

Aus dem Marienhospital Stuttgart  
(Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen)  
Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie  
Ärztlicher Direktor: Privatdozent Dr. M. Zähringer

**Tierexperimentelle Studie am Schwein zum  
Vergleich des Blutverlustes nach perkutaner  
Schneidbiopsie der Milz mit und ohne Okklusion des  
Punktionskanals durch Gelatineschwamm**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Johannes Fabian Holle  
aus Bonn

2008

Dekan:

Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter:

Privatdozent Dr. M. Zähringer

2. Berichterstatter:

Privatdozentin Dr. C. Pfannenber

**Den Schweinen**  
***(Sues scrofae domesticae)***

# Inhaltsverzeichnis

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | Einleitung.....  | 1  |
| 1.1   | Raumforderungen der Milz.....  | 1  |
| 1.2   | Allgemeines zur Anatomie der Milz.....                               | 3  |
| 1.3   | Allgemeines zur perkutanen Biopsie.....                              | 5  |
| 1.3.1 | Indikationen.....  | 5  |
| 1.3.2 | Kontraindikationen.....  | 5  |
| 1.3.3 | Bildgebende Verfahren zur Punktionsplanung.....                      | 6  |
| 1.4   | Verfahren zur perkutanen Biopsie.....                                | 8  |
| 1.4.1 | Die Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB).....                          | 8  |
| 1.4.2 | Die Stanz- oder Schneidbiopsie (STB).....                            | 10 |
| 1.5   | Aktuelle Datenlage.....  | 13 |
| 1.5.1 | Ergebnisse perkutaner Milzpunktionen.....                            | 13 |
| 1.5.2 | Komplikationen perkutaner Milzpunktionen.....                        | 13 |
| 1.5.3 | Methoden zur Reduktion postpunktioneller Blutungskomplikationen..... | 16 |
| 1.6   | Zielsetzung der Arbeit.....  | 18 |
| 2     | Material und Methoden.....   | 19 |
| 2.1   | Allgemeines Versuchsprotokoll.....                                   | 19 |
| 2.2   | Versuchstiere.....   | 20 |
| 2.3   | Gelaspon <sup>®</sup> .....  | 21 |
| 2.4   | Methoden.....  | 23 |
| 2.4.1 | Anästhesie.....  | 23 |
| 2.4.2 | CT-gesteuerte Punktion.....  | 24 |
| 2.4.3 | Verschlusstechnik mit Gelaspon <sup>®</sup> .....                    | 26 |
| 2.4.4 | Euthanasie.....  | 27 |
| 2.4.5 | Obduktion.....   | 28 |
| 2.4.6 | Laboruntersuchungen.....   | 28 |
| 2.4.7 | Histologische Aufarbeitung.....                                      | 29 |
| 2.4.8 | Volumetrische Messungen.....   | 29 |
| 2.5   | Statistische Auswertung.....   | 31 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 3     | Ergebnisse .....  | 32 |
| 3.1   | Gerinnungsparameter .....   | 32 |
| 3.2   | Intervention.....   | 35 |
| 3.3   | Blutungsreduktion durch Plombierung.....  | 39 |
| 3.4   | Prädiktive Parameter bezüglich der Blutungsmenge .....                            | 45 |
| 4     | Diskussion .....  | 49 |
| 4.1   | Versuchsaufbau .....  | 50 |
| 4.1.1 | Antikoagulation durch Heparin .....   | 52 |
| 4.1.2 | Wahl der Versuchstiere .....  | 52 |
| 4.2   | Auswahl der statistischen Tests .....   | 55 |
| 4.2.1 | Der U-Test von Mann, Whitney und Wilcoxon.....                                    | 55 |
| 4.2.2 | Korrelationsberechnungen .....  | 56 |
| 4.3   | Blutungsreduktion durch Plombierung.....  | 58 |
| 4.4   | Auswirkung der Lage des Plugmaterials auf die Effektivität des<br>Verfahrens..... | 63 |
| 4.5   | Prädiktive Parameter bezüglich der Blutungsaktivität.....                         | 67 |
| 5     | Zusammenfassung .....   | 70 |
| 6     | Literaturverzeichnis .....  | 72 |
| 7     | Anhang .....  | 80 |
|       | Genehmigung von Versuchen an Wirbeltieren gemäß § 8<br>Tierschutzgesetz.....      | 80 |
|       | Genehmigung des Erweiterungsantrags gemäß § 8<br>Tierschutzgesetz.....            | 83 |
|       | Bewilligung von Fördermitteln im Rahmen eines Köln Fortune<br>Projektes.....      | 85 |

# 1 Einleitung

## 1.1 Raumforderungen der Milz

Tumoren der Milz werden häufig zufällig als Nebenbefund einer aus anderen Gründen durchgeführten Bildgebung des Abdomens diagnostiziert. Nur eine Minderheit der Patienten mit Raumforderungen der Milz wird primär aus diesem Grund symptomatisch. In diesen Fällen sind die Hauptsymptome abdomineller Schmerz (68%), eine sichtbare Umfangsvermehrung des Abdomens (20%), ein palpabler Tumor im linken oberen Quadranten (16%) und Gewichtsverlust (12%) [1].

Tumoren vaskulären Ursprungs sind die häufigsten Raumforderungen der Milz [2]. In absteigender Häufigkeit handelt es sich um Lymphangiome (32%), Hämangiome (30%), Angiosarkome (9%) und Hämangioperizytome (7%) [1]. Komplikationen dieser Tumoren sind zum Beispiel eine Splenomegalie, eine Hypersplenismus-assoziierte Anämie und Thrombozytopenie, eine mikroangiopathische hämolytische Anämie, eine Verbrauchskoagulopathie sowie ein Tumorruptur-assoziiertes hypovolämisches Schock [3-5]. An nicht-vaskulären Tumoren kommen insbesondere Lymphome (5%) vor. Bis zu 40% der Patienten mit einem bekannten Lymphom weisen eine Beteiligung der Milz auf, sowohl im Falle von Hodgkin- als auch von Non-Hodgkin-Lymphomen. Wird bei einem Patienten mit vorbekanntem Lymphom ein neu aufgetretener Milztumor entdeckt, so müssen vor allem ein Residuum, eine Nekrose, ein infektiöses Geschehen oder die Transformation zu einem höhergradigen Lymphom in die differenzialdiagnostischen Überlegungen einbezogen werden [6]. Obwohl die Milz ein seltener Ort hämatogener Absiedlungen ist werden Metastasen in 14% der Fälle von Milztumoren gefunden. Die häufigsten Primärtumoren sind dabei das maligne Melanom, das Mamma-, das Ovarial- sowie das Bronchial-Karzinom [7]. Selbstverständlich ist die Häufigkeit spezifischer Diagnosen jeweils im Kontext des untersuchten Patientengutes zu sehen. Eine neuere iranische Studie zu Ergebnissen von

Feinnadelaspirationsbiopsien der Milz an 48 Patienten führt nach hämatoonkologischen Diagnosen infektbedingte Raumforderungen als zweitgrößte Entität auf, darunter führend Fälle von Kala-Azar und Tuberkulose [8].

In der Computertomografie stellen sich die meisten Raumforderungen der Milz als hypodense Masse mit oder ohne periphere Kontrastmittelaufnahme dar. In ca. 6% der Fälle findet sich lediglich eine diffuse Splenomegalie ohne abgrenzbaren Tumor [1]. Dabei gibt es kein radiologisches Kriterium, um mit ausreichender Sicherheit auf die Dignität des zugrunde liegenden Prozesses schließen zu können.

Perkutan durchgeführte Biopsien der Milz können in den meisten Fällen zwischen malignen und benignen Raumforderungen differenzieren. Besonders Kinder profitieren von diesen Techniken, da so unnötige Splenektomien und somit konsekutiv auftretende schwere bakterielle Infektionen verhindert werden können.

## 1.2 Allgemeines zur Anatomie der Milz

Die Milz ist bei allen höher entwickelten Säugetieren das größte zusammenhängende lymphatische Organ und ein wesentlicher Ausgangspunkt der immunologischen Antwort auf sich im Blut befindliche Antigene verschiedener Art. Darüber hinaus filtert sie überalterte und beschädigte zelluläre Komponenten aus dem Blutstrom [6, 9].

Die Milz wird oberflächlich von einer geschichteten Kapsel überzogen, deren äußere Lage als Tunica serosa Bestandteil des Bauchfells ist. Aus der inneren Kapselschicht ziehen in das Parenchym der Milz (Milzpulpa) abgeplattete bis rundliche, bindegewebige Stränge (Trabekel), die das Organ unvollständig untergliedern. Größere bindegewebige Septen dienen Arterien und Venen als Leitstruktur.

Das Milzparenchym setzt sich, als das Grundgewebe dieses Organs, aus einem dreidimensionalen Netz von Retikulumzellen und Retikulinfasern zusammen, das in seinen Maschen lymphatisches Gewebe einschließt. Das Milzparenchym gliedert sich in zwei Anteile, die

- weiße Milzpulpa (Pulpa alba) und die
- rote Milzpulpa (Pulpa rubra).

Als weiße Milzpulpa wird die Gesamtheit des lymphatischen Gewebes der Milz, die Milzfollikel (Malpighi-Körperchen) und die Summe sämtlicher periarteriolarer Scheiden bezeichnet. Milzfollikel stellen sphärische Ansammlungen von lymphoretikulärem Gewebe mit einer Zentralarteriole dar, deren Aufbau und Funktion im Wesentlichen dem anderer Follikel des lymphatischen Gewebes entspricht. Die rote Milzpulpa wird von einem lockeren Netz aus Retikulumzellen und Retikulinfasern gebildet, die sich lokal zu Pulpasträngen (Marksträngen) verlängern. In diesem Maschenwerk sammeln sich Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten und Makrophagen.

In der Milz verzweigen sich die Blutgefäße in organcharakteristischer Weise. Die am Milzhilus eintretenden Arterien teilen sich mehrfach in stark gewundene Trabekelarterien, die in das Milzparenchym ziehen. Im weiteren Verlauf

durchziehen diese Arteriolen die Milzfollikel und werden dort als Zentralarteriolen bezeichnet. Am Übergang zur roten Milzpulpa zweigen sich die Gefäße zwei bis sechsmal pinselartig auf (Pinselarteriolen) und gehen in Kapillaren über. Die Kapillaren münden schließlich in die Sinusräume (Sinusoide) der roten Milzpulpa („offener Kreislauf“) [9]. Begründet durch diese Besonderheit der Gefäßarchitektur, ist die im Vergleich zu anderen parenchymatösen Organen erhöhte Rate an Blutungskomplikationen nach Traumata unterschiedlicher Art zu erklären.

## 1.3 Allgemeines zur perkutanen Biopsie

### 1.3.1 Indikation

Die perkutane Biopsie ist eine wichtige diagnostische Prozedur in der modernen Medizin. Eine der häufigsten Indikationen zur Biopsie abdomineller Organe ist die Gewinnung zytologischen, histologischen oder mikrobiologischen Materials. Nadelbiopsien werden mittlerweile an nahezu sämtlichen Organsystemen durchgeführt und besitzen gegenüber der offenen Inzisionsbiopsie den Vorteil der reduzierten Invasivität [10, 11].

### 1.3.2 Kontraindikationen

Als absolute Kontraindikationen für die perkutane Biopsie eines intraabdominellen Organs gelten Gerinnungsstörungen mit einer Thrombozytenzahl  $< 50.000/\mu\text{l}$ , einem Quickwert von  $< 50\%$  sowie einer partiellen Thromboplastinzeit  $> 50\text{ s}$  [12]. Cumarinderivate sind zwingend vor einer Biopsie abzusetzen, das Absetzen von Thrombozytenaggregationshemmern (z.B. Azetylsalizylsäure, Clopidogrel) wird zumindest für die Angiografie als nicht zwingend notwendig erachtet, jedoch sollten sie 5-7 Tage vor größeren Operationen pausiert werden [13]. Vergleichende Studien – Biopsie mit und ohne Absetzen von Azetylsalizylsäure – gibt es bislang nicht, allerdings zeigte eine Studie zur endoskopischen Polypektomie mit und ohne Einnahme von Azetylsalizylsäure, dass kein signifikanter Unterschied bezüglich Blutungskomplikationen zwischen beiden Gruppen bestand [14]. Dennoch findet sich in der Literatur die Empfehlung, bei Biopsien der Leber, von intrathorakalen Organen und bei Passage durch parenchymatöse Organe oder Darmstrukturen Thrombozytenaggregationshemmer 5-7 Tage vor geplanter Biopsie abzusetzen [15].

Weitere Kontraindikationen sind nicht kooperationsfähige Patienten sowie eine fehlende therapeutische Konsequenz aus dem Biopsieergebnis. Bei unvermeidlicher intestinaler, transkolischer oder transhepatischer Passage ist

auf die Verwendung von Punktionskanülen oder Koaxialnadeln mit einem Außendurchmesser unter 1,2 mm zu achten [15]. Im speziellen Fall einer geplanten perkutanen Milzbiopsie gilt als zusätzliche Kontraindikation der Verdacht auf eine infektiöse Mononukleose durch das Epstein-Barr-Virus [16].

### 1.3.3 Bildgebende Verfahren zur Punktionsplanung

Zur Punktionsplanung und -steuerung kommen verschiedene bildgebende Verfahren zum Einsatz, dabei ist die früher als Standard verwendete durchleuchtungsgesteuerte Biopsie weitgehend zugunsten der Überwachung mittels schnittbildgebender Verfahren (Ultraschall, Computertomografie, Magnetresonanztomografie) aufgegeben worden [17].

|                                       | Sonografie | Computertomografie          |
|---------------------------------------|------------|-----------------------------|
| <b>Lagevariable Schnittbildgebung</b> | Ja         | Ja                          |
| <b>Echtzeitdarstellung</b>            | Ja         | Ja, mit CT-Durchleuchtung   |
| <b>Portabilität</b>                   | Ja         | Nein                        |
| <b>Strahlenexposition</b>             | Nein       | Ja                          |
| <b>Geschwindigkeit</b>                | Schnell    | Langsamer ohne Real-time-CT |
| <b>Anschaffungskosten</b>             | Niedrig    | Hoch                        |

**Tabelle 1.1: Vergleich zwischen Sonografie- und CT-Steuerung bei perkutanen Milzbiopsien [16]**

Heute wird bei vielen Indikationen auf die Sonografie zur Punktionsplanung zurückgegriffen. Neben der Tatsache, dass die Technik keine Strahlenbelastung beinhaltet und damit beliebig lange und oft angewendet werden kann, ist eine Darstellung der gewünschten Strukturen in Echtzeit möglich. Die Beschaffungskosten sind eher niedrig und aufgrund des geringen Gewichtes moderner Geräte ist Transportabilität und damit die Möglichkeit einer *bedside*-Untersuchung gegeben [16] (Tabelle 1.1).

Trotzdem sind die Vorteile der Computertomografie mit der überlagerungsfreien und exakt reproduzierbaren Darstellung aller Organe und der

Nachbarschaftsstrukturen evident. Lufthaltige und knöcherne Strukturen sind – im Gegensatz zur Sonografie – ebenso zugänglich wie parenchymatöse Organe. Die Computertomografie ist somit ein universell zur Steuerung von Punktionen anwendbares Verfahren. Neben dem Spektrum der darstellbaren Organe und der guten Nachweisbarkeit auch kleiner Prozesse bietet die Computertomografie die Möglichkeit der ätiologischen Zuordnung der Läsion und Beurteilung der einzelnen Anteile eines Herdes hinsichtlich Verkalkung, Einblutung, Nekrose, Atelektase oder perifokaler Entzündung. Außerdem sind die gute Reproduzierbarkeit, das große und variable Bildfeld sowie der leichte Patientenzugang bei gleichzeitig hoher Ortsauflösung als Vorteile zu nennen [18]. In der neuesten Gerätegeneration (Fluoro-Computertomografie) besteht die Möglichkeit einer CT-gesteuerten Durchleuchtung mit Echtzeitdarstellung bis 8 Bilder/ sec. [11, 12, 18]. Allerdings besteht für die Verwendung der CT-Fluoroskopie keine regelhafte Notwendigkeit. Vergleichende Untersuchungen zeigten, dass die konventionelle Technik und die CT-Fluoroskopie hinsichtlich Sensitivität und negativ prädiktivem Wert keine unterschiedlichen Resultate liefern, lediglich die Zeit für die Nadelplatzierung war bei Verwendung der Fluoroskopie verkürzt [19]. Im klinischen Alltag besteht deshalb eher selten eine Notwendigkeit, die CT-Fluoroskopie einzusetzen, zumal kleine Läsionen aufgrund des ungünstigen Signal-Rausch-Verhältnisses und der schlechteren Bildqualität mitunter nicht zu identifizieren sind. Bewährt hat sich die Methode jedoch bei Patienten mit geringer Kooperationsfähigkeit insbesondere hinsichtlich der Atemexkursion, da die Nadelspitze fluoroskopisch auch bei schräger Position zuverlässig identifizierbar ist [15].

Studien zur Magnetresonanztomografie erbrachten bei Verwendung eines 0,23 Tesla-Gerätes mit offener Konfiguration ebenfalls gute Ergebnisse bei Verwendung als bildgebendes Verfahren zur Planung einer perkutanen Biopsie. Dieses Vorgehen bleibt jedoch wenigen speziellen Indikationen vorbehalten [17].

## 1.4 Verfahren zur perkutanen Biopsie

Zur Gewinnung von Zell- und Gewebeproben durch perkutane Punktion stehen im Prinzip zwei verschiedene Verfahren zur Verfügung:

- Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB)
- Stanzbiopsie (STB)

Die Wahl der Punktionsnadel muss sich richten nach

- dem Risiko des Zugangs,
- der Größe des Herds,
- der zu erwartenden Schwierigkeit des Pathologen, anhand des Materials eine zutreffende Diagnose zu stellen.

### 1.4.1 Die Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB)



Bild 1.1: Feinnadelaspirationsbiopsienadel mit Spritzenhalter

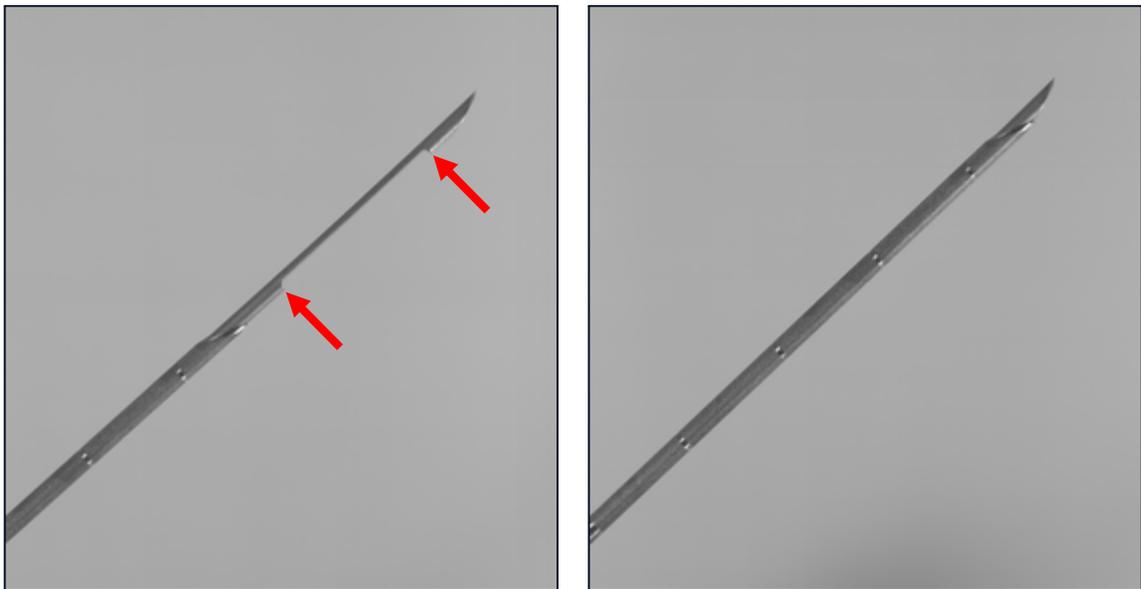
Bei der FNAB werden mit Nadeln durch Sog und stochernde Bewegung Zellen mit Hilfe einer Spritze in eine Kanüle gesaugt. Kurze Injektionsnadeln (Länge 2,5-7,5 cm) mit 0,64-0,75 mm Außendurchmesser (22-23 gauge) finden zur Punktion palpabler Knoten Anwendung. Lange Nadeln mit Mandrin (Länge 8-10

cm ) und einem Außendurchmesser von 0,8-0,9 mm empfehlen sich für die Punktion tiefer liegender Raumforderungen unter Ultraschall- oder CT-Kontrolle. Zum Aufbau eines ausreichenden Sogs kommen 20-ml-Einmalspritzen mit dicht schließendem Kolben und exzentrischen Kanülenansatz zur Anwendung. Um eine sichere Führung und Bedienung der Aspirationsspritze mit einer Hand zu gewährleisten, empfiehlt sich die Verwendung eines pistolenartigen Spritzenhalters [20] (Bild 1.1). Mittels Ultraschall- oder CT-gestützter Zielplanung wird die Nadel mit Mandrin in vorbestimmtem Winkel und Tiefe eingestochen. Nach Entfernung des Mandrins wird die Aspirationsspritze aufgesetzt und durch Herausziehen des Spritzenstempels ein Unterdruck erzeugt. Die Nadel wird im Zielgebiet mehrfach 2-10 mm vor und zurück bewegt, um Zellen zu lösen („Stochern“, „needling“). Dabei sollte man den Einstichwinkel der Nadel mindestens dreimal ändern, ohne jedoch das Zielgebiet zu verlassen. Erst nach Aufgabe des Unterdrucks durch Zurückschnellenlassen des Spritzenkolbens sollte die Nadel herausgezogen werden. Um ein Ausstrichpräparat von dem gewonnenen Gewebematerial herzustellen, muss nun die Punktionsnadel von der Spritze abgenommen werden. Daraufhin wird der Spritzenkolben wieder angezogen, die Nadel wieder fest aufgesetzt und deren Inhalt durch kräftiges Vordrücken des Spritzenstempels auf die Mitte eines Objektträgers gespritzt. Durch einen zweiten Objektträger kann das Material nun unter leichtem Druck ausgestrichen werden. Zur Fixation und Färbung kommen verschiedene Methoden zur Anwendung [20].

Die Repräsentativität der Materialgewinnung durch die FNAB ist gegenüber der STB meist dadurch erhöht, dass durch das so genannte „needling“ bzw. „Stochern“ mit der Nadel die Zellentnahme aus einem größeren Gewebsvolumen erfolgt als mit der nur einen Stichkanal betreffenden Stanze. Durch die FNAB geht jedoch nicht nur die Epithel-Stroma-Beziehung verloren, sondern meist auch die räumliche Anordnung der Zellen. Insofern hat die FNAB eine relativ hohe Sensitivität und Spezifität in der Charakterisierung maligner Prozesse, ist aber von eingeschränkter Wertigkeit bei einem negativen Biopsie-

Ergebnis [20-24]. Dafür erlauben Fixation und Färbung bei der FNAB die Erkennung zellulärer Details, welche der histologischen Aufarbeitung verborgen bleiben. Die Wundsetzung mit möglichen Komplikationen ist bei der FNAB in Abhängigkeit vom Nadeldurchmesser kleiner als bei der STB.

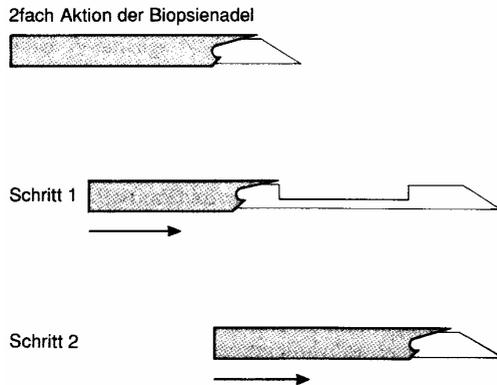
#### 1.4.2 Die Stanz- oder Schneidbiopsie (STB)



**Bild 1.2:** Stanzbiopsienadel (links offen, rechts geschlossen)

Bei dem Verfahren der Stanzbiopsie (STB) arbeiten die verwendeten Nadeln nach dem TruCut-Prinzip<sup>®</sup>, d.h. die Außenkanüle enthält eine blind endende Innenkanüle, die spitzennah eine Probenkerbe zur Aufnahme eines Gewebszylinders enthält (Bild 1.2). Klassische Vertreter sind Schneidbiopsienadeln, welche zumeist mit den Außendurchmessern 1,2 und 2,1 mm sowie in den Längen 7,6, 11,4 und 15,2 cm angeboten werden. Die geschlossene Nadel wird vor dem Biopsieziel positioniert und durch Verschieben der Innenkanüle die Probenkerbe in der Läsion platziert. Durch Vorschub der scharf eingeschliffenen Außenkanüle wird ein Gewebszylinder ausgeschnitten. Bei Halbautomatknadeln wird die Probenkerbe manuell in das

Punktionsziel vorgeschoben und nur der eigentliche Biopsievorgang durch eine gespannte Springfeder ausgelöst (Bild 1.3).



**Bild 1.3: Funktionsprinzip der TruCut®-Nadel**

Biopsien dieser Art werden überwiegend in so genannter Koaxialtechnik durchgeführt. Dabei wird eine Führungskanüle vor dem Punktionsziel platziert und die Biopsie durch diese Koaxialnadel ausgeführt. Dieses Vorgehen hat den Vorteil, dass problemlos mehrere Gewebiszylinder entnommen werden können, ohne dass der gesamte Biopsievorgang wiederholt werden muss. Der Nachteil besteht darin, dass damit der Außendurchmesser für den Zugangsweg größer wird. Die gewonnenen Gewebiszylinder werden sofort in gepuffertes 10%iges Formalin gebracht, später histologisch aufgearbeitet, geschnitten und mit unterschiedlichen Methoden gefärbt.

Während die FNAB Zellen im Wesentlichen durch Unterdruck aus ihrem Gewebsverband löst, werden also bei der STB Zellen in ihrem natürlichen Gewebsverband belassen und als zusammenhängende Zylinder herausgeschnitten. Zwischen FNAB und STB bestehen also prinzipielle Unterschiede bezüglich der mit ihnen zu erreichenden Treffsicherheit und Klassifikationsmöglichkeiten.

Dagegen unterscheiden sich STB-Nadeln verschiedenen Kalibers, die pathologische Diagnostik betreffend, nur in der Menge und damit Repräsentativität des zur mikroskopischen Diagnostik zur Verfügung stehenden

Materials. Weniger Untersuchungsmaterial bedingt eine geringere Genauigkeit zum Beispiel in der Tumorklassifikation und Malignitätsgradierung. Durch den Umstand der im Mittel höheren Materialausbeute und der höheren Wahrscheinlichkeit, unfragmentierte Biopsiezylinder zu gewinnen, weisen Techniken mit größeren Nadeldurchmessern auch eine höhere diagnostische Wertigkeit auf. Auch die Zahl der Biopsievorgänge bis zur Gewinnung ausreichenden Materials kann beispielsweise durch den Einsatz von 18-gauge Nadeln anstelle von 21-gauge Nadeln signifikant verringert werden [25].

Die Arbeitsgruppe von Althoff et al. beschrieb 2006 eine dritte Technik der Materialgewinnung und -verarbeitung durch perkutane Biopsie: die Untersuchung Formalin-fixierter Blutgerinnsel (formalin-fixed blood clots, FFBCs) [26]. Es erfolgt zunächst eine perkutane Aspirationsbiopsie in traditioneller Technik. Ergibt sich während des Biopsievorgangs das Problem eines hohen Blutgehaltes des gewonnenen Materials, so kann dies die weitere diagnostische Evaluation empfindlich stören. Es bildet sich ein Blutgerinnsel in Kanüle und Spritzenkonus, der die weitere Verarbeitung, insbesondere die Anfertigung von Ausstrichen, unter Umständen unmöglich macht. In diesem Fall kann das entstandene Gerinnsel in Formalinlösung fixiert und ähnlich wie der Stanzzyylinder einer STB histologisch aufgearbeitet und untersucht werden. Die diagnostische Wertigkeit dieses Verfahrens liegt allerdings deutlich unter der der beiden anderen vorgestellten Methoden der Materialgewinnung. Insofern ist es lediglich als Ergänzung beziehungsweise als Alternative bei Unmöglichkeit der Durchführung einer klassischen FNAB anzuwenden.

## 1.5 Aktuelle Datenlage

### 1.5.1 Ergebnisse perkutaner Milzpunktionen

Die Durchführung einer Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) der Milz wurde erstmals 1916 als ein Verfahren zur Diagnose der Leishmaniose beschrieben [27]. Im Folgenden wurde die Methode auch in der Abklärung anderer systemischer Erkrankungen (Speicherkrankheiten, Amyloidose, Sarkoidose, Malaria und Tuberkulose) sowie von herdförmigen Befunden der Milz wie zum Beispiel Hämangiomen eingesetzt [7, 28-33].

In den vergangenen Jahren kam die FNAB bei Patienten mit Splenomegalie oder fokalen Milzläsionen zum Einsatz. Die diagnostische Ausbeute bei Nutzung einer 22- oder 23-gauge Nadel lagen in den verschiedenen Studien zwischen 62,8 und 100% [34-42].

Die – zumeist sonografisch gesteuerte – Stanzbiopsie (STB) der Milz ist ein relativ neues Verfahren, das als Vorteil vor allem den Erhalt der Gewebearchitektur sowie die Möglichkeit einer immunhistochemischen Aufarbeitung der Probe und damit einen wesentlichen Vorteil gegenüber der Aspirationszytologie besitzt. Verschiedene Studien haben eine diagnostische Ausbeute zwischen 88,9 und 100% gezeigt [36, 37, 43-45] (Tabelle 1.3). Insbesondere bei einem fraglichen Lymphom-Befall der Milz ist die STB der FNAB in ihrer diagnostischen Wertigkeit hochsignifikant überlegen (90,9% vs. 68,5%) [36, 46].

### 1.5.2 Komplikationen perkutaner Milzpunktionen

Es werden allgemeine und den Zugangsweg betreffende von den organspezifischen Komplikationen unterschieden. Die wesentlichen allgemeinen Komplikationen sind:

- Blutungen
- Infektionen
- Nerven-, Gefäß- und Organverletzungen

| Autor               | Jahr | Anz. Biopsien | Bildgebung | Diagnose/ Zielsetzung                | Diagnose | Komplikationen |
|---------------------|------|---------------|------------|--------------------------------------|----------|----------------|
| Taavitsainen et al. | 1987 | 101           | US         | Sarkoidose/ Diagnostik               | 100 %    | 4,0%           |
| Siniluoto et al.    | 1991 | 42            | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 97,6 %   | Keine          |
| Silverman et al.    | 1992 | 11            | US/ CT     | Tu, NHL, HD/ Diagnostik und Staging  | k.A.     | 11 %           |
| Zeppa et al.        | 1993 | 140           | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 94,3 %   | 1,4 %          |
| Caraway et al.      | 1996 | 50            | CT/ US     | Verschiedene/ Diagnostik und Staging | 92,0 %   | 2,0 %          |
| Lishner et al.      | 1996 | 65            | k.A.       | Verschiedene/ Diagnostik             | 75,9 %   | Keine          |
| Keogan et al.       | 1999 | 20            | CT/ US     | Verschiedene/ Diagnostik             | 88,9 %   | Keine          |
| Venkataramu et al.  | 1999 | 35            | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 62,8 %   | 2,9 %          |
| Civardi et al.      | 2001 | 398           | US         | Verschiedene/ Diagnostik und Staging | 94,5 %   | 5,2%           |
| Kang et al.         | 2007 | 88            | US/ CT     | Verschiedene/ Diagnostik             | k.A.     | Keine          |

**Tabelle 1.2: Übersicht der klinischen Studien zur perkutanen Aspirationsbiopsie der Milz (US= Ultraschall, CT= Computertomografie, k.A.= keine Angabe, NHL= Non-Hodgkin-Lymphom, HD= Hodgkin-Lymphom, Tu= solide Tumoren) [33-36, 38-42, 46]**

| Autor             | Jahr | Anz. Biopsien | Bildgebung | Diagnose/ Zielsetzung                | Diagnose | Komplikationen |
|-------------------|------|---------------|------------|--------------------------------------|----------|----------------|
| Lindgren et al.   | 1985 | 32            | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 100 %    | 12,5%          |
| Suzuki et al.     | 1987 | 8             | US         | NHL/ Staging                         | 100 %    | Keine          |
| Cavanna et al.    | 1992 | 46            | US         | NHL/ Diagnostik und Staging          | 97,8 %   | Keine          |
| Keogan et al.     | 1999 | 18            | US/ CT     | Verschiedene/ Diagnostik und Staging | 88,9 %   | Keine          |
| Muraca et al.     | 2001 | 30            | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 90,0 %   | Keine          |
| Civardi et al.    | 2001 | 155           | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | 90,9 %   | 5,2%           |
| Liebermann et al. | 2003 | 43            | US/ CT     | NHL und HD/ Diagnostik und Staging   | 90,0 %   | 8,3%           |
| Lal et al.        | 2003 | 30            | US/ CT     | Verschiedene/ Diagnostik             | 90,0 %   | 6,0%           |
| López et al.      | 2006 | 11            | US         | Verschiedene/ Diagnostik und Staging | 100 %    | Keine          |
| Liang et al.      | 2007 | 42            | US         | Verschiedene/ Diagnostik             | k.A.     | 2,4%           |

**Tabelle 1.3: Übersicht der klinischen Studien zur perkutanen Schneidbiopsie der Milz (US=Ultraschall, CT=Computertomografie, k.A.=keine Angabe, NHL=Non-Hodgkin-Lymphom, HD=Hodgkin-Lymphom) [25, 28, 35, 36, 43, 44, 47-50]**

Bei den organspezifischen Komplikationen ist vor allem der Pneumothorax bei Lungenpunktionen anzuführen. Er kann ebenfalls – wenn auch wesentlich seltener – bei Punktionen benachbarter Organe (Milz, Nebenniere, Mediastinum, Wirbelkörper, Leber) auftreten [51]. Die Verschleppung von Tumorzellen im Punktionskanal, die zu Implantationsmetastasen führen, ist bei Verwendung von Schneidbiopsiesystemen eine Rarität, da der entnommene Gewebekblock im umhüllenden Zylinder der Nadel geborgen wird. Fallmitteilungen von postpunktionellen Implantationsmetastasen betreffen daher meist die Feinnadelaspirationsbiopsie [52].

Bei Betrachtung der Datenlage bezüglich durchschnittlicher Komplikationsraten von Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) und Stanzbiopsie (STB) bei Punktionen von Leber [53-55], Lunge [56], Pankreas [57, 58] und Prostata [59], ist eine zum Teil deutliche Differenz zwischen den verschiedenen Verfahren und Zielorganen auffällig (Tabelle 1.4). Im Rahmen der angeführten Studien wurden jeweils TruCut<sup>®</sup>-Nadeln mit einem Durchmesser von 2,1 mm verwendet.

|      | Leber      | Lunge | Pankreas  | Prostata  |
|------|------------|-------|-----------|-----------|
| FNAB | 0 – 0,05 % | 9 %   | 0 – 0,1 % | 0 – 0,1 % |
| STB  | 0,15 %     | 49 %  | 7 – 14 %  | 3 – 20 %  |

**Tabelle 1.4: Durchschnittliche Komplikationsraten bei Punktionen unterschiedlicher Organe [53-55]**

Es ist zu erkennen, dass bei der Punktion der Prostata Komplikationen aller Art bei Verwendung der Stanzbiopsie im Mittel hundertmal häufiger auftreten als bei der Verwendung einer Feinnadelaspirationsbiopsie. Ernstzunehmende Blutungen sind selbst bei Punktionen großer Gefäße unter Verwendung der Feinnadelpunktionstechnik extrem selten, da sich das kleine Punktionsloch in der Gefäßwand spontan innerhalb kurzer Zeit wieder schließt. Eine Blutungsneigung erhöht das Punktionsrisiko. Oft verbietet sich deshalb eine STB, so dass gerade in diesem Fall die FNAB aufgrund ihres geringeren Blutungsrisikos zur diagnostischen Abklärung indiziert ist [20].

Biopsien der Milz gelten als besonders komplikationsträchtig. Auf der einen Seite werden Blutungen aus der Milz gefürchtet, auf der anderen Seite ist ein sicherer Zugang zum Milzparenchym wegen der engen Beziehung zur linken Pleura und Lunge sowie zur linken Kolonflexur, zum Magen und zur linken Niere nicht immer möglich [35, 37]. Zusätzlich ist das Risiko postpunktioneller Blutungskomplikationen bei Patienten mit therapeutisch oder pathologisch herabgesetzter Gerinnungsfunktion besonders hoch [60]. Trotz der hohen diagnostischen Wertigkeit des Verfahrens wird daher die perkutane Schneidbiopsie aufgrund der angenommenen Verletzlichkeit und des damit verbundenen Risikos postinterventioneller Komplikationen nicht zur Abklärung fokaler oder diffuser Milzläsionen empfohlen [50]. Zur Reduktion oder Vermeidung einer postinterventionellen Blutung wird bei Durchführung einer perkutanen Biopsie der Milz angeraten, bei Vorliegen mehrerer Läsionen oder einer sehr großen Läsion, so peripher als möglich zu biopsieren, so dass wenig normales Milzgewebe in den entstehenden Stichkanal einbezogen wird [6]. Hilusnahe Prozesse stellen in diesem Zusammenhang ein besonderes Problem dar. In vielen klinischen Situationen wird daher bei Patienten mit malignen oder benignen Erkrankungen, die die Milz mit einbeziehen, ein chirurgisches Vorgehen als Alternative zur histologischen Sicherung der Diagnose eingesetzt [61]. Unbestritten ist, dass das Wissen um Natur und Dignität von Milzprozessen von hoher klinischer Relevanz ist und häufig das weitere therapeutische Vorgehen bei den betroffenen Patienten bestimmt [43, 44, 62].

### **1.5.3 Methoden zur Reduktion postpunktioneller Blutungskomplikationen**

In den letzten Jahren wurden verschiedene Methoden entwickelt, um das Blutungsrisiko nach perkutaner Punktion parenchymatöser Abdominalorgane zu minimieren. Dabei kamen folgende Techniken zum Einsatz: Verplombung des Biopsiekanals mit absorbierbaren Gelatine-Schwämmen, einer Embolisationsspirale, Fibrinkleber oder einem Histoacryl-Lipiodol-Gemisch. Daneben wurde die Radiofrequenz-Ablation zum Verschluss des Biopsiekanals

angewendet. Die meisten der publizierten Studien beschäftigen sich mit der Nutzung der genannten Techniken im Rahmen perkutaner Biopsien der Leber [63-69] und kamen dabei zu guten Ergebnissen, so dass diese Techniken bei Risiko-Patienten in die klinische Routine übernommen werden konnten.

Aufgrund der erheblich niedrigeren Zahl an durchgeführten perkutanen Biopsien der Milz gibt es bisher wenige Studien, die bei dieser Indikation Methoden zur postpunktionellen Blutstillung zum Thema haben. Eine klinische [70] und eine frühe tierexperimentelle Studie [71] beschäftigen sich mit der Anwendung der Plombierung des Punktionskanals mit einem resorbierbaren Gelatine-Schwamm nach Durchführung einer direkten Splenoportografie. Aufgrund einer oftmals vorbestehenden Leberzirrhose mit konsekutiver Erhöhung des portalvenösen Blutdrucks und einer Koagulopathie besteht gerade bei der für diese diagnostische Maßnahme in Frage kommenden Patientengruppe ein hohes Risiko für schwere postinterventionelle Blutungskomplikationen. Durch die Plombierung des Punktionsstraktes konnte in beiden Studien eine jeweils signifikant herabgesetzte Zahl von hämodynamisch relevanten Blutungen beobachtet werden.

Eine neuere tierexperimentelle Studie [60] vergleicht drei verschiedene Methoden zur Blutungsminimierung nach offener Stanzbiopsie der Milz. Die Autoren finden eine signifikante Blutungsreduktion für die Plombierung des Stichkanals mit einem Gelatine-Schwamm und einem Histoacryl-Lipiodol-Gemisch sowie für die postpunktionelle Radiofrequenz-Kauterisierung. Letzteres Verfahren wird auch wegen des geringen Zeitaufwands von den Autoren favourisiert.

Nach eingehender Literatur-Recherche fand sich keine publizierte Arbeit, die die Anwendung der Plombierung mit einem Gelatine-Schwamm nach bildgesteuerter perkutaner Milzbiopsie zum Thema hat.

## 1.6 Zielsetzung

Die hier vorgestellte Arbeit befasst sich mit folgenden Fragestellungen:

1. Kann durch die Technik der Plombierung des Biopsie-Kanals mit einem Gelatine-Schwamm eine signifikante Reduktion der postinterventionellen Blutungsmenge nach perkutaner Stanzbiopsie der Milz erreicht werden?
2. Korreliert die während des CT-gesteuerten Biopsievorgangs gemessene Länge der Punktionskanäle mit der Schwere der postinterventionellen Blutung?
3. Korreliert der quantitative Grad der Ausfüllung des Stichkanals mit dem Gelatine-Schwamm mit der Schwere der postinterventionellen Blutung?
4. Können durch Auswertung einer computertomografischen Untersuchung kurz nach erfolgter Biopsie Aussagen über das Risiko einer schweren Blutungskomplikation erfolgen?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Allgemeines Versuchsprotokoll

Der Versuchsablauf mit einem Versuchstier erstreckte sich über jeweils zwei Tage.

Am ersten Tag wurde eine CT-gesteuerte Stanzbiopsie der Milz in koaxialer Technik durchgeführt. Randomisiert wurde bei der Hälfte der Versuchstiere postinterventionell der Punktionskanal mit einem resorbierbaren Gelatineschwamm (Gelaspon<sup>®</sup>) okkludiert.

10 der insgesamt 26 Versuchstiere (je 5 aus der Kontroll- und Verumgruppe) erhielten präinterventionell eine intravenöse Vollheparinisierung.

Nach erfolgter perkutaner Biopsie und Durchführung einer Kontroll-Computertomografie wurde die Narkose ausgeleitet und die Versuchstiere extubiert.

24 Stunden nach der Intervention wurden die Versuchstiere nach erneuter Durchführung einer abdominellen Computertomografie in Narkose euthanasiert, anschließend erfolgte eine Obduktion.

Über eine Bestimmung des Volumens sowie des Hämoglobin-Gehaltes der vorgefundenen intraperitonealen Flüssigkeit wurde die Blutungsmenge errechnet.

Zudem wurde anhand der prä- und postinterventionell gewonnenen computertomografischen Bilder eine volumetrische Berechnung der intraperitonealen Flüssigkeit vorgenommen und deren jeweilige Dichtewerte in Hounsfield-Einheiten bestimmt.

Der Punktionskanal im Milzparenchym wurde histologisch aufgearbeitet und auf die Lokalisation des Gelatine-Plugs hin untersucht.

## 2.2 Versuchstiere

Die Versuche wurden an Hybriden der deutschen Landrasse und Edelrasse durchgeführt. Die Tiere wurden nicht speziell für den Versuch gezüchtet und aus der landwirtschaftlichen Produktion bezogen. Es handelte sich um ausschließlich männliche Tiere, das mittlere Körpergewicht betrug  $33,1 \text{ kg} \pm 5,73 \text{ kg}$ .

Die Unterbringung erfolgte in den Ställen des Institutes für experimentelle Medizin der Universität Köln, wobei die Pflege einem ausgebildeten Tierpfleger des Institutes oblag. Die für unsere Untersuchungen bestellten Schweine wurden zumeist mit anderen, gleichaltrigen und aus einem Bestand stammenden Tieren in Gruppenhaltung zu 2 – 3 Tieren eingestellt. Sie erhielten Wasser sowie Alleinfutter für Mastschweine (RWZ-Universal Mast Press, Raiffeisen Waren-Zentrale, Rhein-Main eG) ad libitum.

Die Genehmigung zur Durchführung von Tierversuchen nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes wurde beantragt und lag zu Beginn der Versuchsreihe vor (siehe Anhang).

### 2.3 Gelaspon®

Gelaspon® ist ein wasser-unlösliches, nicht-elastisches, poröses und komprimierbares Produkt, hergestellt aus gereinigter Gelatine aus Schweinehaut und Aqua pro injectione. Es ist in der Lage, Blut und andere Flüssigkeiten bis zu einem Mehrfachen seines Eigengewichts zu absorbieren. Obwohl der hämostatische Wirkmechanismus nicht vollständig bekannt ist, scheint er mehr Resultat der physikalischen Auswirkung zu sein als einer Beeinflussung von Gerinnungsmechanismen. Es wurde jedoch dennoch gezeigt, dass Typ-I-Kollagen in vitro ein starker Aktivator der intrinsischen Blutgerinnungskaskade ist [72].

Die in der Regel vollständige Absorption mit lediglich geringer Gewebsreaktion hängt von verschiedenen Faktoren ab, darunter der verwendeten Menge, dem Sättigungsgrad mit Blut oder anderen Flüssigkeiten sowie dem anatomisch-topographischen Ort des Einsatzes. Bei der Platzierung in weichen Geweben und Organen beginnt die Resorption mit einer Infiltration des Schwamms durch Monozyten und Gewebsmakrophagen, die in einer Abräumreaktion das Fremdprotein entfernen. Fibroblasten proliferieren anfangs lediglich im das Fremdmaterial umgebenden Gewebe. Innerhalb von 1-2 Wochen ist der Schwamm mit monozytären Zellen durchsetzt und von einem Kollagennetz umgeben. Nach vier Wochen vermindert sich die zelluläre Antwort, die Zwischenräume des Schwamms sind durchsetzt mit körpereigenem Kollagen. Nach zirka neun Wochen findet sich nur noch reifes Narbengewebe [73].

Obwohl Gelatineschwämme seit langer Zeit im Rahmen verschiedener Interventionen in den Körper eingebracht werden und allgemein gut vertragen werden, berichtet McCartney et al. vom Auftreten einer schweren pleuralen Reaktion im Anschluss an den Verschluss eines Biopsietraktes durch einen Gelatineschwamm [74]. Die Entwicklung von nicht-infektionsbedingten Fieberreaktionen, die Entstehung von Fremdkörpergranulomen und überschießenden fibrotischen Reaktionen wurden auch anderweitig berichtet [73, 75].

Da Gelaspon® bedingt durch die Flüssigkeitsabsorption eine deutliche Volumenexpansion erfahren kann, muss gerade bei Platzierung in Körper- oder Gewebshöhlen auf die Gefahr von kompressionsbedingten Komplikationen geachtet werden.

## 2.4 Methoden

### 2.4.1 Anästhesie

Die Prämedikation der Versuchstiere erfolgte im Stall durch die intramuskuläre Verabreichung von 2 mg/kg KG Azaperon und 15-20 mg/kg KG Ketamin in einer Mischspritze [76].

Bei Erreichen eines ausreichenden Sedierungsgrades erfolgte die Anlage eines peripheren venösen Zugangs am Ohr und die Einleitung der Narkose mit Propofol nach Wirkung. Um die weitere Narkoseführung gewichtsadaptiert durchführen zu können, wurden die Versuchstiere gewogen.

Nach Verbringen der Tiere in den Einleitungsraum wurde die Narkose durch weitere titrierende Gabe von Propofol vertieft und es erfolgte die endotracheale Intubation unter Sicht mit einem Magill-Tubus.

Während der Blutentnahme und der Vorbereitung zum Transport wurden die Tiere druckkontrolliert über ein Narkosekreisteil (Fabius GS<sup>®</sup>, Fa. Dräger) beatmet, die Narkose wurde inhalativ mit Isofluran weitergeführt.

Zum Transport, während der CT-Untersuchungen sowie für die Dauer des interventionellen Eingriffs wurde auf eine total-intravenöse Anästhesie umgestellt mittels der einmaligen intravenösen Gabe von 2,5 mg Midazolam sowie der kontinuierlichen, Spritzenpumpen-gesteuerten Gabe von 60 mg/ kg KG/ min Ketamin [76]. Dabei fand eine apparative Überwachung mit Messung von Pulsfrequenz, peripherer Sauerstoffsättigung sowie endexpiratorischer CO<sub>2</sub>-Konzentration statt, die Beatmung wurde volumengesteuert über ein mobiles Beatmungsgerät durchgeführt (Oxylog<sup>®</sup>, Fa. Dräger)

Die Ausleitung wurde wiederum am Narkosekreisteil vorgenommen. Bei Erreichen eines ausreichenden Atemminutenvolumens sowie einer adäquaten Vigilanz wurden die Tiere extubiert und nach Kontrolle der Rektaltemperatur in den Stall verbracht.

### 2.4.2 CT-gesteuerte Punktion

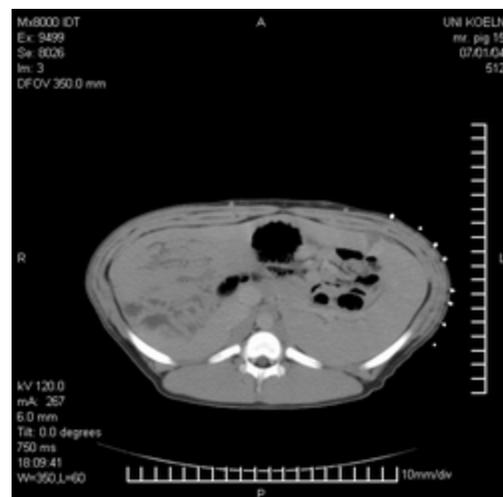
Die Bildgebung für sämtliche im Rahmen der Studie durchgeführten perkutanen Punktionen fand an einem 16-Zeilen-Computertomografen Mx 8000 IDT der Fa. Philips Medical Systems statt.

Zunächst erfolgte eine Computertomografie des Abdomens nativ sowie nach intravenöser Gabe von Kontrastmittel (Solutrast<sup>®</sup>, 60 ml mit einer Startverzögerung nach Kontrastmittelgabe von 60 Sekunden). Die Schichtführung wurde dabei von den basalen Thoraxanteilen bis zum kaudalen kleinen Becken mit einer Schichtdicke von 5 mm gewählt (120 KV, 250 mAs, Increment 5 mm) (Bild 2.1).

Nach Auswahl einer zur Punktion geeigneten Schichtebene wurde zwecks einer verbesserten räumlichen Orientierung eine Navigationshilfe aus horizontal verlaufenden Metallstreben auf die Haut des Versuchstieres aufgelegt (Bild 2.2) und selektiv jeweils sechs Schichten mit einer Schichtdicke von 6 mm angefertigt (120 KV, 200 mAs, Increment 12 mm). Die Bildgebung wurde während des Punktionsvorganges mehrfach wiederholt.



**Bild 2.1:** kontrastmittelgestützte praeinterventionelle Bildgebung



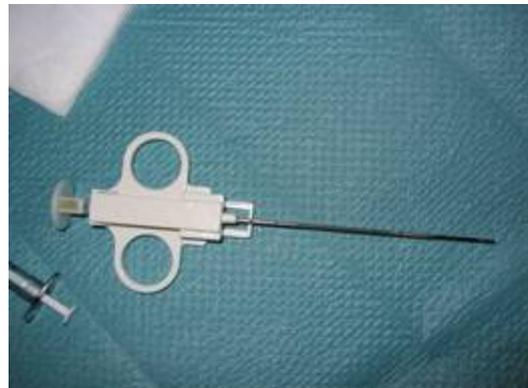
**Bild 2.2:** Punktionsplanung mit Navigationsgitter

Bei 10 der insgesamt 26 Versuchstiere erfolgte 10 Minuten vor Beginn der Punktion die einmalige intravenöse Gabe von 300 I.E. Heparin pro Kilogramm

Körpergewicht. Mit einer 2%igen Xylocain-Lösung wurde eine Infiltrationsanästhesie gesetzt, nach einer Stichinzision erfolgte die Punktion CT-navigiert in Koaxialtechnik. Dabei wurde zunächst ein Führungstrokar vor dem Punktionsziel platziert (Bild 2.3) und die Biopsie durch diese Koaxialnadel ausgeführt. Während dieses Vorganges wurde die maschinelle Beatmung kurz ausgesetzt, so dass die Punktion der Milzkapsel in Apnoe erfolgte. Über den liegenden Trokar wurden pro Versuchstier zwei Biopsien aus dem zentralen, hilusnahen Bereich der Milz entnommen, d.h. in einem Abstand von mehr als zwei Zentimeter von der Kapsel. Dabei wurde eine halbautomatische 16-G Biopsienadel (1,60 x 150 mm) der Fa. Somatex<sup>®</sup> verwendet (Bild 2.4). Vor Auslösung der Biopsienadel, das heißt im Zustand der ausgefahrenen Innenkanüle (Bild 2.5) wurde die Länge des jeweiligen Stichkanals gemessen. Bezugspunkte waren dabei die Spitze der Innenkanüle und die Eintrittsstelle des Trokars in der Milzkapsel. Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurde der Trokar nach Abschluss der zweiten Biopsie entfernt.



**Bild 2.3:** Trokar in situ



**Bild 2.4:** Halbautomatische TruCut<sup>®</sup>-Nadel

Die gewonnenen Biopsie-Zylinder wurden zur weiteren histologischen Aufarbeitung in gepufferter 4%iger Formalinlösung fixiert.

15 Minuten nach Entfernung des Trokars wurde eine zweite computertomographische Bildgebung des gesamten Abdomens nativ mit einer Schichtdicke von 5 mm (120 KV, 250 mAs, Increment 5 mm) sowie nach Gabe

von Kontrastmittel durchgeführt (Solutrast<sup>®</sup>, 60 ml mit eine Startverzögerung nach Kontrastmittelgabe von 120 Sekunden).

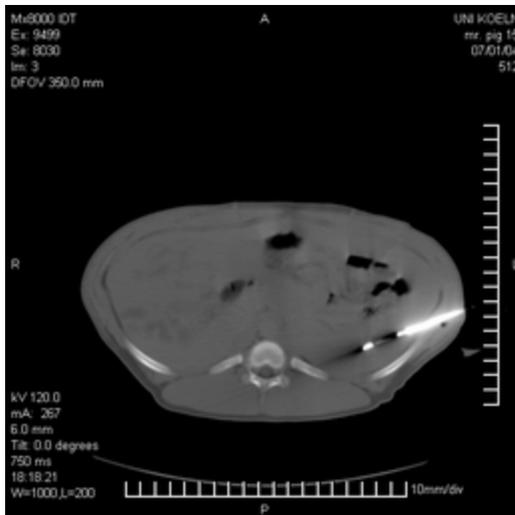


Bild 2.5: TruCut<sup>®</sup>-Nadel in situ mit ausgefahrener Innenkanüle

### 2.4.3 Verschluss Technik mit Gelaspon<sup>®</sup>

Bei den Tieren der Verum-Gruppe erfolgte nach Durchführung der zweiten Biopsie eine Okklusion des Stichkanals mittels Gelaspon<sup>®</sup> über den liegenden Trokar.

Gelaspon<sup>®</sup> ist nicht röntgendicht. Aus diesem Grund erfolgte vor Embolisation die Beimischung eines wasserlöslichen Kontrastmittels, so dass ein Gel von hoher Viskosität entstand. Für den Okklusionsvorgang wurden 1 ml-Spritzen verwendet. Zunächst wurde der trockene Gelatineschwamm von Hand auf die passende Größe zugeschnitten (Bild 2.6). Das Befüllen der Spritzen wurde nach dem so genannten Hinterladerprinzip durchgeführt: Zunächst wurde der Spritzenstempel herausgezogen und der Gelatineblock eingeführt (Bild 2.7). Nach retrograder Füllung der Spritze mit Kontrastmittel wurde der Spritzenstempel wieder eingeführt und die Spritze entlüftet. Die Spritze wurde auf den noch intraparenchymatös liegenden Trokar aufgesetzt, während des Zurückziehens des Trokars wurde 1 ml des Gels appliziert. Zur

Infektionsprophylaxe wurden während des Vorganges der Spritzenpräparation strengste sterile Kautelen beachtet.



Bild 2.6: Zuschneiden des Gelatine-Schwamms



Bild 2.7: Befüllen der Spritze

Auch hier erfolgte 15 Minuten nach Entfernung des Trokars eine zweite computertomographische Bildgebung des gesamten Abdomens nativ sowie nach Gabe von Kontrastmittel (Solutrast<sup>®</sup>, 60 ml, mit einer Startverzögerung nach Kontrastmittelgabe von 120 Sekunden) (Bild 2.8).

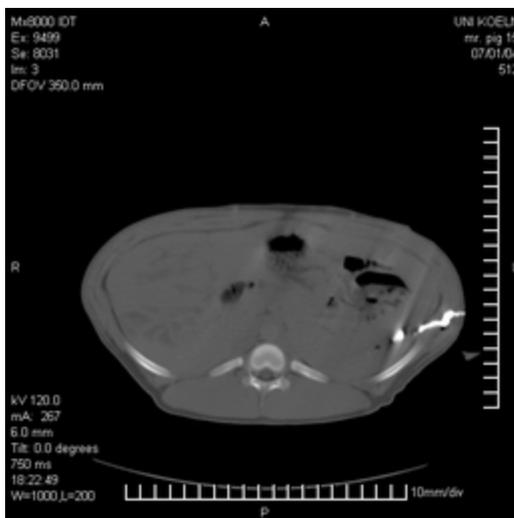


Bild 2.8: Status nach Okklusion des Stichkanals

#### 2.4.4 Euthanasie

Die Euthanasie der Tiere erfolgte am Ende des zweiten Versuchstages durch die intravenöse Gabe von im Mittel 3200 mg Pentobarbital [76].

### 2.4.5 Obduktion

Der Hautschnitt wurde vom Xiphoid bis 5 cm kranial der Schambeinfuge geführt, blutende Gefäße wurden dabei durch elektrische Koagulation gestillt. Vor der Eröffnung des Peritoneums wurde die Bauchdecke durch zwei Personen angehoben, um eine akzidentelle Verletzung intraperitonealer Strukturen zu vermeiden.

Die intraperitoneal vorgefundene Flüssigkeit wurde abgesaugt und das Volumen bestimmt. Die Punktionsstellen an der Bauchwand und an der Milz wurden in situ beurteilt, anschließend das Organ nach Gefäßligatur entnommen und Größe sowie Gewicht bestimmt.

Der den Punktionskanal tragende Milzanteil wurde zur weiteren histologischen Aufarbeitung in gepufferter 4%iger Formalinlösung fixiert.

### 2.4.6 Laboruntersuchungen

Nach Vertiefen der Narkose und endotrachealer Intubation erfolgte die arterielle Blutentnahme an der Arteria radialis bzw. der Arteria poplitea einer der Vorderläufe. Mittels einer heparinisierten 2 ml-Spritze wurde eine Probe zur blutgasanalytischen Untersuchung gewonnen, es wurden jeweils drei Messungen zwecks Bestimmung des präinterventionellen Hämoglobin-Wertes sowie der Beurteilung der Beatmungssituation durchgeführt (ABL 510, Fa. Radiometer Copenhagen). Zusätzlich wurden mit Monovetten<sup>®</sup> der Fa. Sarstedt zwei weitere Blutproben zur Bestimmung folgender Parameter abgenommen: Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, Quick-Wert bzw. INR, Partielle Thromboplastinzeit (PTT). Die Messungen wurden im Zentrallabor der Uniklinik Köln durchgeführt (XE2100, Fa. Sysmex und BCS, Fa. Dade-Behring).

Bei den Versuchstieren, die präinterventionell heparinisiert wurden, erfolgte 10 min. nach der intravenösen Heparin-Bolusinjektion eine weitere arterielle Blutentnahme zur Bestimmung der Activated Clotting Time (ACT) (Hemochrom 401, Fa. International Technidyne Corporation).

Am zweiten Versuchstag wurde nach Einleitung der Narkose wiederum arteriell Blut entnommen, es wurden die gleichen Messparameter wie 24 Stunden zuvor bestimmt.

Die während der Obduktion entnommene intraperitoneale Flüssigkeit wurde im Zentrallabor auf ihren Hämoglobin-Wert und die Leukozyten-Zahl hin untersucht (XE2100, Fa. Sysmex).

#### **2.4.7 Histologische Aufarbeitung**

Sowohl die durch die Biopsie gewonnenen Gewebe-Zylinder als auch der jeweils den Biopsiekanal tragende Milzanteil wurden durch Einbringen in gepufferte 4%ige Formalin-Lösung fixiert.

Beim Zuschneiden des Milzgewebes nach erfolgter Fixierung wurde die erste Schnitfführung durch den sichtbaren Einstich in der Milzkapsel gelegt, das Parenchym danach in Stufenschnitten alle 0,5 cm im rechten Winkel zur Kapseloberfläche zugeschnitten. Die Einbettung erfolgte mittels des Gewebeentwässerungs-Einbettungsautomaten TissueTec VIP E300 der Fa. Sacura. Mit dem halbautomatischen Mikrotom HN40 der Fa. Jung wurden 4-5 µm dicke Präparate angefertigt. Als Färbeverfahren wurden standardmäßig Hämatoxylin-Eosin sowie Elastica-van-Gieson gewählt, die Färbungen wurden von Hand vorgenommen.

#### **2.4.8 Volumetrische Messungen**

Anhand der kontrastmittelgestützten computertomografischen Bildgebungen prä- und direkt postinterventionell sowie 24 Stunden nach stattgehabter Intervention wurde eine volumetrische Berechnung der intraabdominellen Flüssigkeitsmenge durchgeführt.

Mithilfe der Software MxLiteView Version 1.24 der Fa. Philips Medical Systems erfolgte in den jeweiligen Schnittbildebene eine manuelle Markierung der Flüssigkeitsansammlung im splenorenalen Winkel und nachfolgend eine

Berechnung des Flüssigkeitsvolumens sowie der Dichte in Hounsfield-Einheiten (Bild 2.9).



Bild 2.9: Volumetrie mit der Software MxLiteView, Fa. Philips

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde mithilfe des Programms SPSS ausgeführt.

Es werden Mittelwerte plus/minus Standardabweichung angegeben. Im Falle des Bezuges auf Boxplot-Diagramme werden Mediane mit den zugehörigen 25. und 75. Perzentilwerten angegeben.

Als nicht-parametrischer Test bei zwei unverbundenen Stichproben wurde im ersten Teil der Arbeit der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Für mehrere unverbundene Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Ein p-Wert von  $< 0,05$  gilt jeweils als statistisch schwach signifikant, ein p-Wert  $< 0,01$  als signifikant und ein p-Wert  $< 0,001$  als hoch signifikant.

Im Rahmen der Regressionsberechnungen erfolgte die grafische Darstellung anhand von Streu-Punkt-Diagrammen, es wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Gerinnungsparameter

Im Folgenden werden die Tiere, bei denen postinterventionell eine Plombierung mittels Gelatineschwamm durchgeführt wurde, als Verumgruppe definiert, die Tiere, bei denen postinterventionell keine Plombierung erfolgte, als Kontrollgruppe.

Entsprechend dem internationalen Standard zur Durchführung perkutaner Biopsien wurden bei allen Versuchstieren präinterventionell relevante Parameter der Blutgerinnung bestimmt. Dabei wurden folgende Ergebnisse erhoben:

|                                  | <b>Mittelwert<br/>Kontrollgruppe</b> | Minimum<br>Kontrollgruppe | Maximum<br>Kontrollgruppe | <b>Mittelwert<br/>Verumgruppe</b> | Minimum<br>Verumgruppe | Maximum<br>Verumgruppe |
|----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>Thrombozyten<br/>(x1E9/l)</b> | <b>341 ± 15</b>                      | 330                       | 351                       | <b>324 ± 5</b>                    | 320                    | 327                    |
| <b>TPZ (Quick)<br/>(%)</b>       | <b>114 ± 2</b>                       | 112                       | 115                       | <b>108 ± 4</b>                    | 105                    | 110                    |
| <b>PTT (sec)</b>                 | <b>13 ± 1</b>                        | 12                        | 14                        | <b>12 ± 2</b>                     | 11                     | 14                     |
| <b>ACT (sec)</b>                 | <b>123 ± 13</b>                      | 113                       | 132                       | <b>114 ± 12</b>                   | 105                    | 123                    |

**Tabelle 3.1: Gerinnungsparameter präinterventionell (TPZ= Thromboplastinzeit, PTT= Partielle Thromboplastinzeit, ACT= Activated Clotting Time)**

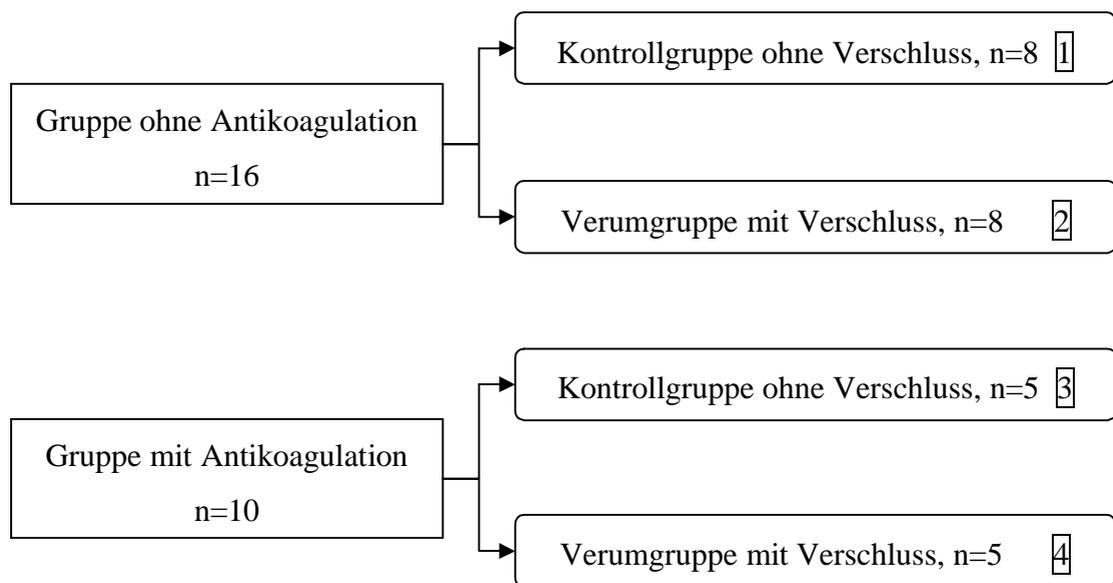
Präinterventionell ergab sich als Mittel der gemessenen Thrombozytenzahl ein Wert von 341.000/ $\mu$ l  $\pm$  15/ $\mu$ l in der Kontrollgruppe und 324.000/ $\mu$ l  $\pm$  5/ $\mu$ l in der Verumgruppe, für den Quick-Wert ein Wert von 114%  $\pm$  2% in der Kontrollgruppe und 108%  $\pm$  4% in der Verumgruppe, für die Partielle Thromboplastinzeit (PTT) ein Wert von 13 sec  $\pm$  1 sec in der Kontrollgruppe und 12 sec  $\pm$  2 sec in der Verumgruppe sowie für die Activated Clotting Time ein Wert von 123 sec  $\pm$  13 sec in der Kontrollgruppe und 114 sec  $\pm$  12 sec in der Verumgruppe (Tabelle 3.1). Dabei bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messergebnissen innerhalb beider Subgruppen.

Bei 10 der insgesamt 26 Versuchstiere – je fünf Tiere der Kontroll- und Verumgruppe – erfolgte 10 min präinterventionell die intravenöse Gabe von 300 I.E. unfraktioniertem Heparin/ kg Körpergewicht, bei den Tieren der Kontrollgruppe im Mittel 9150 I.E. und bei den Tieren der Verumgruppe im Mittel von 8400 I.E (Tabelle 3.2).

|   | <b>Mittelwert<br/>Kontrollgruppe<br/>(n=5)</b> | Minimum<br>Kontrollgruppe | Maximum<br>Kontrollgruppe | <b>Mittelwert<br/>Verumgruppe<br/>(n=5)</b> | Minimum<br>Verumgruppe | Maximum<br>Verumgruppe |
|---|--|---------------------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|
| <b>unfraktioniertes<br/>Heparin i.v. (IE)</b> | <b>9150</b>                                    | 7800                      | 10500                     | <b>8400</b>                                 | 8100                   | 8700                   |
| <b>PTT (sec)</b>                              | <b>93 ± 28</b>                                 | 51                        | 127                       | <b>82 ± 53</b>                              | 44                     | 120                    |
| <b>ACT (sec)</b>                              | <b>338 ± 63</b>                                | 281                       | 398                       | <b>293 ± 58</b>                             | 228                    | 356                    |

**Tabelle 3.2: Gerinnungsparameter nach Heparin-gabe (PTT= Partielle Thromboplastinzeit, ACT= Activated Clotting Time)**

Die Messungen zur Kontrolle des angestrebten antikoagulatorischen Effektes wurden 10 min nach der Heparin-gabe durchgeführt. In der Kontrollgruppe ergab sich für die PTT ein Mittelwert von 93 sec ± 28 sec, entsprechend einem 7,2 fachen Anstieg im Vergleich zu den Ausgangswerten. Für die ACT ergab sich ein Mittelwert von 338 sec ± 63 sec, dies entspricht einem 2,7 fachen Anstieg im Vergleich zu den Ausgangswerten. In der Gruppe der Verumtiere ergab sich nach Heparin-gabe eine mittlere PTT von 82 sec ± 53 sec, entsprechend einer Verlängerung um das 6,8 fache im Vergleich zu den Ausgangswerten. Die mittlere ACT wurde mit 293 sec ± 58 sec gemessen, dies entspricht einer Verlängerung um das 2,6 fache im Vergleich zu den Ausgangswerten. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Subgruppen sind jeweils nicht signifikant. Es ergeben sich somit insgesamt vier Subgruppen von Versuchstieren, die in der weiteren statistischen Auswertung in Bezug zueinander gesetzt werden können (Bild 3.1).

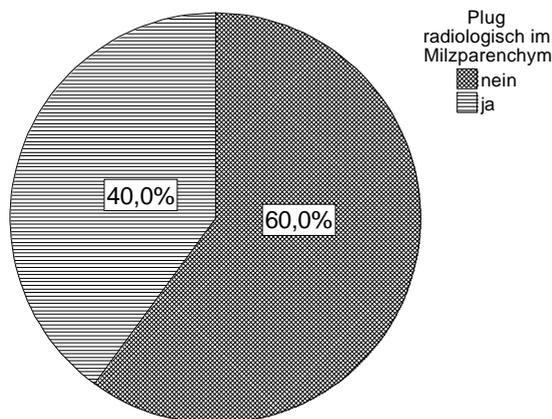


**Bild 3.1: Einteilung der Subgruppen**

## 3.2 Intervention

Die computertomografisch gesteuerte Punktion der Milz mit der Führungskanüle sowie die nachfolgende Einführung der coaxialen Stanzbiopsienadel zur Entnahme von jeweils zwei hilusnahen Biopsien pro Versuchstier gestaltete sich in allen Fällen im Ablauf komplikationslos.

Direkt nach Abschluss der Intervention wurde eine Kontroll-Computertomografie zur Beurteilung der Lage des eingeführten Gelatine-Plugs durchgeführt. Durch Beimischung eines wasserlöslichen Kontrastmittels zeigte sich dieser röntgendicht und konnte so lokalisiert und in örtliche Beziehung zur ehemaligen Lage der Punktionsnadel und damit zum Stichkanal gesetzt werden.



**Bild 3.2: Radiologische Lokalisation des Plugmaterials**

Aus Bild 3.2 wird ersichtlich, dass sich das röntgendichte Plugmaterial direkt postinterventionell nur in 40% der Fälle vollständig innerhalb des Milzparenchyms darstellte (Bild 3.3). Bei der Mehrheit von 60% der Tiere aus der Verumgruppe lag der Gelatineschwamm teilweise extrasplenisch, in direktem räumlichen Kontakt zur ehemaligen Punktionsstelle. Dabei war in allen Fällen eine raumfordernde Wirkung mit Kompression der Milzkapsel durch das extrakapsuläre Fremdmaterial erkennbar (Bild 3.4).

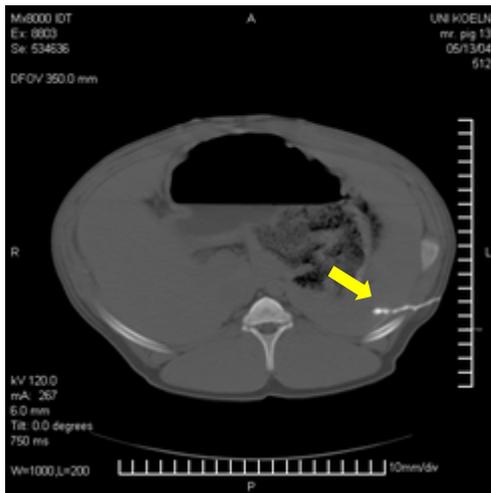


Bild 3.3: Plug vollständig intrasplenisch

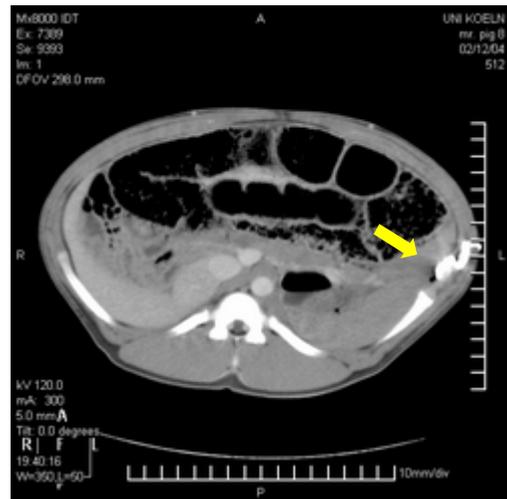
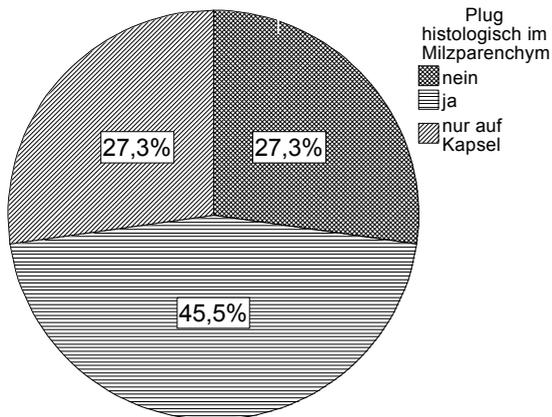


Bild 3.4: Plug extrasplenisch

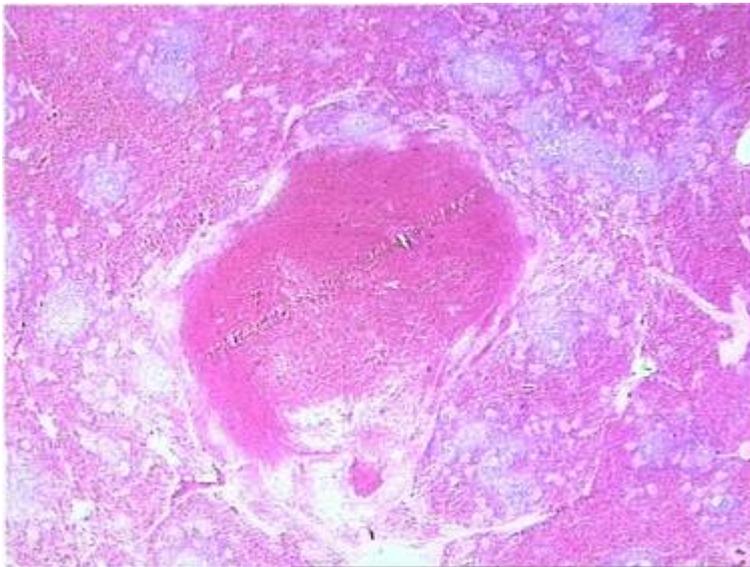
Diese radiologischen Befunde wurden durch histologische Aufarbeitung der explantierten Milzgewebe als Goldstandard verifiziert. Ausgewertet wurden jeweils mehrere transversal zur Stichkanalebene verlaufende Schnitte, die im Abstand von je 1cm zueinander angefertigt wurden. Zusätzlich erfolgte jeweils ein Schnitt durch die Punktionsstelle in der Milzkapsel, der ebenfalls im rechten Winkel zur Kapseloberfläche angefertigt wurde. Es wurde eine Einteilung in drei verschiedene Befundkonstellationen vorgenommen (Bild 3.5):

1. Kein Nachweis kollagenhaltigen Materials im Stichkanal und im Bereich der Kapselperforation (Bild 3.6)
2. Kein Nachweis kollagenhaltigen Materials im Stichkanal, Nachweis kollagenhaltigen Materials im Bereich der Kapselperforation
3. Nachweis kollagenhaltigen Materials im Stichkanal und im Bereich der Kapselperforation (Bild 3.7).

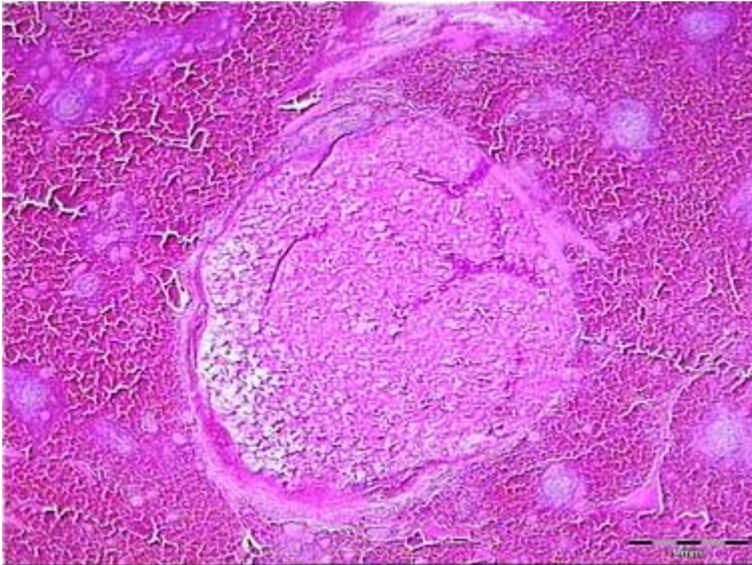


**Bild 3.5: Histologische Lokalisation des Plugmaterials**

Die histologische Aufarbeitung ergab – vergleichbar mit den computertomografischen Befunde – einen Anteil von 45,5% aller Verumtiere, bei denen kollagenhaltiges Plugmaterial im Bereich des Stichkanals nachweisbar war. Bei weiteren 27,3% konnte Plugmaterial im Bereich der punktionsbedingten Kapselperforation nachgewiesen werden. Dieses bedeckte die Kontinuitätsunterbrechung der Kapsel kappenartig und ragte als Pfropf über



**Bild 3.6: Stichkanal mit Koagel, kein Nachweis kollagenhaltigen Materials (Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergrößerung 20x)**



**Bild 3.7: Volumen Stichkanal von kollagenhaltigem Material ausgefüllt (Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergrößerung 20X)**

die Kapsel hinweg, ohne jedoch den weiteren Stichkanal auszufüllen. In den restlichen Fällen konnte in der histologischen Aufarbeitung kein kollagenhaltiges Fremdmaterial nachgewiesen werden.

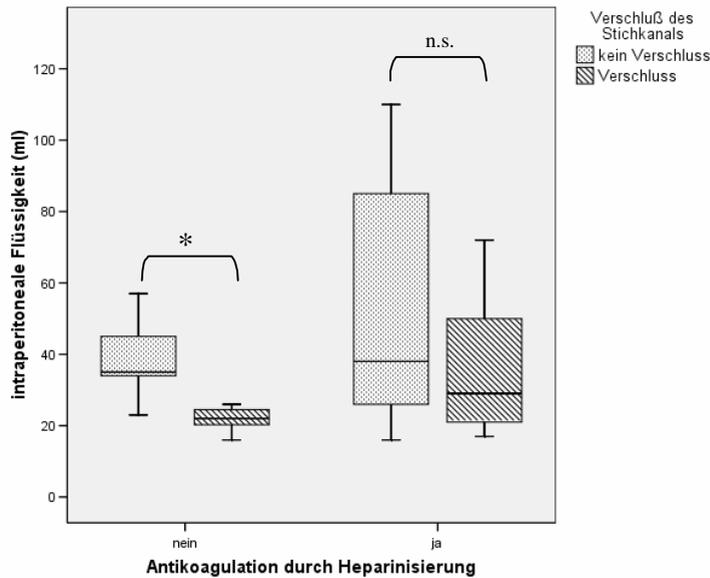
### 3.3 Blutungsreduktion durch Plombierung

Der präinterventionelle arterielle Hämoglobin-Wert aller Versuchstiere lag im Mittel bei 9,8 g/dl  $\pm$  0,6 g/dl, es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen vor. 24 Stunden postinterventionell betrug der mittlere arterielle Hämoglobin-Wert in den Subgruppen der Kontrollgruppe (Gruppen 1 und 3) 9,5 g/dl  $\pm$  0,5 g/dl sowie in den Subgruppen der Verumgruppe (Gruppen 2 und 4) 9,6 g/dl  $\pm$  0,2 g/dl. Die Differenzen zwischen diesen und den Ausgangswerten sowie zwischen den Werten der Gruppen sind statistisch nicht signifikant.

Ebenso ergab sich bei der Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl im arteriellen EDTA-Blut kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den präinterventionellen Messwerten und den Werten 24 Stunden *post interventionem*. Insbesondere fand sich kein Unterschied zwischen den Messungen innerhalb der Kontroll- und der Verumgruppen. Auch die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahlen in der intraperitonealen Flüssigkeit 24 Stunden nach Intervention zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren der Kontroll- und der Verumgruppe.

Darüber hinaus traten bei keinem Versuchstier in der Zeitspanne zwischen erfolgter Intervention und Euthanasierung klinische Zeichen eines Volumenmangels auf.

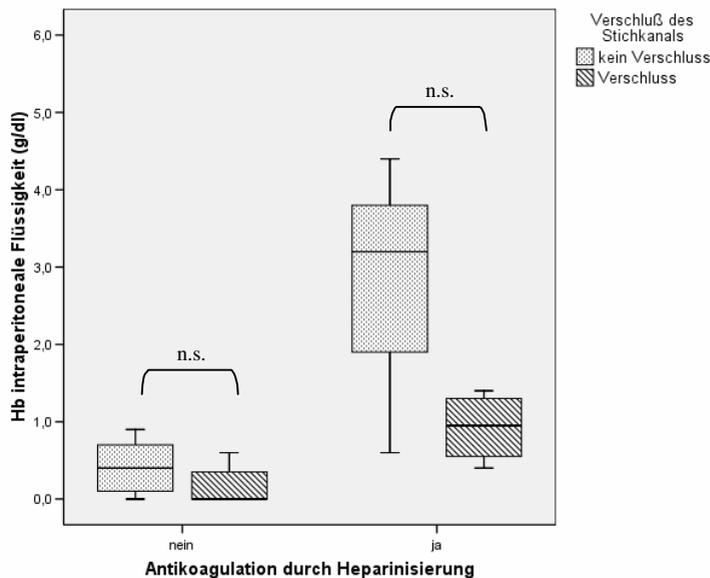
Im Rahmen der 24 Stunden *post interventionem* durchgeführten Obduktion wurde jeweils das Gewicht der explantierten Milz sowie das Volumen der intraperitonealen Flüssigkeit bestimmt. Das mittlere Milzgewicht belief sich auf 175,10 g  $\pm$  69,15 g. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den jeweiligen Subgruppen.



**Bild 3.8:** Volumen der intraperitonealen Flüssigkeit (\*= schwach signifikant,  $p < 0,05$ ; n.s.= nicht signifikant,  $p \geq 0,05$ )

Der Median der bei der Obduktion gewonnenen intraperitonealen Flüssigkeit betrug in der Kontrollgruppe ohne Antikoagulation (Gruppe 1) 35,0 ml [31,0 ml; 51,0 ml], in der Verumgruppe ohne Antikoagulation (Gruppe 2) 22,0 ml [18,5 ml; 26,0 ml]. Dieser Unterschied ist mit  $p = 0,02$  schwach signifikant (Bild 3.8).

In der Gruppe der präinterventionell antikoagulierten Versuchstiere fanden sich Flüssigkeitsmengen von im Median 38,0 ml [21,0 ml; 97,5 ml] in der Kontrollgruppe (Gruppe 3) sowie von im Median 29,0 ml [19,0 ml; 61,0 ml] in der Verumgruppe (Gruppe 4). Diese Differenz ist im Sinne einer Tendenz ohne statistische Signifikanz zu werten.



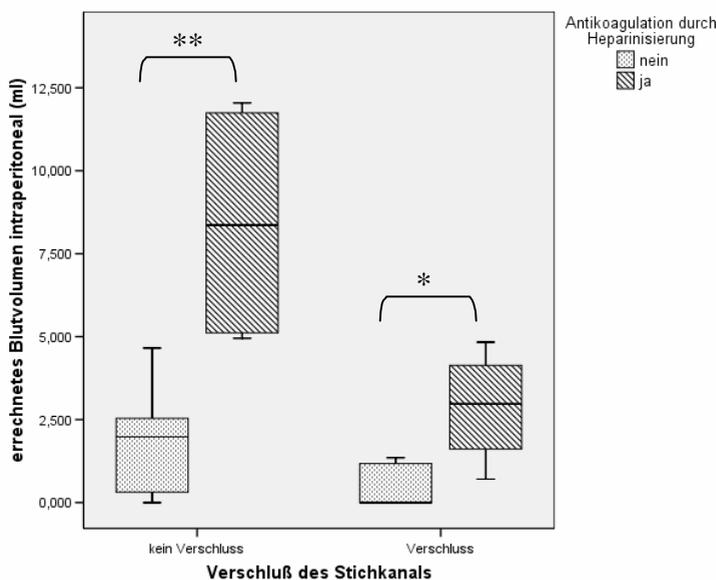
**Bild 3.9:** Hämoglobingehalt der intraperitonealen Flüssigkeit (n.s.= nicht signifikant,  $p \geq 0,05$ )

Der mediane Hämoglobingehalt der intraperitonealen Flüssigkeit 24 Stunden post interventionem betrug in der Kontrollgruppe der nicht-antikoagulierten Tiere (Gruppe 1) 0,40 g/dl [0,10 g/dl; 0,80 g/dl], in der Verumgruppe (Gruppe 2) 0,00 g/dl [0,00 g/dl; 0,50 g/dl]. Im Kontingent der antikoagulierten Versuchstiere ergab sich für die Kontrollgruppe (Gruppe 3) ein Median von 3,20 g/dl [1,90 g/dl; 7,05 g/dl] und für die Tiere der Verumgruppe (Gruppe 4) von 1,20 g/dl [0,55 g/dl; 3,00 g/dl]. Diese vor allem innerhalb der Gruppe der antikoagulierten Versuchstiere deutlichen Tendenzen sind jedoch mit  $p > 0,05$  jeweils nicht signifikant (Bild 3.9).

Die Berechnung des Blutverlustes in die intraperitoneale Flüssigkeit erfolgte 24 Stunden *post interventionem* mittels Dreisatzrechnung anhand der bei der Obduktion ermittelten Werte des Volumens der intraperitonealen Flüssigkeit, des Hämoglobingehaltes der intraperitonealen Flüssigkeit sowie des Hämoglobingehaltes einer arteriell gewonnenen Blutprobe. Dabei fand folgende Formel Verwendung:

$$\text{Vol}_{\text{Blut}} = \frac{\text{Hb}_{\text{intraperitoneal}} \times \text{Vol}_{\text{intraperitoneal}}}{\text{HB}_{\text{Blut}}}$$

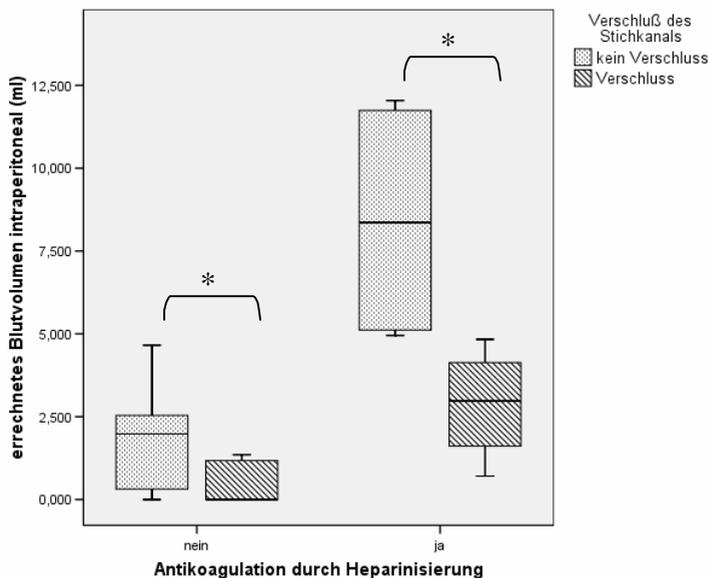
Um den tatsächlichen Effekt der Antikoagulation auf die peri- und postinterventionelle Blutungsintensität zu überprüfen, wurden zunächst die jeweils korrespondierenden Subgruppen der nicht heparinisierten und der heparinisierten Versuchstiere bezüglich der errechneten intraperitonealen Blutungsmenge miteinander verglichen (Bild 3.10).



**Bild 3.10:** Vergleich des errechneten intraperitonealen Blutvolumens zwischen nicht antikoagulierten und antikoagulierten Versuchstieren (\*\*=signifikant,  $p < 0,01$ ; \*= schwach signifikant,  $p < 0,05$ )

In der Kontrollgruppe ohne Verschluss des Stichkanals zeigte sich bezüglich des errechneten intraperitonealen Blutvolumens in der Subgruppe ohne Antikoagulation (Gruppe 1) ein Median von 1,98 ml [0,31 ml; 3,37 ml], in der Subgruppe der antikoagulierten Tiere (Gruppe 3) zeigte sich ein Median von 8,36 ml [5,03 ml; 11,89 ml]. Dieser Unterschied ist mit  $p = 0,003$  signifikant. Zwischen den Subgruppen der Verumgruppe sind diese Unterschiede weniger stark ausgeprägt. So ergab sich in der Subgruppe ohne Antikoagulation (Gruppe 2) bezüglich des errechneten intraperitonealen Blutvolumens ein

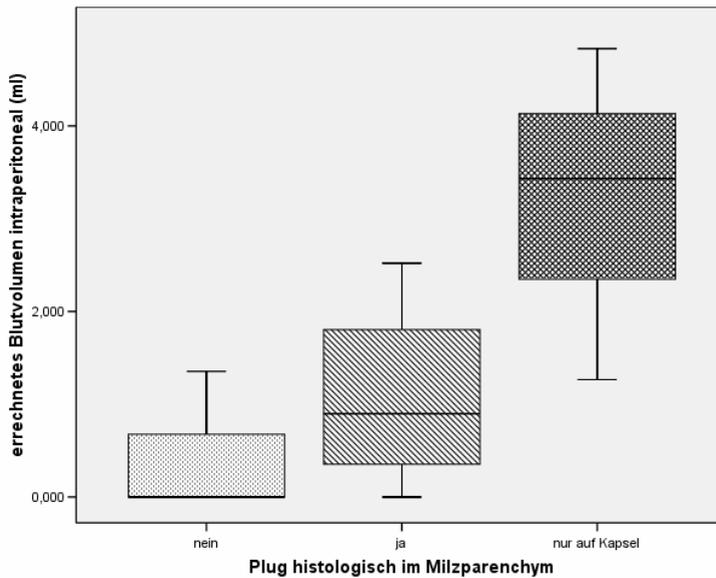
Median von 0,00 ml [0,00 ml; 1,27 ml], in der Subgruppe mit Antikoagulation (Gruppe 4) ergab sich ein Median von 2,98 ml [1,16 ml; 4,48 ml]. Es lässt sich hier mit  $p=0,033$  eine schwache Signifikanz aufzeigen.



**Bild 3.11: Errechnetes intraperitoneales Blutvolumen (\*= schwache Signifikanz,  $p<0,05$ )**

In der Gruppe der Versuchstiere ohne Antikoagulation zeigten sich niedrigere Werte bezüglich des medianen errechneten intraperitonealen Blutvolumens als erwartet. So lag der Wert in der Kontrollgruppe (Gruppe 1) bei 1,98 ml [0,31 ml; 3,37 ml], in der Verumgruppe (Gruppe 2) bei 0,00 ml [0,00 ml; 1,27 ml] (Bild 3.11). Unabhängig von den absoluten Werten ergibt sich hier mit einem p-Wert von 0,031 eine schwache statistische Signifikanz.

Im Vergleich dazu zeigten die präinterventionell mit Heparin antikoagulierten Versuchstiere erwartungsgemäß höhere errechnete intraperitoneale Blutmengen. Hier zeigte sich in der Kontrollgruppe (Gruppe 3) ein Median von 8,36 ml [5,03 ml; 11,89 ml], in der Verumgruppe (Gruppe 4) ein Median von 2,98 ml [1,16 ml; 4,48 ml]. Auch hier lässt sich mit einem p-Wert von 0,029 eine schwache Signifikanz errechnen.



**Bild 3.12:** Errechnetes intraperitoneales Blutvolumen bezogen auf die histologische Pluglokalisierung (alle Differenzen nicht signifikant)

Setzt man die Werte aller Verum-Versuchstiere hinsichtlich der errechneten intraperitonealen Blutungsmenge in Bezug zur histologischen Lokalisation des Plugmaterials, ergibt sich folgendes Ergebnis (Bild 3.12): Der Median in der Gruppe der Tiere, bei denen sich histologisch Plugmaterial im Stichkanal zeigt, liegt bei 0,90 ml [0,18 ml; 1,80 ml]. In der Gruppe der Tiere, bei denen sich Plugmaterial nur im Bereich der Kapselperforation zeigt, findet sich ein Median von 3,43 ml [2,35 ml; 4,13 ml]. Die letzte Gruppe, bei der sich histologisch kein Plugmaterial nachweisen lässt, weist einen Median von 0,00 ml [0,00 ml; 0,68 ml] auf. Diese Volumendifferenzen zeigen in der statistischen Auswertung mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests mit  $p > 0,05$  keine Signifikanz.

### 3.4 Prädiktive Parameter bezüglich der Blutungsmenge

Wie eingangs als eine Zielsetzung dieser Arbeit definiert, wurden mehrere radiologische Parameter herangezogen, um mittels Regressionsberechnungen eine Vorhersage bezüglich der zu erwartenden periinterventionellen intraperitonealen Blutungsmenge zu ermöglichen.

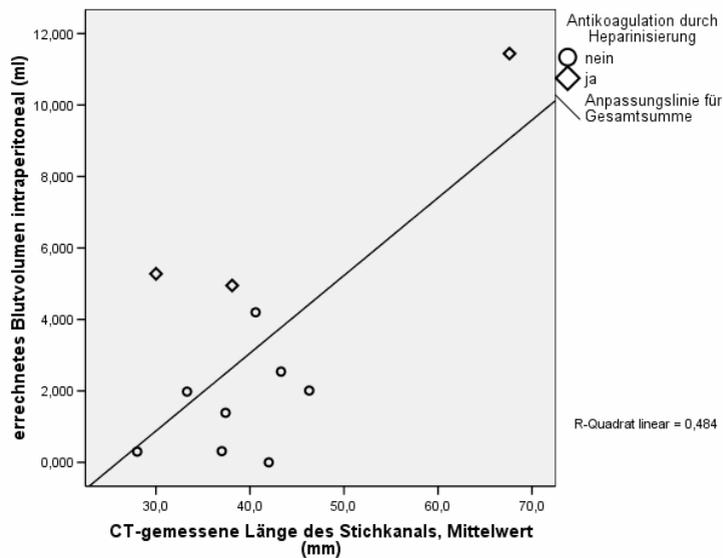
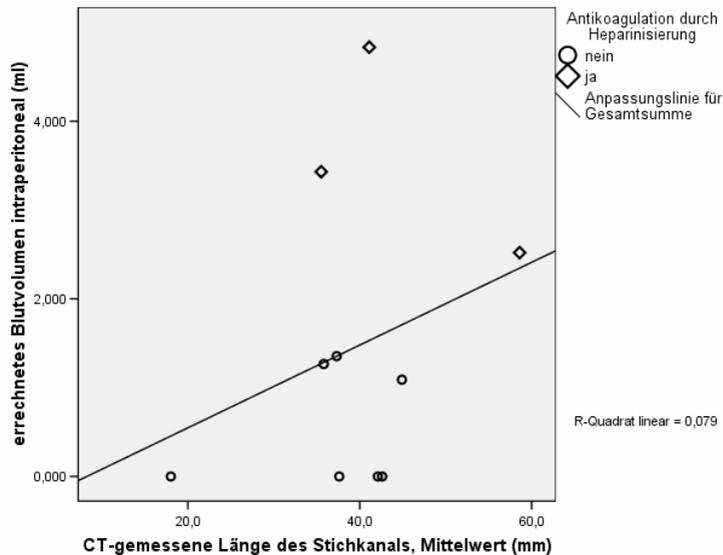


Bild 3.13: Länge des Stichkanals, Kontrollgruppe

Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen der periinterventionell gemessenen Länge der Stichkanäle und dem errechneten Blutvolumen intraperitoneal 24 Stunden *post interventionem* untersucht. Dabei ist als wichtiges Ausgangskriterium der gesamten Arbeit vorab festzustellen, dass die Differenz zwischen den mittleren Stichkanallängen in der Kontroll- und Verumgruppe nicht signifikant ist.

In der Kontrollgruppe ohne Verschluss des Stichkanals fand sich ein mittleres intraperitoneales Blutvolumen von  $3,13 \text{ ml} \pm 3,31 \text{ ml}$  sowie eine mittlere CT-dokumentierte Länge der Stichkanäle von  $40,33 \text{ mm} \pm 10,60 \text{ mm}$ . Der Korrelationskoeffizient nach Pearson liegt bei 0,70, mit einem p-Wert von 0,009 lässt sich hier ein statistisch signifikanter Zusammenhang feststellen (Bild 3.13). In der Verumgruppe, in der ein interventioneller Verschluss des Stichkanals

erfolgte, wurde ein mittleres intraperitoneales Blutvolumen von  $1,45 \text{ ml} \pm 1,67 \text{ ml}$ , sowie eine mittlere Länge der Stichkanäle von  $39,35 \text{ mm} \pm 10,07 \text{ mm}$  gemessen. Hier ließ sich ein Korrelationskoeffizient nach Pearson von 0,28 errechnen, es besteht bei einem p-Wert  $> 0,05$  keine statistische Signifikanz (Bild 3.14).



**Bild 3.14:** Länge des Stichkanals, Verumgruppe

Als zweites Kriterium, wurde der Zusammenhang zwischen einer Differenz des CT-volumetrisch gemessenen Volumens im splenorealen Winkel prä- und unmittelbar postinterventionell und dem errechneten intraperitonealen Blutvolumen 24 Stunden post interventionem überprüft. In der Kontrollgruppe findet sich eine mittlere Zunahme von  $2,70 \text{ cm}^3 \pm 4,67 \text{ cm}^3$  in den volumetrischen Messungen. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson beträgt -0,294, es lässt sich keine statistische Signifikanz nachweisen (Bild 3.15). In der Gruppe der Verumtiere zeigt sich eine Volumenzunahme von im Mittel  $3,13 \text{ cm}^3 \pm 5,45 \text{ cm}^3$ . Mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,226 besteht hier ebenfalls keine statistische Signifikanz (Bild 3.16).

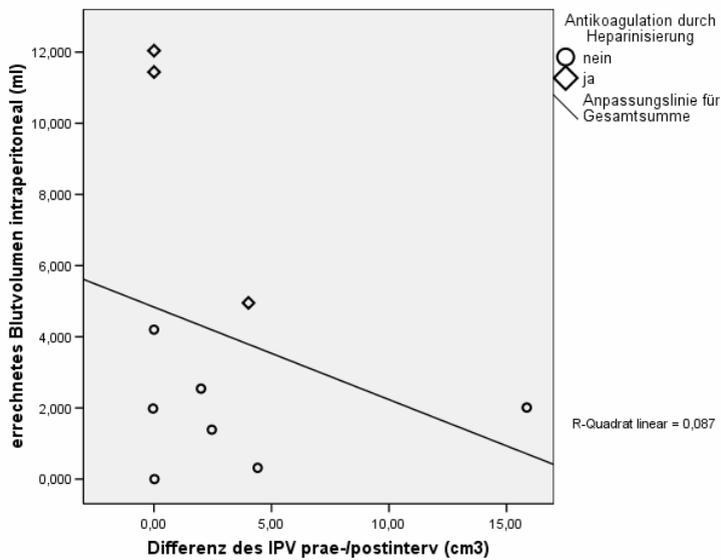


Bild 3.15: Differenz des intraperitonealen Volumens, Kontrollgruppe

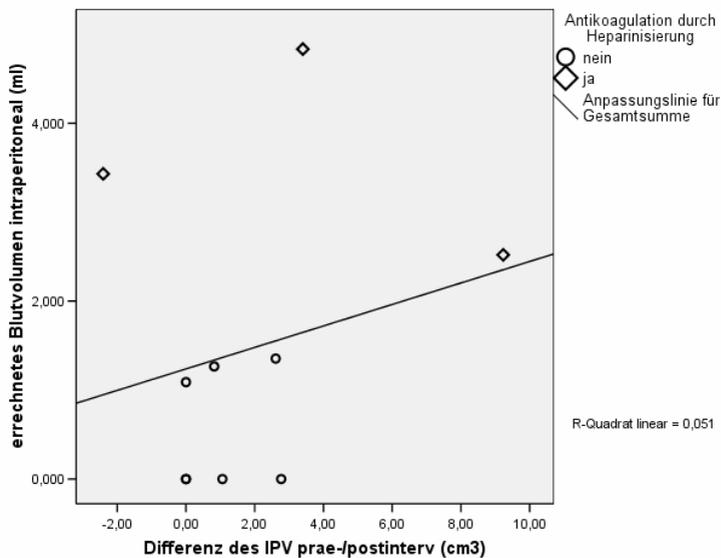


Bild 3.16: Differenz des intraperitonealen Volumens, Verumgruppe

Im Zuge der bildmorphologischen Auswertungen der computertomografischen Bilder wurde die Dichte der im splenorealen Winkel vorgefundenen Flüssigkeit bestimmt und in Hounsfield-Einheiten angegeben. Dies erfolgte jeweils unmittelbar vor sowie nach Abschluss der Intervention. Wie man anhand der

Streudiagramme sehen kann, findet sich in beiden untersuchten Subgruppen ein tendentieller linearer Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von 0,396 in der Kontrollgruppe und einem Korrelationskoeffizienten von 0,860 (Bild 3.17, Bild 3.18). Bei geringen Fallzahlen ergibt sich hier jedoch keine statistische Signifikanz.

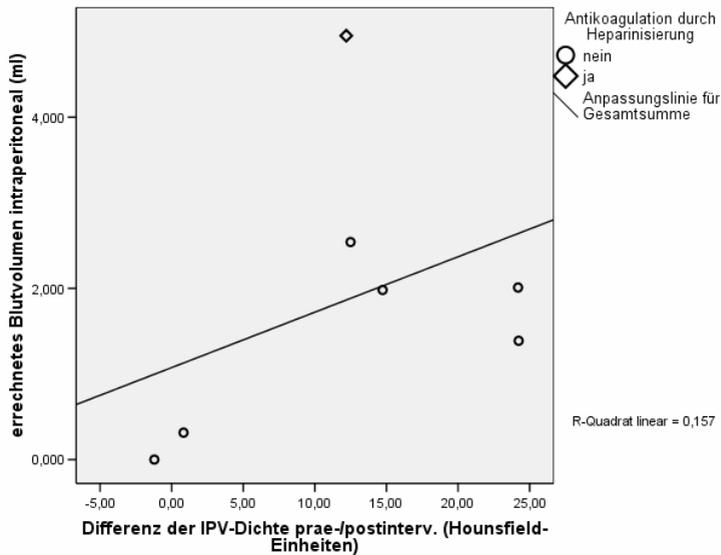


Bild 3.17: Differenz der Dichtewerte, Kontrollgruppe

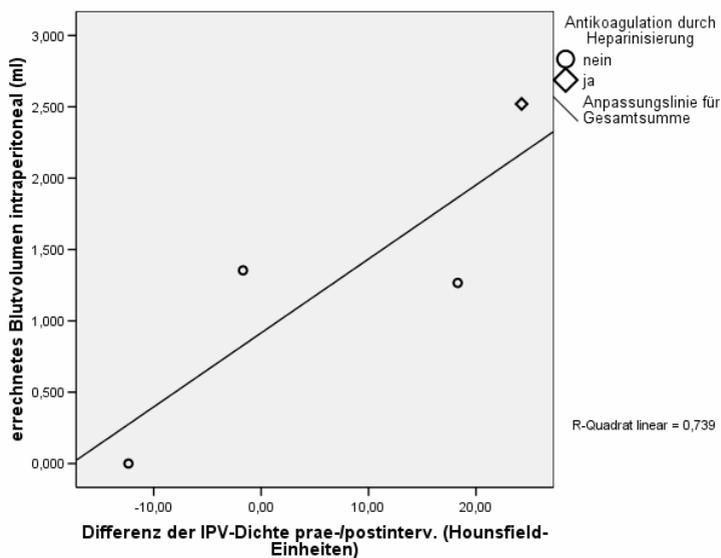


Bild 3.18: Differenz der Dichtewerte, Verumgruppe

## 4 Diskussion

Trotz der zunehmend weiten Verbreitung von interventionellen Biopsie- und Drainagetechniken werden diese nur zögerlich bei Erkrankungen der Milz eingesetzt. Gründe hierfür sind zum einen die starke Vaskularisation des Organs mit der Gefahr des Auftretens von Blutungskomplikationen. In diesem Zusammenhang als besonders kritisch werden vorbestehende Blutgerinnungsstörungen sowie die Biopsie hilusnaher Prozesse angesehen, die aufgrund der Gefäßarchitektur der Milz eine nochmals höhere Wahrscheinlichkeit bezüglich relevanter Blutungskomplikationen nahe legen. Zum anderen stellt die anatomische Nähe der Milz zu benachbarten Organstrukturen wie zum Beispiel der Pleura den die Intervention Durchführenden vor eventuelle Schwierigkeiten [35, 37, 39, 77].

## 4.1 Versuchsaufbau

Bei der Durchsicht der vorhandenen Literatur bezüglich tierexperimenteller Studien zu Interventionen an intraabdominellen Organen fällt auf, dass in fast allen Fällen eine offene Biopsie durch operative Eröffnung des Peritoneums durchgeführt wurde [10, 60, 71, 78]. Dies spiegelt in zweierlei Hinsicht nur unvollkommen die tatsächlichen Verhältnisse bei der Anwendung perkutaner interventioneller Verfahren wider.

Zum einen wird hierdurch ein technisches Vorgehen ermöglicht, welches unter realen Bedingungen nicht möglich wäre. So kann unter anderem bei einer Punktion unter Sicht das Organ manuell fixiert und so Verletzungen durch Atemexkursionen sicher vermieden werden. Auch ist man bei der Wahl eines geeigneten Punktionsortes und einer möglichst günstigen Punktionsrichtung weniger eingeschränkt, da man bei einem perkutanen Vorgehen aufgrund anatomischer Verhältnisse häufig gezwungen ist, auf ungünstigere Alternativlösungen auszuweichen [12].

Zum anderen – und dies ist der bedeutendere Aspekt – beschränkte sich der Beobachtungszeitraum bezüglich möglicher Blutungskomplikationen auf den operativen Eingriff selbst, das heißt in den meisten Fällen auf weniger als zwei Stunden [10, 71, 78]. In einem Fall wurde nach einem Zeitraum von drei Tagen lediglich eine computertomografische Kontrolluntersuchung, jedoch keine Obduktion mit Exploration der Peritonealhöhle durchgeführt [60].

Durch beide Vorgehensweisen wird die eigentliche Fragestellung nach einer möglichen intraperitonealen Blutung nur teilweise beantwortet. So ist die Tatsache bekannt, dass im Falle von Milzverletzungen mit zeitlich verzögerten Blutungen bis zu 48 Stunden und mehr nach dem ursprünglichen Trauma zu rechnen ist [79, 80]. Pathophysiologisch kommt es in den meisten dieser Fälle zu einem intraparenchymatösen oder subkapsulären Hämatom mit zunehmendem Volumen, das schließlich zu einem sekundären Einreißen der Milzkapsel und damit einer intraperitonealen Blutung führt. Das Auftreten von subkapsulären Hämatomen beziehungsweise intraperitonealen Blutungen mit

einem zeitlichen Intervall bis 12 Stunden nach Durchführung einer perkutanen Milzbiopsie wird in der Literatur berichtet [37, 44, 49]. Unter Bezugnahme auf diese Daten ist es fraglich, ob ein Beobachtungsraum von unter zwei Stunden ausreicht, das Ausmaß einer möglichen Blutung hinreichend beurteilen zu können. In allen genannten tierexperimentellen Studien wurde vor der Intervention Heparin zur Simulation einer Koagulopathie appliziert.

Zudem stellt sich die Frage, ob bei offener Exploration des Organs Gerinnungsvorgänge und damit Blutungsdauer vergleichbar sind mit den Verhältnissen innerhalb der nicht eröffneten Peritonealkavität.

Schließlich ist aus veterinäranatomischen Untersuchungen bekannt, dass sowohl Hunde als auch Schweine schon unter physiologischen Bedingungen größere Mengen Flüssigkeit intraperitoneal aufweisen können [81]. Im Falle einer leichteren postinterventionellen Blutung ist somit die mit zeitlicher Latenz durchgeführte Computertomografie nur bedingt aussagekräftig.

Aus all diesen genannten Gründen wurde im Vorfeld beschlossen, sich mit dem Versuchsaufbau der vorliegenden Studie so nah als möglich an den realen Gegebenheiten einer perkutanen Intervention zu orientieren. Außerdem sollten exakte Messungen der intraperitonealen Blutungsaktivität durchgeführt werden. So wurden die in der gängigen Literatur beschriebenen Standards zur perkutanen computertomografisch gestützten Biopsie am Menschen beachtet und umgesetzt [6, 12, 82]. Es erfolgte die Durchführung einer perkutanen Biopsie anstelle eines offen operativen Vorgehens und die Kontrolle der intraperitonealen Blutungsmenge 24 Stunden *post interventionem* nicht nur computertomografisch, sondern auch im Rahmen einer Obduktion der Versuchstiere. Da insbesondere risikoreiche Biopsien mit einer erhöhten Blutungswahrscheinlichkeit als Indikation zur Anwendung der untersuchten Technik in Frage kommen, wurde in allen Fällen eine hilusnahe Biopsie durchgeführt, um auf diese Weise ein entsprechendes Patientenklientel zu simulieren.

#### 4.1.1 Antikoagulation durch Heparin

In der Literatur wird eine vorbestehende Gerinnungsstörung mit einer Thrombozytenzahl  $< 50.000/\mu\text{l}$ , einem Quickwert von  $< 50\%$  sowie einer partiellen Thromboplastinzeit  $> 50$  s als Kontraindikation zur Durchführung einer perkutanen Biopsie genannt [12]. Auch Antikoagulanzen sind vor Durchführung einer perkutanen Intervention zwingend abzusetzen [13]. Durch die präinterventionelle Gabe von 300 I.E. unfraktionierten Heparins intravenös sollte im Tiermodell eine Gerinnungsstörung simuliert werden, um in dieser Subgruppe den Effekt des Stichkanalverschlusses bei Hochrisikopatienten zu überprüfen. Die primäre Erfolgskontrolle der Antikoagulation erfolgte durch die Messung der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und der Activated Clotting Time (ACT) vor und nach Gabe des Heparins, hierbei zeigte sich jeweils ein adäquater Anstieg der Werte. Ebenso wurden jeweils in der Gruppe der Kontroll- und Verumtiere die intraperitonealen Blutungsmengen zwischen nicht heparinisierten und heparinisierten Tieren verglichen. Es zeigte sich in beiden Fällen eine statistische Signifikanz, wobei nur in der Kontrollgruppe ohne Verschluss ein  $p$ -Wert  $< 0,01$  erzielt werden konnte. Dieses Ergebnis gibt einen ersten Hinweis auf die Effektivität des Verschlussverfahrens, wodurch die Differenzen hinsichtlich der intraperitonealen Blutmenge in der Verum-Gruppe kleiner ausfallen als in der Kontrollgruppe.

#### 4.1.2 Wahl der Versuchstiere

Aus technischen Gründen war die Überprüfung der eingangs dargelegten Fragestellung nur im Großtierversuch möglich, da nur bei Großtieren ein ausreichendes Milzvolumen für die Anwendung herkömmlicher Punktionsysteme vorhanden ist.

Das Schwein hat trotz vieler anatomischer und physiologischer Ähnlichkeiten mit dem Menschen relativ spät Eingang in die experimentelle Forschung gefunden [83]. Die Verwendung dieser Spezies hat jedoch insbesondere seit der Züchtung von Miniaturschweinen wesentlich zugenommen und das

Schwein hat in vielen Fragestellungen den Hund als mögliches Tiermodell abgelöst [84].

Verschiedene Schockmodelle am Hund [85] sind häufig kritisiert worden, aus einer Vielzahl von Gründen nicht analog zu den Bedingungen des menschlichen Schockgeschehens zu sein. Der mittlere arterielle Blutdruck ist im Allgemeinen deutlich niedriger als dies beim menschlichen Schockzustand der Fall ist. Zudem sind die Hämodynamik, der Sauerstofftransport und die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt von Hunden, die schnell auf einen solchen niedrigen Blutdruck herunter bluten, nur sehr eingeschränkt vergleichbar zu den Verhältnissen am Menschen [86]. Darüber hinaus tritt beim Hund im irreversiblen Schockzustand eine hämorrhagische Enteritis auf, die in dieser Form beim Menschen nicht gesehen wird [87, 88].

Bei domestizierten Schweinen wurde das Auftreten einer solchen hämorrhagischen Enteritis nicht beobachtet [89]. Im Rahmen eines Schockgeschehens findet man bei ihnen jedoch – vergleichbar zum Menschen – gastrointestinale Stressulzera [89, 90], pulmonale Veränderungen [91] und einen Anstieg von lysosomalen Enzymen im Blut [89]. Auch die hämodynamischen Reaktionen auf den Verlust unterschiedlicher Blutvolumina sind in etwa analog zu denen beim menschlichen Patienten [92].

Das Milzgewicht war bei den zur Untersuchung verwendeten Tieren mit  $175 \text{ g} \pm 68 \text{ g}$  vergleichbar mit dem des erwachsenen Menschen, jedoch unterscheidet sich die Form der Schweinemilz von der der menschlichen Milz. Im Gegensatz zum eher kompakten Organ des Menschen stellt sich die Milz des Schweins als lang gestrecktes, lanzettförmiges und auf ihrem Querschnitt dreieckiges Organ dar [81]. Trotzdem war ausreichend Milzvolumen vorhanden, um die erforderlichen Biopsien analog der Vorgehensweise am Menschen durchzuführen.

Als wichtigster Punkt ist die weitgehende Übereinstimmung gerinnungsphysiologischer Parameter beim Hausschwein und Menschen festzustellen

[93]. Somit stellt sich das domestizierte Schwein als günstigstes Modell zur Beantwortung der Fragen im Rahmen der hier durchgeführten Studie dar.

## 4.2 Auswahl der statistischen Tests

Für die Auswertung der durch die Studie gewonnenen Daten waren Testverfahren zum Vergleich jeweils zweier Gruppen nötig. Die Auswahl eines geeigneten Testverfahrens richtet sich nach folgenden Kriterien:

- Merkmalsart und Verteilungstyp
- Zahl der Stichproben
- Verbundene oder unabhängige Stichproben

Tests, bei denen eine theoretisch hergeleitete, das heißt eine durch Parameter definierbare Verteilung wie z.B. die Normal-, Poisson- oder Lognormalverteilung nicht vorausgesetzt wird, heißen nichtparametrische oder parameterfreie Test. Obwohl im gewonnenen Datensatz prinzipiell eine Normalverteilung zu erwarten ist, wurde aufgrund der geringen Fallzahlen dennoch mit einem zu den nichtparametrischen Verfahren gehörigen Rangsummentest gearbeitet.

Das gemeinsame Kennzeichen der Rangsummentests besteht darin, dass nicht mit den Messwerten selber gerechnet wird, sondern dass diese ihrer Größe nach in eine Rangfolge gebracht werden, so dass jeder Messwert einen bestimmten Rangplatz erhält. Die Errechnung der Prüfgröße basiert auf den Rangplätzen [94].

### 4.2.1 Der U-Test von Mann, Whitney und Wilcoxon

Sind – wie im Datenmaterial der vorliegenden Studie – zwei unabhängige Stichproben A und B mit jeweils relativ kleiner Fallzahl gegeben, so bietet sich die Verwendung des Mann-Whitney-U-Testes an. Alle Werte werden ihrer Größe nach angeordnet und erhalten Rangplätze.

Alle zur Stichprobe A gehörigen Rangplätze werden zur Rangsumme  $R_A$  addiert, alle zur Stichprobe B gehörigen zur Rangsumme  $R_B$ . Als Probe auf eventuelle Rechenfehler kann man die Beziehung

$$R_A + R_B = \frac{n(n+1)}{2}$$

verwenden. Dabei ist  $n = n_A + n_B$ .

Die Testgröße U errechnet sich nach folgender Formel:

$$U_A = R_A - \frac{n_A(n_A + 1)}{2}$$

$$U_B = R_B - \frac{n_B(n_B + 1)}{2}$$

Dabei gilt:  $U_A + U_B = n_A \times n_B$ .

Der kleinere der beiden Werte  $U_A$ ,  $U_B$  bildet die Testgröße U. Wenn U kleiner oder gleich dem für die entsprechenden Stichprobenumfänge  $n_A$ ,  $n_B$ , die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  und die Fragestellung (einseitig oder zweiseitig) entsprechenden Wert ist, wird die Nullhypothese  $H_0$  verworfen [94]. Eine der untersuchten Nullhypothesen war im Kontext der Studie beispielsweise, dass bezüglich der intraperitonealen Blutungsmenge 24 Stunden post interventionem kein Effekt durch das Einbringen eines Gelatineschwamms in den Stichkanal zu erwarten ist.

Bei mehr als zwei unverbundenen Stichproben kam analog zur oben beschriebenen Methode der Kruskal-Wallis-Test als nichtparametrisches Verfahren zum Einsatz.

#### 4.2.2 Korrelationsberechnungen

Um zu beurteilen, wie stark der Zusammenhang zwischen den Größen einer Punktwolke ist, wurde der Korrelationskoeffizient berechnet, der Werte zwischen +1 und -1 annehmen kann. Bei Verwendung des Produktmoment-Korrelationskoeffizienten nach Pearson muss vorausgesetzt sein, dass

- die Daten intervallskaliert sind,
- beide Variablen aus normalverteilten Grundgesamtheiten stammen und
- die Variablen in einer linearen Abhängigkeit zueinander stehen.

Da zudem keine Ausreißer in den zur Korrelationsberechnung verwendeten Daten auftreten, ist die Verwendung des Koeffizienten nach Pearson legitim [94].

### 4.3 Blutungsreduktion durch Plombierung

Erste Fragestellung der vorliegenden Arbeit war, ob sich durch die Technik der Plombierung des Stichkanals mittels Gelatineschwamm die peri- und postinterventionelle Blutungsaktivität im Zuge einer perkutanen Milzbiopsie reduzieren lässt. Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde 24 Stunden *post interventionem* eine Obduktion mit Entnahme der intraperitonealen Flüssigkeit durchgeführt. Aus dem Volumen und Hämoglobin-Wert der Flüssigkeit und dem Hämoglobin-Wert einer arteriellen Blutprobe des jeweiligen Versuchstieres wurde mittels Dreisatzrechnung das intraperitoneale Blutvolumen errechnet.

Vergleicht man zunächst die Volumina der in der Obduktion gewonnenen intraperitonealen Flüssigkeit, so erkennt man, dass bei Medianwerten von 35,0 ml [31,0 ml; 51,0 ml] in der Kontrollgruppe sowie 22,0 ml [18,5 ml; 26,0 ml] in der Verumgruppe im Falle der Untergruppe von Versuchstieren ohne Antikoagulation ein statistisch signifikanter Unterschied vorliegt. In der Untergruppe der Versuchstiere mit Antikoagulation findet sich trotz einer Tendenz in dieselbe Richtung keine Signifikanz bezüglich dieses Parameters. Eine plausible Erklärung für die Volumendifferenzen ist die Annahme, dass diese Ausdruck einer differierenden Blutungsaktivität seien. Jedoch fällt bei der weiteren Auswertung der Daten auf, dass bezüglich des Hämoglobingehaltes der intraperitonealen Flüssigkeit zwischen den einzelnen Subgruppen keine signifikanten Unterschiede bestehen. Zudem weisen die errechneten intraperitonealen Blutvolumina relativ niedrige absolute Zahlenwerte auf. So bewegen sich die medianen Werte in den einzelnen Subgruppen zwischen 0 und 8,4 ml.

Insbesondere für letztgenanntes Ergebnis der Arbeit finden sich verschiedene Ursachen. Vergleicht man die Literaturwerte bezüglich klinisch relevanter Blutungskomplikationen nach perkutaner Schneidbiopsie der Milz, so bewegen sich die Zahlenwerte zwischen 0 und 12,5 % [25, 28, 35, 36, 43, 44, 47-50] mit einem Median von 2,4 %. Bei der Annahme einer Vergleichbarkeit zwischen den Literaturdaten und dem gewählten Tiermodell in diesem Punkt ist im

Hinblick auf die untersuchte Fallzahl das Auftreten einer hämodynamisch relevanten postinterventionellen Blutungskomplikation eher unwahrscheinlich. So wurde ein derartiges Ereignis im Rahmen dieser Studie nicht registriert. Zur Beantwortung der untersuchten Fragestellung ist dies jedoch nicht notwendig. Der Nachweis einer signifikanten Reduktion der absoluten periinterventionellen intraperitonealen Blutungsmenge wird in der Literatur als ausreichend angesehen [10, 60, 71, 78].

Trotz einer angestrebten größtmöglichen Vergleichbarkeit zwischen dem menschlichen Organismus und dem Schwein als Tiermodell gibt es gewisse anatomisch-physiologische Unterschiede, die als Erklärung der niedrigen absoluten intraperitonealen Blutvolumina herangezogen werden können. Bei den Haussäugetieren, zu denen das Schwein gezählt wird, übernimmt die Milz unter anderem die Aufgabe eines Blutspeichers („Speichermilz“) und steht somit im Gegensatz zur so genannten Abwehrmilz des Menschen. Histologisch zeigt sich dies in scherschichtartig angeordneten Muskellagen der inneren Milzkapselschicht [9]. Durch reflektorische Kontraktion der glatten Kapselmuskulatur könnte es so zu einer funktionell besseren Abdichtung einer Kontinuitätsunterbrechung der Milzkapsel kommen, als dies bei der kollagenreichen und muskelarmen Kapselstruktur des Menschen möglich ist.

Entsprechend internationalen Leitlinien [6, 15] wurde präinterventionell bei allen Versuchstieren eine laborchemische Kontrolle relevanter Gerinnungsparameter durchgeführt. Im Einzelnen wurde die Anzahl der Thrombozyten, zur Beurteilung der extrinsischen Gerinnungskaskade die Thromboplastinzeit (Quick-Wert bzw. International Normalized Ratio, INR) und zur Beurteilung der intrinsischen Gerinnungskaskade die aktivierte partielle Thromboplastinzeit bestimmt (Tabelle 4.1).

|                                  | Mittelwert<br>Kontrollgruppe | Mittelwert<br>Verumgruppe | Richtwerte beim<br>Menschen |
|----------------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| <b>Thrombozyten<br/>(x1E9/l)</b> | 341 ± 15                     | 324 ± 5                   | <b>150 - 440</b>            |
| <b>TPZ (Quick) (%)</b>           | 114 ± 2                      | 108 ± 4                   | <b>70 - 100</b>             |
| <b>PTT (sec)</b>                 | 13 ± 1                       | 12 ± 2                    | <b>26 - 36</b>              |

**Tabelle 4.1: Gerinnungsparameter der Versuchstiere, Richtwerte beim Menschen (TPZ= Thromboplastinzeit, PTT= Partielle Thromboplastinzeit) [95]**

Die bei unseren Versuchstieren erhobenen Mittelwerte für die gerinnungsphysiologischen Parameter entsprechen den Normwerten für die verwendete Schweinerasse [84, 96-100]. Jedoch weichen die Zahlenwerte, insbesondere im Fall der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT), deutlich von den in der Literatur angegebenen Richtwerten beim Menschen ab und zwar im Sinne einer Prokoagulabilität. Es ist zu vermuten, dass aufgrund der quantitativ unterschiedlichen Gerinnungssituation die Entstehung eines stabilen, eine mögliche Blutung terminierenden Thrombus weniger Zeit in Anspruch nimmt, als dies beim Menschen der Fall ist. Dies könnte eine weitere Ursache für die im Vergleich zu entsprechenden Studien am Menschen eher niedrigen intraperitonealen Blutmengen in der vorliegenden Studie sein.

Die abschließende Obduktion mit Entnahme der intraperitonealen Flüssigkeit wurde jeweils 24 Stunden *post interventionem* durchgeführt. Die Vorstellung bei Konzeption des Versuchsaufbaus bestand darin, Fälle von mit einer gewissen zeitlichen Latenz auftretenden intraperitonealen Blutungen erfassen zu können, wie sie in der Literatur bei Patienten nach perkutaner Milzpunktion beschrieben worden sind [37, 44, 49]. Es gibt jedoch auf der anderen Seite physiologische Mechanismen, die innerhalb dieser Zeitspanne zu einem Abfall des Hämoglobin-Gehaltes der intraperitonealen Flüssigkeit führen können. Allcock wies schon 1968 mithilfe radioaktiver Zellmarkierung mit <sup>51</sup>Cr die äußerst effektive Resorptionskapazität des menschlichen Peritoneums für Erythrozyten nach [101]. Die gemessene Radioaktivität in peripher gewonnenen Erythrozytensuspensionen erreichte einen Höhepunkt zwischen dem fünften

und neunten Tag nach Instillation von Eigenblut in die Bauchhöhle, war allerdings auch nach 24 Stunden schon deutlich messbar. Damit muss ausgehend von diesen Ergebnissen zusätzlich von einer gewissen Erniedrigung des Hämoglobingehaltes der intraperitonealen Flüssigkeit zum Zeitpunkt der Obduktion ausgegangen werden.

Da die genannten Mechanismen ohne Präferenz in allen untersuchten Subgruppen zu erwarten sind, werden dadurch jedoch lediglich die absoluten Messwerte, nicht jedoch eventuelle Unterschiede im errechneten intraperitonealen Blutvolumen beeinflusst.

So fand sich sowohl in der Gruppe der nicht antikoagulierten als auch in der Gruppe der präinterventionell antikoagulierten Versuchstiere eine leichte Signifikanz bezüglich des errechneten intraperitonealen Blutvolumen zwischen der Kontrollgruppe und der Verum-Gruppe. Ausgehend von diesen Messergebnissen lässt sich eine Effektivität der untersuchten Verschluss technik nach perkutaner Milzpunktion hinsichtlich der Reduktion der peri- und postinterventionellen Blutungsaktivität postulieren. Das niedrige Signifikanzniveau ist durch oben angesprochene Mechanismen erklärbar, zumal eine geringfügige periinterventionelle Blutung auch im Falle der Durchführung der verwendeten Verschluss technik nicht zu verhindern ist. Jedoch ist zu vermuten, dass der am Tiermodell nachweisbare positive Effekt umso stärker ausgeprägt ist, je höher die Blutungsaktivität ohne Plombierung des Stichkanals wäre.

Studien zur Anwendung des Verfahrens bei Biopsie anderer abdomineller Organe haben die Effektivität bezüglich der Verhinderung klinisch relevanter Blutungen nachweisen können [66-69]. Choi et al. konnte im Rahmen eines Vergleichs dreier möglicher Techniken zur Blutungsreduktion nach Milzbiopsie am Hundemodell ebenfalls die Effektivität einer Traktembolisation mittels Gelatineschwamm nachweisen [60]. Bei etwas längerer Interventionsdauer war das Ergebnis vergleichbar gut wie bei Anwendung der Radiofrequenz-Kauterisierung als Alternativverfahren. Eine Embolisation des Biopsiekanals mit einem Histoakryl-Lipiodol-Gemisch war vor allem im Falle einer simulierten

Blutgerinnungsstörung den anderen beiden Verfahren unterlegen. Zudem traten bei Anwendung dieser Technik vermehrt Embolise in die venösen Blutleiter der Milz und das portalvenöse Abflussgebiet auf [60].

Abschließend kann somit aufgrund der nachgewiesenen Effektivität, des geringen technischen Aufwandes und relativ niedriger Kosten das Verfahren der Traktembolisation mittels Gelatineschwamm zur Anwendung bei Risikopatienten im Rahmen einer perkutanen Schneidbiopsie der Milz empfohlen werden.

#### **4.4 Auswirkung der Lage des Plugmaterials auf die Effektivität des Verfahrens**

Bei einer direkt nach Intervention durchgeführten computertomografischen Kontrolle zeigte sich lediglich bei 40 % der Versuchstiere eine vollständig intrasplenische Lage des Gelatineschwamms. Bei der Mehrheit von 60 % der Versuchstiere lag das Plugmaterial teilweise extrasplenisch. Diese radiologischen Ergebnisse ließen sich bei der histologischen Aufarbeitung des den Stichkanal beinhaltenden Milzgewebes bestätigen, auch hier zeigte sich in lediglich 45,5 % der Fälle eine komplette Auffüllung des Stichkanals mit Gelatinematerial. In diesem Zusammenhang konnte jedoch eine weitere Differenzierung der Lage des Gelatineschwamms erfolgen. Bei den Versuchstieren der Verumgruppe, bei denen sich computertomografisch keine vollständige Auffüllung des Stichkanals mit Gelatinematerial zeigte, ließ sich in der histologischen Aufarbeitung in der einen Hälfte der Fälle Material lediglich im Bereich der Kapselperforation nachweisen, in der anderen Hälfte gelang im Untersuchungsgut kein histologischer Nachweis von Gelatinematerial. Das letztgenannte Ergebnis ist insofern in seiner Aussagekraft anzuzweifeln, als dass in allen Fällen, in denen sich histologisch kein Plugmaterial im Untersuchungsgut nachweisen ließ, die korrespondierenden computertomografischen Bilder die Lage des Gelatineschwamms im Bereich der Kapselperforation zeigten. Insofern kann vermutet werden, dass im Zuge der histologischen Aufarbeitung im Sinne von Fixierung, Entwässerung und Einbettung eine artifizielle Dislokation des Gelatinematerials erfolgte. Eine vollständige Resorption ist aufgrund der geringen Zeitspanne von 24 Stunden eher unwahrscheinlich.

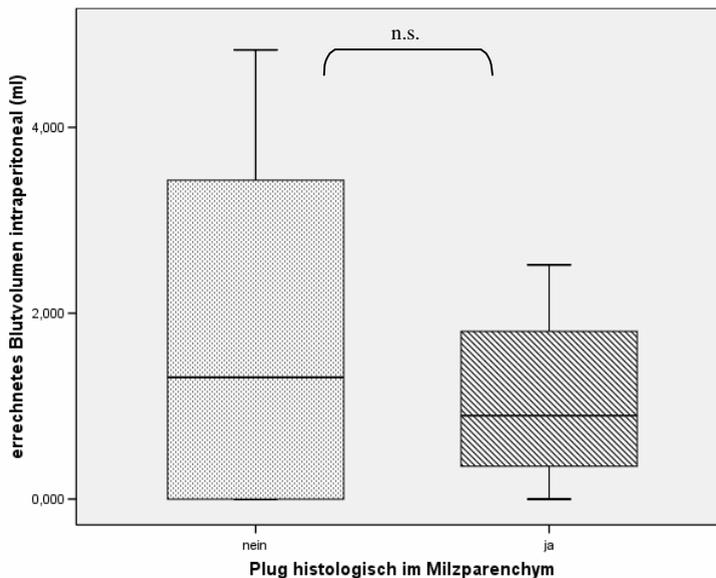
Insgesamt sind die erhobenen Zahlenwerte bezüglich des technischen Primärerfolges der Intervention im Sinne einer vollständig intrasplenischen Lage des Gelatineschwamms insofern interessant, als dass sich in der Literatur hierzu keine Aussagen finden lassen. Weder in den Arbeiten zur Anwendung der Technik an der Milz [60, 62, 70] noch an anderen parenchymatösen Abdominalorganen [64, 66, 68, 69, 75, 102, 103] wird eine Lagekontrolle des

interventionell eingebrachten Fremdmaterials erwähnt. Lediglich in einer tierexperimentellen Studie zur Anwendung der Embolisation im Rahmen einer offen durchgeführten Splenoportografie wird erwähnt, dass es in einigen Fällen zur unvollständigen Auffüllung des Stichkanals mit Gelatine kam, genaue Zahlenwerte werden jedoch nicht angegeben [71]. Trotz der einfacheren Durchführbarkeit des Verfahrens aufgrund eines offen operativen Vorgehens konnte in letztgenannter ebenso wie in der hier vorliegenden Studie nicht in allen Fällen ein technisch einwandfreies Ergebnis erzielt werden. Insofern ist zu vermuten, dass diese Tatsache auch auf die Ergebnisse der publizierten Studien zur Anwendung des Verschlussverfahrens am Patienten übertragbar ist. Da in diesen Studien aus nahe liegenden Gründen in den meisten Fällen keine histologische Untersuchung des Stichkanals erfolgte, war eine eindeutige Lagekontrolle des Gelatinematerials ohnehin nicht möglich.

Aus den genannten Ergebnissen ergibt sich die Fragestellung, inwiefern sich die korrekte beziehungsweise nicht korrekte Lage des Gelatineschwammes auf das Endergebnis bezüglich der angestrebten Blutungsreduktion auswirkt. Probst et al. führte, wie oben erwähnt, die hier untersuchte Technik im Rahmen einer tierexperimentellen Arbeit bei offen durchgeführten Splenoportografien am Hund durch. Er berichtet in seiner Publikation über signifikant unterschiedliche Blutungsaktivitäten abhängig von der Lokalisation des Plugmaterials. Die höchsten Blutungsraten wurden gefunden, wenn zwar der intrasplenische Stichkanal mit Gelatine ausgefüllt war, das Plugmaterial jedoch nicht über die Kapselperforation hinwegreichte. War der Bereich der Kapselperforation gepluggt, jedoch der restliche intraparenchymatöse Stichkanal nicht, fanden sich schon signifikant niedrigere Blutungsraten. Eine effektive Verhinderung relevanter Blutungen fand sich jedoch nur, wenn der Stichkanal in seiner gesamten Länge über die Milzkapsel hinweg mit Gelatine austamponiert war [71].

Setzt man die im Rahmen der vorliegenden Studie erhobenen Daten bezüglich des intraperitonealen Blutvolumens in Bezug zur histologischen Lokalisation des Gelatineplugs, so ergibt sich ein anderes Bild. Aus den oben genannten

Gründen der Annahme einer artifiziellen Dislokation von Gelatinematerial nach Explantation der Milz lassen sich zwei Gruppen von Versuchstieren aufzeigen. Hierbei wurden die beiden Subgruppen zusammengefasst, bei denen histologisch Plugmaterial nur im Bereich der Kapselperforation beziehungsweise gar nicht nachgewiesen werden konnte (Bild 4.1):



**Bild 4.1: Errechnetes intraperitoneales Blutvolumen bezogen auf die histologische Pluglokalisierung (Differenz nicht signifikant)**

In 45,5 % der Fälle ließ sich histologisch eine vollständige Auffüllung des Biopsiekanals mit Gelatinematerial nachweisen, in den verbleibenden 54,5 % befand sich das Gelatinematerial überwiegend extrasplenisch im Bereich der Kapselperforation beziehungsweise ließ sich gar nicht nachweisen. Vergleicht man die jeweils korrespondierenden errechneten intraperitonealen Blutvolumina, so findet man keinen signifikanten Unterschied.

Die Ursache für diese unterschiedlichen Ergebnisse hinsichtlich der Relevanz der Lokalisation des Gelatinematerials ist in dem unterschiedlichen Vorgehen in beiden Studien zu sehen. Während das Studiendesign von Probst et al. [71] eine offene Biopsie und Intervention vorsah, wurde in der vorliegenden Studie ein perkutanes, bildgesteuertes Vorgehen durchgeführt wie es dem heutigen Standard entspricht. In den computertomografischen Kontrollserien direkt nach

Intervention ließ sich in allen Fällen von überwiegend extrasplenischer Pluglokalisation eine raumfordernde Wirkung des Fremdmaterials mit Kompression der Milzkapsel im Bereich der Kapselperforation erkennen. Bei einem normalen intrakapsulären Druck von 5-6 mmHg ist eine durch äußere Kompression erreichte Hämostase zu postulieren. Dieser Mechanismus kann jedoch nur im Falle der Durchführung einer perkutanen Biopsie greifen, bei einem offen operativen Vorgehen fehlt die laterale Bauchwand mit dem Peritoneum parietale als Widerlager beziehungsweise es kommt gar nicht zu einer relevanten extrasplenischen Akkumulation von Fremdmaterial.

Die Idee der Nutzung einer äußeren Kompression zur Blutstillung an der Milz ist nicht neu. Papp et al. wies in einer tierexperimentellen Arbeit nach, dass sich der Blutverlust im Rahmen einer standardisierten Milzverletzung durch intraperitoneale Kohlendioxid-Insufflation und damit Erhöhung des intraperitonealen Druckes bis auf 25 mmHg signifikant senken ließ [104]. Im Falle schwerwiegender Verletzungen hat die Technik eines operativen „cappings“ der Milz durch Umhüllung mit einem resorbierbaren Vicryl-Netz Eingang in die klinische Routine gefunden [105-107].

Als ein Ergebnis der vorliegenden Studie kann also gelten, dass die vollständig intrasplenische Lage des Gelatineplugs offensichtlich weitaus weniger wichtig für die Effektivität des Verfahrens ist als bisher angenommen. Die Kompression durch parasplenisches Gelatinematerial im Bereich der Kapselperforation scheint in diesem Zusammenhang ähnlich effektiv zu sein wie die vollständige Auffüllung des Stichkanals.

## 4.5 Prädiktive Parameter bezüglich der Blutungsaktivität

In der Literatur finden sich überwiegend Studien, die patientenbezogene Daten wie Geschlecht, Alter und Blutgerinnungsparameter als Prädiktoren möglicher Komplikationen bei der perkutanen Biopsie abdominaler Organe benennen [108, 109]. Lediglich eine Studie zur Risikostratifizierung der Entwicklung eines Pneumothorax nach perkutaner Biopsie der Lunge findet einen flacheren Ansatzwinkel der Biopsienadel zur Haut als unabhängigen Risikofaktor [110]. Insofern war - neben den Untersuchungen zur Effektivität des vorgestellten Verfahrens - eine weitere Fragestellung, ob sich aus den kurz nach Intervention angefertigten computertomografischen Bildern Aussagen über die zu erwartende Blutungsaktivität treffen lassen.

In diesem Zusammenhang wurde zunächst die Länge der Stichkanäle als denkbarer prädiktiver Parameter untersucht. Die Messdaten hierzu wurden periinterventionell bei liegender Biopsienadel und ausgefahrener Innenkanüle erhoben. Gemessen wurde von der Spitze der Innenkanüle bis zum Durchtritt der Nadel durch die Milzkapsel. Bei den Tieren der Kontrollgruppe ließ sich ein mit  $p < 0,01$  signifikanter linearer Zusammenhang zwischen der Länge des Stichkanals und dem intraperitonealen Blutvolumen 24 Stunden post interventionem finden. In der Verumgruppe fand sich trotz einer Tendenz in dieselbe Richtung kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Parametern. Dieses Ergebnis entspricht insofern den Erwartungen, als dass mit zunehmender Stichlänge mehr Gefäßstrukturen sowie offene Bluträume der roten Pulpa verletzt werden. Daher werden bei einer Biopsie in Richtung des Milzhilus die betroffenen Gefäßsegmente zunehmend größer [9, 111]. Die Tatsache, dass sich innerhalb der Verumgruppe kein signifikanter linearer Zusammenhang finden lässt, spricht wiederum für die Effektivität des Verschlussverfahrens.

Daneben wurde anhand der prä- und direkt postinterventionell angefertigten computertomografischen Schnittbildserien die Differenz von Volumen und Dichte einer Flüssigkeitsansammlung im splenorealen Winkel bestimmt. Aufgrund einer beim Schwein unter physiologischen Bedingungen bestehenden

intraperitonealen Flüssigkeitsansammlung unterschiedlichen Ausmaßes macht der Vergleich zwischen den computertomografisch ermittelten Volumina im splenorealen Winkel vor und direkt nach Intervention besonderen Sinn. Präinterventionell fand sich in der Kontrollgruppe ein mittleres splenoreales Flüssigkeitsvolumen von  $3,5 \text{ cm}^3 \pm 3,8 \text{ cm}^3$  und in der Verumgruppe von  $4,2 \text{ cm}^3 \pm 8,0 \text{ cm}^3$ . Die Volumenzunahme zwischen prä- und postinterventioneller Messung betrug in der Kontrollgruppe  $2,70 \text{ cm}^3 \pm 4,67 \text{ cm}^3$  und in der Verumgruppe  $3,13 \text{ cm}^3 \pm 5,45 \text{ cm}^3$ . Es ließ sich kein signifikanter linearer Zusammenhang zwischen Volumenzunahme und intraperitonealer Blutmenge 24 Stunden *post interventionem* errechnen. Dies ist am ehesten im Zusammenhang mit den niedrigen absoluten Blutmengen zu sehen, die eine computertomografisch-volumetrische Messung nur wenig beeinflussen. Somit konnte eine Volumenzunahme zwischen prä- und postinterventioneller Messung nicht als geeigneter prädiktiver Parameter hinsichtlich der zu erwartenden intraperitonealen Blutungsaktivität bestätigt werden.

Freie intraperitoneale Blutungen sind mit den Schnittbildverfahren sehr gut als Blut zu identifizieren. In Abhängigkeit vom zeitlichen Ablauf beziehungsweise vom Alter der Blutung findet man computertomografisch differente Dichtewerte. Die Dichtewerte liegen anfangs bei 40-60 Hounsfield-Einheiten (HE), um im Verlauf auf 0-20 HE abzusinken [112]. Als letztes mögliches prädiktives Kriterium wurden somit prä- und postinterventionell die Dichtewerte der volumetrisch erfassten intraperitonealen Flüssigkeit erfasst und die Differenz errechnet. Präinterventionell ergab sich in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von  $6,6 \text{ HE} \pm 5,7 \text{ HE}$ , in der Verum-Gruppe lag die mittlere Dichte bei  $3,4 \text{ HE} \pm 10,4 \text{ HE}$ . Die Dichtewerte sprechen für einen serösen Charakter der Flüssigkeit mit eher niedrigem Eiweißgehalt Dies entspricht dem anatomisch-physiologischem Normalzustand beim Schwein [81]. Direkt nach Intervention kam es zu einem Anstieg der Dichte um im Mittel  $18,0 \text{ HE} \pm 18,0 \text{ HE}$  in der Kontrollgruppe und  $15,8 \text{ HE} \pm 24,5 \text{ HE}$  in der Verum-Gruppe. Dabei bestand die Tendenz zu einem linearen Zusammenhang zwischen Dichteanstieg und intraperitonealer Blutmenge 24 Stunden *post interventionem* ohne dass jedoch eine statistische

Signifikanz erreicht wird. Dieses Ergebnis ist jedoch unter Berücksichtigung von zwei Gesichtspunkten zu sehen. Zum einen wurde präinterventionell sowie im Rahmen der postinterventionellen Bildgebung Röntgenkontrastmittel intravenös verabreicht. Aus diesem Grund stellt sich eine mögliche Blutbeimischung zur physiologischen intraperitonealen Flüssigkeitsansammlung deutlich röntgendichter dar als sie es in einer rein nativen Bildgebung ohne vorherige Applikation von Kontrastmittel tun würde. Da der zur Okklusion des Stichkanals verwendete Gelatineschwamm vor Anwendung mit Kontrastmittel durchmischt wird, ist es ferner denkbar, dass es während der Platzierung zu einer zusätzlichen Kontrastmittelbeimischung zur intraperitonealen Flüssigkeit kommt. Insofern ist die Wertigkeit des periinterventionellen Dichteanstiegs der intraperitonealen Flüssigkeit als prädiktiver Parameter der zu erwartenden Blutungsaktivität als unsicher zu betrachten.

Zusammenfassend können als eindeutig prädiktive Parameter der zu erwartenden intraperitonealen Blutungsmenge lediglich der Gerinnungsstatus, insbesondere eine Verlängerung der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und der Activated Clotting Time (ACT), sowie die periinterventionell computertomografisch bestimmte Länge der Stichkanäle im Milzparenchym identifiziert werden. Bei letztgenanntem Parameter konnte die Wertigkeit allerdings nur aufgezeigt werden, wenn im Rahmen der Intervention keine Okklusion des Stichkanals durchgeführt wurde.

## 5 Zusammenfassung

Die bildgesteuerte, perkutane Biopsie ist eine wichtige diagnostische Prozedur in der modernen Medizin. Eine der häufigsten Indikationen zur Biopsie abdomineller Organe ist die Gewinnung zytologischen, histologischen oder mikrobiologischen Materials. Biopsien der Milz gelten als besonders komplikationsträchtig. Auf der einen Seite werden Blutungen aus der Milz gefürchtet, auf der anderen Seite ist ein sicherer Zugang zum Milzparenchym wegen der engen Beziehung zur linken Pleura und Lunge sowie zur linken Kolonflexur, zum Magen und zur linken Niere nicht immer möglich [35, 37]. Zusätzlich ist das Risiko postpunktioneller Blutungskomplikationen bei Patienten mit therapeutisch oder pathologisch herabgesetzter Gerinnungsfunktion besonders hoch [60].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Technik zur Vermeidung postinterventioneller Blutungskomplikationen nach perkutaner Schneidbiopsie der Milz auf ihre Effizienz hin zu überprüfen. Im Rahmen einer tierexperimentellen Versuchreihe an 26 Schweinen erfolgte zunächst eine computertomografisch gesteuerte Schneidbiopsie der Milz. Postinterventionell wurde bei der Hälfte der Versuchstiere eine Okklusion des Stichkanals mittels Einbringen eines Gelatineschwamms vorgenommen. Zusätzlich wurden 10 der 26 Tiere periinterventionell durch die intravenöse Gabe von Heparin antikoaguliert, um die Anwendung des Verfahrens an einer Hochrisikogruppe zu simulieren. 24 Stunden *post interventionem* erfolgte neben einer erneuten computertomografischen Bildgebung eine Obduktion mit Bestimmung des intraperitonealen Blutvolumens.

Durch eine signifikante Reduktion des Blutverlustes der Verum- gegenüber der Kontrollgruppe konnte die Effizienz des Verfahrens aufgezeigt werden. Dabei zeigte sich, dass eine histologisch nachgewiesene vollständig intrasplenische Lage des Gelatinematerials zur Erzielung des gewünschten Effektes nicht nötig zu sein scheint, eine überwiegend extrasplenische Lage des Plugmaterials

führte zu vergleichbar guten Ergebnissen. Als prädiktive Parameter des zu erwartenden peri- und postinterventionellen intraperitonealen Blutverlustes konnten der präinterventionelle Gerinnungsstatus sowie die computertomografisch gemessene Länge der Stichkanäle identifiziert werden. Andere computertomografisch bestimmte Parameter erwiesen sich im Rahmen dieser Studie als nicht valide.

Abschließend kann das Verfahren der Traktembolisation mittels Gelatineschwamm aufgrund seiner nachgewiesenen Effektivität, seines geringen technischen Aufwandes und relativ niedriger Kosten zur Anwendung bei Risikopatienten im Rahmen einer perkutanen Schneidbiopsie der Milz empfohlen werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Chen, L.W., R.N. Chien, C.L. Yen, and L.C. Chang, *Splenic tumour: a clinicopathological study*. Int J Clin Pract, 2004. **58**(10): p. 924-7.
2. Neiman, R. and A. Orazi, *Disease of the Spleen*, in *Anderson's Pathology*, J. Linder, Editor. 1996, Mosby: St. Louis.
3. Garvin, D.F. and F.M. King, *Cysts and nonlymphomatous tumors of the spleen*. Pathol Annu, 1981. **16 Pt 1**: p. 61-80.
4. Husni, E.A., *The clinical course of splenic hemangioma with emphasis on spontaneous rupture*. Arch Surg, 1961. **83**: p. 681-8.
5. Ros, P.R., R.P. Moser, Jr., A.H. Dachman, P.J. Murari, and W.W. Olmsted, *Hemangioma of the spleen: radiologic-pathologic correlation in ten cases*. Radiology, 1987. **162**(1 Pt 1): p. 73-7.
6. Lieberman, S., E. Libson, T. Sella, P. Lebensart, and J. Sosna, *Percutaneous image-guided splenic procedures: update on indications, technique, complications, and outcomes*. Semin Ultrasound CT MR, 2007. **28**(1): p. 57-63.
7. Berge, T., *Splenic metastases. Frequencies and patterns*. Acta Pathol Microbiol Scand [A], 1974. **82**(4): p. 499-506.
8. Kumar, P.V., A. Monabati, A.R. Raseki, C. Arshadi, S.A. Malek-Hosseini, A.R. Talei, and E. Sadeghi, *Splenic lesions: FNA findings in 48 cases*. Cytopathology, 2007. **18**(3): p. 151-6.
9. Liebich, H., *Funktionelle Histologie*. Vol. 2. Auflage. 1993, Stuttgart - New York: Schattauer.
10. Laeseke, P.F., T.C. Winter, 3rd, C.L. Davis, K.R. Stevens, C.D. Johnson, F.J. Fronczak, J.G. Webster, and F.T. Lee, Jr., *Postbiopsy bleeding in a porcine model: reduction with radio-frequency ablation--preliminary results*. Radiology, 2003. **227**(2): p. 493-9.
11. Wagner, H. and J. Froehlich, *Punktionen*, in *Interventionelle minimal-invasive Radiologie*, H. Brambs, Editor. 2001, Thieme: Stuttgart - New York. p. 23-30.
12. Günther, R., G. Adam, P. Keulers, K. Klose, and D. Vorwerk, *CT-gesteuerte Punktionen*, in *Interventionelle Radiologie*, M. Thelen, Editor. 1996, Thieme: Stuttgart - New York. p. 605-634.
13. Hamer, O.W., L.C. Bollheimer, S. Feuerbach, and M. Strotzer, *[Drugs in interventional radiology. 2: Anticoagulation, thrombocyte aggregation inhibition, fibrinolysis]*. Radiologe, 2002. **42**(6): p. 489-98; quiz 499-501.
14. Shiffman, M.L., M.T. Farrel, and Y.S. Yee, *Risk of bleeding after endoscopic biopsy or polypectomy in patients taking aspirin or other NSAIDs*. Gastrointest Endosc, 1994. **40**(4): p. 458-62.

15. Feuerbach, S., A. Schreyer, and K. Schlottmann, *Standards radiologisch bildgesteuerter Biopsien - Indikationsstellung, Technik, Komplikationen*. Radiologie uptodate, 2003: p. 207-223.
16. Bonifacio, A., R.E. Goldberg, B.J. Patterson, and M. Haider, *Flow-cytometry-enhanced fine-needle aspiration biopsy of the spleen*. Can Assoc Radiol J, 2000. **51**(3): p. 158-62.
17. Kariniemi, J., R. Blanco Sequeiros, R. Ojala, and O. Tervonen, *MRI-guided abdominal biopsy in a 0.23-T open-configuration MRI system*. Eur Radiol, 2005. **15**(6): p. 1256-62.
18. Froelich, J.J., N. Ishaque, B. Saar, J. Regn, E.M. Walthers, F. Mauermann, and K.J. Klose, *[Control of percutaneous biopsy with CT fluoroscopy]*. Rofo, 1999. **170**(2): p. 191-7.
19. Silverman, S.G., K. Tuncali, D.F. Adams, R.D. Nawfel, K.H. Zou, and P.F. Judy, *CT fluoroscopy-guided abdominal interventions: techniques, results, and radiation exposure*. Radiology, 1999. **212**(3): p. 673-81.
20. Bocking, A. and P. Keulers, *Aspekte der Zytologie und Histologie*, in *Interventionelle Radiologie*, M. Thelen, Editor. 1996, Thieme: Stuttgart - New York. p. 596-604.
21. Khouri, N.F., F.P. Stitik, Y.S. Erozan, P.K. Gupta, W.S. Kim, W.W. Scott, Jr., U.M. Hamper, R.B. Mann, J.C. Eggleston, and R.R. Baker, *Transthoracic needle aspiration biopsy of benign and malignant lung lesions*. AJR Am J Roentgenol, 1985. **144**(2): p. 281-8.
22. Gunther, R.W. and S. Wallace, *Percutaneous biopsy*. Cardiovasc Intervent Radiol, 1991. **14**(1): p. 3.
23. Bocking, A., *Cytological vs histological evaluation of percutaneous biopsies*. Cardiovasc Intervent Radiol, 1991. **14**(1): p. 5-12.
24. Bocking, A., K.C. Klose, H.J. Kyll, and S. Hauptmann, *Cytologic versus histologic evaluation of needle biopsy of the lung, hilum and mediastinum. Sensitivity, specificity and typing accuracy*. Acta Cytol, 1995. **39**(3): p. 463-71.
25. Liang, P., Y. Gao, Y. Wang, X. Yu, D. Yu, and B. Dong, *US-guided percutaneous needle biopsy of the spleen using 18-gauge versus 21-gauge needles*. J Clin Ultrasound, 2007.
26. Althoff, C.E., K.G. Hermann, K. Wiechen, A. Lembcke, C.N. Enzweiler, B. Hamm, and P. Rogalla, *Formalin-fixed blood clots--additional histological findings on computed tomography-guided fine-needle aspiration biopsies in comparison with core biopsies*. J Comput Assist Tomogr, 2006. **30**(3): p. 386-90.
27. Aravandinos, A., *Modification dans la technique de la ponction de la rate*. Bulletin De La Société De Pathologie Exotique, 1916. **12**: p. 444-48.
28. Lal, A., R. Ariga, P. Gattuso, A.A. Nemcek, and R. Nayar, *Splenic fine needle aspiration and core biopsy. A review of 49 cases*. Acta Cytol, 2003. **47**(6): p. 951-9.

29. Hokayem, C., G. Berdnikoff, and J. Desjardins, *Biopsie splénique: étude expérimentale*. Canad Med Ass J, 1969. **100**(1): p. 413-16.
30. Kager, P.A. and P.H. Rees, *Splenic aspiration. Review of the literature*. Trop Geogr Med, 1983. **35**(2): p. 111-24.
31. Kager, P.A., P.H. Rees, F.M. Manguyu, K.M. Bhatt, and S.M. Bhatt, *Splenic aspiration; experience in Kenya*. Trop Geogr Med, 1983. **35**(2): p. 125-31.
32. Solbiati, L., M.C. Bossi, E. Bellotti, C. Ravetto, and G. Montali, *Focal lesions in the spleen: sonographic patterns and guided biopsy*. AJR Am J Roentgenol, 1983. **140**(1): p. 59-65.
33. Taavitsainen, M., A. Koivuniemi, J. Helminen, S. Bondestam, L. Kivisaari, M. Pamilo, E. Tierala, and H. Tiitinen, *Aspiration biopsy of the spleen in patients with sarcoidosis*. Acta Radiol, 1987. **28**(6): p. 723-5.
34. Caraway, N.P. and C.V. Fanning, *Use of fine-needle aspiration biopsy in the evaluation of splenic lesions in a cancer center*. Diagn Cytopathol, 1997. **16**(4): p. 312-6.
35. Keogan, M.T., K.S. Freed, E.K. Paulson, R.C. Nelson, and L.G. Dodd, *Imaging-guided percutaneous biopsy of focal splenic lesions: update on safety and effectiveness*. AJR Am J Roentgenol, 1999. **172**(4): p. 933-7.
36. Civardi, G., D. Vallisa, R. Berte, A. Giorgio, C. Filice, M. Caremani, E. Caturelli, M. Pompili, I. De Sio, E. Buscarini, and L. Cavanna, *Ultrasound-guided fine needle biopsy of the spleen: high clinical efficacy and low risk in a multicenter Italian study*. Am J Hematol, 2001. **67**(2): p. 93-9.
37. Lucey, B.C., G.W. Boland, M.M. Maher, P.F. Hahn, D.A. Gervais, and P.R. Mueller, *Percutaneous nonvascular splenic intervention: a 10-year review*. AJR Am J Roentgenol, 2002. **179**(6): p. 1591-6.
38. Lishner, M., R. Lang, Y. Hamlet, E. Halph, Z. Steiner, J. Radnay, and M. Ravid, *Fine needle aspiration biopsy in patients with diffusely enlarged spleens*. Acta Cytol, 1996. **40**(2): p. 196-8.
39. Venkataramu, N.K., S. Gupta, B.P. Sood, M. Gulati, A. Rajawanshi, S.K. Gupta, and S. Suri, *Ultrasound guided fine needle aspiration biopsy of splenic lesions*. Br J Radiol, 1999. **72**(862): p. 953-6.
40. Siniluoto, T., M. Paivansalo, T. Tikkakoski, and M. Apaja-Sarkkinen, *Ultrasound-guided aspiration cytology of the spleen*. Acta Radiol, 1992. **33**(2): p. 137-9.
41. Zeppa, P., A. Vetrani, L. Luciano, F. Fulciniti, G. Troncone, B. Rotoli, and L. Palombini, *Fine needle aspiration biopsy of the spleen. A useful procedure in the diagnosis of splenomegaly*. Acta Cytol, 1994. **38**(3): p. 299-309.
42. Silverman, J.F., K.R. Geisinger, S.S. Raab, and M.W. Stanley, *Fine needle aspiration biopsy of the spleen in the evaluation of neoplastic disorders*. Acta Cytol, 1993. **37**(2): p. 158-62.

43. Cavanna, L., G. Civardi, F. Fornari, M. Di Stasi, G. Sbolli, E. Buscarini, D. Vallisa, S. Rossi, P. Tansini, and L. Buscarini, *Ultrasonically guided percutaneous splenic tissue core biopsy in patients with malignant lymphomas*. *Cancer*, 1992. **69**(12): p. 2932-6.
44. Lindgren, P.G., H. Hagberg, B. Eriksson, B. Glimelius, A. Magnusson, and C. Sundstrom, *Excision biopsy of the spleen by ultrasonic guidance*. *Br J Radiol*, 1985. **58**(693): p. 853-7.
45. Quinn, S.F., E. vanSonnenberg, G. Casola, G.R. Wittich, and C.C. Neff, *Interventional radiology in the spleen*. *Radiology*, 1986. **161**(2): p. 289-91.
46. Kang, M., N. Kalra, M. Gulati, A. Lal, R. Kochhar, and A. Rajwanshi, *Image guided percutaneous splenic interventions*. *Eur J Radiol*, 2007.
47. Suzuki, T., H. Shibuya, S. Yoshimatsu, and S. Suzuki, *Ultrasonically guided staging splenic tissue core biopsy in patients with non-Hodgkin's lymphoma*. *Cancer*, 1987. **60**(4): p. 879-82.
48. Muraca, S., P.G. Chait, B.L. Connolly, K.M. Baskin, and M.J. Temple, *US-guided core biopsy of the spleen in children*. *Radiology*, 2001. **218**(1): p. 200-6.
49. Lieberman, S., E. Libson, B. Maly, P. Lebensart, D. Ben-Yehuda, and A.I. Bloom, *Imaging-guided percutaneous splenic biopsy using a 20- or 22-gauge cutting-edge core biopsy needle for the diagnosis of malignant lymphoma*. *AJR Am J Roentgenol*, 2003. **181**(4): p. 1025-7.
50. Lopez, J.I., J.L. Del Cura, A.F. De Larrinoa, O. Gorrino, R. Zabala, and F.J. Bilbao, *Role of ultrasound-guided core biopsy in the evaluation of spleen pathology*. *Apmis*, 2006. **114**(7-8): p. 492-9.
51. Cox, J.E., C. Chiles, C.M. McManus, S.L. Aquino, and R.H. Choplin, *Transthoracic needle aspiration biopsy: variables that affect risk of pneumothorax*. *Radiology*, 1999. **212**(1): p. 165-8.
52. Voravud, N., D.M. Shin, R.H. Dekmezian, I. Dimery, J.S. Lee, and W.K. Hong, *Implantation metastasis of carcinoma after percutaneous fine-needle aspiration biopsy*. *Chest*, 1992. **102**(1): p. 313-5.
53. Lindner, H., *[Limitations and hazards of percutaneous liver biopsy with the Menghini needle. Experiences with 80,000 liver biopsies]*. *Dtsch Med Wochenschr*, 1967. **92**(39): p. 1751-7.
54. Lundquist, A., *Fine-needle aspiration biopsy of the liver. Applications in clinical diagnosis and investigation*. *Acta Med Scand Suppl*, 1971. **520**: p. 1-28.
55. Stormby, N. and M. Akerman, *Aspiration cytology in the diagnosis of granulomatous liver lesions*. *Acta Cytol*, 1973. **17**(3): p. 200-4.
56. Kato, H., C. Konaka, J. Ono, M. Takahashi, and Y. Hayata, *Cytology of the lung. Techniques and interpretation*. Igaku-Shoin, Tokyo, 1983.
57. Beazley, R.M., *Needle biopsy diagnosis of pancreatic cancer*. *Cancer*, 1981. **47**(6 Suppl): p. 1685-7.

58. Zajicek, J., *Cytology of Infradiaphragmal Organs*. Aspiration Biopsy Cytology. Vol. 2. 1972, Basel: Karger.
59. Bocking, A., W. Auffermann, H. Schwarz, J. Bammert, G. Dorrier, and S. Vucicuja, *Cytology of prostatic carcinoma. Quantification and validation of diagnostic criteria*. *Anal Quant Cytol*, 1984. **6**(2): p. 74-88.
60. Choi, S.H., J.M. Lee, K.H. Lee, S.H. Kim, J.Y. Lee, J.K. Han, and B.I. Choi, *Postbiopsy splenic bleeding in a dog model: comparison of cauterization, embolization, and plugging of the needle tract*. *AJR Am J Roentgenol*, 2005. **185**(4): p. 878-84.
61. Benter, T., L. Kluhs, and U. Teichgraber, *[Diagnostic biopsy of diffuse splenic infiltration in a patient with non-Hodgkin lymphoma]*. *Rofo*, 2003. **175**(6): p. 860-1.
62. Dagnini, G., M.W. Cladironi, G. Marin, and M. Patella, *Laparoscopic splenic biopsy*. *Endoscopy*, 1984. **16**(2): p. 55-8.
63. Allison, D.J. and A. Adam, *Percutaneous liver biopsy and track embolization with steel coils*. *Radiology*, 1988. **169**(1): p. 261-3.
64. Chisholm, R.A., S.N. Jones, and W.R. Lees, *Fibrin sealant as a plug for the post liver biopsy needle track*. *Clin Radiol*, 1989. **40**(6): p. 627-8.
65. Chuang, V.P. and J.P. Alspaugh, *Sheath needle for liver biopsy in high-risk patients*. *Radiology*, 1988. **166**(1 Pt 1): p. 261-2.
66. Fandrich, C.A., R.P. Davies, and P.M. Hall, *Small gauge gelfoam plug liver biopsy in high risk patients: safety and diagnostic value*. *Australas Radiol*, 1996. **40**(3): p. 230-4.
67. Karpelowsky, J.S., A. Numanoglu, N.M. Bax, and H. Rode, *Laparoscopically assisted liver biopsy with a hemostatic plug*. *Surg Endosc*, 2006. **20**(10): p. 1626-8.
68. Smith, T.P., V.G. McDermott, D.M. Ayoub, P.V. Suhocki, and D.J. Stackhouse, *Percutaneous transhepatic liver biopsy with tract embolization*. *Radiology*, 1996. **198**(3): p. 769-74.
69. Zins, M., V. Vilgrain, S. Gayno, Y. Rolland, L. Arrive, M.H. Denninger, M.P. Vullierme, D. Najmark, Y. Menu, and H. Nahum, *US-guided percutaneous liver biopsy with plugging of the needle track: a prospective study in 72 high-risk patients*. *Radiology*, 1992. **184**(3): p. 841-3.
70. Brazzini, A., D.W. Hunter, M.D. Darcy, T.P. Smith, A.H. Cragg, W.R. Castaneda-Zuniga, and K. Amplatz, *Safe splenoportography*. *Radiology*, 1987. **162**(3): p. 607-9.
71. Probst, P., J.A. Rysavy, and K. Amplatz, *Improved safety of splenoportography by plugging of the needle tract*. *AJR Am J Roentgenol*, 1978. **131**(3): p. 445-9.
72. Baugh, R.F. and C. Hougie, *The chemistry of blood coagulation*. *Clin Haematol*, 1979. **8**(1): p. 3-30.
73. Robinson, J.D., J.W. Yedlicka, M.C. Bildsoe, Z. Vlodayer, D.W. Hunter, W. Castaneda-Zuniga, and K. Amplatz, *The biocompatibility of*

- compressed collagen foam plugs*. Cardiovasc Intervent Radiol, 1990. **13**(1): p. 36-9.
74. McCartney, J.P., J.W. Adams, 2nd, and P.B. Hazard, *Safety of thoracentesis in mechanically ventilated patients*. Chest, 1993. **103**(6): p. 1920-1.
75. Kallmes, D.F., J.K. McGraw, S.T. Li, H.B. Lin, A.J. Evans, H.J. Cloft, and A.H. Matsumoto, *In vivo evaluation of a new type I collagen hemostatic plug for high-risk, large-core biopsies*. J Vasc Interv Radiol, 1998. **9**(4): p. 656-9.
76. Muir, W., J. Hubbell, and R. Skarda, *Veterinärnästhesie*. 1993, Stuttgart - New York: Schattauer.
77. O'Malley, M.E., B.J. Wood, G.W. Boland, and P.R. Mueller, *Percutaneous imaging-guided biopsy of the spleen*. AJR Am J Roentgenol, 1999. **172**(3): p. 661-5.
78. Paulson, E.K., G.R. Stephenson, M.C. Neal, V. Rossin, and J.H. Lawson, *Use of fibrin sealant as a hemostatic agent after liver biopsy in swine*. J Vasc Interv Radiol, 2000. **11**(7): p. 905-11.
79. Dang, C., T. Schlater, H. Bui, and T. Oshita, *Delayed rupture of the spleen*. Ann Emerg Med, 1990. **19**(4): p. 399-403.
80. Stefanovic, B., A. Karamarkovic, Z. Loncar, S. Mijatovic, V. Jeremic, and P. Savic, *[Second hemorrhage in patients with splenic injuries]*. Acta Chir Iugosl, 2002. **49**(3): p. 55-61.
81. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. Vol. 3. Auflage. 1996, Berlin: Parey.
82. Klose, K. and C. Neuhaus, *Patientenüberwachung in der interventionellen Radiologie*, in *Interventionelle Radiologie*, M. Thelen, Editor. 1996, Thieme: Stuttgart - New York.
83. Archambeau, J.O., R.G. Fairchild, and H.J. Brenneis, *The response of the skin of swine to increasing absorbed doses of radiation from a thermal neutron beam, a degraded fission neutron beam, and the  $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$  reaction*. Radiat Res, 1971. **45**(1): p. 145-65.
84. Braun, W., W. Buchholz, J. Barth, H. Nitzschner, D. Kipping, H. Schmoranzler, H. Standau, H. Hartmann, J. Walter, L. Mugge, R. Ludewig, and I. Zintzsch, *[The pig as experimental animal under thermal and pharmacological stress. Methodology of the experimental technic]*. Z Gesamte Exp Med, 1971. **154**(1): p. 60-9.
85. Werle, J., R. Cosby, and C. Wiggers, *Observations on hemorrhagic hypotension and hemorrhagic shock*. Am J Physiol, 1942. **136**: p. 401-420.
86. Bassin, R., B.C. Vladeck, S.I. Kim, and W.C. Shoemaker, *Comparison of hemodynamic responses of two experimental shock models with clinical hemorrhage*. Surgery, 1971. **69**(5): p. 722-9.

87. Chiu, C.J., H.J. Scott, and F.N. Gurd, *Volume deficit versus toxic absorption: a study of canine shock after mesenteric arterial occlusion*. Ann Surg, 1972. **175**(4): p. 479-88.
88. Moore, F.D., *Relevance of experimental shock studies to clinical shock problems*. Fed Proc, 1961. **20**(Suppl 9): p. 227-32.
89. Voitk, A.J., C.J. Chiu, and F.N. Gurd, *Prevention of porcine stress ulcer following hemorrhagic shock with elemental diet*. Arch Surg, 1972. **105**(3): p. 473-6.
90. Norton, L., P. Nolan, J.E. Sales, and B. Eiseman, *A swine stress ulcer model*. Ann Surg, 1972. **176**(2): p. 133-8.
91. Lowery, B.D., D.S. Mulder, E.M. Joyal, and W.H. Palmer, *Effect of hemorrhagic shock on the lung of the pig*. Surg Forum, 1970. **21**: p. 21-2.
92. Hobler, K.E. and R.J. Napodano, *Tolerance of swine to acute blood volume deficits*. J Trauma, 1974. **14**(8): p. 716-8.
93. Martini, W.Z., D.L. Chinkes, A.E. Pusateri, J.B. Holcomb, Y.M. Yu, X.J. Zhang, and R.R. Wolfe, *Acute changes in fibrinogen metabolism and coagulation after hemorrhage in pigs*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **289**(5): p. E930-4.
94. Harms, V., *Biomathematik, Statistik und Dokumentation*. 7 ed. 1998: Harms-Verlag.
95. Dietel, M., N. Suttorp, and M. Zeitz, *Harrisons Innere Medizin*. 16 ed. Vol. 2. 2005, Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH.
96. Hughes, H.C., *Swine in cardiovascular research*. Lab Anim Sci, 1986. **36**(4): p. 348-50.
97. Kase, F., *[Comparison of coagulation tests in man and 4 animal species (rabbit, dog, cow and pig)]*. Vet Med (Praha), 1972. **17**(8): p. 495-500.
98. Kase, F., *[Comparison of the blood clotting system in man, rabbit, dog, and swine]*. Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch, 1972. **97**(4): p. 302-7.
99. Kraft, W. and U. Duerr, *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 6 ed. 2005, Stuttgart, New York: Schattauer.
100. Radin, M.J., M.G. Weiser, and M.J. Fettman, *Hematologic and serum biochemical values for Yucatan miniature swine*. Lab Anim Sci, 1986. **36**(4): p. 425-7.
101. Allcock, E.A., *The absorption and survival of red blood cells labelled with chromium-51 from the peritoneal cavity in man*. Aust N Z J Surg, 1968. **38**(1): p. 74-9.
102. Dagnini, G., M.W. Caldironi, G. Marin, and M. Patella, *Fibrin sponge plugging of hemorrhage from laparoscopic biopsy*. Gastrointest Endosc, 1985. **31**(1): p. 35-6.
103. Falstrom, J.K., M.M. Moore, S.H. Caldwell, A.H. Matsumoto, R.D. Abbott, and W.D. Spotnitz, *Use of fibrin sealant to reduce bleeding after needle liver biopsy in an anticoagulated canine model: work in progress*. J Vasc Interv Radiol, 1999. **10**(4): p. 457-62.

104. Papp, A., Vereczkei, J. Lantos, and O.P. Horvath, *The effect of different levels of peritoneal CO<sub>2</sub> pressure on bleeding time of spleen capsule injury*. Surg Endosc, 2003. **17**(7): p. 1125-8.
105. Feliciano, D.V., V. Spjut-Patrinely, J.M. Burch, K.L. Mattox, C.G. Bitondo, P. Cruse-Martocci, and G.L. Jordan, Jr., *Splenorrhaphy. The alternative*. Ann Surg, 1990. **211**(5): p. 569-80; discussion 580-2.
106. Jovanovic, M., G. Stanojevic, J. Jovanovic, and M. Stojanovic, [*Splenic capping in the treatment of severe spleen injuries*]. Med Pregl, 2005. **58**(7-8): p. 388-92.
107. Takeda, J., K. Hashimoto, M. Tanaka, H. Iwai, and T. Kakegawa, *Experimental and clinical evaluation of the splenic capping method in the treatment of injured spleens*. Jpn J Surg, 1990. **20**(2): p. 137-42.
108. Manno, C., G.F. Strippoli, L. Arnesano, C. Bonifati, N. Campobasso, L. Gesualdo, and F.P. Schena, *Predictors of bleeding complications in percutaneous ultrasound-guided renal biopsy*. Kidney Int, 2004. **66**(4): p. 1570-7.
109. Terjung, B., I. Lemnitzer, F.L. Dumoulin, W. Effenberger, H.H. Brackmann, T. Sauerbruch, and U. Spengler, *Bleeding complications after percutaneous liver biopsy. An analysis of risk factors*. Digestion, 2003. **67**(3): p. 138-45.
110. Saji, H., H. Nakamura, T. Tsuchida, M. Tsuboi, N. Kawate, C. Konaka, and H. Kato, *The incidence and the risk of pneumothorax and chest tube placement after percutaneous CT-guided lung biopsy: the angle of the needle trajectory is a novel predictor*. Chest, 2002. **121**(5): p. 1521-6.
111. Pereira-Sampaio, M.A. and B.P. Marques-Sampaio, *Anatomical study and proportional analysis of the pig spleen arterial segments*. Cells Tissues Organs, 2006. **182**(1): p. 32-4.
112. Bücheler, E., K. Lackner, and M. Thelen, *Einführung in die Radiologie*. 11 ed. 2006, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

## 7 Anhang



### Durchschrift

#### Bezirksregierung Köln

Bezirksregierung, 50606 Köln  
 Herrn Prof. Dr. K.J. Lackner  
 Herrn Dr. M. Zähringer  
 Poliklinik f. Radiologische Diagnostik  
 der Universität Köln  
 Joseph-Stelzmann-Str. 9

Köln 50924 Köln

Zeughausstraße 2-10, 50667 Köln  
 Auskunft erteilt:  
**Herr Löer**

[horst.loer@bezreg-koeln.nrw.de](mailto:horst.loer@bezreg-koeln.nrw.de)

Zimmer: K 32  
 Durchwahl: (0221) 147 - 3204  
 Telefax: (0221) 147 - 2871  
 Aktenzeichen (bitte bei Antwort angeben):  
**50.203.2-K-24. 26/03**

Datum: 10.07.2003

**Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren;**  
 hier: Genehmigung gemäß § 8 Tierschutzgesetz  
 Bezug: Ihr Antrag vom 10.06.2003

Sehr geehrter Herr Professor Dr. Lackner,

aufgrund des § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes (TierSchG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25.05.1998 (BGBl. S. 1105) i.V.m. § 1 der Verordnung des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes NW über Zuständigkeiten nach dem Tierschutzgesetz vom 17.02.1987 (GV NW S. 66) erteile ich Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens:

*„Tierexperimentelle Untersuchungen am Schwein zum Vergleich des Blutverlustes nach perkutanen Milzpunktionen mit und ohne Verschluss des Funktionskanals durch Gelatineschwamm“.*

Leiter des Versuchsvorhabens sind Sie, Herr Prof. Dr. Lackner sowie Herr Dr. M. Zähringer, Vertreter ist Herr Prof. Dr. Jürgen H. Fischer.

Die Genehmigung gilt bis zum 31.07.2006.

Die Genehmigung erstreckt sich auf Versuche mit 20 Schweinen.

Die von Ihnen aufgezeigte Versuchsplanung ist bindend. Abweichungen von der geplanten Vorgehensweise in der Versuchsdurchführung sind mir vorab anzuzeigen bzw. von mir zu genehmigen.

1/3

**Sprechzeiten:**  
 persönlich: donnerstags von 8:30 - 15:00 Uhr  
 und nach Vereinbarung  
 telefonisch: montags - donnerstags von 8:30 - 17:00 Uhr,  
 freitags von 8:30 - 15:30 Uhr

**Telefon:** (0221) 147-0  
**E-Mail:** [poststelle@bezreg-koeln.nrw.de](mailto:poststelle@bezreg-koeln.nrw.de)  
**Internet:** <http://www.bezreg-koeln.nrw.de>

**Zu erreichen mit:**  
 DB bis Köln Hbf  
 U-Bahn Linien  
 3,4,5,12,14,16,18  
 bis Appellhofplatz

**Überweisungen an LK Köln:**  
 Deutsche Bundesbank, Filiale Köln  
 BLZ 370 000 00, Kontonummer 370 015 20  
 WestLB, Düsseldorf  
 BLZ 300 500 00, Kontonummer 965 60

**Auflagen:**

Der Wechsel des Leiters des Versuchsvorhabens oder seines Stellvertreters ist mir unverzüglich anzuzeigen.

Nach Abschluss der Versuche ist mir ein Ergebnisbericht vorzulegen.

Die Kennzeichnung der Käfige oder Einrichtung, in denen die Versuchstiere gehalten werden, ist mit dem zuständigen Amtstierarzt abzustimmen.

**Hinweis:**

Die Genehmigung kann zurückgenommen bzw. widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt oder die einschlägigen Vorschriften des Tierschutzgesetzes – hier insbesondere die §§ 7-11b – sowie des Gesetzes zu dem Europäischen Übereinkommen vom 18.03.1986 zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere vom 11.12.1990 (BGBl. II S. 1486) nicht beachtet werden.

Eventuell erforderliche Ausnahmegenehmigungen nach dem Tierschutzgesetz (§ 9 Abs. 1 und Abs. 2 Nr. 7) oder anderen gesetzlichen Bestimmungen bleiben von dieser Genehmigung unberührt.

Erforderliche berufsrechtliche, gesetzliche Anforderungen (z.B. Approbation, Berufserlaubnis usw.) für die im Antrag benannten Personen, die an dem Versuchsvorhaben beteiligt sind, werden durch diese Genehmigung nicht ersetzt und sind gesondert zu beantragen.

Der Amtstierarzt der Stadt Köln hat Durchschrift erhalten.

**Rechtsbehelfsbelehrung:**

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden.

Der Widerspruch ist schriftlich bei der Bezirksregierung in 50667 Köln, Zeughausstr. 2-10, einzulegen oder dort zur Niederschrift zu erklären.

Falls die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden sollte, würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



(Klumpp)





## Bezirksregierung Köln

Bezirksregierung, 50606 Köln  
 Herrn Prof. Dr. K. J. Lackner  
 Institut und Poliklinik für Radiologische  
 Diagnostik  
 der Universität zu Köln  
 Joseph-Stelzmann-Straße 9  
 50931 Köln

Zeughausstraße 2-10, 50667 Köln  
 Auskunft erteilt:  
 Frau Klumpp

gertrud.klumpp@bezreg-koeln.nrw.de  
 Zimmer: K 144  
 Durchwahl: (0221) 147 - 3216  
 Telefax: (0221) 147 - Fax  
 Aktenzeichen (bitte bei Antwort angeben):  
 50.203- K 24, 26/03

Datum: 10.11.2004

### Genehmigung von Tierversuchen;

Meine Genehmigung vom 10.07.2003;  
 Erweiterungsanträge von Herrn Dr. Zähringer vom 09.07.2004, eingegangen am  
 10.11.2004 und 09.11.2004  
 Mein Telefonat mit Herrn Dr. Zähringer am 10.11.2004

Sehr geehrter Herr Professor Dr. Lackner,

aufgrund der oben genannten Schreiben wird mein Genehmigungsbescheid zum  
 Versuchsvorhaben

„Tierexperimentelle Untersuchungen am Schwein zum Vergleich des Blutverlustes nach  
 perkutaner Milzpunktionen mit und ohne Verschluss des Punktionskanals durch  
 Gelatineschwamm“ wie folgt geändert:

- Die im Schreiben vom 09.07.2004 beantragten zusätzlichen Untersuchungen  
 mit 6 vollheparinisierten Schweinen werden nachträglich genehmigt. Zu den  
 bereits vorhandenen 4 Tieren werden 2 zusätzliche Tiere gewährt.

In meinen Unterlagen befindet sich weder ein im Juli eingegangenes Schreiben,  
 noch eine Genehmigung hierzu, von deren Erteilung Sie jedoch offensichtlich  
 ausgingen. Für mich ist es im Nachhinein nicht mehr festzustellen, wo Ihr Schreiben  
 'hängengeblieben' ist. Da der Tierschutzbeauftragte jedoch ein Exemplar besitzt, ist  
 hier ein Verschwinden auf dem Postweg möglicherweise der Grund.

1/2

**Sprechzeiten:**  
 persönlich: donnerstags von 8:30 - 15:00 Uhr  
 und nach Vereinbarung  
 telefonisch: montags - donnerstags von 8:00 - 16:30 Uhr,  
 freitags von 8:00 - 15:00 Uhr

**Telefon:** (0221) 147-0  
**E-Mail:** poststelle@bezreg-koeln.nrw.de  
**Internet:** http://www.bezreg-koeln.nrw.de

**Zu erreichen mit:**  
 DB bis Köln Hbf  
 U-Bahn Linien  
 3,4,5,16,18,19  
 bis Appellhofplatz

**Überweisungen an LK Köln:**  
 Deutsche Bundesbank, Filiale Köln  
 BLZ 370 000 00, Kontonummer 370 015 20  
 WestLB, Düsseldorf  
 BLZ 300 500 00, Kontonummer 965 60

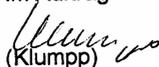
- Die im Schreiben vom 09.11.2004 beantragten zusätzlichen 4 Schweine zur Erstellung statistisch sicherer Aussagen zum Einfluß des Heparins werden genehmigt
- Als Ersatz für ein nicht auswertbares Versuchstier wird Ihnen ein weiteres Tier sowie ein Ersatztier genehmigt, welches jedoch nur im Bedarfsfall eingesetzt werden darf.

Die Tierzahl für die Versuche erhöht sich dadurch um 8 auf insgesamt 28 Schweine.

Die übrigen Bestimmungen meiner Genehmigung bleiben hiervon unberührt.  
Der Amtstierarzt der Stadt Köln erhält eine Durchschrift dieses Schreibens.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag

  
(Klumpp)

Medizinische Fakultät  
Universität zu Köln

Dr. Thorsten Hensler  
Wissenschaftskoordinator



50931 Köln / Germany  
Joseph-Stelzmann-Str. 9  
Haus 38, Erdgeschoss  
Zimmer 005-006  
Tel.: x49-221-478-5617  
Fax : x49-221-478-3560  
t.hensler@uni-koeln.de

Herrn  
Dr. Markus Zähringer  
Institut für Radiologie

Donnerstag, 11. Dezember 2003

im Hause

**Ihr Köln Fortune Projekt Nr. 88/2003 (Konto: 26800711)**

**Projekttitel: „Tierexperimentelle Untersuchungen an Schweinen zum Vergleich des Blutverlustes nach perkutanen Milzpunktionen mit und ohne Verschluss des Punktionskanals durch Gelatineschwamm“**

Sehr geehrter Herr Dr. Zähringer,

die Fakultät bewilligt Ihnen aus dem Köln Fortune-Programm eine Förderung von **28.860 €**.  
Die Förderung ist auf 1 Jahr befristet und setzt sich wie folgt zusammen:

| Personalmittel | Verbrauchsmittel | Investitionen | Sonstiges | Zuschuß Drittmittel |
|----------------|------------------|---------------|-----------|---------------------|
| 0 €            | 27.360 €         | 0 €           | 1.500 €   | 0 €                 |

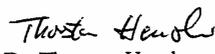
Für Ihr Projekt wurde ein personenbezogenes Konto mit der Nr. 26800711 eingerichtet.

Die Gelder stehen ab sofort zur Verfügung. Das Konto wird 2 Jahre nach Bewilligung geschlossen.  
Verzögerungen teilen Sie bitte unverzüglich der Geschäftsstelle mit.  
Die Verwaltung Ihres Kontos übernimmt die DFS-Verwaltung: Frau Landvogt (Tel. 5204) und Frau Wurzel (Tel. 5551). Bitte richten Sie alle Beschaffungs-/ Einstellungsanträge mit einem Hinweis auf die Finanzierung aus dem Köln Fortune Programm sowie mit Angabe der Projektnummer und des Personenkontos an die DFS-Verwaltung.

**Mit der Annahme der Sachbeihilfe verpflichten Sie sich:**

- 1. ein Jahr nach Projektbeginn einen hochqualifizierten Zwischen- bzw. Abschlussbericht vorzulegen mit Angabe von aus der Förderung hervorgegangenen Publikationen und Drittmittelinwerbungen.**
- 2. in Publikationen, die aus diesem Projekt hervorgehen, die Unterstützung durch das Köln Fortune Programm anzugeben: Supported by the Koeln Fortune Program / Faculty of Medicine, University of Cologne.**

Für Ihre Forschungsarbeit wünsche ich Ihnen viel Erfolg.  
Mit freundlichen Grüßen

  
Dr. Thorsten Hensler  
(Wissenschaftskoordinator)

# Danksagungen

Folgenden Personen möchte ich ganz besonderen Dank für diverse Unterstützungen im Rahmen meiner Dissertation aussprechen:

Herrn Professor Dr. med. Klaus Lackner für die freundliche Überlassung des Themas sowie die Freigabe der Daten zur Weiterführung meiner Dissertation an der Universität Tübingen

Dem Köln Fortune Programm der Medizinischen Fakultät, Universität zu Köln, für die Bereitstellung von Fördermitteln

PD Dr. med. Markus Zähringer, ich hätte mir keinen besseren Doktorvater wünschen können

Herrn Professor Dr. med. Jürgen H. Fischer und Herrn Professor Dr. med. Thomas Riepert, die mich fachlich und menschlich immer wieder nach vorne brachten und mir so etwas wie zusätzliche Doktorväter wurden

Herrn Professor Dr. med. M. A. Rothschild und Herrn Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Reinhard Urban, die mir die Durchführung der histologischen Untersuchungen an ihren jeweiligen Instituten ermöglichten

„Meinen“ Tierärztinnen am Institut für Experimentelle Medizin der Universität zu Köln, Mafalda Bosse, Dr. med.vet. Sabine Dahnken, Ivonne Heppelmann, Stefanie Herrmann, Hannah Reiter und Dr. med.vet. Maren Steinhoff

Herrn Poley für die liebevolle Pflege meiner Schweine

Herrn Dr. med. David Strohe für oft kurzfristiges Einspringen, wenn Not am Mann war

„Meinen“ MTAs am Institut für Rechtsmedizin der Universität zu Köln, Frau Karin Meis und Frau Anita Schoof

Frau Tina Büdenbender, die meiner Haftpflichtversicherung die Zahlung eines CT-Gerätes erspart hat

Frau Sidonie Wacker, dem Team des Institutes für Medizinische Statistik und Informatik der Universität zu Köln und Herrn Rolf Schmidt für statistische Unterstützung

Und allen, die ich an dieser Stelle vergessen habe.

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

|                     |  |
|---------------------|--|
| Name                | Johannes Fabian Holle  |
| Geboren             | 26. September 1979 in Bonn   |
| Staatsangehörigkeit | deutsch  |
| Familienstand       | ledig  |
| Religion            | römisch-katholisch   |
| Eltern              | Dr. med. Jens-Peter Holle; Arzt für Innere Medizin<br>Elisabeth Holle, geb. Rosenkranz; Lehrerin |
| Geschwister         | Nicolas Felix Holle; Student der Geographie  |

## Schulbildung

|             |  |
|-------------|--|
| 1986 – 1988 | Johannes-Grundschule Königsdorf          |
| 1988 – 1990 | Gemeinschaftsgrundschule Dansweiler      |
| 1990 – 1993 | Abtei-Gymnasium Brauweiler               |
| 1993 – 1999 | Liebfrauenschule Köln                    |
| 06/1999     | Erlangung der allgemeinen Hochschulreife |

## Wehrersatzdienst

|             |   |
|-------------|---|
| 1999 – 2000 | Wehrersatzdienst, Malteser-Hilfsdienst Köln |
|-------------|---|

## Berufsausbildung

|              |   |
|--------------|---|
| 09/1999      | staatliche Prüfung zum Rettungssanitäter in Aachen  |
| 10/2001      | staatliche Prüfung zum Rettungsassistenten in Köln  |
| Seit 03/2002 | Erlaubnis zur Führung der Berufsbezeichnung<br>Rettungsassistent durch das Gesundheitsamt der Stadt<br>Köln |

## **Hochschulstudium**

|                   |   |
|-------------------|---|
| 10/2000 – 11/2006 | Studium der Humanmedizin, Universität zu Köln   |
| 10/2000 – 09/2002 | Vorklinisches Studium, Universität zu Köln  |
| 09/2002           | Ärztliche Vorprüfung in Köln  |
| 10/2002 – 09/2005 | Klinisches Studium, Universität zu Köln   |
| 09/2003           | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Köln   |
| 09/2005           | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Köln  |
| 10/2005 – 09/2006 | Praktisches Jahr<br>Kliniken der Stadt Köln, Krankenhaus Merheim<br>Wahlfach Neurologie |
| 09. 11. 2006      | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Köln  |

## **Klinische Tätigkeit**

|                   |  |
|-------------------|--|
| 03/2007 – 07/2007 | Assistenzarzt der Medizinischen Klinik II an den<br>Kliniken der Stadt Köln, Krankenhaus Merheim       |
| seit 03/2008      | Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für<br>Pathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf |