, um eine oberflächliche - submucöse- für den Endoskopiker bei der Endoskopie gut sichtbare Markierung oder eine geringfügig tiefer -subserös- gelegene Markierung, die der Chirurg gut erkennen kann, zu erhalten. Weiterhin erdenklich sind Systeme, die über eine automatische Schußsteuerung verfügen, um so besser sichtbare Depots und Markierungen zu ermöglichen. Nicht nur die Markierung ist mit diesem System möglich, auch die Instillation von Medikamenten ist möglich. Beispielsweise ist eine automatische Fibrinklebung denkbar. Hier wird über einen doppellumigen Katheter und eine Mischdüse eine nadellose Fibrinklebung erreicht. Dazu sind bereits einige Versuche durchgeführt worden. Es zeigt sich, daß auch die Fibrinklebung mit dem ENI möglich ist.
Abzuwarten bleibt, inwieweit sich ein nadelloser Injektor, der über die Tuscheinjektion hinaus zu weiteren Zwecken einsetzbar ist, im klinischen Alltag bewähren wird. Schon die bisherigen Einsätze im klinischen Alltag (ohne Einsatz am Patienten) haben eine leichte, schnell erlernbare und sichere Handhabung gezeigt. Die Verwendung von Metallclips ist deutlich schwieriger und auch nicht immer sicher erfolgreich durchzuführen. Die Kostenrechnung für den Kauf eines solchen Gerätes sollte auch die Zeitersparnis und die zusätzliche Sicherheit für den Patienten

berücksichtigen. Die Unsicherheit beim Endoskopiker in Bezug auf das Wiederauffinden einer Polypektomiestelle bei Nachuntersuchungen kann eindrucksvoll herabgesetzt werden.
Durch das standardisierte Injektionsverfahren wird auch die Untersuchungsqualität gewährleistet. Das führt wiederum zu einer Verbesserung der medizinischen Versorgung der Patienten.

4.2.2 Tusche

Der in der Diskussion beschriebene Bedarf an einer atoxischen und gut einsetzbaren Tusche ist weltweit vorhanden. Die durch die Universitätsapotheke entwickelte Tusche ist ein Schritt in diese Richtung. Die Verwendung von physiologischen Substanzen und der Einschluß von Rußpartikeln in Liposome reduziert die Toxizität der Tusche erheblich. In der Literatur werden zahlreiche Fälle von Gewebereaktionen beschrieben. In Bezug auf Endoink und Endoink lipos besteht noch weiterer Forschungsbedarf. Es ist aber anzunehmen, daß deutlich weniger Gewebesreaktionen auftreten.
Ein Nachteil ist, daß Endoink und Endoink lipos bisher nur im Rezepturmaßstab hergestellt werden können. Um Endoink oder Endoink lipos als Medikament einsetzen zu können, ist ein Zulassungsverfahren gemäß dem Arzneimittelgesetz notwendig. Da Endoink und Endoink lipos patentiert sind, wird ein Kopieren des Herstellungsverfahrens - auch zum Eigenbedarf- zur Verletzung des Patentrechtes führen.

5 Zusammenfassung der Arbeit

Die flexible Endoskopie erlaubt heutzutage die Untersuchungen ambulant durchzuführen. Durch die komplikationslose Anwendbarkeit der Endoskope und deutlich vereinfachten Untersuchungstechniken sind die Belastungen für den Patienten erheblich weniger geworden. Dennoch bestehen weiterhin offene Probleme, als da sind ineffektive Spülsysteme um Verschmutzungen von der Darmwand abzuspülen oder Möglichkeiten zur genauen Bestimmung wichtiger Befunde im Gastro-Intestinal-Trakt.
Seit Jahren werden Methoden und Techniken zur Kennzeichnung der Abtragungsstellen nach Polypektomien im Magen-Darm-Trakt in der Literatur beschrieben [44]. Herausragend sind die Arbeiten von WAYE [26; 53], in denen genaue Anleitungen zum korrekten Markieren gegeben werden. Die korrekte Markierung gelingt nicht immer einwandfrei. Die Injektionen sind immer noch schwierig durchzuführen und benötigen ein gut ausgebildetes Team mit erfahrenem Endoskopiker.

Ziel der Arbeit ist es, ein neues Injektionsverfahren als Ersatz der bisherigen Nadelinjektion zu entwickeln und eine neue, nicht toxische, leicht zu handhabende "Tusche" vorzustellen.
Folgende **Kriterien zur Injektion** sollen erfüllt werden:
Effektivität der Injektion mit genau definierter Menge und präzise plazierbarer Injektion.

- Sicherheit der Injektion, ohne Perforationgefahr.
- Praktikabilität.
- Erleichterung im Arbeitsablauf des Untersuchenden und des Assistenzpersonals.
- Dauerhafte Sichtbarkeit auch nach Jahren (gilt nur für Markierungssubstanzen).
- Kostenreduktion.

Derzeit wird die Injektion von Tusche mit einer herkömmlichen endoskopischen Injektionsnadel propagiert. Wenn eine solche Markierung durchgeführt wird, erfolgt sie bisher mit handelsüblicher Tusche. Diese besitzt keine offizielle Zulassung zur Verwendung im Menschen. Die chemische Zusammensetzung ist oft unbekannt oder die Tusche enthält toxische Stoffe. Die Tusche wird vor Gebrauch sterilfiltriert bzw. sterilisiert [52]. Dieses Verfahren ist sehr aufwendig, es erfordert viel Zeit, und es wird nicht von jeder Apotheke oder Endoskopiker durchgeführt, weil erhebliche Verschmutzungen aller Gerätschaften beim Filtrationsprozeß auftreten.

Die **Eigenschaften einer neuen Tusche** ergeben sich aus der Indikation zur Markierung:

- Gute Sichtbarkeit im Gewebe bei nur geringer Diffusion in umliegende Areale.
- Zusammensetzung aus Stoffen mit geringer Toxizität, dazu zählen Konservierungsmittel, Lösungsmittel und Hilfsstoffe.
- Vereinfachung der Handhabung und Möglichkeit zur Sterilisation.

Das **Entwicklungsergebniss ist der endoskopische nadellose Injektor (ENI)**, ein über Hochdruck betriebenes nadelloses Injektionsgerät.

Über einen Kammer-Kolbenmechanismus, der per Federdruck pneumatisch oder elektromagnetische betrieben werden kann, wird eine genau definierte Menge Substanz mittels Hochdruck über eine Düse(14) in das Gewebe eingebracht. Über einen Vorratsbehälter (4) (z. B. Lock-Spritze) wird der Kolben(1) kontinuierlich gefüllt, so daß auch mehrere Markierungen hintereinander und in schneller Folge möglich sind. Die Injektionsenergie ist zum Teil frei wählbar, so daß die Injektionstiefe vorherbestimmt werden kann. Somit ist eine submucöse Markierung zur endoskopischen Wiederauffindbarkeit oder auch eine subseröse Markierung zur Tumordarstellung für eine chirurgische Intervention möglich. Durch leichtes Aufsetzen der Injektionsdüse auf die zu kennzeichnende Stelle und Auslösen des Injektors wird eine Markierung erzeugt (Abb. 2).

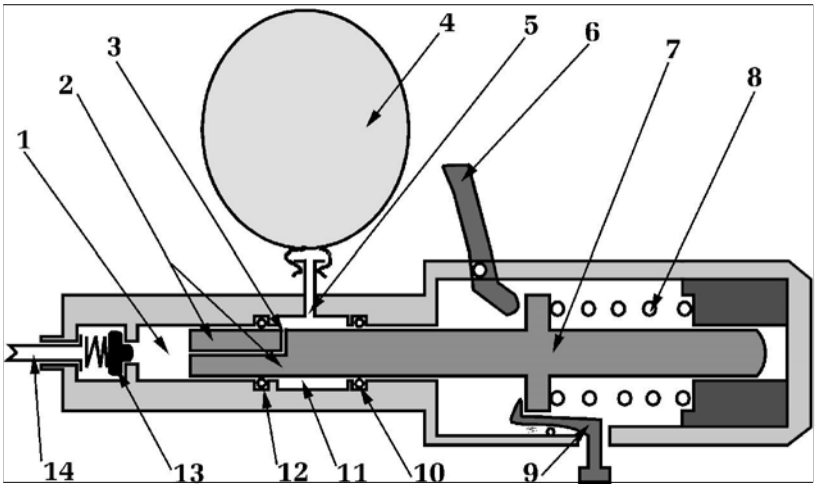

Abbildung 37: Aufbau des nadellosen endoskopischen Injektors (ENI)
Legende:

1	Kolbenraum	4	Vorratsbehälter
7	Kolbenstange	8	Feder zur Druckerzeugung
14	zur Düse		

Weitere Erklärungen siehe Kap. 2.4.2

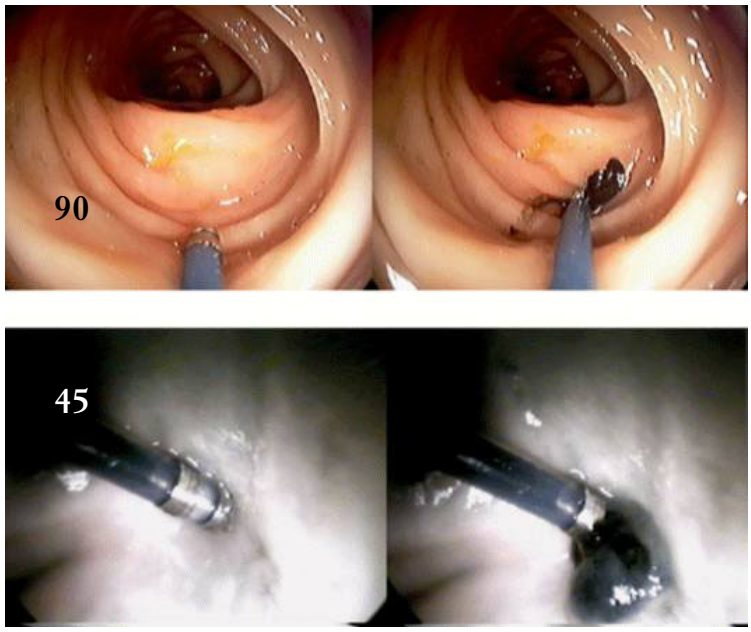

Abb. 38:
Markierung mit dem ENI
Aufsetzwinkel 90 und 45

In handelsüblichen Tuschen kommen Konservierungsstoffe, Lösungsmittel und andere toxische Substanzen vor. Diese Stoffe können granulomatöse Entzündungen, Fettgewebenekrosen und fokale Peritonitiden auslösen [16; 19; 24; 32; 41]. Der pH-Wert einer handelsüblichen Tusche ist oft weit außerhalb des physiologischen Bereiches. Die neu entwickelten "Tuschen" *Endoink* und *Endoink lipos* sind zwei "Tusche ähnliche Substanzen", deren Deckkraft exakt der handelsüblichen Tuschen entspricht. *Endoink* und *Endoink lipos* werden mit physiologischen Lösungsmitteln und ohne Konservierungsstoffe hergestellt. Der pH-Wert wird physiologisch angeglichen. Die beiden Tuschezubereitungen werden über Lösungsmittel (Endoink) oder über eine spezielle liposomale Form (Endoink lipos) in Dispersion gehalten. Die liposomale Form bringt zusätzliche Vorteile in Bezug auf die Stabilität der Mischung und auch auf die Reaktionen im Gewebe. Hierbei werden die Kohlenstoffpartikel in kleine Liposome eingeschlossen. Es ist anzunehmen, daß die intrazellulären Eigenschaften der Tusche verbessert und die immunologischen Reaktionen zusätzlich minimiert wurden. Die "Tuschen" können steril filtriert, sterilisiert oder gefriergetrocknet werden. Insbesondere die gefriergetrocknete Form ist lange haltbar. Die Handhabung der beiden neuen Markierungssubstanzen Endoink und Endoink lipos erfolgt in gewohnter Weise über den Injektionskatheter oder vorzugsweise mit dem nadellosen endoskopischen Injektor (ENI).

Die Versuchsreihen werden mit gereinigten frischen Schweine-Colon und in späteren Untersuchungsreihen mit frischen OP-Präparaten durchgeführt.
Es werden Daten zur Depotbildung der Tusche in der richtigen Gewebeschicht, Perforationsentstehung und dem Überlauf, d.h. dem Nebenherlaufen der Tusche bei einer Injektion gemacht.
Diese Datensätze werden mittels üblicher statistischer Verfahren aufgearbeitet und dargestellt.
Zuletzt werden die markierten Präparate histologisch untersucht. Gewebeveränderungen im makroskopischen und mikroskopischen Bereich, sowie Eindringweg und Tuscheverteilung werden bewertet.
Bei der idealen Kombination von Auslöseenergie, Düsendurchmesser und Abstand zum Gewebe wird eine exakt submuköse Tuschemarkierung erreicht (Abb. 3).
Eine mechanische Schädigung, wie die eines Nadelstichkanals tritt nicht auf.

Abbildung 39: Submuköse Tuschemarkierung (v=50)

Die Geräteparameter liegen statistisch für den Düsendurchmesser zwischen 0,5 und 0,2 mm, die Federstärke zwischen 23,1 und 32,8 bar (entspricht 45,2 und 64,4 N) und den Abstand zum Gewebe zwischen 0,5 und 1 mm. Diese Werte decken sich mit den empirisch ermittelten Werten der Versuchsreihen.

Es ist immernoch die Meinung weit verbreitet, daß die Markierung einer Abtragungsstelle nach Polypektomie im Gastro-Intestinal-Trakt mit hohem Zeitaufwand, Fehlen einer geeigneten Markierungssubstanz und einer zusätzlich benötigten Assistenzkraft verbunden ist. Die Auswertung dieser Arbeit belegt dies jedoch für die Verwendung des nadellosen endoskopischen Injektors (ENI) nicht.
Die herkömmliche Nadelinjektion kann mit vielen Fehler behaftet sein. Eine zu oberflächliche - muköse - Markierung wird nach einigen Tagen durch die natürliche Regeneration der Schleimhaut verschwunden sein. Eine Markierung kann endoskopisch nicht wiederaufgefunden werden, wenn die falsche Schicht (z. B. die Serosa) markiert wurde. Die Markierung ist unbrauchbar, sobald ein zu großer Intestinalabschnitt markiert wird. Untersuchungen müssen oftmals abgebrochen werden, wenn beim Injizieren die Nadel aus der Injektionsstelle herausrutscht, sich das Darmlumen völlig schwarz färbt und somit die Sicht behindert ist. Oder es kommt zu einer Perforation oder Stichkanalblutung.
Weitere Methoden zur Markierung sind Metallclips und zahlreiche andere Farbstoffe. Die Metallclips sind schwierig anzulegen, sie gehen häufig verloren, und sie sind teuer in der Anschaffung. Andere Markierungssubstanzen werden abgebaut und verschwinden nach einigen Tagen oder verteilen sich so im Gewebe, daß die genaue Markierungsstelle nicht mehr auffindbar ist.

Sämtliche oben genannten Komplikationen sind bei Verwendung der Hochdruckmarkierung weitgehend ausgeschlossen. Der **Vorteil dieses Systems** liegt in der genauen Steuerbarkeit, der Injektionssicherheit und der einfachen Handhabung. Es werden zwei wesentliche Aspekte der modernen Medizin erfüllt, zum einen wird die Qualität der Untersuchungen durch ein standardisiertes und sicheres Verfahren gesichert und zum anderen werden die Untersuchungskosten durch verkürzte Untersuchungszeiten reduziert.

Die nadellose Injektion ist nicht nur zur Tuschemarkierung geeignet, es lassen sich auch zahlreiche andere Anwendungen damit durchführen. Besonders interessant ist die Anwendung von Fibrinkleber bei Blutungen oder Angiodysplasien. Hier lassen sich über eine Steuerungseinheit im Gerät automatische Schußsequenzen programmieren, um eine festgelegte Anzahl von Schüssen und damit eine genau definierte Menge Fibrin oder Thrombin in das Gewebe abzugeben.

Es besteht auch die Möglichkeit, röntgendichte Substanzen in die Submucosa zu injizieren, um unter Durchleuchtung die gewünschten Untersuchungen vornehmen zu können.
Eine noch zu prüfende Indikation wäre beispielsweise das “Hindurchschießen” einer Struktur, um ein dahinterliegendes Organ zu erreichen.
Das Anwendungsgebiet liegt nicht nur im gastrointestinalen Bereich, sondern auch in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, zur Tumormarkierung, in der Gynäkologe oder auch in der Urologie.
Zusammengefasst ist der neu entwickelte endoskopische nadelloser Injektor (ENI) ein für die Medizin sehr dienliches Instrument. Es entspricht den heutigen Anforderungen für Standardisierung und Qualitätssicherung und hat ein potentiell breites Verwend-ungsspektrum.
Mit Endoink und Endoink lipos werden zwei neue Markierungssubstanzen vorgestellt, die den toxikologischen und medizinischen Vorgaben einer Markierungssubstanz entsprechen.
entsprechen.

6 Literaturverzeichnis

1. Anderegg, C.R. Jr., Lyles, M.B., (1992)
Graphite tattoo: report of a case and differential diagnosis.
Mil. Med. Jun, 157(6):323-324

2. Bennet, J., Nichols, F., Rosenblum, M., Condry, J. (1998)
Subcutaneus Administration of Midazolam: A Comparison of the Bioject Jet Injector With the Convcentional Syringe and Needle
J. Oral. Maxillofac. Surg. 56, 1249 - 1254

3. Bock, K.W.
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Persönliche Mitteilung

4. Borchers, D. (1994)
Schriftliche Mitteilung
Pelikan PBS-Produktionsgesellschaft

5. Botoman, V.A., Pietro, M., Thirlby, R.C. (1994)
Localization of colonic lesions with endoscopic tattoo.
Dis. Colon. Rectu-m. 37(8): 775-776

6. Brayton, K. A., Bothma G. C., Vogel S. W., Allsopp B. A. (1997)
Development of the OPgun for bombardment of animal tissues.
J. Vet. Res. 64:2, 153-156

7. Coman, E., Brandt, L.J., Brenner, S., Frank, M., Sablay, B., Bennett, B. (1991)
Fat necrosis and inflammatory pseudotumor due to endoscopic tattooing of the colon with india ink [see comments]
Gastrointest. Endosc. 37(1): 65-68

8. Cowan, R.K., Mar
tens, M.G. (1993)
Toxic shock syndrome mimicking pelvic inflammatory disease presumably resulting from tattoo.
South. Med. J. 86(12): 1427-1431

9. Dietz, K.
Geschäftsführender Direktor
Institut für medizinische Biometrie
Persönliche Beratung und Mitteilung

10. Ellis, K.K., Fennerty, M.B. (1997)
Marking and identifying colon lesions. Tattoos, clips, and radiology in imaging the colon.
Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am. 7:3, 401-411

11. Epstein, E. (1989)
Marking the Spot
Dermatol Surg Onko, 15:3

12. Farin, G.
Firma ERBE Medizintechnik
Persönliche Mitteilungen

13. Farzan, S. (1977)
Sarcoidal reaction in tattoos.
N. Y. State. J. Me-d. 77(9): 1477-1479

14. Fernholz, D. (1994)
Analysezertifikat Norit Aktivkohle
Serva Feinbiochemica GmbH

15. Frager, D.H., Frager, J.D., Wolf, E.L., Beneventano, T.C. (1987)
Problems in the colonoscopic localization of tumors: continued value of the barium enema.
Gastrointest. Radiol., 12(4): 343-346

16. Gallo, R., Parodi, A., Cozzani, E., Guarrera, M. (1998)
Allergic reaction to India ink in a black tattoo.
Contact Der-matitis 38:6, 346-347

17. Granick, M.S., Heckler, F.R., Jones, E.W. (1987)
Surgical skinmarking techniques.
Plast. Reconstr. Sur-g. 79(4): 573-580

18. Grund, K.E., Farin, G., Özmen, D. (1997)
Internationale Patentschrift
Method and device for endoscopic injektion of at least one fluid
04.09.1997 WO 97/31667, PTC/EP97/01039

19. Hammond, D.C., Lane, F.R., Mackeigan, J.M., Passinault, W.J. (1993)
Endoscopic tattooing of the colon: clinical experience.
Am. Surg. 59(3): 205-210

20. Hammond, D.C., Lane, F.R., Welk, R.A., Madura, M.J., Borreson, D.K., Passinault, W.J. (1989)
Endoscopic tattooing of the colon. An experimental study.
Am. Surg. 55, 7, 457-461

21. Heide, P.E.
Internationale Patentschrift (1997)
Farbstoffzubereitung zum Markieren von Operationsfeldern in Lebewesen und Verfahren zum Herstellen einer solchen Farbstoffzubereitung
Universität Tübingen
DE 196 04 484 A1

22. Hellerich, U. (1992)
[Tattoo pigment in regional lymph nodes-an identifying marker?]
Arch. Krimino-l. 190(5-6): 163-170

23. Holland, S. (1994)
Sterility of india ink [letter]
Gastrointest. Endosc.- 40(4): 519-520

24. Hornig, D., Kühn, H., Stadelmann, O., Bötticher, R. (1983)
Phlegmonous gastritis after india ink marking
Endoscopy 15: 226-269

25. Hyman, N., Waye, J.D. (1991)
Endoscopic four quadrant tattoo for the identification of colonic lesions at surgery.
Gastrointest. Endosc. 37(1): 56-58

26. Iveson, J.M., Cotterill, J.A., Wright, V. (1975)
Sarcoidosis presenting with multiple tattoo granulomata.
Post-grad. Med. J. 51(599): 670-672

27. Kanal, E., Shellock, F.G. (1998)
MIR interaction with tattoo pigments [letter, comment]
Plast. Reconstr. Surg 101:4, 1150-1151

28. Kennedy, C. (1976)
Sarcoidosis presenting in tattoos.
Clin. Exp. Dermatol. 1(4): 395-399

29. Kircik, L., Armus, S., van den Broek, H. (1993)
Malignant melanoma in a tattoo.
Int. J. Dermato-l. 32(4): 297-298

30. Knoerschild, H.E. (1962)
The use of a tattooing instrument for marking colonic mucosa
Amer. J. Surg. 103: 83-85

31. Kreidstein, M.L., Giguere, D., Freiberg, A. (1997)
MIR interaction with tattoo pigments: case report, pathophysiology, and management [see comments]
Plast. Reconstr. Surg. 99:6, 1717-1720

32. Lane, K.L., Vallera, R., Washington, K., Gottfried, M.R. (1996)
Endoscopic ta ttooagents in the colon. Tissue responses and clinical implications.
American Journal of Surgical Pathology 20, 1266-1270

33. Latscha, H.P., Klein, H.A.
Chemie für Mediziner
Springer, Berlin, Heidelberg, New York

34. Lea, P.J., Pawlowski, A. (1987)
Human tattoo. Electron microscopic assessment of epidermis,
epidermal-dermal junction, and dermis.
Int. J. Dermatol. 26(7), 453-458

35. Lehmann, G, Pierchalla, P. (1988)
[Tattooing dyes], Tatowierungsfarbstoffe.
Derm. Beruf. Umwelt. 36(5): 152-156

36. Leimann, J (1993)
Schriftenreihe Pigmente:
Wäßrige Pigmentrußdispersionen Nr. 59
Degussa AG, Frankfurt

37. Lightdale, C.J. (1991)
India ink colonic tattoo: blots on the record [editorial]
Gastrointest. Endosc. 37(1): 99-100

38. Mazouch, R. (1990)
Intraligamentaere Anaesthesie. Praxiserfahrungen unter Verwendung eines druckkraftbegrenzten Spritzensystems (Ultraject), (Intraligamentary anesthesia. Procedures using high pressure injection system (Ultraject))
ZWR, 99, 458-462,

39. McArthur, C.S., Roayaie, S., Waye, J.D. (1999)
Safety of preoperation endoscopic tattoo with india ink for identification of colonic lesions.
Surg Endosc; 13(4):397-400

40. Meroni, E., Spinelli, P. (1995)
False-positive result in endoscopic ultrasonography in the sigmoid colon due to submucosal granuloma following tattooing.
Endoscopy. 27(2): 212

41. Michie, D.M. (1971)
Adverse reaction associated with the administration of carcocyanine dye
J. Allergy Clin. Immunol. 48, 235-239

42. Naveau, S., Bonhomme, L., Preaux, N., Chaput, J.C. (1991)
A pure charcoal suspension for colonoscopic tattoo.
Gastrointest. Endosc. 37(6): 624-625

43. Nizam, R., Siddiqi, N., Landas, S.K., Kaplan, D.S., Holtzapple, P.G. (1996)
Colonic tattooing with India ink: benefits, risks, and alternatives.
Am. J. Gastroenterol., 91(9):1804-1808

44. Parent du Châtelet, I., Lang, J., Schlumberger, M., Vidor, E., Soula, G., Genet, A., Standaert, S.M., Saliou, P., (1997)
Clinical immunogenicity and tolerance studies of liquid vaccines delivered by jet-injector and a new single-use cartridge (Imule): comparison with standard syringe injection. Imule Investigators Group.
Vaccine 15:4, 449-458

45. Park, S.I., Genta, R.S., Romeo, D.P., Weesner, R.E. (1991)
Colonic abscess and focal peritonitis secondary to india ink tattooing of the colon [see comments]
Gastrointest. Endosc. 37(1): 68-71

46. Partsch, C.J., von Büren, E., Kühn, B., Sippell, W.G., Brinkmann, G. (1997)
Visualization of injection depot after subcutaneous administration by syringe and needle-free device (Medi-Jector): first results with magnetic resonance imaging [letter]
Eur. J. Pediatr. 156:11, 893-894

47. Piel, P (1994)
Rahmenrezeptur und Sicherheitsdatenblätter
Rotring GmbH

48. Ponsky, J.L., King, J.F. (1975)
Endoscopic marking of colonic lesions
Gastrointestin. Endoscopy, 22: 42-43

49. Poulard, J.B., Shatz, B., Konder, I. (1985)
Preoperative tatooing of polypectomy site
Endoscopy 17, 84-85

50. Rogers, B.H.G. (1990)
Colonoscopy with fluoroscopy (editorial)
Gastrointestinal Endoscopy, 36, 1, 71-72

51. Rubianes, E.I., Sanchez, J.L. (1993)
Granulomatous dermatitis to iron oxide after permanent pigmentation of the eyebrows.
J. Dermatol. Surg. Oncol. 19(1): 14-16

52. Salomon, P., Berner, J.S., Waye, J.D. (1993)
Endoscopic India ink injection: a method for preparation, sterilization, and administration.
Gastrointest. Endosc. 39(6): 803-805

53. Sauntry, J.P., Knudson, K.P. (1958)
A technique for marking the mucosa of the gastrointestinal tract after polypektomy
Cancer, 11, 607-610

54. Scutt, R.W. (1970)
The dermatological hazards of tattooing.
J. R. Nav. Med. Serv., 56(1): 115

55. Seyam, R.M., Begin, L.R., Tu, L.M., Dion, S.B., Merlin, S.L., Brock, G.B. (1997)
Evaluation of a no-needle penile injector: a preliminary study evaluating tissu penetration and its hemodynamic consequences in the rat
Urology 50: 994-998

56. Shaffer, R.T., Francis, J.M., Carrougher, J.G., Root, S.S., Angueira, C.E., Szyjkowski, R. Kadakia, S.C. (1998)
India ink tattooing in the esophagus.
Gastrointest. Endosc., 47:3, 257-260

57. Shatz, B.A. (1991)
Small volume India ink injections [letter, comment]
Gastrointest-Endosc. 37(6): 649-650

58. Shatz, B.A., Weinstock, L.B., Swanson, P.E., Thyssen, E.P. (1997)
Long-term safety of India ink tattoos in the colon.
Gastrointest. Endosc. 45:2, 153-156

59. Shatz, B.A., Thavorides, V. (1991)
Colonic tattoo for follow-up of endoscopic sessile polypectomy.
Gastrointest. Endosc. 37(1): 59-60

60. Sperry, K. (1991)
Tattoos and tattooing. Part I: History and methodology.
Am. J. Forensic Med. Pathol. 12(4): 313-319

61. Sperry, K. (1992)
Tattoos and tattooing. Part II: Gross pathology, histopathology, medical com-plications, and applications.
Am. J. Forensic Med. Pathol. 13(1): 7-17

62. Staubesand, J. (1988)
Sobotta Atlas der Anatomie des Menschen
2. Band 19. Aufl.
Urban und Schwarzenberg, München, Berlin, Baltimore

63. Tabibian, N., Michaletz, P.A., Schwartz, J.T., Heiser, M.C., Dixon, W.B., Smith, J.L., Graham, D.Y. (1988)
Use of an endoscopically placed clip can avoid diagnostic errors in colonoscopy
Gastrointestinal Endoscopy, 34, 262-264

64. Tope, W.D., Arbiser, J.L., Duncan, L.M. (1996)
Black tattoo reaction: the peacock's tale.
J. of the Am. Academy of Dermat., 35, 3 Pt 1, 477-479

65. Treudler, R., Tebbe, B., Krengel, S., Orfanos, C.E. (1997)
Allergic contact dermatitis from black tattoo.
Contact Dermatitis 37:6, 295

66. Ujjie, T., Mikuni, J., Ibayashi, J., Shimonda, A. (1970)
Intramural stomach injection by fiberoscop
I - To - Cho (Stomach and Intersine), 5, 725-729

67. Ujjie, T., Takazawa, S., Ikeda, C., Mikuni, J., Ibayashi, J., Shimonda, A. (1971)
Intramural stomach injection under direct gastrofiberoscope observation
Endoscopy, 2, 73 - 84

68. Une, Y.,Uchino, J., Horie, T. (1989)
Liver resection using a water jet
Cancer Chemother. Pharmacol. 23(Suppl): 74-77

69. Vallera, R., Baillie, J. (1996)
Complications of endoscopy
Endoscopy, 28: 178-204

70. Waldmann, D., Öhlert, W. (1978)
Über die präoperative, endoskopische Intestinalmarkierung
Endoscopy, 10: 141

71. Waldmann, D. (1978)
Über die präoperative, endoskopische Intestinalmarkierung
Habilitationsschrift an der Universität Freiburg

72. Waye, J.D., Kahn, O., Auerbach, M.E. (1996)
Complications of colonoscopy and flexible sigmoidoscopy.
Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am. 6(2):343-377

73. Wolfort, F.C., Hoopes, J.E., Filtzer, H.S., Cochran, T.C. (1974)
Superficial melanoma in a tattoo.
Br. J. Plast. Surg. 27(4): 303-304

74. Zink, C. (1990)
Pschyrembel klinisches Wörterbuch
256. Aufl.
Walter de Gryter, Berlin, New York

Danksagung

Als erstes möchte ich meinen Eltern, insbesondere meiner Mutter, für die ständige Unterstützung und den Antrieb beim Schreiben dieser Arbeit danken.
Professor Grund danke ich für die Geduld, die er in allen Phasen der Dissertation aufgebracht hat. Ich spreche meine Erkenntlichkeit auch dem Endoskopieteam der Universität Tübingen für die tatkräftige Unterstützung aus. Hier möchte ich auch ganz besonders Herrn Norbert Schönwälder danken, der immer hilfreich und ideenreich Anteil genommen hat. Viel geholfen hat mir auch die pathologische Abteilung der Universitätsklinik Tübingen, und hier bedanke ich mich bei Frau Dr. Greschniok. Herrn Dipl. Ing. Günter Farin von der Firma Erbe Medizintechnik kommt mein Dank für das Lösen so manch kniffliger physikalisch-technischer Probleme zu. Für die technische Beratung und das z. T. schwierige und dennoch präzise Herstellen der Gerätschaften, was eine Menge an schwäbischem Erfindergeist erforderte, danke ich Herrn Dipl.-Ing. Wurster.
Für die Verfügungstellung der Impfpistole danke ich Frau Dr. med. M. Boegl.
Dr. Heide von der Universitätsapotheke der Universität Tübingen ist Dank für die Entwicklung und Herstellung von Endoink und Endoink lipos auszusprechen.
Vielen Dank an Prof. Dietz, der sich viel Zeit genommen hat und sehr hilfreich die Statistik in eine überschaubare Form gebracht hat.
Mein Dank gilt auch ganz besonders Frau Studiendirektorin Maria Muck sowie meiner Schwägerin Claudia Kammann-Özmen, die sich für das Lesen und Korrigieren der Arbeit besonders viel Zeit genommen haben.

Lebenslauf

Doğan Beyhan Özmen

Geburtsdatum 17.08.1968 in Hamm/Westfalen

Schulbildung

07.85 bis 07.86	Schüleraustausch USA über das Deutsche Youth for Understanding (YFU) in Glendale, Kalifornien.
12.05.89	Abitur

Grundwehrdienst

01.06.89 bis 31.08.90	Sanitätsobergefreiter im 1. PzBTL 203 in Hemer.

Berufsausbildung

10.90 bis 03.93	Aufnahme des Medizinstudiums an der Justus-Liebig-Universität Gießen
04.93 bis 11.98	Fortsetzung des Studiums an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
10.97 bis 09.98	Praktisches Jahr an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
06.11.98	3. Staatsexamen

Berufsbeginn

12.98 - 03.99	Beginn als Arzt im Praktikum an der HNO-Klinik der Universität Regensburg bei Prof. Dr. Strutz
04.99 - 06.00	Weiterführung des AiP an der HNO Klinik der Universität Witten/Herdecke, in Hagen (Westf.) bei Prof. Dr. Laubert
seit 09.00	Assistenzarzt in der HNO-Klinik der Stadt Darmstadt bei Prof. Dr. R. Reck