

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin

Bereich Endokrinologie und Diabetologie

Direktor: Prof. Dr. med. P. H. Kann

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg in
Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Experimentelle Untersuchungen zur Einführung der
endosonographisch gesteuerten laserinduzierten Thermotherapie
(LITT) – Dosis-Wirk Prinzip und Monitoringverfahren**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Manuel Horn
aus Wilhelmshaven

Marburg 2008

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 27.11.2008

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. M. Rothmund

Referent: Prof. Dr. med. P. H. Kann

Koreferent: PD Dr. med. W. Groß

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Lebermetastasen und deren Behandlungsmöglichkeiten.....	1
1.2.	Endokrine Tumoren des Pankreas (PET).....	3
1.2.1.	Funktionelle Tumoren	4
1.2.1.1.	Insulinome.....	4
1.2.1.2.	Gastrinome – Zollinger-Ellison Syndrom.....	5
1.2.1.3.	Vipome – Verner-Morrison-Syndrom.....	6
1.2.1.4.	Glukagonome.....	6
1.2.2.	Nicht-funktionelle PETs.....	7
1.2.3.	PETs assoziiert mit der MEN-1	8
1.3.	Fragestellung.....	9
2.	Physikalische Grundlagen des Lasers	11
2.1.	Das Prinzip eines Lasers.....	11
2.2.	Die Komponenten eines Lasers	12
2.3.	Laserstrahlung.....	14
3.	Material und Methode.....	15
3.1.	Nd:YAG-Laser	15
3.2.	Einkopplung.....	15
3.3.	Lichtwellenleiter.....	15
3.4.	Streukörper (Bare-Fiber)	16
3.5.	Punktionsset.....	17
3.6.	Organpräparate	19
3.7.	Versuchsdurchführung	19
3.8.	Verlaufsbeobachtung	20
3.9.	Perfusion der Organpräparate.....	21
3.10.	Beurteilung der Koagulationsnekrosen.....	22
3.10.1.	Volumenberechnung	22
3.11.	Statistische Methoden	23
4.	Ergebnisse	25
4.1.	Gewebeläsionen in der laserinduzierten Thermotheapie	25
4.1.1.	Sonographische Darstellung der Läsionen	25
4.1.2.	Makroskopische Darstellung der Läsionen.....	27
4.1.3.	Mikroskopische Darstellung der Läsionen.....	29

4.2.	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der LITT: Leber.....	33
4.2.1.	Leber ohne Perfusion.....	33
4.2.2.	Leber mit Perfusion mit 0,9 % NaCl bei 2 ml/h.....	38
4.3.	Dosis-Wirkungs-Beziehungen der LITT: Pankreas.....	44
4.3.1.	Pankreas ohne Perfusion.....	44
4.3.2.	Pankreas mit Perfusion mit 0,9 % NaCl bei 2 ml/h.....	47
5.	Diskussion.....	52
5.1.	Reproduzierbarkeit der laserinduzierten Läsionsvolumina.....	55
5.2.	Morphologische Darstellung der Läsionen.....	56
5.3.	Einstellung der Laserparameter.....	57
5.4.	Der endoskopische Ultraschall als Monitoringverfahren.....	61
5.5.	Korrelation der erzielten Ergebnisse.....	64
5.6.	Schlussfolgerungen.....	65
6.	Zusammenfassung.....	67
7.	Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen.....	69
7.1.	Tabellen.....	69
7.2.	Abbildungen.....	70
8.	Literatur.....	75

1. Einleitung

1.1. Lebermetastasen und deren Behandlungsmöglichkeiten

Bei vielen malignen Erkrankungen ist eine Beteiligung der Leber möglich. Das kolorektale Karzinom mit einer Inzidenz von 25 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohnern in Deutschland zeigt bei etwa 25 % der Patienten bereits bei Diagnosestellung eine synchrone Lebermetastasierung. 50 % der Patienten entwickeln metachron im weiteren Verlauf ihrer Erkrankung eine Lebermetastase. Das Vorhandensein bzw. das Neuauftreten von Lebermetastasen bestimmt hierbei im Wesentlichen den Verlauf und die Prognose der Erkrankung (Gutzler et al. 1998, Eder et al. 1991, Foster 1978, Riecken 1998, Taylor 1996). Die mediane Überlebenszeit für Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen liegt zwischen 4 und 12 Monaten vom Zeitpunkt der Diagnosestellung. Unter den Patienten mit solitären Lebermetastasen leben 45 % noch nach 2 Jahren, lediglich 1-3 % nach 5 Jahren (Jaeck et al. 1997, Mack et al. 2001).

Die chirurgische Resektion stellt derzeit das einzige etablierte Therapieverfahren bei kolorektalen Lebermetastasen mit potenziell kurativem Ziel dar (McCarter et al. 2000). Nach Stangl et al. (1994) sind prognoserelevante Faktoren für den Spontanverlauf von Lebermetastasen der prozentuale Anteil vom Tumor am Lebergesamtvolumen (< 25 % oder > 25 %), der Differenzierungsgrad des Primärtumors (G I oder G III), das Vorliegen extrahepatischer Tumormanifestationen und der Befall metastatischer mesenterialer Lymphknoten. Aber nur 10 – 20 % aller Patienten mit Metastasen, ausgehend von einem kolorektalen Karzinom, sind überhaupt resezierbar. Die Operationsletalität bei Leberresektion wird heutzutage in Abhängigkeit der Grunderkrankung mit 0 – 15 % angegeben. Die 5-Jahres-Überlebensrate der leberresezierten Patienten liegt zwischen 20 % und 45 % (Henne-Bruns et al. 2003). Bei den übrigen Betroffenen liegen die Metastasen zu ungünstig, um in toto entfernt zu werden, oder der Allgemeinzustand des Patienten verbietet einen größeren Eingriff.

In solchen Fällen, wenn also keine chirurgische Intervention möglich ist, muss auf alternative, leider nur palliative, Maßnahmen zurückgegriffen werden. Diese sind u.a.:

- Chemotherapie
- Arterielle Embolisation oder Chemoembolisation
- Desarterialisierung der Leber
- Perkutane Alkoholinstillation
- Kryotherapie
- Hyperthermie (Radiofrequenztherapie, laserinduzierte Thermo-therapie)
- Selektive interne Radiotherapie (SIRT)

In den letzten Jahren sind gerade minimal-invasive in-situ Ablationsverfahren wie Kryotherapie, Radiofrequenz-Therapie und laserinduzierte Thermo-therapie (LITT) viel versprechende Alternativen zur konventionellen chirurgischen Resektion geworden (Mols et al. 2004).

Bei der Kryotherapie wird flüssiger Stickstoff mit einem Siedepunkt von -196 Grad Celsius appliziert, um die von Metastasen durchsetzten Gewebeabschnitte durch Kälte letal zu schädigen (Charnley et al. 1989).

Dem Behandlungsprinzip der klassischen Hyperthermie liegt eine Temperaturerhöhung auf 42 Grad Celsius und mehr zugrunde. Faktoren wie pH-Wert und Sauerstoff-Gehalt bestimmen die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Wärme. Sind beide Parameter erniedrigt, nimmt die Wärmeempfindlichkeit zu. Tumorgewebe zeigt in Abhängigkeit von Größe, Durchblutung und Wachstumsgeschwindigkeit einen erniedrigten pH-Wert und eine relative Hypoxie, was zu stärkerer Hitzeempfindlichkeit im Vergleich zu gesundem Gewebe führt (Bhuyan 1979).

Bei der Radiofrequenz-Therapie wird versucht, das metastatische Gewebe durch Applikation von Hochfrequenzstrom zu koagulieren.

Die erstmals von Bown 1983 beschriebene interstitielle Hyperthermie mittels Lasertechnologie wurde anfangs endoskopisch für exophytische

intraluminale Tumoren des Gastrointestinaltraktes und später für sonographisch lokalisierbare Tumoren in soliden Organen wie Leber und Pankreas eingesetzt.

Im Gegensatz zur chirurgischen Resektion, bei der das krankhaft veränderte Gewebe optimalerweise in sano komplett entfernt wird, verbleibt das mittels LITT behandelte Gewebe als Koagulationsnekrose in situ.

Die Ergebnisse erster klinischer Studien haben auf eine Lebensverlängerung von LITT behandelten Patienten mit Lebermetastasen bei kolorektalen Karzinomen im Vergleich zum unbehandelten Kontrollkollektiv hingedeutet. Bei einer prospektiven Studie nach M. G. Mack et al.(2001), in der 705 Patienten mit Lebermetastasen zwischen 1993 und 2000 mittels LITT behandelt wurden, liegt die mittlere Überlebensrate bei primär nicht resezierbaren kolorektalen Lebermetastasen bei 41,8 Monaten. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug hierbei 30 %.

1.2. Endokrine Tumoren des Pankreas (PET)

Die WHO-Klassifikation der endokrinen Tumoren beinhaltet u.a. tumoröse Neubildungen in endokrinen Drüsen wie Nebenniere, Hypothalamus und Hypophyse, aber auch Elemente des so genannten diffusen endokrinen Systems, wie gastroenteropankreatische Tumoren.

Wichtig hierbei ist die Unterscheidung zwischen funktionellen (hormonaktiven) und nicht-funktionellen (hormoninaktiven) PETs.

Durch Produktion eines Hormons treten bei den funktionellen PETs spezifische klinische Symptome auf, wie Hypoglykämie bei Insulinomen und Hypersekretion von Magensäure bei Gastrinomen. Die nicht-funktionellen PETs sind entweder hormoninaktiv, oder sezernieren Produkte, die per se keine spezifischen Symptome hervorrufen. Sehr häufig sind Patienten mit nicht-funktionellen PETs lange Zeit asymptomatisch. Durch progrediente Größenzunahme, invasives Wachstum oder Obstruktion benachbarter Strukturen kann es später zu unspezifischen abdominellen Beschwerden, Ikterus, unklarer Gewichtsverlust, Anämie etc. kommen (Rindi et al. 2004).

Aufgrund dieser Unterscheidung muss die Therapie der funktionellen PETs zwei Strategien verfolgen. Zum einen die symptomatische Behandlung der

exzessiven Hormonsekretion, zum anderen die kausale Therapie des Tumors selbst. Im Folgenden sind die wichtigsten funktionellen PETs dargestellt.

1.2.1. Funktionelle Tumoren

1.2.1.1. Insulinome

Insulinome sind die häufigsten endokrinen Tumoren des Pankreas, welche von den β -Zellen der Langerhansschen Inseln ausgehen. Durch exzessive autonome Sekretion von Insulin kommt es zu Spontanhypoglykämien < 45 mg/dl meist durch Nahrungskarenz, autonomen Symptomen wie Schwitzen, Tachykardien, Übelkeit, Angst, Heißhunger und neuroglukopenischen Symptomen wie Sehstörungen, Schwindel, Kopfschmerzen, Verwirrtheit, Parästhesien bis hin zu zerebralen Krämpfen. In den meisten Fällen ist ihr Auftreten sporadisch, in 5 – 10 % sind sie jedoch assoziiert mit der multiplen endokrinen Neoplasie Typ 1 (MEN-1). 90 % der Insulinome sind gutartig und in der Regel kleine Tumoren mit einem Durchmesser < 1 cm bei 80 % der Patienten (Åkerström et al. 2004, Braunwald et al. 2001).

Diagnostisch werden routinemäßig bildgebende Verfahren wie Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt. Leider ist oftmals die Sensitivität dieser Untersuchungen zu gering um kleine Insulinome darzustellen.

Mittels endoskopischem Ultraschall ist die Sensitivität zur Darstellung der Pankreastumoren nahezu 90 % und ist somit heutzutage die effektivste Methode in der Lokalisationsdiagnostik der Insulinome (Anderson et al. 2000, Thompson et al. 1994). Die Bedeutung der Endosonographie liegt jedoch nicht in der Diagnostik des Insulinoms. Diese geschieht mittels des korrekt durchgeführten Hungerversuchs, der immer auch eine toxikologische Untersuchung auf Sulfonylharnstoffe und Glinide beinhalten muss. Die zentrale Rolle der endosonographischen Bildgebung in der Diagnostik des Insulinoms liegt heute in der Planung der chirurgischen Therapie. Der endoskopische Ultraschall kann zeigen, ob der Versuch einer laparoskopischen, minimalinvasiven Therapie gerechtfertigt ist, und

Anhaltspunkte dafür geben, welche operative Strategie Ziel führend sein kann (Kann 2006a, Kann et al. 2005, Kann et al. 2007, Langer et al. 2005, Langer et al. 2004).

Therapie der ersten Wahl ist bis heute die vollständige chirurgische Resektion des Tumors mit sorgfältiger Dissektion und Ligation aller duktaalen Strukturen. In den seltenen Fällen eines malignen Insulinoms (5 – 10 %), bei dem die Mehrzahl der Patienten bereits bei Diagnosestellung Metastasen in Lunge, Leber und Lymphknoten aufweisen, profitieren diese nicht von einer chirurgischen Resektion. Das Überleben der Patienten hängt hier in großem Maße von der Ansprechrate gegenüber einer Polychemotherapie ab (Åkerström et al. 2004).

1.2.1.2. Gastrinome – Zollinger-Ellison Syndrom

Gastrinome sind durch die Sekretion von Gastrin charakterisiert, einem Hormon, welches zu einer Hypersekretion von Magensäure führt.

20 – 25 % der Gastrinome sind assoziiert mit der MEN-1.

Etwa 50 – 70 % der Tumoren sind im Duodenum lokalisiert, gefolgt von Pankreas (20 – 40 %) und anderen intraabdominellen Lagen wie Mesenterium, Lymphknoten, Gallenwege, Leber und Magen. Im Rahmen des MEN-1-Syndroms ist das Auftreten von Gastrinomen oft multipel (Braunwald et al. 2001).

Aufgrund der oftmals sehr geringen Größe der Gastrinome (wenige Millimeter Durchmesser) gestaltet sich die Diagnostik in vielen Fällen als schwierig. Wegweisend sind der Nachweis einer Nüchtern-Hypergastrinämie > 1000 ng/l sowie eine erhöhte basale Magensäure-Sekretion (BAO). Beim Sekretin-Test kann nach Provokation mit Sekretin ein weiterer Anstieg des Gastrinspiegels um > 100 % beobachtet werden, im Gegensatz zu einer Hypergastrinämie anderer Genese.

Anders als bei der Diagnostik des Insulinoms, wo die Endosonographie einen wichtigen Bestandteil der Therapieplanung darstellt, ist die Verlässlichkeit des endosonographischen Befundes in der Gastrinomdiagnostik auch durch optimale Untersuchungsbedingungen und einen erfahrenen Untersucher unzureichend. Eine Verbesserung der Trefferquote lässt sich allerdings durch

die Kombination von Endosonographie und Somatostatin-Rezeptorzintigraphie erreichen (Kann 2006a, Kann 2007a, Gabril 1996).

1.2.1.3. Vipome – Verner-Morrison-Syndrom

Vipome sind sehr seltene endokrine Tumoren mit einer vermehrten Produktion von VIP (vasoaktives intestinales Polypeptid), welche klassischerweise durch die Trias wässrige Durchfälle, Hypokaliämie und Achlorhydrie charakterisiert sind (WDHA-Syndrom). Pathophysiologisch aktiviert VIP ähnlich wie das Choleratoxin die intestinale und pankreatische Adenylylcyclase, was zu starker Sekretion in Pankreas und Dünndarm führt. Das Durchschnittsalter der Erkrankten liegt bei 49 Jahren. Bei Erkrankungen im Kindesalter handelt es sich meistens um Ganglioneuroblastome.

80 – 90 % der Vipome sind im Pankreas lokalisiert. Da es sich meist um einen malignen Tumor handelt, haben 37 – 68 % der Patienten bereits bei Diagnosestellung hepatische Metastasen.

Die Diagnose eines Vipoms erfordert eine Erhöhung des VIP-Spiegels im Serum und das Vorhandensein von massiven Diarrhoen, welche in 100 % der Erkrankungen vorliegen. Ein Stuhlvolumen < 700 ml/d schließt die Diagnose Vipom aus.

Die bildgebende Diagnostik erfolgt in Analogie zu den o. g. PETs.

Eine operative Tumorentfernung ist nur selten möglich, so dass eine symptomatische Behandlung mit Volumen- und Elektrolytsubstitution im Vordergrund steht. 87 % der Patienten profitieren von einer Therapie mit dem Somatostatinanalogon Octreotid, das die vermehrte Sekretion von VIP durch den Tumor hemmt (Braunwald et al. 2001, Anderson et al. 2000).

1.2.1.4. Glukagonome

Glukagonome sind sehr seltene, meist maligne Inselzelltumoren der α -Zellen des Pankreas mit vermehrter Produktion von Glukagon. Die klinischen Symptome sind charakterisiert durch eine nekrotisierende, bullöse Dermatitis, Diabetes mellitus und häufig Gewichtsverlust.

Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr.

Im Allgemeinen sind Glukagonome große Tumoren mit einem Durchmesser von 3 – 15 cm.

50% – 82 % der Patienten haben bei Diagnosestellung Lymphknoten- und Lebermetastasen.

Nahezu beweisend für die Diagnose eines Glukagonoms ist eine Glukagonkonzentration im Serum von > 1000 ng/l.

Aufgrund der hohen Metastasierungsrate ist eine kurative Resektion selten möglich. Dennoch profitieren einige Patienten von einer distalen subtotalen Pankreasresektion mit regionaler Lymphknotendissektion. Da Patienten im Rahmen der Erkrankung durch ein erhöhtes Thromboembolierisiko gefährdet sind, sollte in jedem Fall eine adäquate Thromboseprophylaxe erfolgen.

Glukagonome sind in der Regel langsam wachsende Tumoren. Daher sind häufig mehrere Operationen notwendig, um verbliebene Metastasen oder Tumorreste zu entfernen (Åkerström et al. 2004).

1.2.2. Nicht-funktionelle PETs

Die nicht-funktionellen Tumoren des Pankreas umfassen 30% – 50 % der endokrinen pankreatischen Tumoren und weisen eine steigende Inzidenz auf. Charakteristisch für die nicht-funktionellen Tumoren ist das Fehlen einer Hormonsekretion beziehungsweise eine geringe Hormonproduktion, welche keine spezifischen Symptome hervorrufen. Häufig lässt sich bei diesen Tumoren die Sekretion von pankreatischem-Polypeptid (PP) nachweisen. Aus diesem Grund ist ein wichtiger Bestandteil in der diagnostischen Vorgehensweise die Bestimmung der Serumkonzentration des PP und des Chromogranin A. Da es sich häufig um ungewöhnlich große Tumoren handelt, ist eine sonographisch gesteuerte Feinnadelpunktion anzustreben, insbesondere, um ein Adenokarzinom des Pankreas differentialdiagnostisch auszuschließen (Åkerström et al. 2004).

1.2.3. PETs assoziiert mit der MEN-1

Die Multiple Endokrine Neoplasie Typ 1 wird durch eine autosomal-dominante Mutation im MEN-1-Gen auf Chromosom 11q13 verursacht, welches ein Tumor-Suppressorprotein, das Menin, kodiert. Die Prävalenz des MEN-1-Syndroms beträgt ca. 2 – 20/100.000. Bei etwa 70 % der Patienten kommt es zur Entstehung von Neoplasien des Pankreas, 30% – 40 % entwickeln Adenome der Hypophyse (Kikuchi et al. 2004). Bei 95%–100 % der Patienten kommt es zu einem primären Hyperparathyreoidismus infolge eines Nebenschilddrüsenadenoms oder einer Hyperplasie der Nebenschilddrüsen.

Unter den endokrin aktiven Tumoren des Pankreas sind Gastrinome mit bis zu 60 % die häufigsten MEN-1-assoziierten Pankreastumoren, gefolgt von Insulinomen mit 10 – 33 % (Gibril et al. 1996, Kouvaraki et al. 2006). Weitaus seltener ist das Auftreten von Glukagonomen (3%) und VIPomen (ca. 1%).

Bei Patienten mit MEN-1-Syndrom ist ferner zu berücksichtigen, dass ein Großteil der PETs endokrin inaktiv ist. Da es sich hierbei gewöhnlich um sehr kleine, langsam wachsende Tumoren mit einer durchschnittlichen Tumorverdopplungszeit von 5 bis 10 Jahren handelt, treten klinische Symptome erst spät auf (Kann et al. 2006d).

Für das therapeutische Management von MEN-1-assoziierten pankreatischen Tumoren gibt es derzeit noch keine einheitlichen Meinungen. Insbesondere bei Patienten mit Zollinger-Ellison-Syndrom verfechten einige Arbeitsgruppen ein nicht-operatives Vorgehen mit dem Einsatz von Protonenpumpen-Inhibitoren zum Schutz vor den Effekten der Hypergastrinämie (Malagelada et al. 1983, Mignon et al. 1998). Andere Gruppen empfehlen eine chirurgische Therapie, wenn der Tumor > 2 cm im Durchmesser beträgt, da dann das Risiko für Lebermetastasen deutlich erhöht ist (MacFarlane et al. 1995, Norton 2005). Im Falle eines chirurgischen Vorgehens ist die Art der Operation ein weiterer wichtiger Aspekt. Da Gastrinome oftmals multipel vorkommen und häufig im Duodenum gelegen sind, sollte bei einem operativen Vorgehen das Duodenum eröffnet und exploriert werden und dabei sämtliche Tumoren und Lymphknoten mit entfernt werden. Bei nachgewiesenen großen, lokal

metastasierten Tumoren ist die totale Duodenopankreatektomie nach Whipple indiziert (Norton et al. 2006). Ansonsten stellen weniger radikale Eingriffe wie die distale Pankreatektomie oder die pyloruserhaltende Pankreatikoduodenektomie (PPPD) die primären Operationsverfahren dar (Bartsch et al. 2005). Für das Insulinom, Glukagonom und VIPom ist ein primär chirurgisches Vorgehen bei Diagnosestellung empfohlen (Åkerström et al. 2002, Åkerström et al. 2004, Malagelada et al. 1983). Eine Studie von Fendrich et al. (2006) zeigte, dass ein aggressives chirurgisches Vorgehen bei Patienten mit malignen endokrinen Tumoren des Pankreas zu einer 5-Jahres Überlebensrate von 81 % führte. Die 10-Jahres Überlebensrate lag dabei immer noch bei 72 %.

1.3. Fragestellung

Der Einsatzbereich der laserinduzierte Thermotherapie (LITT) wurde bislang für eine Reihe von Organen und Geweben in zahlreichen Studien untersucht. Bereits weit verbreitet ist die Anwendung der LITT bei Tumoren der Leber. In zunehmendem Maße wird derzeit auch der Effekt der perkutanen Ablation mittels LITT bei Lungentumoren untersucht (Mols et al. 2004, Hosten et al. 2003a, Fielding et al. 2001).

Über die perkutane Ablation von Tumoren des Pankreas liegen bisher nur wenige Publikationen vor (Matsui et al. 2000, Stroszczyński et al. 2001, Merkle et al. 1999, Goldberg et al. 1999).

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Durchführbarkeit der laserinduzierten Thermotherapie am Pankreasgewebe des Schweins zu untersuchen und den Zusammenhang zwischen Laserleistung und Läsionsgröße zu ermitteln. Um die Technik der Punktion und des Laservorgangs zu proben und um hinsichtlich der Läsionsbeschaffenheit vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wurden im ersten Schritt einige Versuchsreihen mit Lebergewebe vom Schwein durchgeführt. Aufgrund der retroperitonealen Lage des Pankreas, stellt sich die perkutane Anwendung der LITT als schwierig dar. In Analogie zur endosonographischen Punktion von Raumforderungen des Pankreas ist auch die endosonographisch gesteuerte LITT denkbar. Aus diesem Grund sollte als Verfahren zur

gezielten Punktion des Pankreas und zur kontinuierlichen Verlaufsbeobachtung (Monitoring) während des Laservorgangs der endoskopische Ultraschall in Hinblick auf eine spätere klinische Anwendung auf seine Eignung überprüft werden. Als Voraussetzung hierfür wurde angenommen, dass die erzielten Ergebnisse übertragbare Aussagen auf die in-vivo Ablation ermöglichen. Diese Versuchsreihen dienen der Evaluierung der technischen Möglichkeiten und der Ausdehnung der Nekrosen zur Vorbereitung für den Einsatz am tierexperimentellen Modell und danach am Patienten.

Da es sich in dieser Studie um einen ex-vivo Versuchsaufbau an Organpräparaten handelt, mag das Verfahren der Endosonographie, in der das Endoskop über den oberen Gastrointestinaltrakt eingeführt wird, zunächst irreführend klingen. Um aber den Vorgang der endosonographisch gesteuerten Punktion und die Verlaufsbeobachtung am ex-vivo Modell möglichst real zu imitieren, wurde der Schallkopf am Ende des Endoskops direkt auf die Präparate aufgesetzt, damit Größen- und Entfernungsverhältnisse weitgehend in-vivo Untersuchungen entsprechen (Abb. 7).

2. Physikalische Grundlagen des Lasers

2.1. Das Prinzip eines Lasers

Laser ist ein Akronym und steht für **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation (Lichtverstärkung durch stimulierte Aussendung von Strahlung).

Ein Laser emittiert elektromagnetische Strahlung einer ganz bestimmten Wellenlänge, die – abhängig vom Lasertyp – im Wellenbereich zwischen Ultraviolett und Infrarot liegen kann [Tab 1.]

Um den Prozess der „stimulierten Emission“ zur Verstärkung von Licht nutzen zu können, ist es notwendig, Atome vorher von einem tieferen Energieniveau in ein höheres zu überführen. Dabei muss die Zahl der Atome, bei denen das höhere, obere Laserniveau besetzt ist, immer größer sein als die Besetzungszahl des niedrigen, unteren Laserniveaus. Dies bezeichnet man als Besetzungsinversion.

Die Anregung sehr vieler Atome in das obere Laserniveau kann nicht direkt erfolgen. Deshalb müssen die Atome zunächst in einen dritten Energiezustand überführt werden. Dieser dritte Zustand wird als oberes Pumpniveau bezeichnet, weil durch Einstrahlen von Licht Energie in das System „gepumpt“ wird (optisches Pumpen). Durch strahlungslose Prozesse (meistens Wärme) gehen die Atome vom oberen Pumpniveau in das obere Laserniveau über. Durch strahlungslose Prozesse (meistens Wärme) gehen die Atome vom oberen Pumpniveau in das obere Laserniveau über.

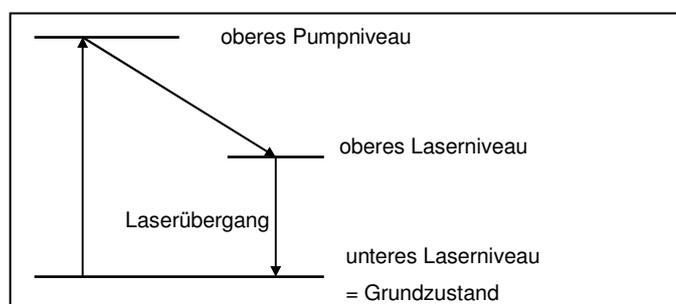


Abb. 1: In einem 3-Niveau-Lasersystem kann bei sehr intensivem Pumpen im oberen Laserniveau eine höhere Besetzung als im Grundzustand erreicht werden.

Bei Einsetzen der Lasertätigkeit wird dann allerdings die Besetzungsinversion sehr schnell abgebaut. Die Pumpleistung reicht im Allgemeinen nicht aus, um die Besetzungsinversion ständig aufrecht zu halten, so dass ein kontinuierlicher Laserbetrieb (**continuous wave**) in einem solchen 3-Niveau-Lasersystem (Abb. 1) praktisch nicht möglich ist.

Ist das untere Laserniveau nicht der Grundzustand, sondern selbst ein angeregter Zustand, so kann man die Probleme des 3-Niveau-Systems bezüglich der nur sehr kurzzeitigen Besetzungsinversion umgehen. Hierbei entleert sich das untere Laserniveau wegen seiner Kurzlebigkeit ständig in den Grundzustand (Abb. 2). Somit sind geringere Pumpleistungen nötig, um eine Besetzungsinversion zwischen dem oberen und unteren Laserniveau aufrechtzuerhalten. 4-Niveau-Laser können deshalb im kontinuierlichen Modus betrieben werden.

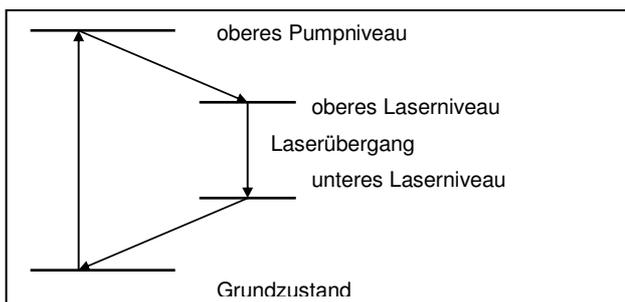


Abb. 2: In einem 4-Niveau-Lasersystem kann auch durch schwaches Pumpen im oberen Laserniveau eine Besetzungsinversion gegenüber dem unteren Laserniveau erreicht werden, weil sich das untere Laserniveau wegen seiner Kurzlebigkeit sofort entleert.

2.2. Die Komponenten eines Lasers

In einem Laser müssen grundsätzlich die drei folgenden Bauteile vorhanden sein:

1. **Lasermedium:** Das Lasermedium ist die Stelle, an der das Laserlicht entsteht. Als Lasermedium kommen alle Stoffe in Frage, bei denen eine Besetzungsinversion erzeugt werden kann. Dies können unter anderem sein:

- Atome, Ionen, Moleküle in Gasen
- Farbstoffmoleküle, gelöst in Flüssigkeiten
- Atome, Ionen, eingebaut in einem Festkörper
- dotierte Halbleiter

Nach Art des Lasermediums werden Gas-, Flüssigkeits-, Halbleiter- und Festkörperlaser unterschieden (Tab 1).

2. **Pumpquelle:** Sie führt dem Lasermedium Energie in geeigneter Form zu, um Besetzungsinversion zu erzeugen. Häufig zur Anwendung kommt die Bestrahlung des Lasermediums mit intensivem Licht, das so genannte „optische Pumpen“.
3. **Resonator:** Im Resonator erfolgt die Rückkopplung der Photonen in das Lasermedium, denn proportional zur Aufenthaltsdauer im Lasermedium steigt die Wahrscheinlichkeit für die stimulierte Emission, die für den Laserprozeß notwendig ist. Der Laserresonator besteht meist aus zwei parallel angeordneten Spiegeln (Abb. 3)

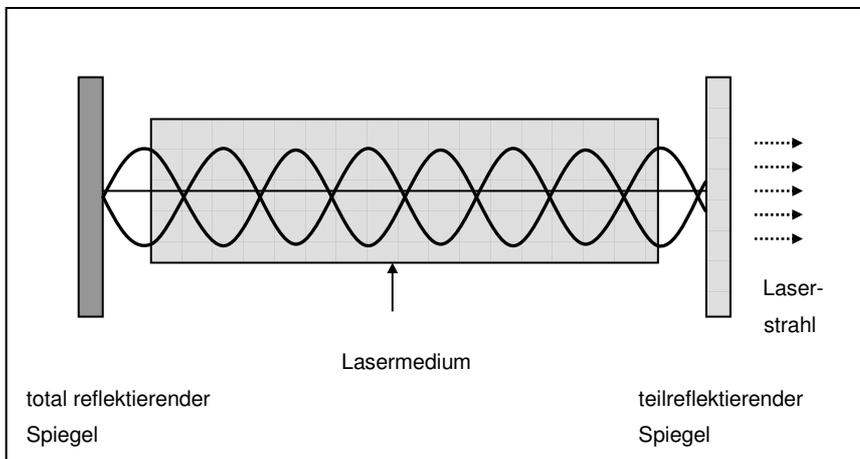


Abb. 3: Optischer Resonator: Die beiden Spiegel verhindern ein frühzeitiges Austreten der Photonen aus dem Lasermedium. Durch Reflexion der Photonen entsteht eine stehende Welle. Dadurch steigt die Wahrscheinlichkeit der stimulierten Emission und damit der Lichtverstärkung. Durch den teildurchlässigen Spiegel tritt der gewünschte Laserstrahl aus.

Lasertyp	Lasermedium	Pumpquelle	Beispiele, Wellenlänge
Gaslaser	Gas oder Dampf	elektrisch angeregte Gasentladung	CO ₂ -Laser: 10,6 µm HeNe-Laser: ca. 600 nm Excimer-Laser: 175-483 nm
Festkörperlaser	Kristalle, die mit optisch aktiven Ionen dotiert sind	Blitzlampe, Diodenlaser	Rubin-Laser: 694 nm Nd:YAG-Laser: 1,06 µm
Farbstofflaser	Organische Farbstoffe in verdünnter Lösung	Blitzlampen, Laser	durchstimmbare von 300 nm bis 1,2 µm
Halbleiterlaser (Dioden-Laser)	dotierte Halbleiter	elektrisch	GaAs: 600 bis 800 nm GaAlAs: 780 bis 880 nm

Tab 1: Einteilung der Laser in Abhängigkeit des Lasermediums.

2.3. Laserstrahlung

Die von einem Laserresonator ausgehende Laserstrahlung hat drei wichtige Eigenschaften, die es vom Licht thermischer Lichtquellen unterscheidet:

1. Die Laserstrahlung ist kohärent, d. h. alle Wellen schwingen in Phase zueinander, sowohl in der Zeit als auch im Raum
2. Die Laserstrahlung ist kollimiert, d. h. die Strahlen sind nahezu parallel. Die Abweichung von der Parallelität wird als Divergenz bezeichnet
3. Die Laserstrahlung ist monochromatisch, das bedeutet, alle Wellenzüge haben die gleiche Wellenlänge, Frequenz und Energie, die für den jeweiligen Laser spezifisch ist

Wegen der hohen Parallelität kann ein Laserstrahl besonders gut fokussiert werden. Die gesamte Energie des Laserstrahls kann somit auf einen sehr kleinen Punkt – den Fokus – konzentriert werden. Dadurch ist es möglich, an dieser Stelle eine enorme Leistungsdichte bzw. – intensität zu erreichen. Die Leistungen medizinischer Laser liegen meist zwischen 0,1 und 100 Watt (Trumpf GmbH & Co 1994, Stroszczyński 2001a).

3. Material und Methode

3.1. Nd:YAG-Laser

Der Nd:YAG-Laser stellt heute den wichtigsten Festkörperlaser dar. Er emittiert Strahlung mit hoher Intensität im nahen Infrarotbereich bei einer Wellenlänge von 1064 nm. Da Strahlung in diesem Wellenlängenbereich relativ schwach absorbiert wird, eignet sich der Nd:YAG-Laser besonders gut zur tiefreichenden und homogenen Koagulation von biologischem Gewebe. Das Lasermedium ist ein runder, länglicher YAG-Kristall (Yttrium Aluminium Granat), der mit Nd^{3+} -Ionen (Neodym-Ionen) dotiert ist.

In allen Versuchen kam der Trumpf TT YAG 80 (Fa. Trumpf Medizin Systeme) mit Leistungen von 2 bis 5 Watt im kontinuierlichen cw-Betrieb zur Anwendung.

3.2. Einkopplung

Um den Energieverlust so gering wie möglich zu halten, muss eine genaue Fokussierung des Laserstrahls auf das Zentrum der Faser (Quarzkern) gewährleistet sein. Dies geschieht durch die Einkopplung. Eine Metallfassung, welche auf das proximale Ende des Lichtleiters aufgeklebt wird, ermöglicht die genaue Fixierung des Lichtwellenleiters im optischen Strahlengang, und stellt somit die Verbindung zwischen Laser und Lichtleiter her. In den durchgeführten Versuchen kam ein axiales Einkopplungssystem zur Anwendung, welches den vom Laser emittierten Lichtstrahl in axialer Richtung auf die Eingangsfläche des Lichtwellenleiters lenkt.

3.3. Lichtwellenleiter

Die Übertragung des Laserlichtes durch einen flexiblen Lichtleiter ist die Voraussetzung für die interstitielle Laserapplikation. Um die Transmission der Laserstrahlung zu ermöglichen, hat dieser Lichtleiter einen speziellen Aufbau (Abb. 4):

Er setzt sich aus einem Kern und einem optischen Mantel zusammen. Der Kern besteht aus einer Quarzfaser mit einem Durchmesser von 260 μm . Diese Faser wird von einem Mantel, dem so genannten Cladding umschlossen, der ebenfalls aus Quarz besteht. Er unterscheidet sich vom Kern durch einen geringeren Brechungsindex. Infolgedessen wird Licht, welches genau auf den Kern zentriert auftrifft, beständig von der Mantelfaser zurück in den Kern reflektiert, wodurch es zur reflexionsbedingten Ausbreitung der Strahlung in Längsachse der Faser kommt. Dies ist auch bei der Biegung der Faser gewährleistet, wenn der Biegungsradius einen Zentimeter nicht überschreitet. Damit das Laserlicht im Falle eines Faserbruches nicht unkontrolliert austreten kann, wird der Lichtleiter von Außen noch von einem dünnen Kunststoffmantel umschlossen, dem so genannten Coating.

3.4. Streukörper (Bare-Fiber)

Der Streukörper befindet sich am distalen Ende des Lichtwellenleiters. In den durchgeführten Versuchen wurde eine Bare-Fiber der Firma Martin Laser (Tuttlingen) verwendet. Dabei wurde vor jedem Laservorgang das Coating und Cladding am distalen Ende der Faser entfernt, so dass der mattierte Quarkern auf einer Länge von ca. 5 mm zum Vorschein kam. Die Verwendung der Bare-Fiber beschränkt sich aufgrund ihrer prograden Abstrahlcharakteristik auf die Erzeugung kleinerer Läsionen bis max. 2 cm Durchmesser. Des Weiteren ist die Bare-Fiber mit einem Durchmesser von 0,26 mm die einzige Laserfaser, welche mit der von uns verwendeten Punktionsnadel kompatibel ist.

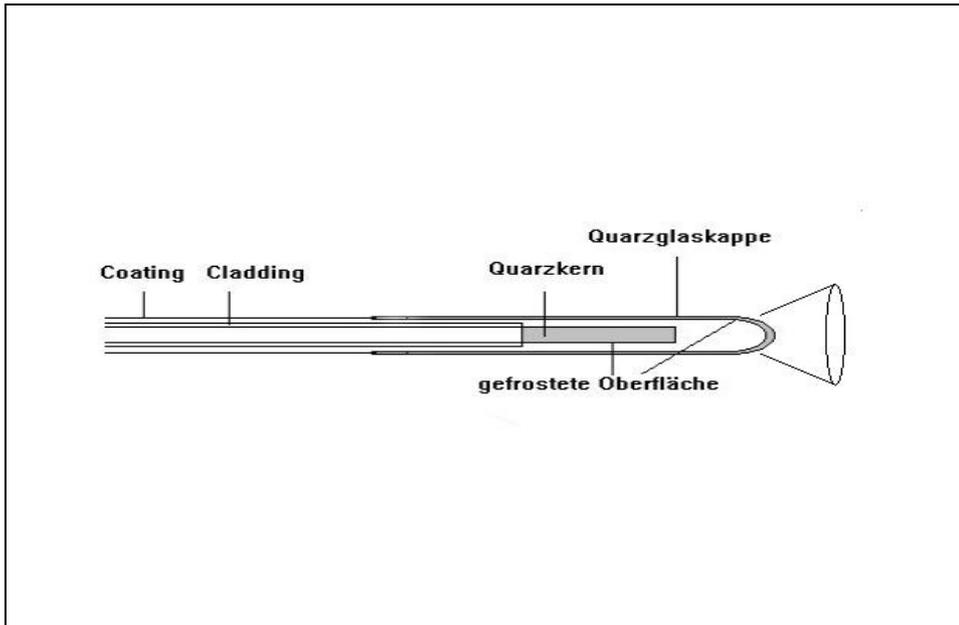


Abb. 4: Schematische Darstellung einer Bare-Fiber mit der kegelförmigen Abstrahlcharakteristik. Dargestellt ist der Aufbau des Lichtwellenleiters mit seinem Quarzkern und der Ummantelung, dem so genannten Coating und Cladding.

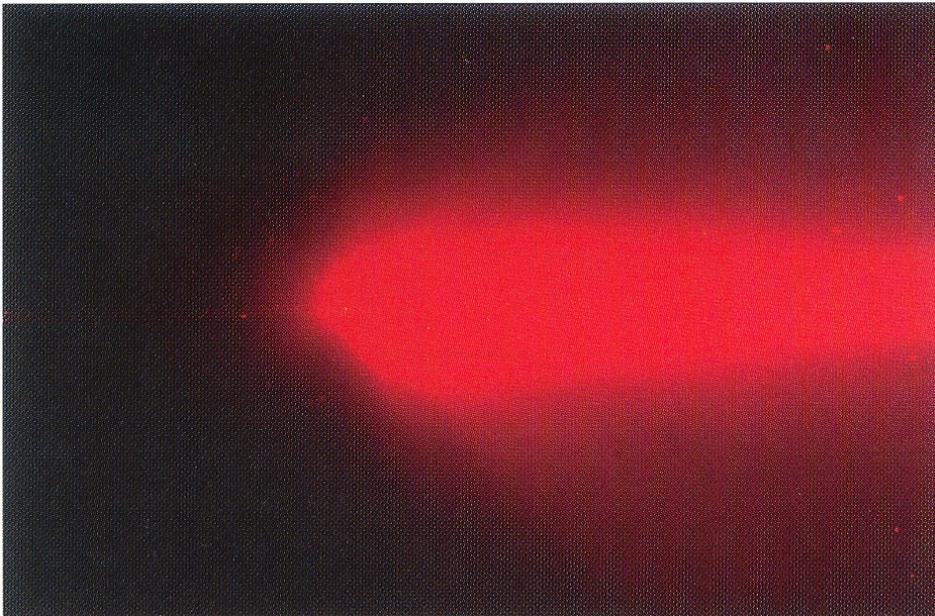


Abb. 5: Abstrahlungscharakteristik der Bare-Fiber in einer leicht streuenden Flüssigkeit.

3.5. Punktionsset

Zum Einbringen des Laserapplikators in das Präparat erfolgte die Punktion der Präparate mit einem Ultraschall Nadel-System vom Typ Hancke-Vilmann der Firma Medi-Globe. Das Nadel-System besteht aus einer durchgehenden

22 Gauge Edelstahl-nadel (Außendurchmesser 0,7 Millimeter), deren sandgestrahlte Sektion an der Nadelspitze ein kontrastreiches Echo im Ultraschallbild erzeugt, aus einem Edelstahlmandrin mit runder Spitze, der die Nadel versteift und das Eindringen unerwünschter Gewebepartikel verhindern soll, sowie aus einer mit einem Handgriff verschraubbaren Einführspirale (Abb. 6).

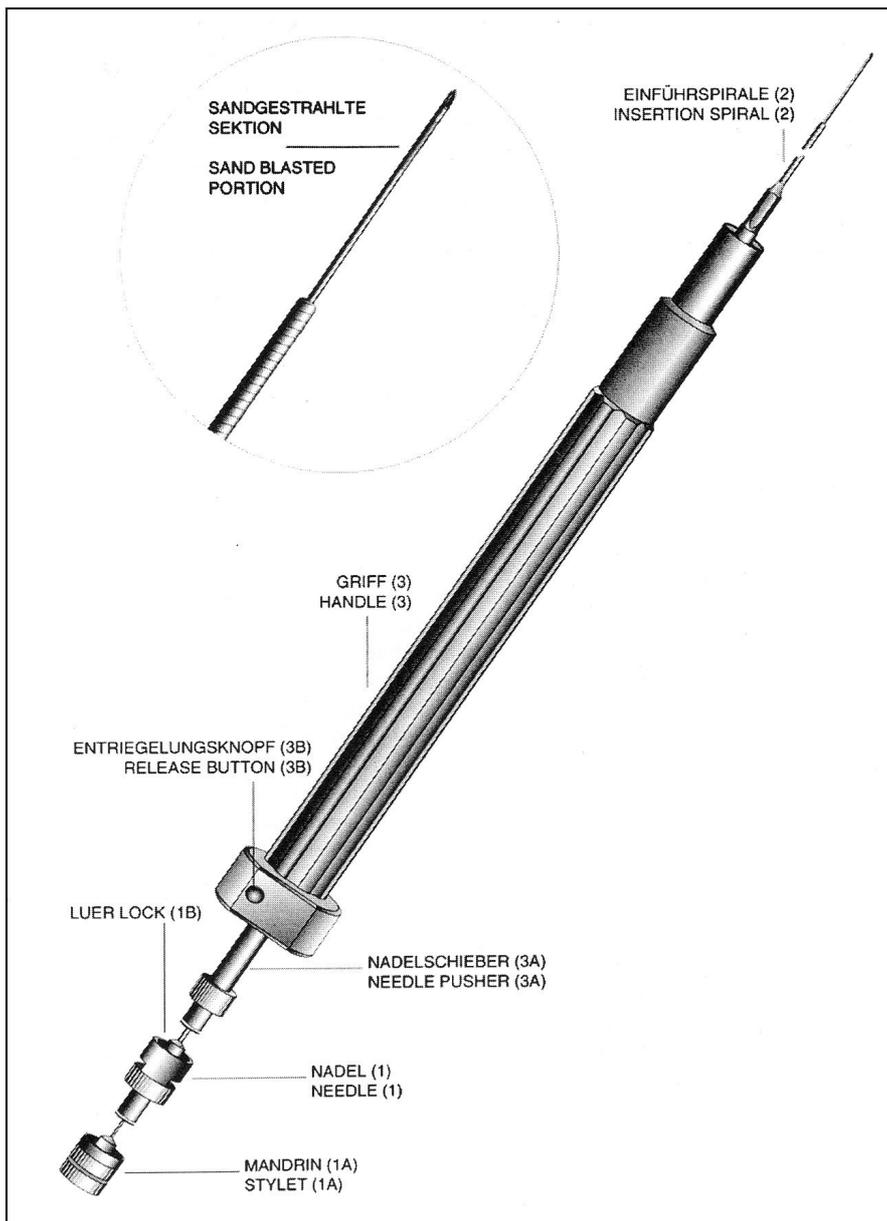


Abb. 6: Ultraschall Nadel-System vom Typ Hancke-Vilmann

3.6. Organpräparate

An Präparaten wurden Leber und Pankreas vom Schwein verwendet. Die Organe wurden direkt vom Schlachthof Marburg bezogen. Der Transport der schlachtfrischen Organe erfolgte in Polyethylen-Beuteln, um das Gewebe vor Austrocknung zu schützen. Nach dem Transport wurden die Organe sofort in einem Kühlschrank bei 4 Grad Celsius aufbewahrt.

3.7. Versuchsdurchführung

Vor Versuchsbeginn wurden die Organe in dem Polyethylen-Beutel etwa eine Stunde bei Raumtemperatur erwärmt. Die Organe wurden danach in ca. 5 x 5 x 5 cm große Stücke zerteilt. Nachdem die Einführhülse mit Nadel in den Arbeitskanal des Endoskops eingeführt wurde, erfolgte die Punktion der Präparate unter sonographischer Kontrolle, damit eine zentrale Lage der Punktionsnadel im Gewebe gewährleistet war. Über die Nadel wurde nun die Laserfaser eingeführt. Die Nadel wurde danach unter gleichzeitigem Vorschieben der Laserfaser vorsichtig einige Millimeter zurückgezogen, um die Applikatorspitze ordnungsgemäß zu platzieren. Nun erfolgte die Laserapplikation, wobei für die beiden Gewebearten – Leber und Pankreas – aufgrund unterschiedlicher Gewebeeigenschaften zwei verschiedene Applikationsprotokolle verwendet wurden (Tab 2):

	Leistung [Watt]	Applikationszeit [min]		
Leber	2,5	5	10	15
	3	3	5	8
	3,5	3	5	8
	4		2	
Pankreas	3	3	5	8
	4			
	5			

Tab 2: Applikationsprotokolle für Leber und Pankreas. Die mittlere Spalte zeigt die gewählte Leistung. In der linken Spalte sind die Applikationszeiten angegeben, mit der die Organpräparate bei der jeweiligen Leistungseinstellung behandelt wurden.

Die Durchführung der Laserapplikation erfolgte jeweils mit und ohne Perfusion mit 0,9 % NaCl als Kühlmittel bei einer Perfusionsrate von 2ml/h gemäß des jeweiligen Protokolls (s.u.). Für jede Parameter-Kombination wurden drei Messungen durchgeführt. Aufgrund eines Isolationseffektes mit nahezu fehlender Energieabgabe an das benachbarte Gewebe wurden Koagulationsnekrosen mit ausgedehnten Karbonisationsherden nicht berücksichtigt. Die Entwicklung der Gewebsläsionen wurde sonographisch festgehalten. Nach der Laserapplikation wurde die makroskopische Ausdehnung der Koagulationsnekrosen durch Messung des radialen und axialen Durchmessers bestimmt.

3.8. Verlaufsbeobachtung

Zur Verlaufsbeobachtung während des Laservorgangs wurde ein Pentax FG-32UA Endoskop mit einem 7,5 MHz longitudinalen Sektorscan, angeschlossen an ein Hitachi EUB-525 Ultraschallgerät, verwendet. Wie bereits in der Einleitung erläutert, handelt es sich bei den Versuchen natürlich nicht um einen endoskopischen Zugang im eigentlichen Sinne. Durch Auflegen des Schallkopfes auf die Organpräparate wurde lediglich ein endoskopischer Zugang angenommen. Dadurch konnte die Punktion und der Laservorgang annähernd so erfolgen wie bei einer späteren in-vivo Anwendung geplant (Abb. 7).



Abb. 7: Versuchsaufbau nach erfolgreicher Punktion eines Pankreaspräparats unter sonographischer Kontrolle.

3.9. Perfusion der Organpräparate

Um zu untersuchen, welche Wirkung ein gekühltes Applikationssystem auf die Größe der induzierten Nekrose hat, wurden sämtliche Versuche zusätzlich mit Perfusion durchgeführt. Hierfür wurde eine mit 0,9% NaCl gefüllte Perfusorspritze in eine 2-Kanal-Spritzenpumpe der Firma Kd Scientific 200 eingespannt, die uns freundlicherweise vom Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH zur Verfügung gestellt wurde. An das proximale Ende der Punktionsnadel wurde die 2-Kanal-Spritzenpumpe über eine Heidelberger-Perfusionsleitung mittels eigens für diese Versuche angefertigten Adapters konnektiert. Nach ordnungsgemäßer Punktion der Präparate und Platzierung der Laserfaser erfolgte die Perfusion der Präparate mit einer kontinuierlichen Kühlmittelflussrate von 2 ml/h. Dadurch kam es direkt an der Applikatorspitze durch Ausströmen der NaCl-Lösung aus der Hohnadel in das Gewebe zu einem lokalen Kühleffekt.



Abb. 8: 2-Kanal-Spritzenpumpe mit eingespannter Perfusor-Spritze.

3.10. Beurteilung der Koagulationsnekrosen

Im Anschluss an die Laserapplikation erfolgte die sonographische Vermessung des axialen und des radialen Durchmessers der thermisch entstandenen Läsion. Danach wurde das Präparat sorgfältig in Längsrichtung zum Punktionskanal aufgeschnitten und die Ausdehnung der makroskopisch sichtbaren Nekrose ebenfalls, sowohl in axialer als auch in radialer Richtung, mittels eines digitalen Messschiebers der Firma Helios Messtechnik bestimmt.

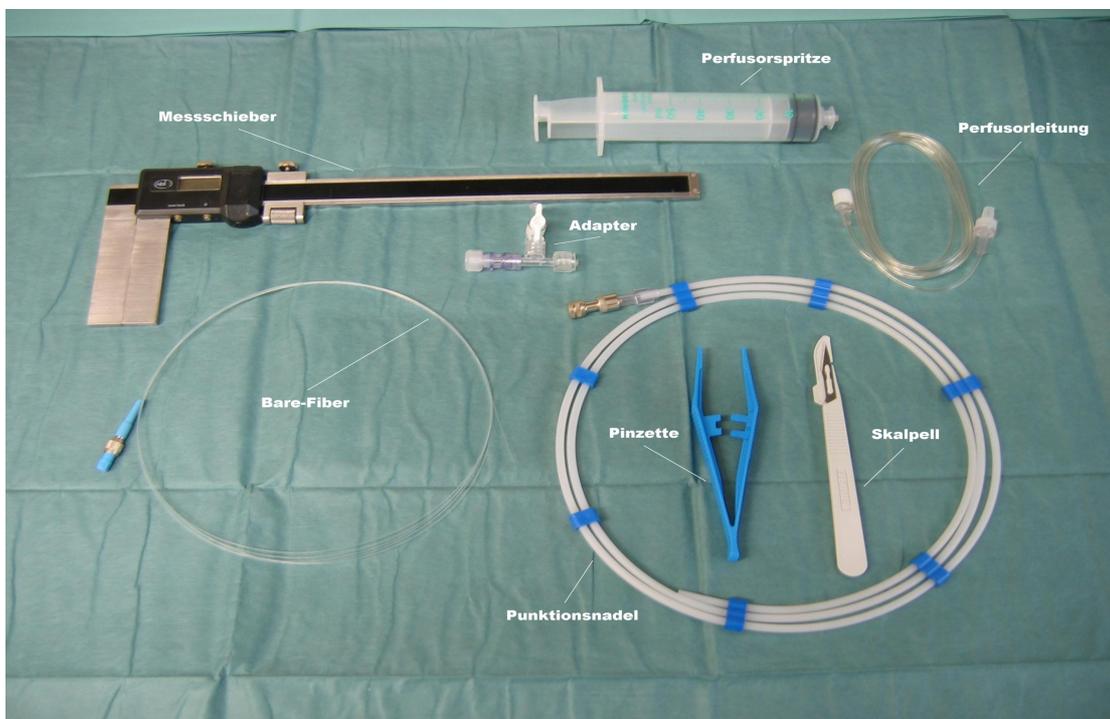


Abb. 9: Darstellung der verwendeten Arbeitsutensilien.

3.10.1. Volumenberechnung

Die Berechnung der thermisch erzeugten Läsionen erfolgte in Näherung mit Hilfe der Formel zur Bestimmung des Volumens (V) für Rotationsellipsoide:

$$V = \frac{\pi \cdot a \cdot r^2}{6}$$

wobei a für den axialen und r für den radialen Durchmesser stehen.

3.11. Statistische Methoden

Bei den aus den Versuchen erhobenen Daten wurden das arithmetische Mittel (\bar{x}) und die Standardabweichung (s_x) berechnet. Des Weiteren wurde für alle Ergebnisse der Variationskoeffizient (V_x) berechnet, um den Grad der Reproduzierbarkeit zu demonstrieren.

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$V_x = \frac{s_{(x)}}{\bar{x}}$$

Mit Hilfe des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten (r) wurde der Grad des linearen Zusammenhangs zwischen den gemessenen makroskopischen und sonographischen Läsionen nach folgender Formel berechnet:

$$r = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Dabei bedeuten:

x = axialer Durchmesser (mm) makroskopisch

x_i = Durchmesser an i-ter Stelle

y = axialer Durchmesser (mm) sonographisch

y_i = Durchmesser an i-ter Stell

n = Anzahl der Stichproben

\bar{x}, \bar{y} = arithmetische Mittel von x und y

$$\sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \text{Standardabweichungen von } x \text{ bzw. } y$$

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y}) = \text{Kovarianz von } x \text{ und } y$$

Je weiter sich der Korrelationskoeffizient $r = 1$ annähert, desto positiver ist der Zusammenhang zwischen x und y . Ein Betrag von 1 bedeutet, dass alle Datenpunkte genau auf einer steigenden Gerade liegen, die sich mithilfe einer Regressionsgleichung mathematisch darstellen lässt.

4. Ergebnisse

4.1. Gewebeläsionen in der laserinduzierten Thermotherapie

4.1.1. Sonographische Darstellung der Läsionen

Während der Laserapplikation wurde die Entwicklung der Nekrosezone sonographisch verfolgt und aufgezeichnet (Abb. 13). Bereits nach einer Behandlungsdauer von circa 30 Sekunden konnte man eine deutliche echoreiche und inhomogene rundliche bis ovale Struktur erkennen, die im weiteren Verlauf an Größe und Echodichte je nach Applikationsdauer konstant zunahm. Nach Beendigung der Laserapplikation wurde die entstandene Läsion in radialer sowie in axialer Ausdehnung vermessen.

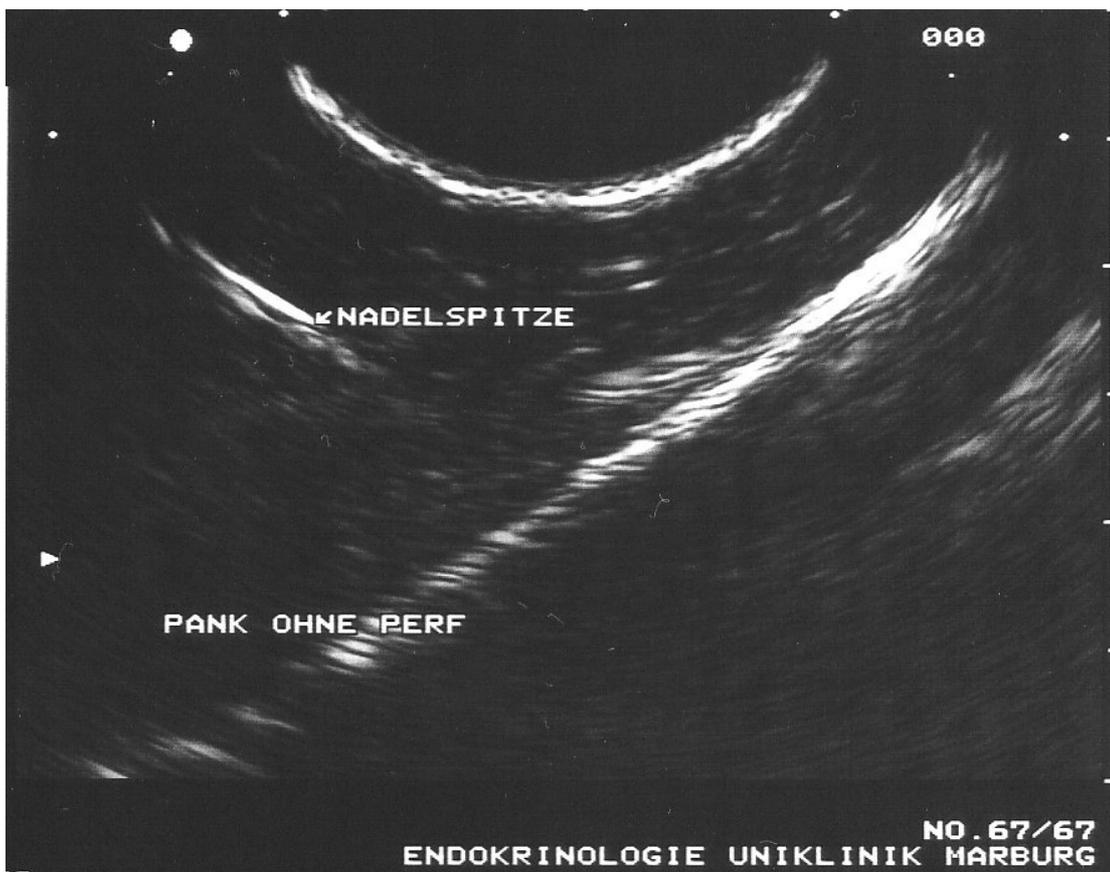


Abb. 10: Legende siehe Seite 27.

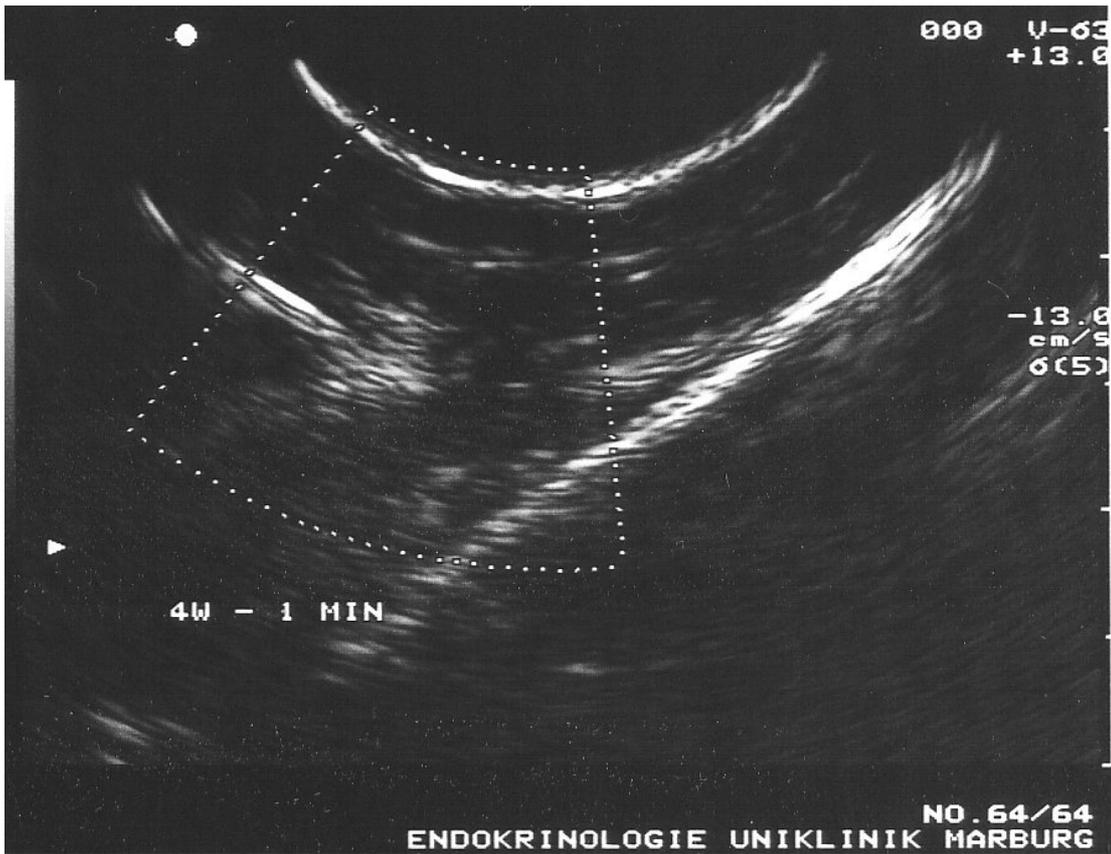


Abb. 11: Legende siehe Seite 27.

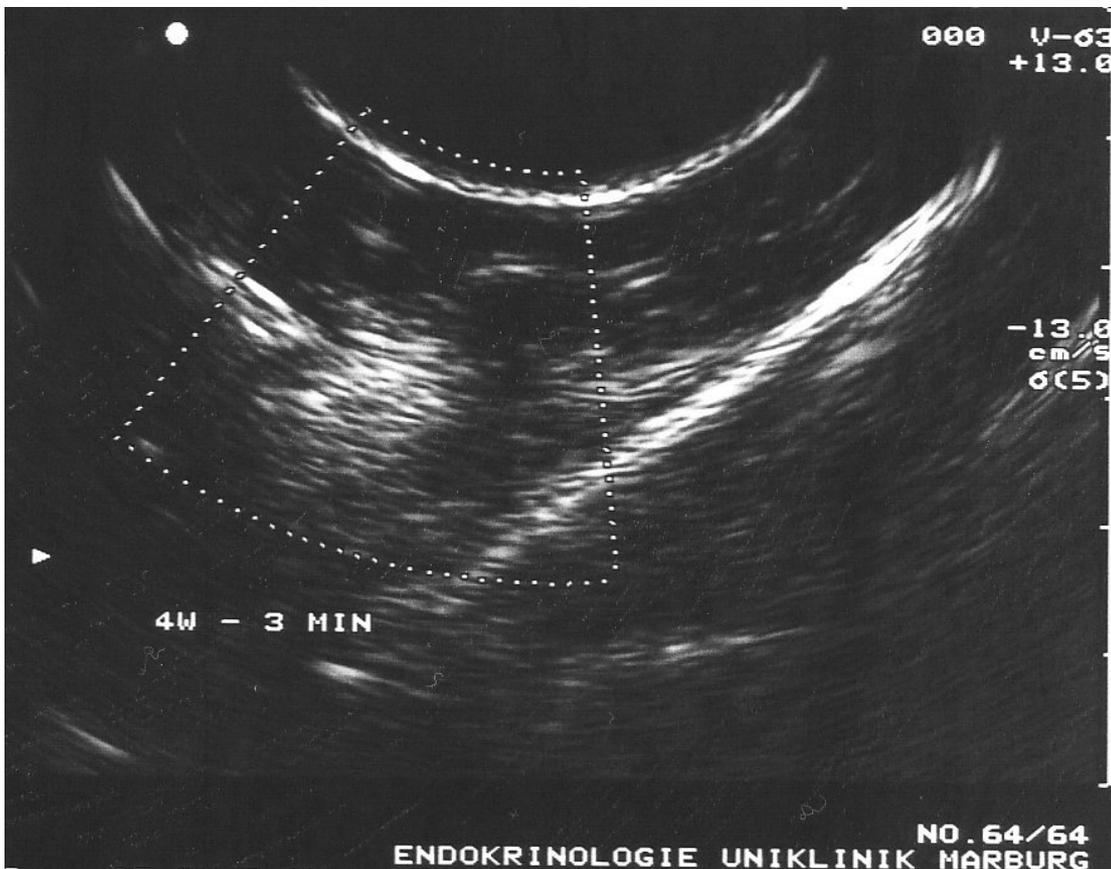


Abb. 12: Legende siehe Seite 27.

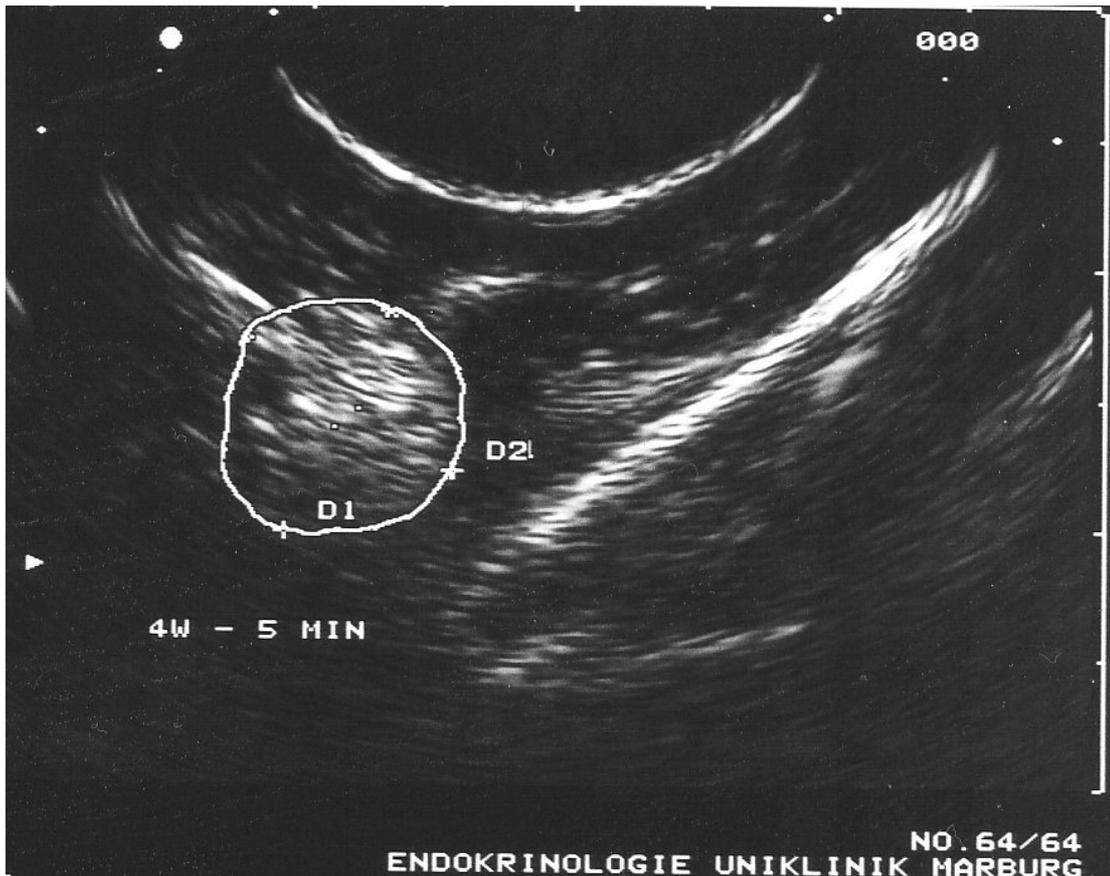


Abb. 13: Laserapplikation in einem Pankreaspräparat bei 4 Watt/5 Minuten: Bild Nr. 1 zeigt das Präparat vor der Laserbehandlung. Bild Nr. 2 zeigt bereits nach 1 Minute einen deutlich abgrenzbaren echoreichen Herd. Bild Nr. 3 zeigt die Läsion nach 3 Minuten Laserapplikation. Deutlich zu erkennen ist die Größenzunahme und die Echodichte. Bild Nr. 4 zeigt die entstandene Läsion nach 5 Minuten Laserapplikation. Die Punktionsnadel ist noch intraläsional.

4.1.2. Makroskopische Darstellung der Läsionen

Bei allen durchgeführten Laserapplikationen konnte eine ellipsoidförmige Koagulationsnekrose erzeugt werden. Bereits vor dem Aufschneiden der Präparate konnte man durch manuelle Palpation einen derben Knoten über der Punktionsstelle tasten. Nachdem das Organstück sorgfältig aufgeschnitten wurde, zeigte sich eine ockergelbe Struktur, die sich vom umgebenden Gewebe klar abgrenzen ließ (Abb. 14). Kurz nach der Laserapplikation konnte man häufig an der Grenzzone einen hämorrhagischen Randsaum erkennen.

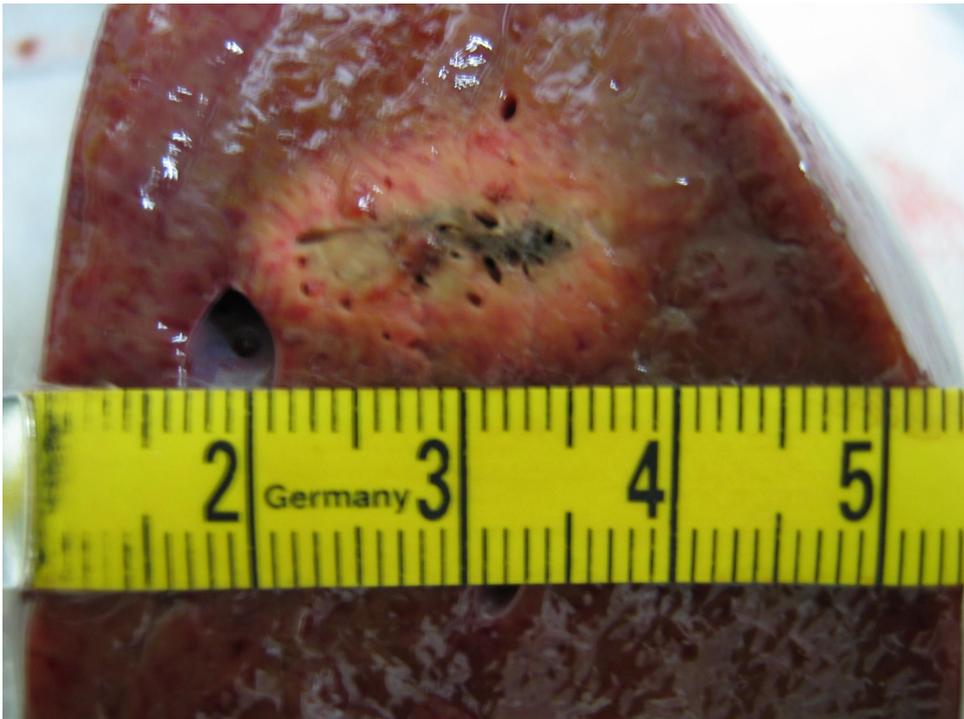


Abb. 14: Makroskopische Darstellung eines Leberstückes nach erfolgter Laserapplikation bei 3W/8min. Schön zu erkennen ist der hämorrhagische Randsaum.

Aufgrund der hellen Eigenfarbe der Pankreas-Präparate ließen sich hier die Läsionen makroskopisch nicht ganz so scharf abgrenzen wie bei der Leber. Dennoch konnten auch bei diesen Versuchen ähnliche Ergebnisse hinsichtlich des makroskopischen Aspektes erzielt werden wie bei der Leber. Es zeigte sich eine ovale Struktur von weißer Farbe, in deren Zentrum die Lage der Laserfaser durch eine schmale punktförmige Verkohlung des Gewebes zu erkennen war (Abb. 15).



Abb. 15: Koaguliertes Pankreasgewebe nach einer Exposition von 3W/3min.

4.1.3. Mikroskopische Darstellung der Läsionen

Die makroskopisch sichtbaren Koagulationsnekrosen wurden auch histologisch untersucht. Hierfür wurden Parafinschnitte angefertigt und diese einer Hämatoxylin-Eosin-(HE)-Färbung unterzogen.

Bei mikroskopischer Betrachtung der Schnittpräparate erkennt man deutliche Unterschiede im Vergleich zu gesundem Lebergewebe. Durch die Wärmeeinwirkung der laserinduzierten Thermotherapie kam es zu einem Verdampfen der Zellflüssigkeit, was sich in einer Schrumpfung der Hepatozyten bemerkbar machte. Die teilweise zerrissenen Strukturen lassen ein explosionsartiges Verdampfen der Zellflüssigkeit annehmen. Die Anatomie der Periportalfelder wurde komplett zerstört, so dass Gallengangs- und Gefäßstrukturen nicht mehr zu differenzieren sind. Die im Parenchym optisch leeren Areale sind nekrotische Bereiche, die beim Fixieren und Färben aus ihrem Zellverband gelöst wurden. Bei einer Betrachtung der Schnitte in der Übersichtsvergrößerung kann man schon vom färbereichen Aspekt verschiedene Bereiche unterscheiden. Bei genauerer Betrachtung

lassen sich grundsätzlich vier Zonen innerhalb der Läsion von zentral nach peripher abgrenzen (Abb. 16):

- I. **Applikationszone:** Die Gewebezone, die unmittelbar um die eingeführte Laserfaser lag.
- II. **Zentralzone:** Die Gewebezone, die den zentralen Anteil des hyperthermisch geschädigten Areals darstellt und nach außen hin von der Übergangszone abgegrenzt wird.
- III. **Übergangszone:** Diese Zone bildet den Übergang von zerstörtem zu geschädigtem Gewebe.
- IV. **Referenzzone:** Diese Zone besteht aus vitalem Gewebe und umgibt die Läsion.

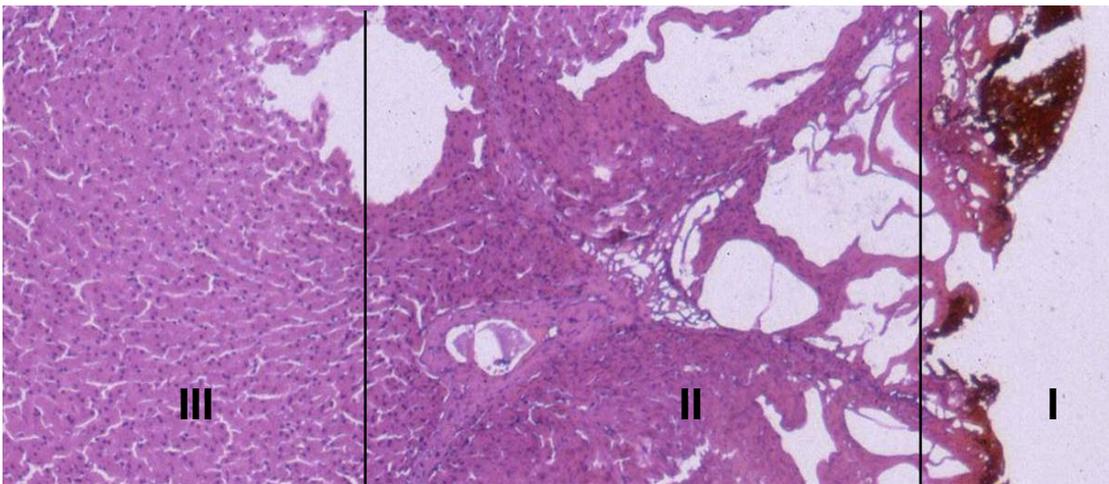


Abb. 16: Lichtmikroskopische Aufnahme eines mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Gewebeschnittes. Dargestellt sind die einzelnen intraläsionalen Zonen. Rechts im Bild ist das Zentrum der Läsion abgebildet, wo sich die Applikatorspitze befand.

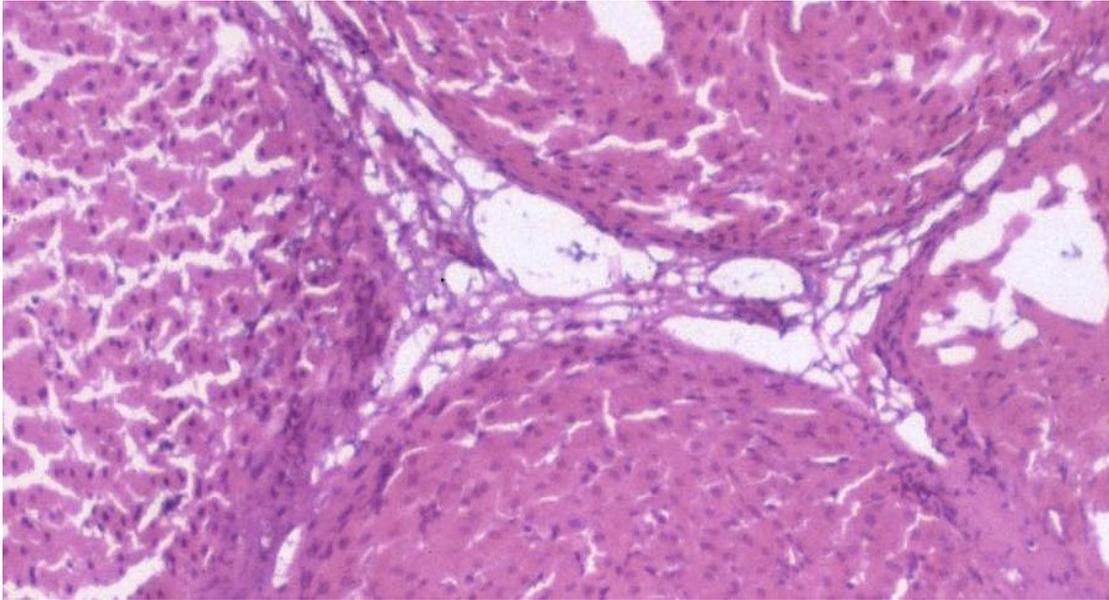


Abb. 17: Lichtmikroskopische Aufnahme eines mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Gewebeschnittes. Der Ausschnitt zeigt ein mittels laserinduzierter Thermoerapie geschädigtes Schweinelebergewebe. Im rechten und unteren Bildrand ist eine ausgeprägte Koagulationsnekrose mit Zerstörung der Hepatozyten zu erkennen. Der linke Bildrand zeigt den Übergang von zerstörtem zu geschädigtem Gewebe, erkennbar durch die starke Erweiterung der Sinusoide. Das Periportalfeld wurde komplett zerstört.

Bei den histologisch aufgearbeiteten Pankreaspräparaten zeigte sich nach Laserbehandlung ebenso wie bei der Leber ein ausgeprägter Koagulationseffekt. Ein zonaler Aufbau der thermisch geschädigten Präparate konnte man hier wenn überhaupt nur ansatzweise erkennen. Eine Applikationszone unmittelbar um die Laserfaser demarkierte sich nicht, ebenso eine Übergangszone ließ sich nicht abgrenzen.

In der Übersichtsaufnahme eines HE-gefärbten Pankreaspräparats sieht man eine eosinophile siebartig-poröse Koagulationnekrose mit kleinherdigen lipolytischen Fettgewebstekrosen in der Nähe des Fettgewebshilus (Nekrosezone). Daran grenzt eine weniger intensiv gefärbte Zone mit vitalem Pankreasgewebe. In der Vergrößerungsaufnahme erkennt man ausgeprägte Kernpyknoten als Ausdruck der letalen Schädigung, durch Zytoplasmaverschmelzungen sind die Zellgrenzen nicht mehr zu erkennen.

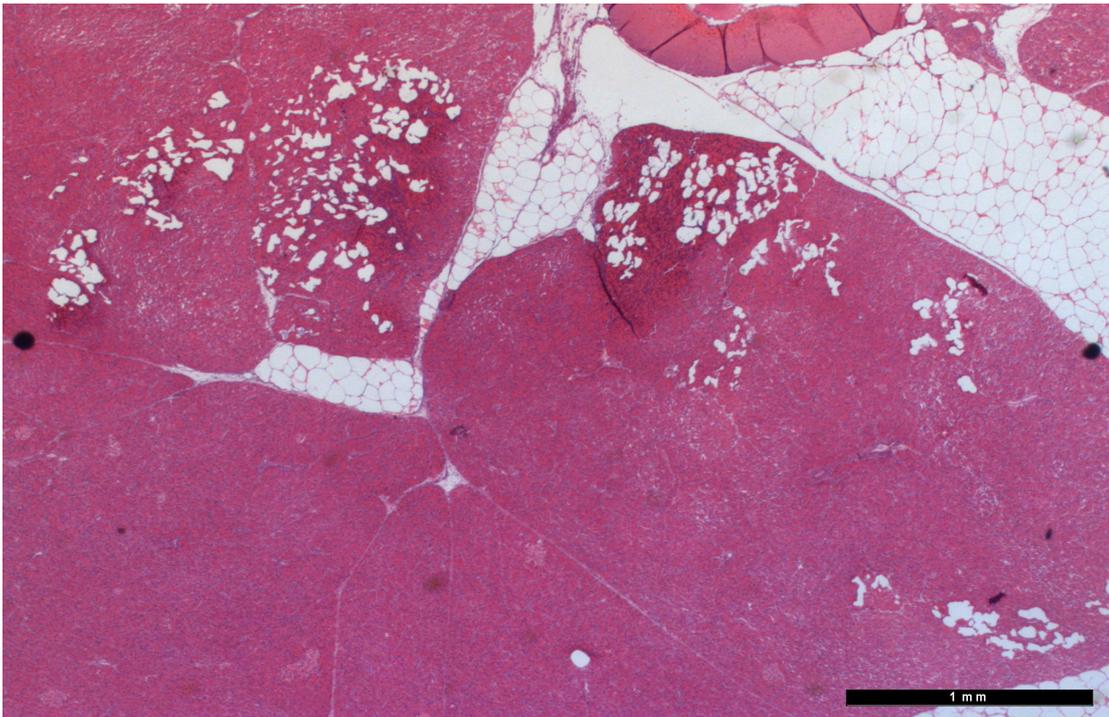


Abb. 18: Übersichtsvergrößerung eines HE gefärbten Pankreaspräparats nach LITT.

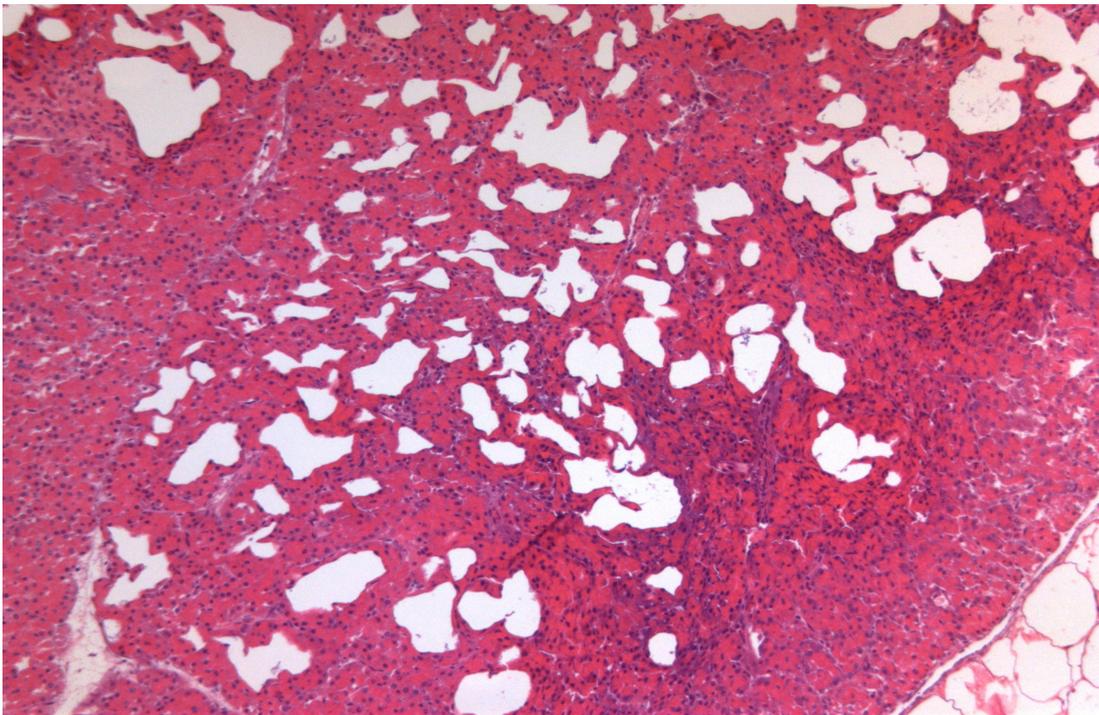


Abb. 19: Vergrößerungsaufnahme der Nekrosezone nach LITT am Pankreaspräparat.

4.2. Dosis-Wirkungs-Beziehungen der LITT: Leber

Aufgrund einer Gesamtdurchblutung von ca. 25% des Herzzeitvolumens ist die Leber eines der am besten durchbluteten Organe des Körpers. Durch den hohen Blutgehalt der Organpräparate war es notwendig, die Leistungs- und Zeitparameter für die Laserapplikation entsprechend anzupassen.

Dadurch war es beispielsweise nicht sinnvoll, 2,5 Watt für 3 Minuten zu applizieren, da so die erzielte Koagulationsnekrose vernachlässigbar klein war.

Auf der anderen Seite kam es bereits bei einer Einstellung von 4 Watt und 5 Minuten zu einer ausgeprägten Karbonisierung des Gewebes. Durch diese Verkohlung war eine weitere Energieabgabe an die angrenzenden Bezirke aufgrund einer thermischen Isolation nicht mehr gewährleistet, eine Größenzunahme der Läsion somit nicht mehr möglich. Aus diesem Grund wurde auf eine weitere Steigerung der Applikationszeit verzichtet.

4.2.1. Leber ohne Perfusion

Die Behandlung von Lebergewebe ohne Perfusion erfolgte bei 2,5 Watt, 3 Watt, 3,5 Watt und 4 Watt. Die Applikationszeit variierte von 2 Minuten bei 4 Watt bis zu 15 Minuten bei 2,5 Watt. Wie oben bereits beschrieben, war es nicht möglich, bei jeder Leistungsstufe das gleiche Applikationsschema anzuwenden. Bei den induzierten Nekrosen konnte man sowohl bei einer Erhöhung der Laserleistung als auch bei einer Verlängerung der Applikationszeit eine Zunahme des Läsionsvolumens beobachten.

Bei den Versuchen mit einer Leistung von 2,5 Watt kam es bei 5 Minuten Applikationszeit zu einer makroskopischen Nekroseausdehnung von $394 \pm 78,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $13,4 \pm 0,45 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $7,7 \pm 0,85 \text{ mm}$). Bei 10 Minuten betrug das Volumen $728 \pm 24 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $15,4 \pm 0,28 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $9,5 \pm 0,2 \text{ mm}$). Bei einer Applikationszeit von 15 Minuten war das erzielte Nekrosevolumen $949 \pm 86,5 \text{ mm}^3$ groß (axialer Durchmesser $16,9 \pm 0,29 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $10,3 \pm 0,45 \text{ mm}$). Die sonographisch gemessenen Läsionsgrößen korrelierten mit

einer mittleren Abweichung von 6,5 % sehr gut mit den makroskopischen Messwerten (Abb. 20).

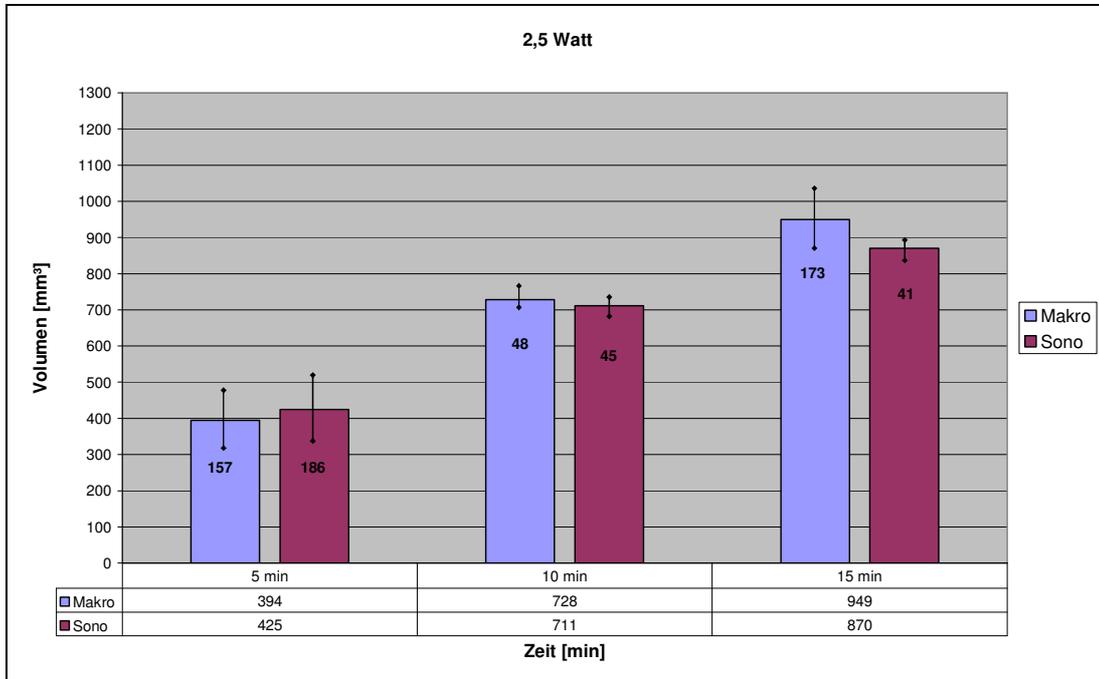


Abb. 20: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 2,5 Watt. Angegeben sind das jeweilige arithmetische Mittel und die Standardabweichung vom Mittelwert. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 6,5 %.

Unter den Versuchsbedingungen mit 3 Watt Laserleistung wurde bei 3 Minuten Applikationszeit ein makroskopisches Nekrosevolumen von 368 ± 66 mm³ erzielt (axialer Durchmesser $11,8 \pm 1,1$ mm, radialer Durchmesser $7,6 \pm 0,5$ mm). Bei 5 Minuten betrug das Nekrosevolumen $735 \pm 52,5$ mm³ (axialer Durchmesser $16 \pm 0,45$ mm, radialer Durchmesser $9,3 \pm 0,23$ mm). Eine Behandlung von 8 Minuten erzielte ein Volumen von 863 ± 33 mm³ (axialer Durchmesser $17 \pm 0,45$ mm, radialer Durchmesser $9,8 \pm 0,13$ mm). Die sonographisch bestimmten Volumina zeigten mit einer mittleren Abweichung von 5,7 % eine sehr gute Korrelation mit den makroskopischen Werten (Abb. 21).

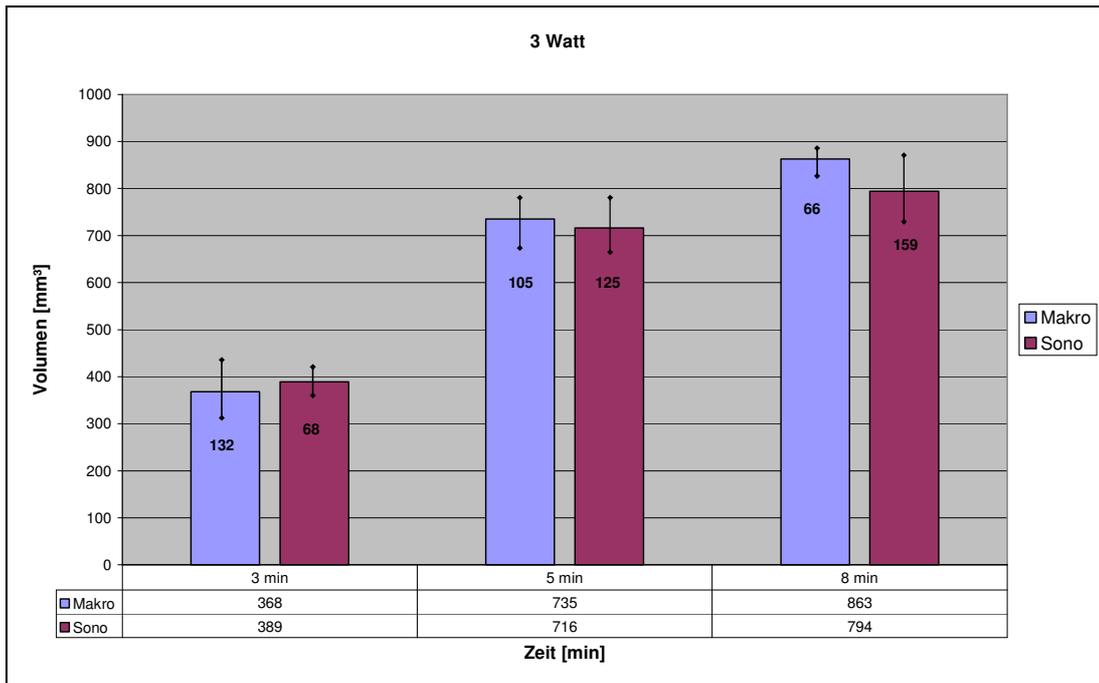


Abb. 21: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 3 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichung. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 5,7 %.

Bei einer Laserleistung von 3,5 Watt erzielte eine Applikationszeit von 3 Minuten ein mittleres makroskopisches Läsionsvolumen von $443 \pm 49,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $14,1 \pm 0,3 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $7,7 \pm 0,35 \text{ mm}$). Bei einer Applikationszeit von 5 Minuten betrug das Volumen $751 \pm 14 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $16 \pm 0,09 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $9,5 \pm 0,12 \text{ mm}$). Bei 8 Minuten Applikationszeit erhöhte sich das induzierte Volumen auf $1010 \pm 77,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $19,6 \pm 0,25 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $9,9 \pm 0,4 \text{ mm}$). Die hierbei ermittelten sonographischen Volumina zeigten eine mittlere Abweichung von 20,4 % von den makroskopischen Werten (Abb. 22).

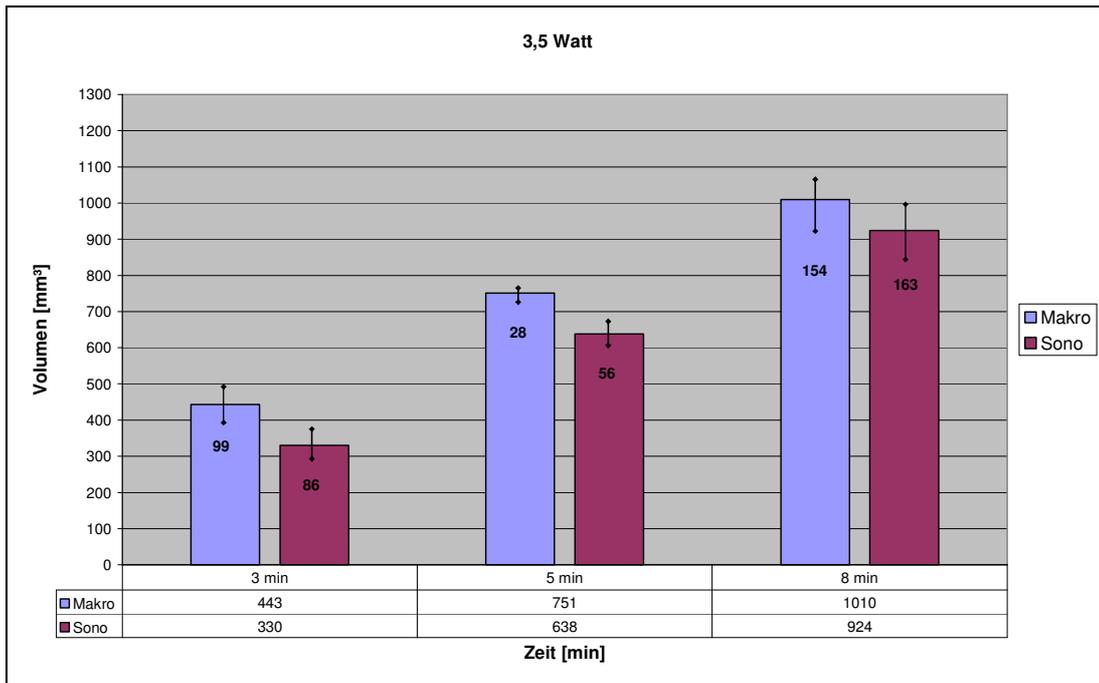


Abb. 22: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 3,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 20,4 %.

Bei einer Laserleistung von 4 Watt konnte das Applikationsschema von 3, 5 und 8 Minuten nicht verwendet werden, da es bei einer Applikationszeit von mehr als 2 Minuten zu einer ausgeprägten Karbonisation des Gewebes gekommen ist und so eine weitere Größenzunahme des Läsionsvolumens nicht gewährleistet war. Bei den durchgeführten 2 Minuten Applikationszeit betrug das makroskopische Volumen $494 \pm 12,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $14 \pm 0,25 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $8,2 \pm 0,13 \text{ mm}$). Ein sonographisch gemessenes Volumen von $453 \pm 12,5 \text{ mm}^3$ bedeutete eine mittlere Abweichung von 9,1 % (Abb. 23).

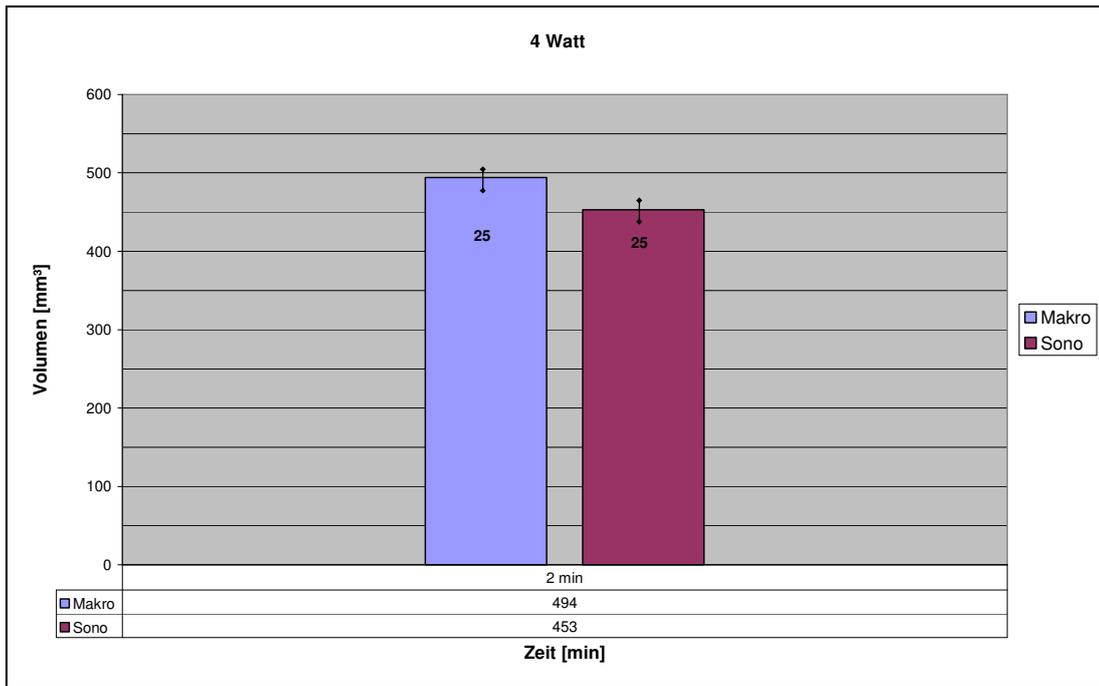


Abb. 23: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 4 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Abweichung des sonographischen Wertes 9,1 %.

Leistung [Watt]	Zeit [min]	Axial [mm]	Radial [mm]	Volumen [mm ³]
2,5	5	13,4 ± 0,45	7,7 ± 0,85	394 ± 78,5
2,5	10	15,4 ± 0,28	9,5 ± 0,2	728 ± 24
2,5	15	16,9 ± 0,29	10,3 ± 0,45	949 ± 86,5
3	3	11,8 ± 1,1	7,6 ± 0,5	368 ± 66
3	5	16 ± 0,45	9,3 ± 0,23	735 ± 52,5
3	8	17 ± 0,45	9,8 ± 0,13	863 ± 33
3,5	3	14,1 ± 0,3	7,7 ± 0,35	443 ± 49,5
3,5	5	16 ± 0,09	9,5 ± 0,12	751 ± 14
3,5	8	19,6 ± 0,25	9,9 ± 0,4	1010 ± 77,5
4	2	14 ± 0,25	8,2 ± 0,13	494 ± 12,5

Tab 3: Übersicht über die makroskopischen Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Leber ohne Perfusion. Die Tabelle zeigt das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens ± Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit.

Bei den Versuchen mit Leber ohne Perfusion konnte ein nahezu linearer Anstieg der Volumengröße mit Steigerung der Applikationszeit beobachtet werden.

Bei der statistischen Auswertung wurde überprüft, ob zwischen den makroskopisch und sonographisch gemessenen axialen Durchmessern ein linearer Zusammenhang besteht. Hierfür wurde der lineare Korrelationskoeffizient nach Pearson bestimmt, welcher für die Versuche mit Leber ohne Perfusion einen Wert von $r = 0,94$ ergab. Hierdurch konnte ein positiver linearer Zusammenhang zwischen makroskopisch und sonographisch gemessenen axialen Durchmessern bestätigt werden. In Abb. 24 sind die Ergebnisse für die makroskopischen und sonographischen Durchmesser anhand eines Punktediagramms graphisch dargestellt. Die Regressionsgerade mit dem Bestimmtheitsmaß r^2 ($r = \sqrt{0,8752}$) ist ebenfalls mit abgebildet.

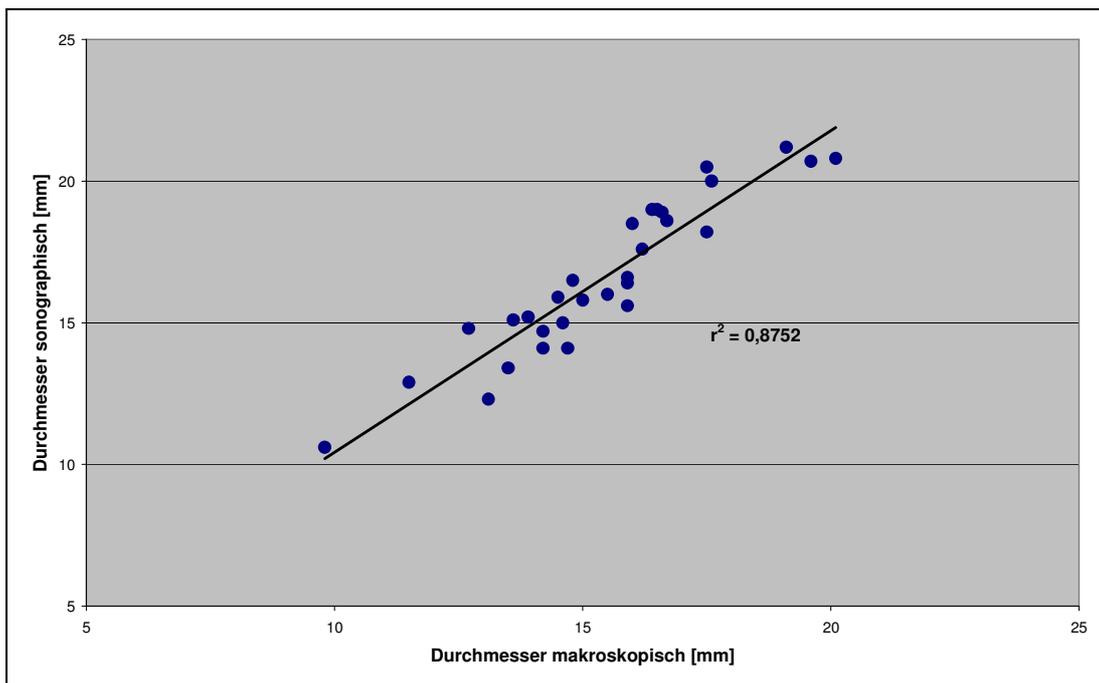


Abb. 24: lineare Korrelation für Durchmesser nach LITT der Leber ohne Perfusion.

4.2.2. Leber mit Perfusion mit 0,9 % NaCl bei 2 ml/h

Um den Effekt einer internen Kühlung während der Laserapplikation auf die Größe der Koagulationsvolumina zu untersuchen, wurde das

Applikationssystem zusätzlich bei allen Versuchen während der Laserbehandlung mittels Perfusionspumpe mit 0,9 % NaCl bei einer Perfusionsrate von 2 ml/h gespült. Bei einem Kühlmittelfluss von 2 ml/h und der Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung als Kühlmittel erfolgte auch hier die Laserapplikation bei 2,5 Watt, 3 Watt, 3,5 Watt und 4 Watt.

Bei 2,5 Watt und einer Applikationszeit von 5 Minuten wurde ein makroskopisches Nekrosevolumen von $385 \pm 22,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $13 \pm 0,33 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $7,5 \pm 0,2 \text{ mm}$) erzielt. Bei 10 Minuten Applikationszeit kam es zu einer Volumenzunahme auf $846 \pm 43,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $15,1 \pm 0,45 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $10,3 \pm 0,3 \text{ mm}$). Eine Erhöhung der Applikationszeit auf 15 Minuten erzeugte ein Volumen von $1062 \pm 61,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $17 \pm 0,28 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $10,9 \pm 0,4 \text{ mm}$). Die sonographisch gemessenen Werte zeigten von den makroskopischen Werten eine mittlere Abweichung von 8,5 % (Abb. 25).

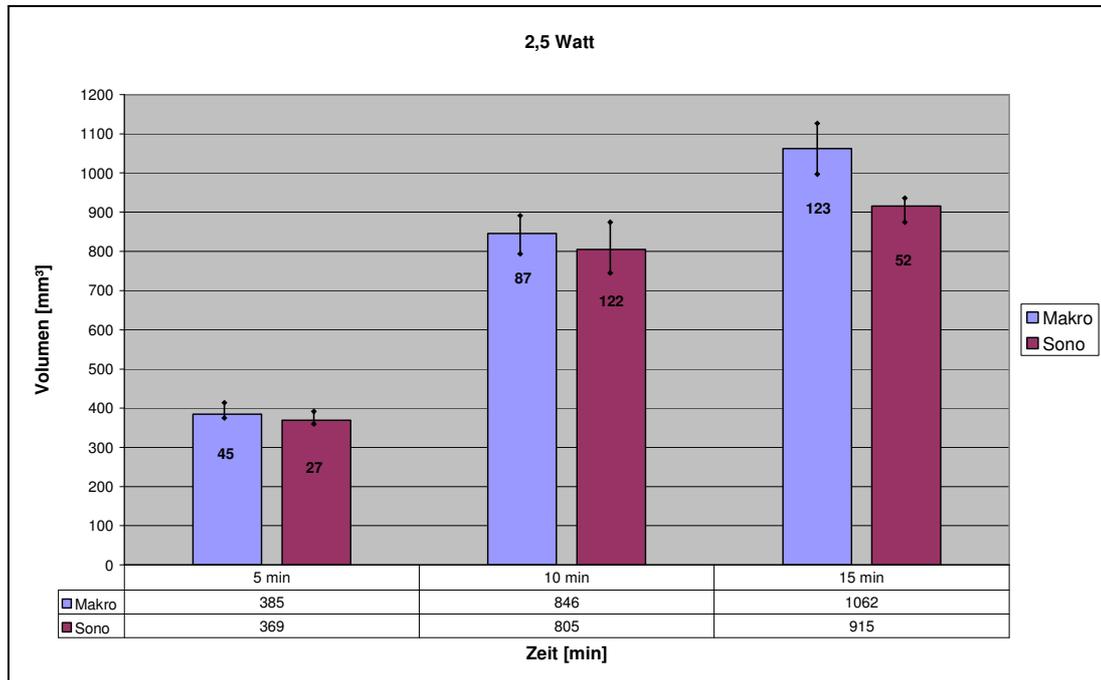


Abb. 25: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 2,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 8,5 %.

Eine eingestellte Laserleistung von 3 Watt erzeugte bei 3 Minuten ein makroskopisches Nekrosevolumen von $520 \pm 23 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser

12,4 ± 0,3 mm, radialer Durchmesser 9 ± 0,29 mm). Bei 5 Minuten Applikationszeit wurde ein Volumen von 723 ± 28 mm³ (axialer Durchmesser 15,7 ± 0,25 mm, radialer Durchmesser 9,4 ± 0,15 mm) erzielt. Bei einer Erhöhung der Applikationszeit auf 8 Minuten führte zu einem Volumen von 965 ± 66,5 mm³ (axialer Durchmesser 15,8 ± 0,75 mm, radialer Durchmesser 12,8 ± 1,65 mm). Aus den sonographisch ermittelten Volumina zeigte sich eine mittlere Abweichung von 8,5 % im Vergleich zu den makroskopischen Volumina (Abb. 26).

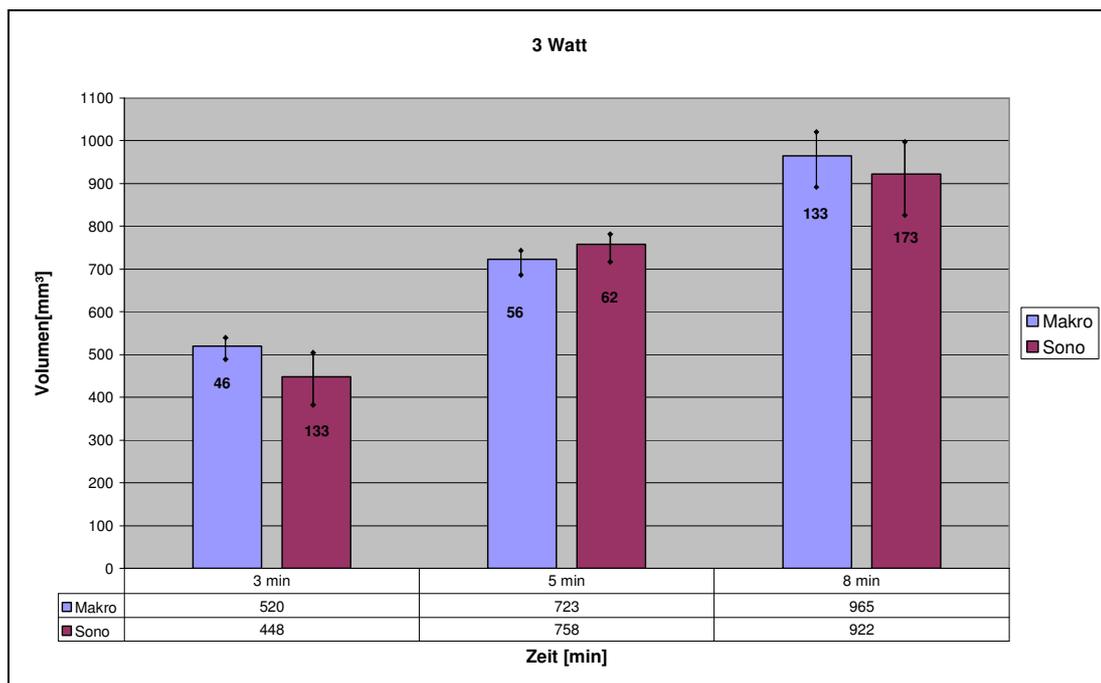


Abb. 26: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 3 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 8,5 %.

Bei 3,5 Watt Leistung kam es bei 3 Minuten Applikationszeit zu einem makroskopisch gemessenen Nekrosevolumen von 521 ± 12 mm³ (axialer Durchmesser 12,7 ± 0,14 mm, radialer Durchmesser 8,9 ± 0,1 mm). Bei 5 Minuten war das erzielte Volumen 759 ± 41 mm³ (axialer Durchmesser 16,6 ± 0,33 mm, radialer Durchmesser 9,3 ± 0,18 mm). 8 Minuten Laserapplikation führte zu einem Läsionsvolumen von 993 ± 126 mm³ (axialer Durchmesser 17,1 ± 0,08 mm, radialer Durchmesser 10,5 ± 0,65 mm). Die sonographisch ermittelten Volumina lagen mit einer mittleren Abweichung von 10,7 % unter den makroskopischen Werten (Abb. 27).

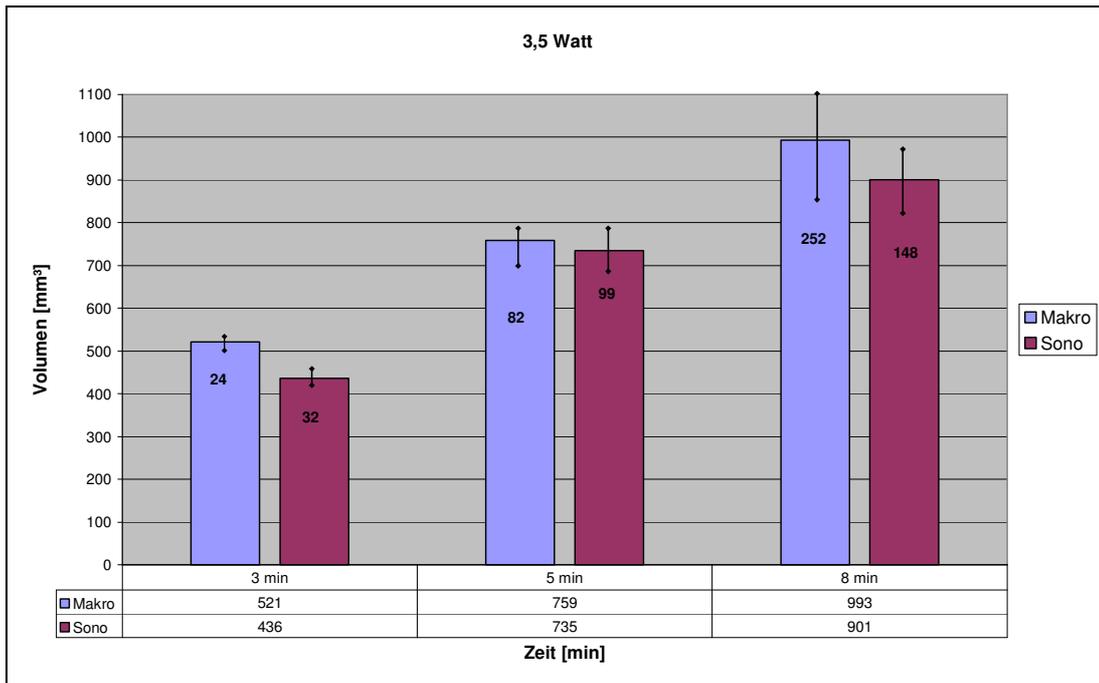


Abb. 27: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 3,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 10,7 %.

Die Versuche bei einer Leistung von 4 Watt und 2 Minuten Applikationszeit erzielten ein mittleres makroskopisches Volumen von $505 \pm 7,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $13,1 \pm 0,16 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $8,6 \pm 0,55 \text{ mm}$). Sonographisch lag das mittlere Volumen mit $467 \pm 29 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $13,1 \pm 0,85 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $8,3 \pm 0,12 \text{ mm}$) 8,1 % unter dem makroskopischen (Abb. 28).

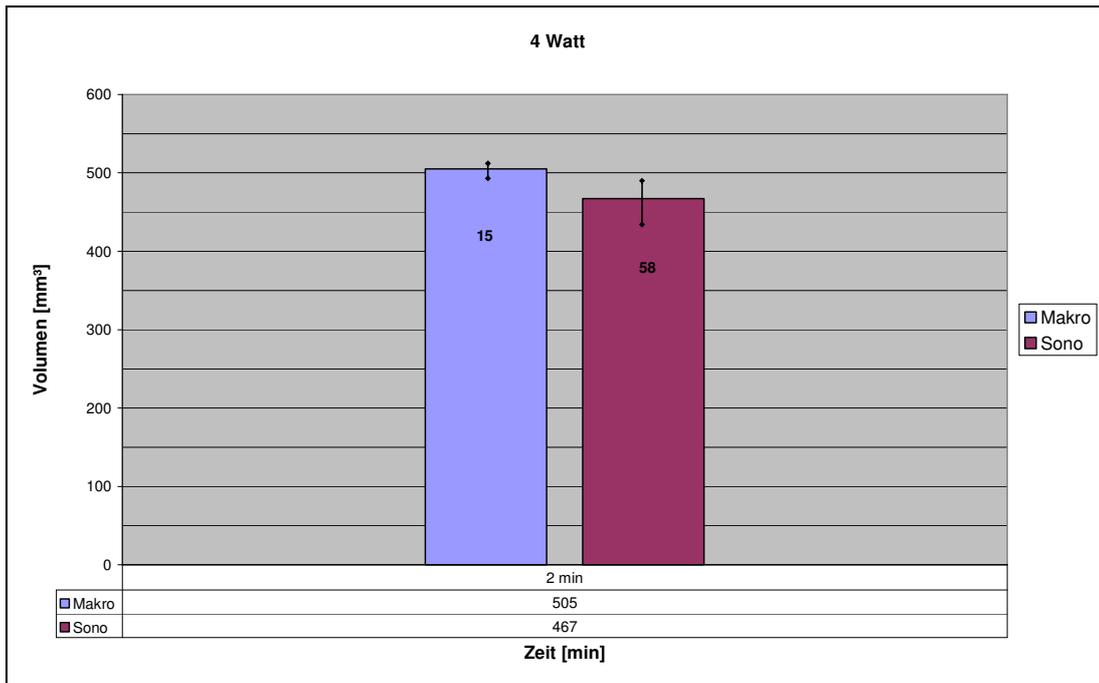


Abb. 28: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h bei 4 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Abweichung des sonographischen Wertes 8,1 %.

Leistung [Watt]	Zeit [min]	Axial [mm]	Radial [mm]	Volumen [mm³]
2,5	5	13 ± 0,33	7,5 ± 0,2	385 ± 22,5
2,5	10	15,1 ± 0,45	10,3 ± 0,3	846 ± 43,5
2,5	15	17 ± 0,28	10,9 ± 0,4	1062 ± 61,5
3	3	12,4 ± 0,3	9 ± 0,29	520 ± 23
3	5	15,7 ± 0,25	9,4 ± 0,15	723 ± 28
3	8	15,8 ± 0,75	12,8 ± 1,65	965 ± 66,5
3,5	3	12,7 ± 0,14	8,9 ± 0,1	521 ± 12
3,5	5	16,6 ± 0,33	9,3 ± 0,18	759 ± 41
3,5	8	17,1 ± 0,08	10,5 ± 0,65	993 ± 126
4	2	13,1 ± 0,16	8,6 ± 0,55	505 ± 7,5

Tab 4: Übersicht über die makroskopischen Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Leber mit Perfusion bei einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h. Die Tabelle zeigt das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens ± Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit

Bei den Versuchen mit interner Kühlung mit physiologischer Kochsalzlösung und einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h konnte ein linearer Korrelationskoeffizient nach Pearson von $r = 0,90$ für die makroskopisch und sonographisch gemessenen axialen Durchmesser berechnet werden. Dadurch lag auch hier ein positiver linearer Zusammenhang zwischen makroskopisch und sonographisch gemessenen Durchmessern vor. Abb. 29 zeigt die graphische Darstellung mit Hilfe eines Punktediagramms. Es ergab sich ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,8093$.

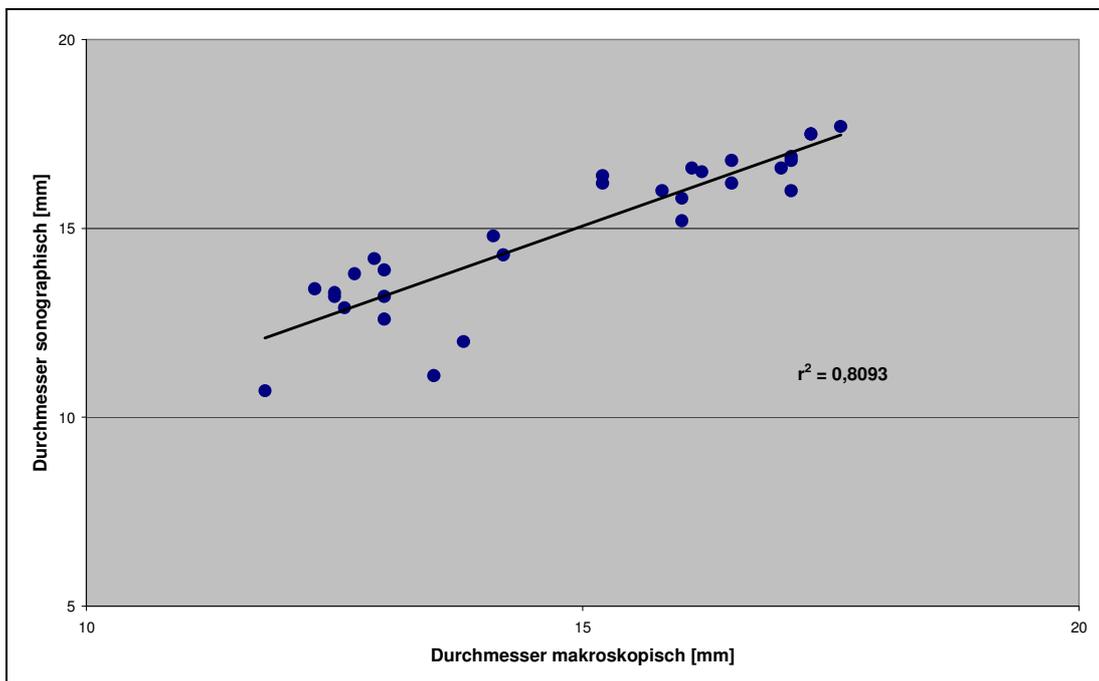


Abb. 29: lineare Korrelation für Durchmesser nach LITT der Leber mit Perfusion.

Im Vergleich zu den Versuchen ohne Perfusion konnte bei den Versuchen mit Perfusion mit einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h eine geringe Vergrößerung der Ablationsvolumina beobachtet werden. Abb. 30 zeigt die Ergebnisse der koagulierten Volumina ohne und mit Perfusion mit 0,9 % Kochsalzlösung bei 2 ml/h Flussrate.

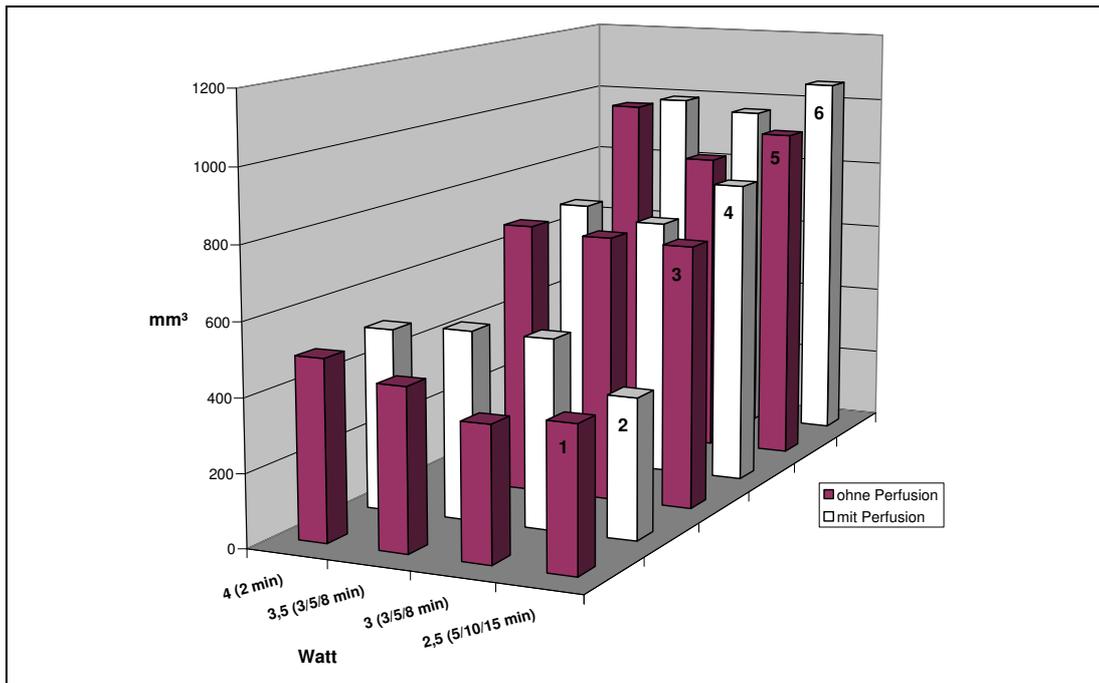


Abb. 30: Darstellung der arithmetischen Mittel der koagulierten Volumina. Die roten Balken stellen die Ergebnisse ohne Perfusion dar, die weißen Balken die Ergebnisse mit Perfusion. Die Balkenreihen 1 + 2 zeigen die Ergebnisse bei niedriger Applikationszeit. Reihe 3 + 4 stellt die Ergebnisse bei mittlerer Applikationszeit dar. Reihe 5 + 6 zeigt die Ergebnisse bei hoher Applikationszeit. Die entsprechenden Applikationszeiten sind in Klammern mit angegeben.

4.3. Dosis-Wirkungs-Beziehungen der LITT: Pankreas

4.3.1. Pankreas ohne Perfusion

Es wurden Versuche mit Applikationszeiten von 3 Minuten, 5 Minuten und 8 Minuten bei einer Laserleistung von jeweils 3 Watt, 4 Watt und 5 Watt durchgeführt. Hierbei wurden mittlere Koagulationsvolumina von ungefähr 180 mm³ bis 1080 mm³ erzielt.

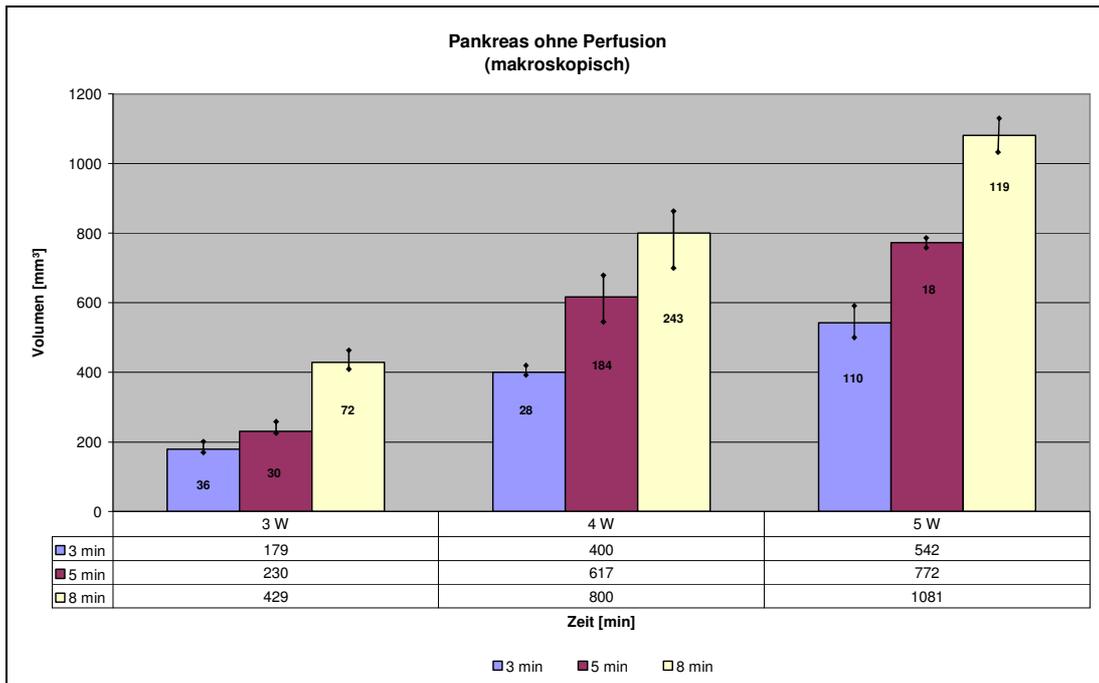


Abb. 31: Einfluss auf die Läsionsvolumina bei Erhöhung der Applikationszeit. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardabweichungen.

In Abb. 31 ist die Dosis-Wirkungs-Beziehung für Pankreasgewebe ohne Perfusion für die makroskopische Vermessung dargestellt.

Auffällig war ein deutlicher Anstieg der induzierten Volumina bei einer Erhöhung der Leistung von 3 Watt auf 4 Watt, während eine Steigerung der Leistung auf 5 Watt eine weniger deutliche Vergrößerung der Läsionen erzielte.

Das induzierte Nekrosevolumen bei einer Einstellung von 3 Watt bei 5 Minuten betrug $230 \pm 14 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $8,97 \pm 0,21 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $7 \pm 0,23 \text{ mm}$). Bei einer Leistung von 4 Watt stieg das Volumen auf $617 \pm 92 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $11,43 \pm 1,04 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $10,07 \pm 0,38 \text{ mm}$) an, bei 5 Watt war das erzielte Volumen $772 \pm 121,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $13,57 \pm 0,26 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $10,33 \pm 0,77 \text{ mm}$).

Eine weitere Steigerung der Leistung zeigte keinen signifikanten Anstieg der Läsionsgröße, vielmehr kam es bei Einstellungen oberhalb von 5 Watt zu einer ausgeprägten Karbonisationszone im Inneren der Nekrose mit Zerstörung der Applikatorspitze und damit verbunden zu einem deutlichen Leistungsabfall.

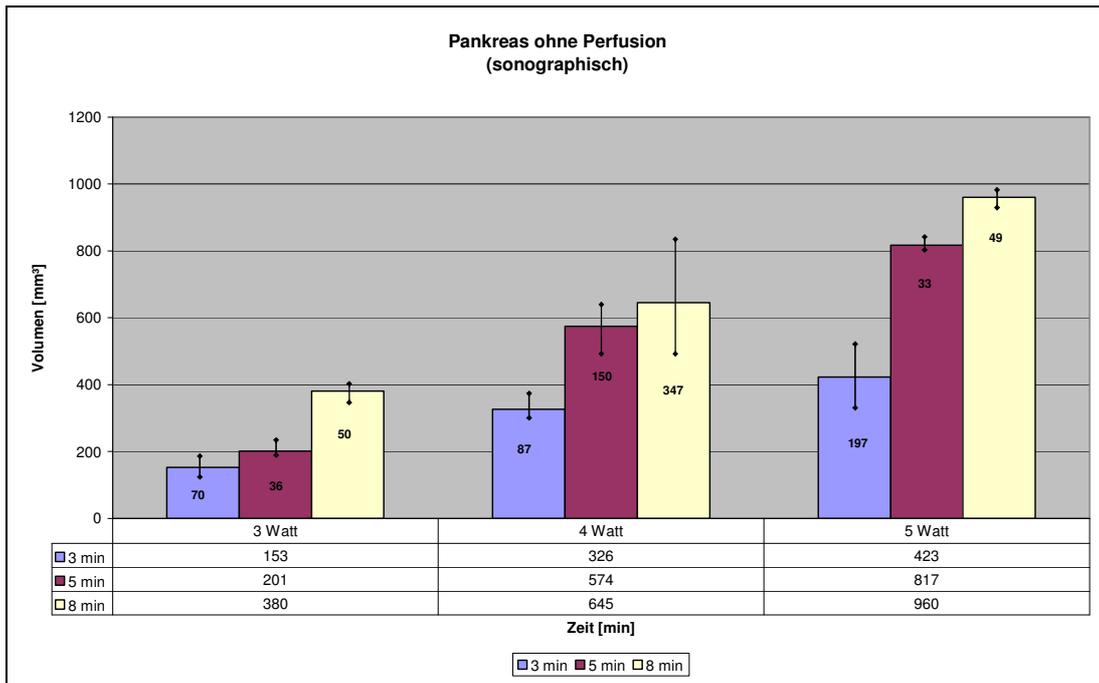


Abb. 32: Vergleich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen für die sonographisch gemessenen Koagulationsvolumina. Dabei fiel auf, dass die sonographischen Messwerte zwischen 10 % und 15 % unterhalb der makroskopisch gemessenen Werte lagen.

In Tab 5 sind die Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Pankreas ohne Perfusion angegeben. Die Tabelle zeigt das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens \pm Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit.

Leistung [Watt]	Zeit [min]	Axial [mm]	Radial [mm]	Volumen [mm ³]
3	3	7,2 \pm 0,36	6,7 \pm 0,18	179 \pm 18
3	5	9 \pm 0,21	7 \pm 0,23	230 \pm 14
3	8	11,3 \pm 1,35	8,5 \pm 0,25	429 \pm 55
4	3	13,3 \pm 0,25	7,6 \pm 0,1	400 \pm 15
4	5	11,4 \pm 1,04	10,1 \pm 0,38	617 \pm 92
4	8	13,3 \pm 0,18	10,7 \pm 0,12	800 \pm 9
5	3	11,9 \pm 0,84	9,3 \pm 0,1	542 \pm 36
5	5	13,6 \pm 0,26	10,3 \pm 0,75	772 \pm 122
5	8	15,6 \pm 0,19	11,5 \pm 0,25	1081 \pm 60

Tab 5: Übersicht der LITT bei Pankreas ohne Perfusion (makroskopisch)

Die Korrelationsanalyse für die makroskopisch und sonographisch gemessenen Durchmesser ergaben einen linearen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,96$. Abb. 33 veranschaulicht den positiven linearen Zusammenhang mit Hilfe der Regressionsgeraden. Das Bestimmtheitsmaß ist mit $r^2 = 0,9219$ angegeben.

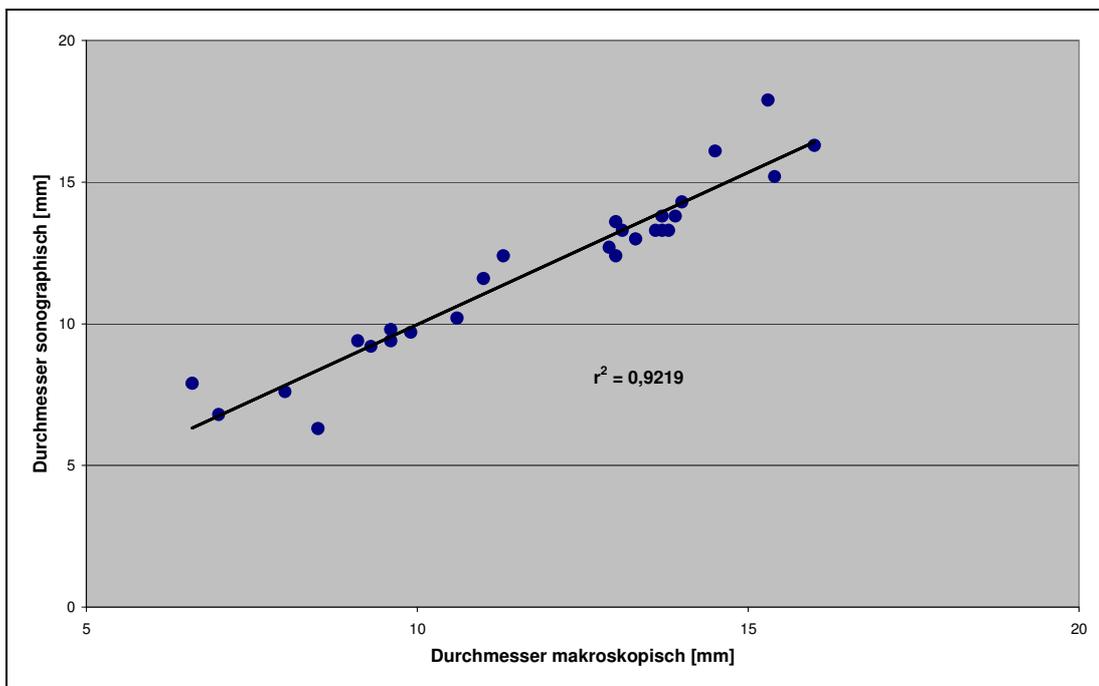


Abb. 33: lineare Korrelation für die Durchmesser nach LITT bei Pankreas ohne Perfusion.

4.3.2. Pankreas mit Perfusion mit 0,9 % NaCl bei 2 ml/h

Die Ergebnisse für die Versuche mit Pankreasgewebe bei einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h sind in Abb. 34 graphisch dargestellt.

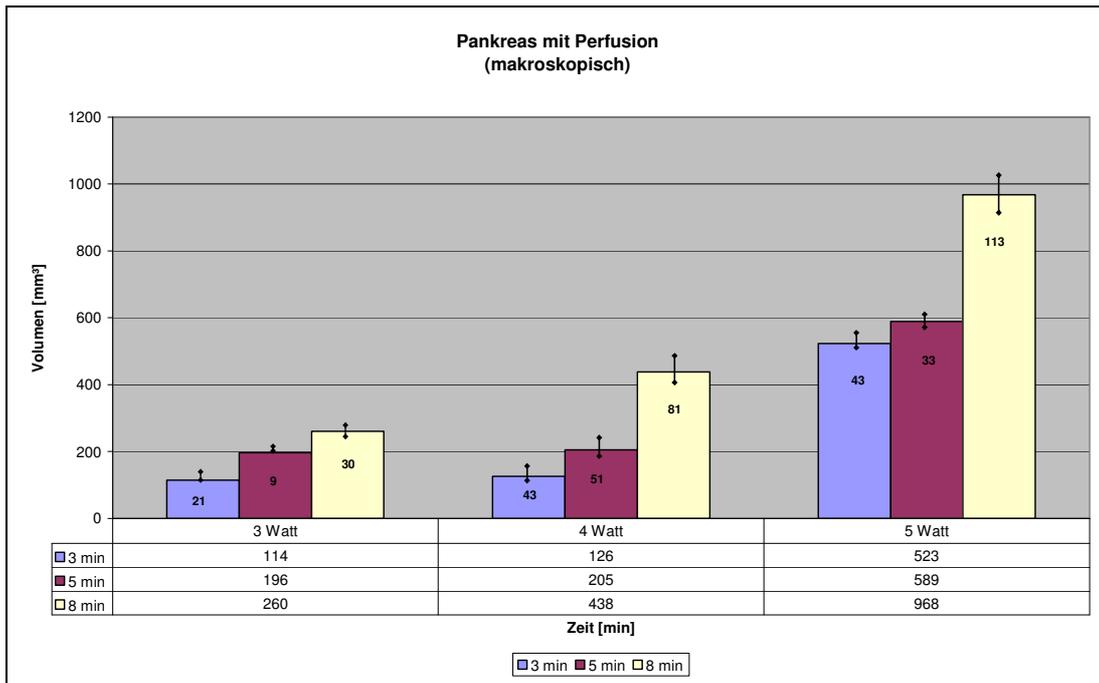


Abb. 34: Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Pankreas mit Perfusion bei 2ml/h.

Die hierbei gemessenen Koagulationsvolumina waren zwischen 115 mm³ und 970 mm³. Im Unterschied zu den Versuchen ohne Perfusion zeigten die Durchgänge mit Perfusion eine weniger deutliche Steigerung der Volumengröße bei Erhöhung der Leistung von 3 Watt auf 4 Watt. Bei einer Steigerung der Leistung auf 5 Watt kam es hingegen zu einer sprunghaften Vergrößerung der induzierten Volumina.

Bei einer Einstellung von 3 Watt bei 5 Minuten Applikationszeit betrug das erzielte Nekrosevolumen $196 \pm 21,3 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $8,2 \pm 0,01 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $6,7 \pm 0,38 \text{ mm}$). Bei Erhöhung der Leistung auf 4 Watt betrug das erzielte Volumen $205 \pm 25,5 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $8 \pm 0,29 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $6,9 \pm 0,36 \text{ mm}$). Bei 5 Watt betrug das Volumen $589 \pm 40 \text{ mm}^3$ (axialer Durchmesser $12,6 \pm 0,27 \text{ mm}$, radialer Durchmesser $9,4 \pm 0,26 \text{ mm}$). Betrachtet man nun die Graphik für die erzielten Läsionsgrößen, fällt auf, dass bei 4 Watt/8 Minuten ein nahezu gleich großes Volumen resultiert, wie bei 5 Watt/3 Minuten. Für eine spätere Anwendung am Menschen ist diese Beobachtung insofern wertvoll, weil sich dadurch bei gleichem postinterventionellem Resultat die Behandlungsdauer um mehr als die Hälfte verkürzen lässt.

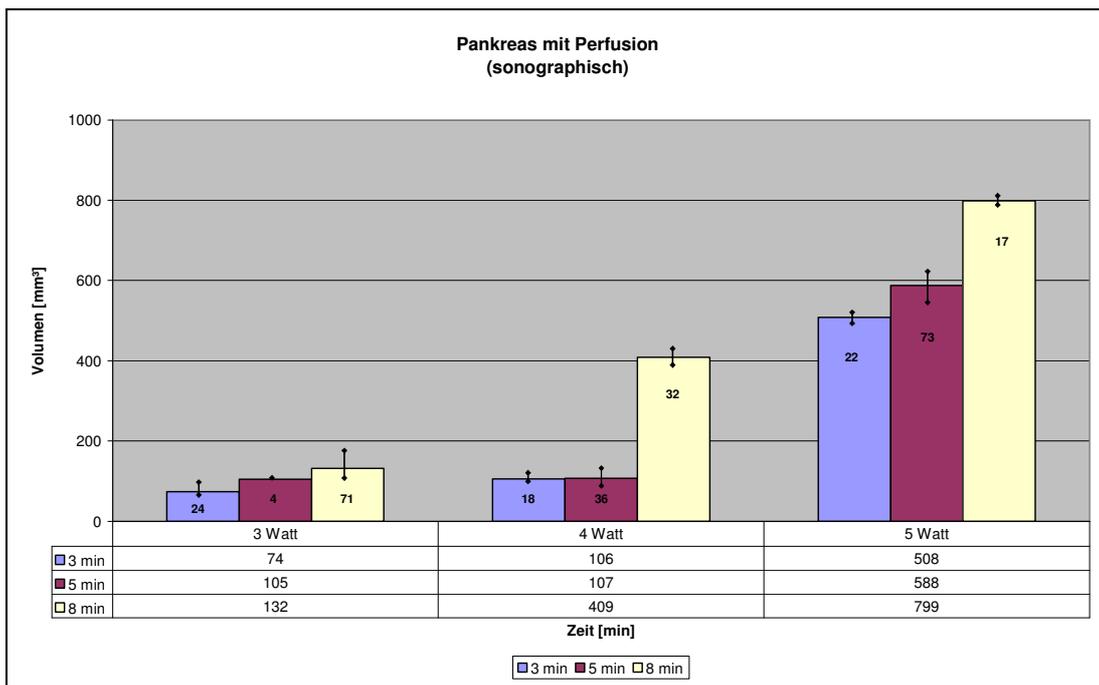


Abb. 35: Vergleich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen für die sonographisch gemessenen Koagulationsvolumina.

Bei den Versuchen am Pankreas mit Perfusion fiel auf, dass die sonographisch ermittelten Volumina deutlich kleiner gemessen wurden, als die makroskopischen. Diese Abweichungen lassen sich möglicherweise dadurch erklären, dass es bedingt durch die kleinen Läsionen zu Ungenauigkeiten sowohl bei der sonographischen als auch bei der makroskopischen Vermessung gekommen ist. Bestätigt wird diese Vermutung auch dadurch, dass die Abweichungen bei den Läsionen $> 400 \text{ mm}^3$ wesentlich geringer waren.

Die Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Pankreas mit Perfusion bei einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h sind in Tab 6 zusammenfassend dargestellt. Gezeigt ist auch hier das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens \pm Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit.

Leistung [Watt]	Zeit [min]	Axial [mm]	Radial [mm]	Volumen [mm ³]
3	3	6,8 ± 0,12	5,7 ± 0,24	114 ± 10,5
3	5	8,2 ± 0,05	6,7 ± 0,38	196 ± 21,5
3	8	9,7 ± 0,28	7,1 ± 0,2	260 ± 21,5
4	3	6,6 ± 0,1	6 ± 0,15	126 ± 4,4
4	5	8 ± 0,29	6,9 ± 0,35	205 ± 25,5
4	8	12,5 ± 0,5	8,2 ± 0,13	438 ± 16,5
5	3	11 ± 0,26	9,5 ± 0,03	523 ± 15
5	5	12,6 ± 0,26	9,4 ± 0,25	589 ± 40,5
5	8	14,4 ± 0,41	11,2 ± 0,18	968 ± 56,5

Tab 6: Übersicht der LITT bei Pankreas mit Perfusion (makroskopisch)

In Abb. 36 ist die lineare Korrelationsanalyse graphisch dargestellt. Es ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,97$. Auch hier wurde damit ein strenger linearer Zusammenhang zwischen den makroskopisch und sonographisch gemessenen Durchmessern bewiesen. Das Bestimmtheitsmaß ist mit $r^2 = 0,9464$ angegeben.

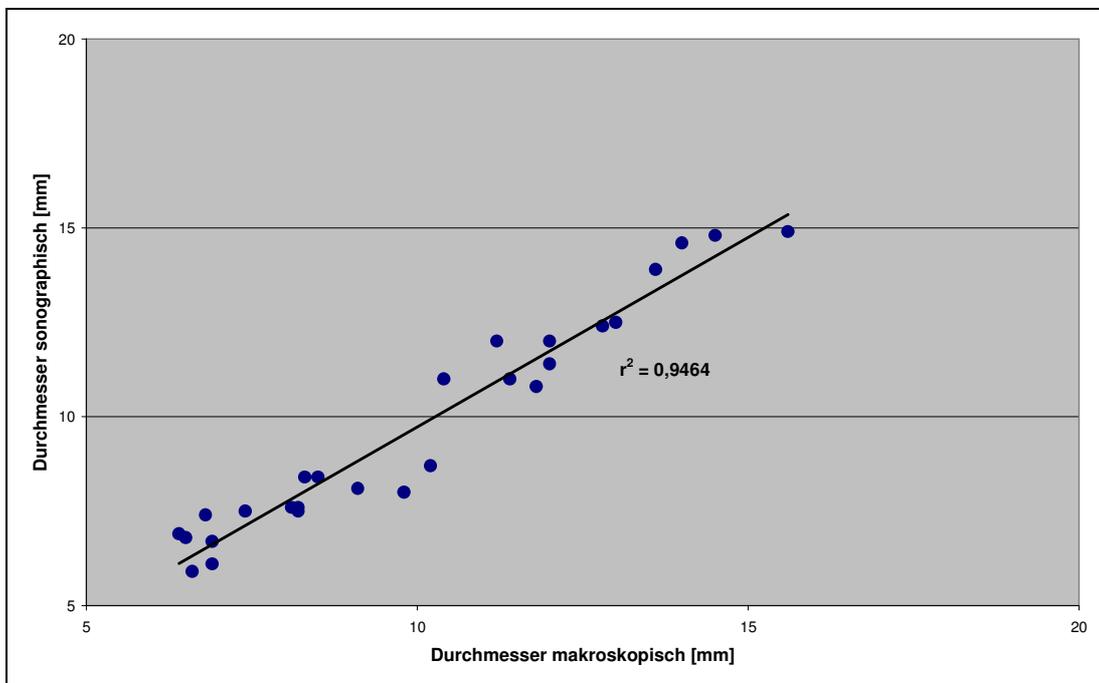


Abb. 36: lineare Korrelation für die Durchmesser nach LITT bei Pankreas mit Perfusion.

Abb. 37 zeigt die Ergebnisse der makroskopisch gemessenen Koagulationsvolumina sowohl ohne als auch mit Perfusion in einem dreidimensionalen Balkendiagramm. Dabei zeigt sich, dass die Nekrosen bei den Versuchen mit Perfusion anders als bei der Leber sogar deutlich kleiner waren, verglichen mit den Versuchen ohne Perfusion.

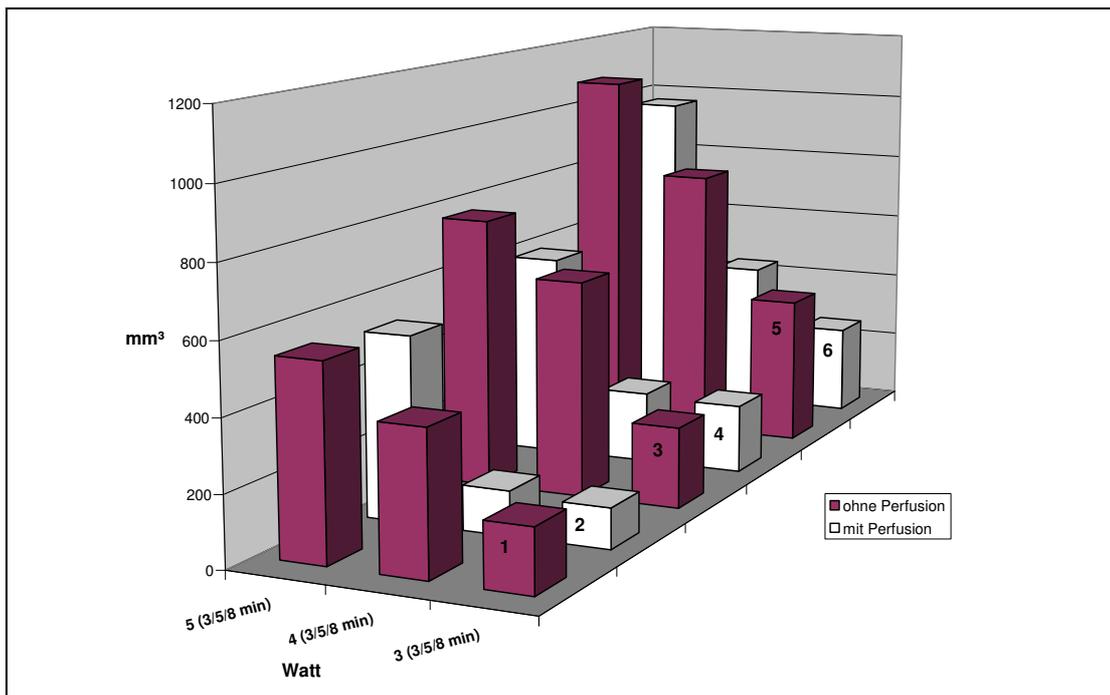


Abb. 37: Darstellung der arithmetischen Mittel der koagulierten Volumina. Die roten Balken stellen die Ergebnisse ohne Perfusion dar, die weißen Balken die Ergebnisse mit Perfusion. Die Balkenreihen 1 + 2 zeigen die Ergebnisse bei 3 Minuten Applikationszeit. Reihe 3 + 4 stellt die Ergebnisse bei 5 Minuten Applikationszeit dar. Reihe 5 + 6 zeigt die Ergebnisse bei 8 Minuten Applikationszeit.

5. Diskussion

Neuroendokrine Tumoren des Pankreas sind seltene Tumoren mit einer Prävalenz von 1/100 000 und stellen ungefähr 1 – 2 % der Pankreas-Neoplasien dar. Neuroendokrine Tumoren treten in jedem Alter auf mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem 30. und 60. Lebensjahr. Im Falle eines früheren Auftretens sollte in diesem Zusammenhang immer an das Vorliegen eines MEN-Syndroms gedacht werden (Öberg et al. 2005).

Die Behandlung der neuroendokrinen Tumoren ist eine komplexe Thematik und beinhaltet eine Reihe von Möglichkeiten (Abb. 38) (Arnold 2005).

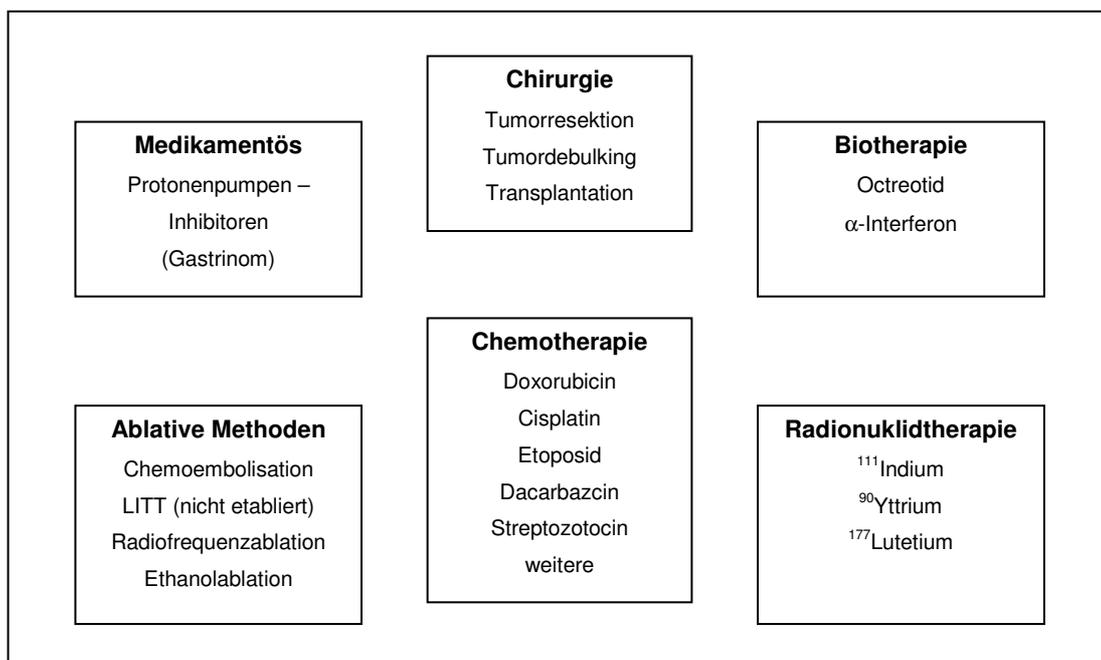


Abb. 38: Behandlungsoptionen bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren.

Die chirurgische Resektion stellt für einen Teil der Patienten mit neuroendokrinen Tumoren die Therapie der ersten Wahl dar, sofern keine Kontraindikationen für einen operativen Eingriff vorliegen. Als mögliche kurative Eingriffe werden in den meisten Fällen eine distale Pankreatektomie, eine pyloruserhaltende Pankreatikoduodenektomie oder gar eine Tumorenukleation durchgeführt (Bartsch et al. 2005). Entscheidend für den

rezidivfreien Verlauf nach chirurgischer Resektion sind die Sicherstellung eines tumorfreien Resektionsrandes (R0-Resektion) sowie der Ausschluss von Metastasen. Da aber längst nicht alle Patienten dieser Behandlungsmethode zugeführt werden können, stellt sich die Forderung nach neuen Behandlungskonzepten.

Die laserinduzierte Thermotherapie als minimal-invasives Verfahren zur Behandlung neuroendokriner Tumoren wurde nach unserem Kenntnisstand bislang nur in Einzelfällen durchgeführt und stellt somit noch kein etabliertes Verfahren für diese Fragestellung dar. Ebenso liegen auch nur wenige Ergebnisse zur LITT bei Pankreas vor (Grabig 2006, Stroszczyński et al. 2001b).

Die laserinduzierte Thermotherapie ist seit einigen Jahren bei entsprechender Erfahrung und technischer Voraussetzung ein wirksames und etabliertes Verfahren zur lokalen Destruktion von Tumoren (Fuchs et al. 1998). Weit verbreitet ist bereits die Anwendung der LITT bei primären Lebertumoren und Metastasen der Leber (Hiele et al. 1993, Huang et al. 1991, Vogl et al. 2000), jedoch zunehmend auch für die Therapie von Kopf- und Halstumoren (Jäger et al. 1996, Anzai et al. 1995), Tumoren der Brust (Akimov et al. 1998, Mumtaz et al. 2000) und Tumoren aus dem urologischen Bereich und anderen Organen (Hosten et al. 2003, Stroszczyński et al. 2001c, Mueller-Lisse et al. 1999, Gaffke et al. 2003). Derzeit gibt es eine Vielzahl an Studien zur Optimierung der klinischen Anwendung des Verfahrens. Ein Problem der laserinduzierten Thermotherapie ist die geringe Vorhersagemöglichkeit der Wärmeleitung aufgrund unterschiedlicher Gewebepfusion. Allein durch die Temperaturerhöhung im Rahmen der Lasertherapie ist von einer Änderung der Perfusion durch vasomotorische Regelmechanismen auszugehen. So kommt es durch lokale Schrumpfungsprozesse der Gefäße zu einer Verminderung der Perfusion. Ebenso zeigt die Perfusion in pathologisch verändertem Gewebe, insbesondere bei Tumoren, aufgrund zentraler Nekrosen oder pathologischen Gefäßen zum Teil erhebliche Unterschiede im Vergleich zu dem umliegenden gesunden Gewebe.

Der Erfolg der hyperthermen Behandlung maligner Tumoren beruht auf der Tatsache, dass Tumorzellen aufgrund ihrer relativen Hypoxie und ihres aziden pH-Wertes empfindlicher gegenüber Hitze reagieren als nicht maligne Zellen. Experimentell konnte gezeigt werden, dass eine Hyperthermie in einem Temperaturbereich von 42 – 60 Grad Celsius auf biochemischer Ebene Effekte induziert, die zu einer irreversiblen Zellschädigung führen. Eine Denaturierung von Enzymen und Inhibition der Aminosäure- und Proteinsynthese führt hierbei zu Membrandefekten und konsekutivem Zelltod (Fuchs et al. 1998).

Ziel der vorliegenden Studie war es, unter experimentellen Bedingungen *in vitro* das Verfahren laserinduzierte Thermoerapie hinsichtlich der Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit am Pankreas zu untersuchen. Als Monitoringverfahren sollte auf diese Weise der endoskopische Ultraschall in Hinblick auf eine spätere endosonographische Applikation auf seine Eignung getestet werden. Die Versuche wurden an *ex-vivo* Präparaten vom Schwein durchgeführt, da der histomorphologische Aufbau des Schweinepankreas dem des Menschen sehr ähnlich ist. Bei den meisten Studien zur laserinduzierten Thermoerapie handelt es sich um *in-vivo* Studien, weshalb ein direkter Vergleich nur unzureichend möglich war. Daher wurden vorab vergleichbare Messreihen an *ex-vivo* Präparaten mit Schweineleber durchgeführt.

Als Vorbereitung für eine folgende tierexperimentelle Anwendung als *in-vivo*-Studie wurde in dieser Arbeit die Einstellung der optimalen Parameter (Laserleistung, Applikationszeit, Perfusion) zunächst an *ex-vivo* Präparaten von Schweineleber und –pankreas evaluiert.

Dabei sollten folgende Fragestellungen untersucht werden:

- Lassen sich anhand dieses Versuchsaufbaus reproduzierbare Läsionsvolumina erzeugen?
- Wie stellen sich die erzeugten Läsionen morphologisch dar?
- Welche Leistungseinstellungen und Applikationszeiten eignen sich für die verschiedenen Gewebe?

- Ist der endoskopische Ultraschall (Endosonographie) ein geeignetes Monitoringverfahren zur korrekten Platzierung des Applikators und zur Verlaufsbeobachtung?
- Wie gut korrelieren die endosonographisch erhobenen Befunde mit den makroskopischen?

Im Folgenden werden die Fragestellungen anhand der erzielten Ergebnisse einzeln diskutiert.

5.1. Reproduzierbarkeit der laserinduzierten Läsionsvolumina

Das Ziel der laserinduzierten Thermotherapie als in-situ Ablationsverfahren ist die homogene Zufuhr von Wärme in Form von Energie in ein definiertes Gewebevolumen, so dass uniforme und reproduzierbare Gewebeveränderungen auftreten. Im Idealfall sollte das umliegende gesunde Gewebe vor der irreversiblen Zerstörung geschont werden.

Die Auswertung der durchgeführten Versuchsreihen zeigt, dass sich mittels der laserinduzierten Thermotherapie reproduzierbare und charakteristische Gewebläsionen erzielen lassen. Die Gewebeveränderungen stellten sich als ellipsoide bis rundliche Koagulationsnekrosen dar, in dessen Zentrum der Stichkanal deutlich zu erkennen war. Als Maß für die Reproduzierbarkeit der erzielten Läsionen wurde jeweils der Variationskoeffizient berechnet. Für die Ergebnisse der laserinduzierten Thermotherapie bei Leber ohne Perfusion errechnete sich für die makroskopisch gemessenen Läsionen ein mittlerer Variationskoeffizient von 16,9 % und für die sonographisch gemessenen von 16,8 %. Die Versuchsreihen für Leber mit Perfusion zeigten einen mittleren Variationskoeffizienten von 10,9 % für die makroskopischen Resultate und 13,3 % für die sonographisch gemessenen Läsionen.

Der mittlere Variationskoeffizient für Pankreas ohne Perfusion betrug für die makroskopischen Messungen 17 % und für die sonographischen Messungen 26,9 %. Für Pankreas mit Perfusion ergab sich für die makroskopischen Läsionen ein mittlerer Variationskoeffizient von 14,3 % und für die sonographisch ermittelten Läsionen von 15,9 %.

Dies verdeutlicht, dass sich die laserinduzierte Thermotheapie sowohl bei Leber-, als auch bei Pankreasgewebe, zur Erzeugung von morphologisch gleichartigen und in der Ausdehnung wiederholbaren Koagulationsnekrosen eignet.

5.2. Morphologische Darstellung der Läsionen

Nach jeder Laserapplikation wurde die entstandene Läsion in Längsrichtung zum Punktionskanal sorgfältig aufgeschnitten. Die hierbei entstandenen Koagulationsnekrosen ließen sich vom umgebenden Gewebe durch eine ockergelbe Farbe deutlich abgrenzen. Im Zentrum der Läsion war der Punktionskanal deutlich sichtbar.

Zur Gewinnung der mikroskopischen Präparate wurden die aufgeschnittenen Läsionen in Formalin fixiert und anschließend mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Bei Betrachtung der Präparate mit bloßem Auge konnte man bereits aufgrund der unterschiedlichen Farbintensität unterschiedliche Zonen erkennen (Abb. 16).

Diesen zonalen Aufbau der histologisch aufgearbeiteten Präparate konnten Filler et al. (2001) ebenfalls in einer Studie zur laserinduzierten interstitiellen Tumortherapie der Leber zeigen. Es wurden hier zwei innere Zonen in direkter Umgebung der Applikatorspitze definiert, wo es zentral zu einer kompletten Gewebeablation mit Karbonisierung gekommen ist und sich daran eine Zone mit den histologischen Merkmalen einer Koagulationsnekrose anschloss. Die beiden äußeren Zonen entsprachen einem Übergangsbereich, in welchem die Zellschädigungen mit zunehmender Entfernung zum Applikator stetig abnahmen.

Bei den Pankreaspräparaten konnte dieser zonale Aufbau nur ansatzweise gezeigt werden. Man erkannte lediglich eine zentrale Zone mit einer siebartig-porösen Koagulationsnekrose mit ausgeprägten Kernpyknosen, sowie kleinherdigen lipolytischen Fettgewebnekrosen, umgeben von einer Zone mit vitalem Pankreasgewebe. Eine der Applikatorspitze anliegende Zone mit Zerreißung der Zellstrukturen konnte hier nicht beobachtet werden, was vermutlich an der andersartigen Zusammensetzung des Gewebes liegt.

Durch den verminderten Blutgehalt und den erhöhten Fettgehalt des Gewebes bleibt das schlagartige Verdampfen der Zellflüssigkeit aus, wodurch sich die Koagulationsnekrose kontinuierlich entwickeln kann.

5.3. Einstellung der Laserparameter

Die Messreihen der laserinduzierten Thermotherapie wurden für Lebergewebe bei einer Leistung von 2,5 Watt bis 4 Watt und einer Applikationszeit von maximal 15 Minuten durchgeführt. Hierbei wurden Läsionsvolumina von 370 mm³ bis 1000 mm³ erzielt. Bei den endokrinen Tumoren handelt es sich in der Regel um kleine Tumoren mit einem Durchmesser von wenigen Millimetern. Legt man einen endokrinen Tumor mit einem Durchmesser von 3 mm zu Grunde, entspricht dies einem Tumolvolumen von 14 mm³. Bei einem Durchmesser von 10 mm erhöht sich das Volumen auf 524 mm³ und steigt auf 1767 mm³ bei 15 mm Durchmesser. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit als Streukörper eine Bare-Fiber verwendet. Durch die prograde Abstrahlcharakteristik eignet sich dieser Applikator besonders zur Erzeugung kleiner Läsionen bis zu einem Volumen von maximal 3000 mm³.

Zu dieser Erkenntnis kamen auch Lippert et al (2003), die die Auswirkungen der interstitiellen Lasertherapie mittels vier verschiedener Applikatoren in einem in-vitro-Modell untersuchten. Die Versuche wurden für jeden Applikator bei 5 Watt und 300 Sekunden Applikationszeit an Lebergewebe vom Schwein durchgeführt. Die erzielten Koagulationsvolumina für die Bare-Fiber lagen im Mittel bei 1500 mm³. Allerdings kam es bei diesen Leistungseinstellungen zu ausgeprägten zentralen Karbonisationen, weshalb eine weitere Größenzunahme nicht mehr möglich war.

Bremer et al. (2001) untersuchten in einer ex-vivo Studie die Effektivität der laserinduzierten Thermotherapie mit neuentwickelten, miniaturisierten Applikatoren zur Ablation kleinerer Gewebsvolumina. Die Versuche wurden ebenfalls an Leberpräparaten vom Schwein durchgeführt. Die Laserapplikation erfolgte bei 3, 5, 7 und 10 Watt bei einer Applikationszeit von 3, 5 und 10 Minuten. Es wurden hier Läsionenvolumina von 60 mm³ bis 980 mm³ erzielt. Das Applikator-Design unterschied sich in der Weise von

unserem, dass die verwendeten Applikatoren auf einer Länge von 5, 10 und 20 Millimeter homogen Laserlicht abstrahlen und nicht wie bei der Bare-Fiber punktuell an der Applikatorspitze. Dies hat zur Folge, dass die Leistungsdichte an einem definierten Punkt nicht so hoch ist wie bei der von uns verwendeten Bare-Fiber. Aus diesem Grund konnten in dieser Studie auch Leistungseinstellungen von maximal 10 Watt vorgenommen werden.

In der graphischen Darstellung der Koagulationsvolumina in Abhängigkeit von der Applikationszeit fällt auf, dass bei einer Leistung von 2,5 Watt bei 15 Minuten ein annähernd gleich großes Läsionsvolumen resultierte wie bei einer Laserleistung von 3,5 Watt bei 8 Minuten. Diese Tatsache kann insofern als bedeutsam betrachtet werden, als dass die Behandlung eines Patienten von 15 Minuten Dauer eine deutlich größere Belastung darstellt als eine Behandlungsdauer von 8 Minuten bei gleichem Resultat. Auch die Versuche mit niedrigerer Applikationszeit bei 2,5 Watt zeigten kaum Unterschiede hinsichtlich der Koagulationsvolumina im Vergleich zu den Messreihen bei 3 Watt. Mit einer Leistungseinstellung von 3 Watt und 3,5 Watt war es durch Variation der Applikationszeit möglich, Koagulationsvolumina von 370 mm³ bis 1000 mm³ zu erzielen. Eine Einstellung auf 2,5 Watt zeigte keinerlei Vorteile, da vergleichbare Läsionsgrößen nur mit höheren Applikationszeiten zu erzielen waren. Eine Laserapplikation mit 4 Watt war nur bis zu einer maximalen Applikationszeit von 3 Minuten möglich. Darüber hinaus kam es aufgrund von Karbonisation zu Leistungseinbrüchen ohne weitere Größenzunahme. Daher scheint das Leistungsoptimum zur Erzeugung kleiner Läsionen bei 3 Watt und 3,5 Watt zu liegen.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz gekühlter Applikationssysteme eine Steigerung der Ablationsvolumina möglich ist (Vogl et al. 1998, Veenendaal et al. 2006, Hosten et al. 2003). Durch den lokalen Kühleffekt kommt es zu einem Temperaturmaximum in einiger Entfernung von der Applikatorspitze. Dadurch kann mehr Leistung eingespeist werden, wodurch ein größeres Koagulationsvolumen resultiert. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen mit Perfusion mit

physiologischer Kochsalzlösung konnte dieser Vergrößerungseffekt für Lebergewebe allerdings nicht bestätigt werden. Es wurden Koagulationsvolumina von 380 mm³ bis 1060 mm³ erzielt. Bei den Versuchen mit Perfusion für Pankreasgewebe lagen die Koagulationsvolumina sogar unter denen ohne Perfusion. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre eine zu geringe Kühlmittelflussrate. Eine Erhöhung der Flussrate war jedoch aufgrund des geringen Außendurchmessers der Punktionsnadel mit 0,7 Millimeter technisch nicht möglich. Des Weiteren muss die Tatsache berücksichtigt werden, dass es sich hier um ein Kühlsystem handelt, welches die Kühlflüssigkeit direkt in das Zielgewebe abgibt. Eine theoretische Erhöhung der Flussmittelrate hätte eine vermehrte Flüssigkeitsansammlung im Gewebe zur Folge, was dazu führen würde, dass die induzierten Läsionen aufgrund struktureller Veränderungen nicht ausreichend reproduzierbar wären. Als Alternative zu diesem Kühlsystem steht das Somatex Powersystem zur Verfügung. Dieses zeichnet sich dadurch aus, dass die Kühlung durch eine intern zirkulierende Flüssigkeit gewährleistet wird. Um den Kühleffekt sicher zu stellen, ist bei diesem Kühlsystem ein bestimmter Durchmesser der Punktionsnadel notwendig. Das handelsübliche Powersystem hat einen Außendurchmesser von 2,9 Millimeter. In Anbetracht der Tatsache, dass die Zielvolumina bei unserer Fragestellung selbst nur einen Durchmesser von wenigen Millimetern haben, erscheint der Einsatz dieses Kühlsystems nicht sinnvoll.

Da es sich in dieser Arbeit um weitaus kleinere Zielvolumina handelt als in den meisten anderen Arbeiten, ist somit auch ein direkter Vergleich hinsichtlich der Kühlmittelflussrate nicht sinnvoll. Versuche mit gekühlten Applikationssystemen liegen unter anderem von N. Hosten et al. (2003) vor. Die Kühlmittelflussraten variierten hier zwischen 15 ml/h und 90 ml/h. Es wurden Koagulationsnekrosen mit einem Durchschnitt von 24 cm³ erzielt. Eine derart hohe Flussrate würde bei unseren Versuchen zu einer kompletten Durchtränkung des Gewebes führen, wodurch die eigentliche Läsion nicht mehr adäquat zu beurteilen wäre.

Der Einsatz eines Kühlsystems sollte für die in dieser Arbeit vorliegende Fragestellung auf alle Fälle kritisch beurteilt werden. Zum einen hat sich

gezeigt, dass sich der gewollte Effekt einer Volumenvergrößerung als nur unzureichend beziehungsweise sogar gegensätzlich herausgestellt hat. Zum anderen ist es sowieso fraglich, ob eine intraläsionale Kühlung für derart kleine Volumina überhaupt notwendig zu sein scheint. Um dies beurteilen zu können, sind in vivo tierexperimentelle Versuche notwendig.

Die Versuche der laserinduzierten Thermotherapie von Pankreas wurden bei einer Leistung von 3 Watt bis 5 Watt für die Dauer von 3, 5 und 8 Minuten durchgeführt. Die hierbei erzeugten Koagulationsvolumina lagen zwischen 180 mm³ und 1080 mm³. Die mittleren Durchmesser der Läsionen betragen 7 bis 16 Millimeter. In den letzten Jahren wurden die ersten Erfolg versprechenden Ergebnisse der Radiofrequenzablation des Pankreas veröffentlicht. Merkle et al. 1999 untersuchten die MRT-gesteuerte Radiofrequenzablation des Pankreas anhand eines Schweinemodells. Die hierbei erzielten Koagulationsnekrosen betragen eine Woche nach Ablation 12 bis 15 Millimeter im maximalen Durchmesser. Es muss selbstverständlich die Tatsache berücksichtigt werden, dass es sich bei sämtlichen Studien zur thermalen Ablation von Pankreas um in-vivo Studien handelt. Hinsichtlich der Vergleichbarkeit ex-vivo versus in-vivo der thermischen Effekte ist an dieser Stelle anzumerken, dass entscheidende Faktoren wie Blutfluss, Einwandern von Makrophagen und Fibroblasten und letztlich Bildung von kollagenen Fasern nicht vernachlässigt werden dürfen. Die protektive Wirkung des Blutflusses im Sinne einer Wärmeableitung und die Umbauvorgänge durch zelluläre Einsprossung sind eine Erklärung für die teilweise deutlich kleineren Läsionen der in-vivo Ergebnisse (Filler et al. 2001). Nach unserem Kenntnisstand existieren bislang noch keine Studien zur ex-vivo Ablation des Pankreas.

In einer Studie von Goldberg et al. (1999) wurde über die endosonographisch-gesteuerte Radiofrequenzablation des Pankreas in einem Schweine-Modell berichtet. Die dort erzielten Koagulationsnekrosen zeigten einen Durchmesser von 8 bis 12 Millimeter, welche von einem 1 bis 2 Millimeter breiten hämorrhagischen Saum umgeben waren.

Die erste Arbeit zur laserinduzierten Thermotherapie des Pankreas wurde 2001 von Stroszczyński et al. veröffentlicht. Hier erfolgte die

Applikatorplatzierung unter CT-gesteuerter perkutaner Punktion. Die Laserapplikation erfolgte bei Leistungseinstellungen von 5 Watt bis maximal 20 Watt (intern gekühlt) für 15 Minuten mit einem Diffusor-Tip-Applikator. Die erzielten thermalen Läsionen in der Gruppe 5 Watt betragen 12 bis 17 Millimeter im maximalen Durchmesser und 30 Millimeter in der Gruppe 20 Watt (Stroszczyński et al. 2001c).

Spiezia et al. (2003) berichteten über die Ultraschall-gesteuerte Laserablation in der Behandlung von autonomen Schilddrüsenknoten. Es wurden sieben Patienten mit solitären autonomen Knoten der Schilddrüse und einem Volumen von 1300 mm³ bis maximal 4500 mm³ der interstitiellen Laserablation zugeführt. Zur Anwendung kam auch hier als Applikator eine Bare Fiber. Die Applikation erfolgte einmalig bei 4 Watt beziehungsweise 5 Watt bis zu einer maximalen Energieabgabe von 1800 J. Dafür waren Expositionszeiten von 360 Sekunden beziehungsweise 450 Sekunden notwendig. Nach 12 Monaten konnte in allen Fällen eine deutliche Volumenreduktion der Knoten um durchschnittlich 75 % beobachtet werden. Die Tatsache, dass es sich hier um Schilddrüsengewebe handelte, darf natürlich nicht außer Acht gelassen werden. Aus diesem Grund ist ein Vergleich mit den in unserer Studie erhobenen Daten nur bedingt möglich.

Aus den aufgeführten Arbeiten wird eindeutig ersichtlich, dass die erzielten Koagulationsnekrosen alle im Bereich unserer Ergebnisse liegen, unabhängig davon ob es sich um die Radiofrequenzablation oder die laserinduzierte Thermoablation handelt. Diese Beobachtung würde auch die bereits von Stroszczyński et al. (2001) beschriebene Vermutung bestätigen, dass das normale Pankreasgewebe in ähnlicher Weise auf die Thermoablation durch Hochfrequenzstrom reagiert wie durch Laserlicht.

5.4. Der endoskopische Ultraschall als Monitoringverfahren

Als weitere Fragestellung sollte untersucht werden, ob sich die Endosonographie als Monitoringverfahren für die laserinduzierte Thermoablation eignet, da sich die LITT als in-situ Ablationsverfahren der visuellen Kontrolle entzieht.

Die Endosonographie (EUS) eignet sich als hochauflösende bildgebende Methode hervorragend zur Beurteilung der retroperitonealen endokrinen Organe (Kann 2006a, Kann et al. 1998a, Kann et al. 1998b, Kann et al. 2001). Insbesondere bei der Darstellung der Nebennieren und des endokrinen Pankreas gewinnt die Endosonographie zunehmend an Bedeutung. So ist es mit Hilfe der Endosonographie neben der Darstellung kleinster pathologischer Veränderungen auch möglich, hilfreiche Informationen zur Dignität von Nebennieren- und Pankreasraumforderungen zu erhalten (Kann et al. 2006d).

Zur endosonographischen Darstellung der laserinduzierten Thermotherapie stand uns für diese Studie ein Pentax FG-32UA Endoskop mit einem longitudinalen 7,5 MHz Scanner zur Verfügung. Der longitudinal angeordnete Schallkopf bietet den Vorteil, dass sich die Nadel in ihrem ganzen Verlauf im Gewebe verfolgen lässt (Kann 2006a).

In jedem einzelnen Versuch konnte die zentrale Platzierung des Applikators ohne Probleme erfolgen. Die anschließende Laserablation wurde kontinuierlich verfolgt und aufgezeichnet. Die induzierte Läsion konnte im Anschluss an die Laserapplikation bei allen Durchgängen zweifelsfrei identifiziert und vermessen werden.

Auch in weiteren Studien erwies sich die Endosonographie als praktikables Monitoringverfahren zur in-situ Ablation von Pankreasgewebe (Chan et al. 2004, Aslanian et al. 2005, Jürgensen et al. 2006).

In der Literatur wurde die Magnetresonanztomographie (MRT) als Monitoringverfahren zur Thermoablation bereits vielfach beschrieben und hat sich als hervorragende Methode zur interventionellen Bildgebung herausgestellt (Mack et al. 2001, Mumtaz et al. 2000, Stroszczyński et al. 2001c, Vogl et al. 2004). Fokus dieser Studien ist unter anderem die minimal-invasive Therapie von Lebermetastasen. In der Regel handelt es sich hier um Zielstrukturen von mehreren Zentimetern Durchmesser. Daher stellt sich die Frage, ob sich die MRT auch als Monitoringverfahren von Zielstrukturen von wenigen Millimetern Durchmesser eignet.

Fokussiert man das Interesse auf Pankreasbefunde mit einem Durchmesser von < 15 mm, weist die Endosonographie 5- bis 20-mal mehr Raumforderungen als die Schnittbildgebung nach. Die Nachweisgrenze von neuroendokrinen Tumoren des Pankreas liegt bei einem Tumordurchmesser von etwa 2 Millimetern (Kann et al. 2006b, Kann et al. 2006c, Kann et al. 2006d).

In einer Studie von Zimmer et al. (2000) wurde die Sensitivität von Endosonographie, CT, MRT, Somatostatinrezeptorzintigraphie (SRS) und abdominellen Ultraschall in der Lokalisation von neuroendokrinen Pankreastumoren untersucht. Der mittlere Tumordurchmesser betrug 17 Millimeter. Dabei zeigte sich, dass die Endosonographie mit einer Sensitivität von 94 % deutlich über der der anderen Verfahren lag. Die Sensitivität der MRT lag in dieser Studie bei 13 %.

Die Überlegenheit der Endosonographie in der Diagnostik von Pankreastumoren gegenüber der MRT wird auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben (Kann et al. 2005, Meyenberger et al. 1995, Schumacher et al. 1996, Rösch et al. 1992).

Als weiteren Vorteil der Endosonographie kann angeführt werden, dass die Punktion der Zielstruktur, die Platzierung des Applikators und die kontinuierliche Verlaufsbeobachtung des Laservorgangs nach einmaliger Positionierung des Endoskops erfolgen kann, wohingegen bei MRT-gesteuerten Verfahren die Punktion in der Regel CT-gesteuert erfolgt und die Verlaufsbeobachtung erst nach Umlagerung des Patienten auf den MRT-Tisch möglich ist. Eine direkte MRT-gestützte Punktion am geschlossenen Tomographen erwies sich bei anderen Arbeitsgruppen in der Vergangenheit als problematisch. Dies birgt natürlich das Risiko, dass es durch den Umlagerungsvorgang zu einer Dislokation der Applikatorspitze und damit zu einer ungezielten Ablation kommt. Auch in diesem Fall erweist sich die Endosonographie als vorteilhafter, da bei einer Dislokation des Applikators eine Korrektur der Lage wesentlich einfacher und unkomplizierter durchgeführt werden kann.

5.5. Korrelation der erzielten Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse der endosonographisch gemessenen Läsionen und der makroskopischen wurden zueinander in Beziehung gesetzt. Da sowohl endosonographisch als auch makroskopisch die Ausdehnung der Läsionen anhand der maximalen Durchmesser gemessen wird und das Volumen mit Hilfe dieser Daten theoretisch berechnet wird, erfolgte die Bestimmung der Korrelationskoeffizienten mittels der axialen Durchmesser für die endosonographischen und makroskopischen Ergebnisse. Hierfür ergab sich für die Versuche mit Lebergewebe ohne Perfusion ein linearer Korrelationskoeffizient von $r = 0,94$. Für den Vergleich der endosonographischen Resultate für Lebergewebe mit Perfusion konnte ein linearer Korrelationskoeffizient von $r = 0,90$ nachgewiesen werden. Bei den Messreihen mit Pankreasgewebe errechnete sich für die Daten ohne Perfusion ein linearer Korrelationskoeffizient von $r = 0,96$ und für die Daten mit Perfusion von $r = 0,97$. In einer Arbeit von Hansler et al. (1998) zur ultraschall-kontrollierten Hochfrequenzstrominduzierten Thermotherapie an ex vivo Rinderleber wurde ein Korrelationskoeffizient zwischen makroskopischen und sonographischen axialen Durchmessern von $r = 0,96$ beschrieben.

Auffällig war, dass die endosonographischen Ergebnisse im Durchschnitt etwas kleiner gemessen wurden, als die tatsächlichen makroskopischen.

Diese Beobachtung geht auch aus einer Studie von Ritzel et al. (2001) hervor, in der die Ultraschall-gesteuerte laserinduzierte Thermotherapie an ex vivo Lebergewebe vom Schwein untersucht wurde. Hierbei zeigte sich, dass die Ausdehnung und Lokalisation des sonographisch sichtbaren Koagulationsherdes gut mit den makroskopischen Beobachtungen korrelierte, jedoch lagen auch hier die sonographisch ermittelten Durchmesser im Durchschnitt unter den makroskopischen.

Auch Goldberg et al. (1999) konnten eine exzellente Korrelation zwischen den endosonographischen und makroskopischen Durchmessern mit einer Abweichung von 2 Millimetern für die EUS-gesteuerte Radiofrequenzablation im Pankreas zeigen. Diese Abweichung lässt sich auch auf unsere

Ergebnisse hervorragend übertragen. Legt man eine Läsion mit 10 mm Durchmesser zugrunde und betrachtet man dazu die von uns beobachtete maximale Abweichung der sonographischen Messwerte von den makroskopischen von ca. 20 %, so zeigt sich auch hier eine Abweichung von bis zu 2 Millimetern.

Stroszczyński et al. (2002) untersuchten in einer in vivo Studie zur laserinduzierten Thermotherapie bei malignen Lebertumoren den Einsatz der Sonographie zur Katheterplatzierung und Prozesskontrolle. Als Referenzverfahren zum Monitoring wurde die Magnetresonanztomographie verwendet und mit den sonographischen Messungen korreliert. Es wurde hier ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,85$ beschrieben. Im Gegensatz zu den in unserer Arbeit gemachten Beobachtungen lagen die sonographischen Durchmesser durchschnittlich 5 Millimeter über den tatsächlichen makroskopischen. Dieses Phänomen wurde dadurch erklärt, dass es über die Ablationsgrenze hinaus zum Übertritt von Gasbläschen in das vitale Gewebe kam.

Bei den sonographisch-gestützten Verfahren darf natürlich nicht außer Acht gelassen werden, dass es sich bei den Messwerten um subjektive Ergebnisse handelt, die von Untersucher zu Untersucher einer gewissen Varianz unterliegen. Unsere Studie hat aber gezeigt, dass sich die Abweichungen zwischen sonographischen und makroskopischen Ergebnissen in der Tendenz nicht wesentlich von denen in den angeführten Studien unterscheiden. Berücksichtigt man nun noch die Tatsache, dass unser Versuchsaufbau keinem derer in anderen Studien gleicht, ist ein exakter Vergleich der Ergebnisse nur bedingt sinnvoll.

5.6. Schlussfolgerungen

- Die laserinduzierte Thermotherapie (LITT) stellt ein geeignetes Verfahren zur Induktion reproduzierbarer Koagulationsnekrosen im Pankreasgewebe des Schweins dar.
- Der Einsatz eines Kühlsystems zur Erzielung größerer Nekrosen hat sich bei dem vorliegenden Versuchsaufbau als nicht sinnvoll gezeigt.

- Die durchgeführten Korrelationsanalysen zeigen eine hohe Übereinstimmung zwischen makroskopischer und endosonographischer Nekrosegröße.
- Die Endosonographie stellt ein hervorragendes Monitoringverfahren zur Applikatorplatzierung und Prozessbeobachtung dar.
- Um eine spätere klinische Anwendung sicher zu ermöglichen, sollten die vorliegenden Ergebnisse zunächst anhand eines geeigneten tierexperimentellen Modells überprüft werden.

6. Zusammenfassung

Zielsetzung: Im Rahmen dieser Studie wurde die Durchführbarkeit der endosonographisch-gestützten laserinduzierten Thermotherapie (LITT) an ex vivo Leber- und Pankreasgewebe vom Schwein mit Hilfe eines Nd:YAG-Lasers untersucht. In Hinblick auf eine spätere klinische Anwendung zur minimal-invasiven Behandlung von neuroendokrinen Tumoren des Pankreas, wurde in dieser Arbeit das Verfahren auf seine Eignung überprüft.

Methode: Die Laserapplikation erfolgte für Lebergewebe bei Leistungseinstellungen von 2,5 Watt, 3 Watt, 3,5 Watt und 4 Watt bei variabler Applikationszeit von 3 bis 15 Minuten. Für Pankreasgewebe wurden Leistungseinstellungen von 3 Watt, 4 Watt und 5 Watt vorgenommen bei einer Applikationszeit von 3 bis 8 Minuten. Um den Effekt einer intraläsionalen Kühlung zu untersuchen, wurden alle Messreihen auch mit Perfusion mit 0,9 % Kochsalzlösung als Kühlmittel bei einer Flussrate von 2 ml/h durchgeführt. Als Laserapplikator kam eine Bare-Fiber mit einer prograden Abstrahlcharakteristik zum Einsatz. Die Positionierung des Laserapplikators sowie die Verlaufsbeobachtung während des Laservorgangs erfolgten als simulierte Situation unter kontinuierlicher endosonographischer Kontrolle. Die erzeugten Koagulationsnekrosen wurden im Anschluss an den Laservorgang endosonographisch und makroskopisch in ihrer maximalen Ausdehnung vermessen und das theoretische Läsionsvolumen berechnet.

Ergebnisse: Bei den Versuchsreihen mit Lebergewebe wurden Koagulationsnekrosen mit einem durchschnittlichen Volumen von 370 mm³ bis 1000 mm³ erzielt. Dabei zeigte sich, dass der Effekt der intraläsionalen Kühlung zu keiner Vergrößerung der Läsionen führte. Die Messungen mit Pankreasgewebe erzielten durchschnittliche Läsionsvolumina von 180 mm³ bis 1080 mm³. Der Einfluss der Perfusion führte hier sogar zu einer geringen Verkleinerung der Läsionen.

Alle induzierten Läsionen konnten endosonographisch klar abgegrenzt und vermessen werden.

Mit den durchgeführten Korrelationsanalysen konnte gezeigt werden, dass die Endosonographie ein hervorragendes Monitoringverfahren darstellt, um die Applikatoren sicher zu positionieren und den Laserprozess zu überwachen. Die endosonographisch und makroskopisch gemessenen axialen Durchmesser korrelierten für Lebergewebe mit einem linearen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,94$ und für Pankreasgewebe von $r = 0,96$.

Beurteilung: In dieser Studie stellte sich die laserinduzierte Thermotherapie als geeignetes Verfahren zur Erzeugung von reproduzierbaren Koagulationsnekrosen am ex vivo Gewebe der Leber und des Pankreas dar. Der Einsatz eines Kühlsystems ist für die vorliegende Zielsetzung und auch in Hinblick auf eine spätere klinische Anwendung nicht sinnvoll. Die Endosonographie ist als Monitoringverfahren zur Applikatorplatzierung und Prozessbeobachtung hervorragend geeignet. Ob sich diese Ergebnisse auch auf in vivo Studiendesigns übertragen lassen, sollte an einem geeigneten Modell überprüft werden. Hierzu ist eine tierexperimentelle Studie bereits in Planung.

7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

7.1. Tabellen

Tabelle 1 **Seite 14**

Einteilung der Laser in Abhängigkeit des Lasermediums.

Tabelle 2 **Seite 19**

Applikationsprotokolle für Leber und Pankreas. Die mittlere Spalte zeigt die gewählte Leistung. In der linken Spalte sind die Applikationszeiten angegeben, mit der die Organpräparate bei der jeweiligen Leistungseinstellung behandelt wurden.

Tabelle 3 **Seite 37**

Übersicht über die makroskopischen Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Leber ohne Perfusion. Die Tabelle zeigt das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens \pm Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit.

Tabelle 4 **Seite 42**

Übersicht über die makroskopischen Versuchsergebnisse für die Laserapplikation bei Leber mit Perfusion bei einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h. Die Tabelle zeigt das jeweilige arithmetische Mittel des axialen und des radialen Durchmessers und des koagulierten Volumens \pm Standardabweichung vom Mittelwert in Abhängigkeit von Laserleistung und Applikationszeit.

Tabelle 5 **Seite 46**

Übersicht der LITT bei Pankreas ohne Perfusion (makroskopisch).

Tabelle 6 **Seite 50**

Übersicht der LITT bei Pankreas mit Perfusion (makroskopisch).

7.2. Abbildungen

Abbildung 1

Seite 11

In einem 3-Niveau-Lasersystem kann bei sehr intensivem Pumpen im oberen Laserniveau eine höhere Besetzung als im Grundzustand erreicht werden.

Abbildung 2

Seite 12

In einem 4-Niveau-Lasersystem kann auch durch schwaches Pumpen im oberen Laserniveau eine Besetzungsinversion gegenüber dem unteren Laserniveau erreicht werden, weil sich das untere Laserniveau wegen seiner Kurzlebigkeit sofort entleert.

Abbildung 3

Seite 13

Optischer Resonator: Die beiden Spiegel verhindern ein frühzeitiges Austreten der Photonen aus dem Lasermedium. Durch Reflexion der Photonen entsteht eine stehende Welle. Dadurch steigt die Wahrscheinlichkeit der stimulierten Emission und damit der Lichtverstärkung. Durch den teildurchlässigen Spiegel tritt der gewünschte Laserstrahl aus.

Abbildung 4

Seite 17

Schematische Darstellung einer Bare-Fiber mit der kegelförmigen Abstrahlcharakteristik. Dargestellt ist der Aufbau des Lichtwellenleiters mit seinem Quarkern und der Ummantelung, dem so genannten Coating und Cladding.

Abbildung 5

Seite 17

Abstrahlungscharakteristik der Bare-Fiber in einer leicht streuenden Flüssigkeit.

Abbildung 6

Seite 18

Versuchsaufbau nach erfolgreicher Punktion eines Pankreaspräparats unter sonographischer Kontrolle.

Abbildung 7

Seite 20

Ultraschall Nadel-System vom Typ Hancke-Vilmann.

Abbildung 8

Seite 21

2-Kanal-Spritzenpumpe mit eingespannter Perfusor-Spritze.

Abbildung 9

Seite 22

Darstellung der verwendeten Arbeitsutensilien.

Abbildung 10 - 13

Seite 25 ff

Laserapplikation in einem Pankreaspräparat bei 4 Watt/5 Minuten: Bild Nr. 1 zeigt das Präparat vor der Laserbehandlung. Bild Nr. 2 zeigt bereits nach 1 Minute einen deutlich abgrenzbaren echoreichen Herd. Bild Nr. 3 zeigt die Läsion nach 3 Minuten Laserapplikation. Deutlich zu erkennen ist die Größenzunahme und die Echodichte. Bild Nr. 4 zeigt die entstandene Läsion nach 5 Minuten Laserapplikation. Die Punktionsnadel ist noch intraläsional.

Abbildung 14

Seite 28

Makroskopische Darstellung eines Leberstückes nach erfolgter Laserapplikation bei 3W/8min. Schön zu erkennen ist der hämorrhagische Randsaum.

Abbildung 15

Seite 29

Koaguliertes Pankreasgewebe nach einer Exposition von 3W/3min.

Abbildung 16

Seite 30

Lichtmikroskopische Aufnahme eines mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Gewebeschnittes. Dargestellt sind die einzelnen intraläsionalen Zonen. Rechts im Bild ist das Zentrum der Läsion abgebildet, wo sich die Applikatorspitze befand.

Abbildung 17

Seite 31

Lichtmikroskopische Aufnahme eines mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Gewebeschnittes. Der Ausschnitt zeigt ein mittels laserinduzierter Thermoerapie geschädigtes Schweinelebergewebe. Im rechten und unteren Bildrand ist eine ausgeprägte Koagulationsnekrose mit Zerstörung der Hepatozyten zu erkennen. Der linke Bildrand zeigt den Übergang von zerstörtem zu geschädigtem Gewebe, erkennbar durch die starke Erweiterung der Sinusoide. Das Periportalfeld wurde komplett zerstört.

Abbildung 18

Seite 32

Übersichtsvergrößerung eines HE gefärbten Pankreaspräparats nach LITT.

Abbildung 19

Seite 32

Vergrößerungsaufnahme der Nekrosezone nach LITT am Pankreaspräparat.

Abbildung 20

Seite 34

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 2,5 Watt. Angegeben sind das jeweilige arithmetische Mittel und die Standardabweichung vom Mittelwert. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 6,5 %.

Abbildung 21

Seite 35

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 3 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichung. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 5,7 %.

Abbildung 22

Seite 36

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 3,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 20,4 %.

Abbildung 23

Seite 37

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber ohne Perfusion bei 4 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Abweichung des sonographischen Wertes 9,1 %.

Abbildung 24

Seite 38

lineare Korrelation für Durchmesser nach LITT der Leber ohne Perfusion.

Abbildung 25

Seite 39

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 2,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 8,5 %.

Abbildung 26

Seite 40

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 3 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 8,5 %.

Abbildung 27

Seite 41

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2ml/h NaCl bei 3,5 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittlere Abweichung der sonographischen Werte 10,7 %.

Abbildung 28

Seite 42

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Leber mit einer Kühlmittelflussrate von 2 ml/h bei 4 Watt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Abweichung des sonographischen Wertes 8,1 %.

Abbildung 29

Seite 43

lineare Korrelation für Durchmesser nach LITT der Leber mit Perfusion.

Abbildung 30

Seite 44

Darstellung der arithmetischen Mittel der koagulierten Volumen. Die roten Balken stellen die Ergebnisse ohne Perfusion dar, die weißen Balken die Ergebnisse mit Perfusion. Die Balkenreihen 1 + 2 zeigen die Ergebnisse bei niedriger Applikationszeit. Reihe 3 + 4 stellt die Ergebnisse bei mittlerer Applikationszeit dar. Reihe 5 + 6 zeigt die Ergebnisse bei hoher Applikationszeit. Die entsprechenden Applikationszeiten sind in Klammern mit angegeben.

Abbildung 31

Seite 45

Einfluss auf die Läsionsvolumina bei Erhöhung der Applikationszeit. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte mit den jeweiligen Standardabweichungen.

Abbildung 32

Seite 46

Vergleich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen für die sonographisch gemessenen Koagulationsvolumina. Dabei fiel auf, dass die sonographischen Messwerte zwischen 10 % und 15 % unterhalb der makroskopisch gemessenen Werte lagen.

Abbildung 33

Seite 47

lineare Korrelation für die Durchmesser nach LITT bei Pankreas ohne Perfusion.

Abbildung 34

Seite 48

Dosis-Wirkungs-Beziehungen für Pankreas mit Perfusion bei 2ml/h.

Abbildung 35

Seite 49

Vergleich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen für die sonographisch gemessenen Koagulationsvolumina.

Abbildung 36

Seite 50

lineare Korrelation für die Durchmesser nach LITT bei Pankreas mit Perfusion.

Abbildung 37

Seite 51

Darstellung der arithmetischen Mittel der koagulierten Volumen. Die roten Balken stellen die Ergebnisse ohne Perfusion dar, die weißen Balken die Ergebnisse mit Perfusion. Die Balkenreihen 1 + 2 zeigen die Ergebnisse bei 3 Minuten Applikationszeit. Reihe 3 + 4 stellt die Ergebnisse bei 5 Minuten Applikationszeit dar. Reihe 5 + 6 zeigt die Ergebnisse bei 8 Minuten Applikationszeit.

Abbildung 38

Seite 52

Behandlungsoptionen bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren.

8. Literatur

Åkerström G, Hessmann O, Skogseid B (2002)
Timing an extent of surgery in symptomatic and asymptomatic neuroendocrine tumors of the pancreas in MEN-1.
Langenbecks Arch Surg; 386: 558 – 569

Åkerström G, Hellman P, Hessman O, Osmak L (2004)
Surgical treatment of endocrine pancreatic tumours.
Neuroendocrinology; 80(suppl 1): 62 – 66

Akimov AB, Seregin VE, Rusanov KV, Tyurina EG et al (1998)
Nd:YAG interstitial laser thermotherapy in the treatment of breast cancer.
Lasers Surg Med; 22: 257 – 267

Anderson MA, Carpenter S, Thompson NW et al. (2000)
Endoscopic ultrasound is highly accurate and directs management in patients with neuroendocrine tumors of the pancreas.
Am J Gastroenterol; 95: 2271 – 2277

Anzai Y, Lufkin R, De Salles A et al (1995)
Preliminary experience with MR-guided thermal ablation of brain tumors.
Am J Neuroradiol; 16: 39 – 48

Arnold R (2005)
Endocrine tumours of the gastrointestinal tract. Introduction: Definition, historical Aspects, classification, staging, prognosis and therapeutic options.
Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol; 19(4): 491 – 505

Aslanian H, Salem RR, Marginean C, Robert M, Lee JH, Topazian M (2005)
EUS-guided ethanol injection of normal porcine pancreas: a pilot study.
Gastrointest Endosc; 62(5): 723 – 727

Bartsch DK, Fendrich V, Langer P, Kann PH, Rothmund M (2005)
Outcome of duodenopancreatic resections in patients with multiple endocrine
neoplasia type 1.
Ann Surg; 242: 757 – 766

Bhuyan BK (1979)
Kinetics of cell kill by hyperthermia
Cancer Res; 39: 2277 – 2282

Bown SG (1983)
Phototherapy of tumors
World J Surg; 7: 700 – 709

Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.
(2001)
Pancreatic Endocrine Tumors.
In: Harrison's Principles of Internal Medicine: 599 – 603
McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York

Bremer C, Kreft G, Roggan A, Filler T, Reimer P (2001)
Ex Vivo Evaluation of Novel Miniaturized Laser-Induced Interstitial
Thermotherapy Applicators for Effective Small-Volume Tissue Ablation.
Invest Radiol; 36(6): 327 – 334

Chan HH, Nishioka NS, Mino M, Lauwers GY, Puricelli WP et al. (2004)
EUS-guided photodynamic therapy of the pancreas: a pilot study.
Gastrointest Endosc; 50(1): 95 – 99

Charnley RM, Doran J, Morris DL (1989)
Cryotherapy for liver metastases: a new approach.
Br J Surg; 76: 1040 – 1041

Eder M, Weiss M (1991)

Hämatogene Lebermetastasen – humanpathogene Grundlagen

Chirurg; 62: 705 – 709

Fendrich V, Langer P, Celik I, Bartsch DK, Zielke A, Ramaswamy A, Rothmund M (2006)

An aggressive surgical approach leads to long-term survival in patients with pancreatic endocrine tumors.

Ann Surg; 244(6): 845 – 853

Fielding DI, Buonaccorsi G, Cowley G, Johnston AM et al. (2001)

Interstitial Laser Photocoagulation and Interstitial Photodynamic Therapy of Normal Lung Parenchyma in the Pig.

Lasers Med Sci; 16: 26 – 33

Filler TJ, Bremer C, Peuker ET, Bankert J, Kreft G, Reimer P (2001)

Pathomorphologie der Laser-induzierten interstitiellen Tumor-Thermotherapie an der Leber.

Radiologe; 41: 181 – 186

Foster JH (1978)

Survival after liver resection for secondary tumors

Am J Surg; 135: 389 – 394

Fuchs B, Philipp C, Berlien HP (1998)

Laser procedures for tumour ablation and destruction.

Minim Invasive Ther Allied Technol; 6: 489 – 494

Gabril F, Reynolds JC, Doppman JL et al. (1996)

Somatostatin receptor scintigraphy: Its sensitivity compared with that of other imaging methods in detecting primary and metastatic gastrinomas.

Ann Intern Med; 125: 26 – 34

Gaffke G, Stroszczyński C, Felix R (2003)

Laserinduzierte Thermotherapie einer Nebennierenmetastase.

Rofo; 175: 705 – 706

Gibril F, Schumann M, Pace A et al. (2004)

Multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: A prospective study of 107 cases and comparison with 1009 cases from literature.

Medicine 2004; 83: 43 – 83

Goldberg SN, Mallery S, Gazelle GS, Brugge WR (1999)

EUS-guided radiofrequency ablation in the pancreas: results in a porcine model.

Gastrointest Endosc; 50(3): 392 – 401

Grabig A Dissertation (2006)

Magnetresonanztomographisch gestützte laserinduzierte Thermotherapie am Pankreas des Schweins in vivo mit histopathologischer Korrelation.

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Gutzler F, Stremmel W (1998)

Lebertumoren

In: Classen M, Diehl V, Kochsiek K (Hrsg): Innere Medizin

Urban & Schwarzenberg München – Wien – Baltimore, 4. Auflage.

Hansler J, Becker D, Müller W, Neureiter D, Hahn EG (1998)

Ultrasound-controlled interstitial high frequency thermotherapy (HFTT) – in vitro studies of the bovine liver.

Ultraschall Med; 19(2): 59 – 63

Henne-Bruns D, Düring M, Kremer B (2003)

Sekundäre Lebertumoren

In: Duale Reihe Chirurgie

Georg Thieme Verlag Stuttgart

Hiele M, Penninckx F, Gevers AM, Van Eyken P et al (1993)
Interstitial thermotherapy for liver tumors: Study of different fibers and radiation characteristics.
Lasers Med Sci; 8: 121 – 126

Huang GT, Wang TH, Sheu JC, Daikuzono N et al (1991)
Low-power laserthermia for treatment of small hepatocellular carcinoma.
Eur J Cancer; 27: 1622 – 1627

Hosten N, Stier A, Weigel C, Kirsch M, Puls R, Nerger J, Jahn D, Stroszcynski C, Heidecke CD, Speck U (2003)
Laser induzierte Thermotherapie von Lungenmetastasen: Beschreibung eines miniaturisierten Applikators, Optimierung und erste Patientenbehandlungen.
Rofo; 175: 393 – 400

Jaeck D, Bachellier P, Guiguet M (1997)
Long-term survival following resection of colorectal hepatic metastases.
Br J Surg; 84: 977 – 980

Jäger L, Müller-Lisse GU, Gutmann R, Feyh J, Thoma M, Reiser M (1996)
Erste Ergebnisse der MRT-gesteuerten laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie von Kopf- und Halstumoren.
Radiologe; 36: 236 – 244

Jürgensen C, Schuppan D, Naser F, Ernstberger J, Junghans U, Stölzel U (2006)
EUS-guided alcohol ablation of an insulinoma.
Gastrointest Endosc; 63(7): 1059 – 1062

Kann PH, Bittinger F, Hengstermann C, Engelbach M, Beyer J (1998a)
Endosonographische Darstellung der Nebennieren: Eine neue Methode.
Ultraschall Med; 19: 4 – 9

Kann PH, Bittinger F, Hengstermann C, Engelbach M, Beyer J (1998b)
Endosonography of the adrenal glands: normal size – pathological findings.
Exp Clin Endocrinol Diabetes; 106: 123 – 129

Kann PH, Bittinger F, Engelbach M, Bohner S, Weis A, Hengstermann C,
Beyer J (2001)
Endosonography of insulin-secreting and clinically non-functioning
neuroendocrine tumors of the pancreas: criteria for benignancy and
malignancy.
Eur J Med Res; 6: 385 – 390

Kann PH, Rothmund M, Zielke A (2005)
Endoscopic ultrasound imaging of insulinomas: limitations and clinical
relevance.
Exp Clin Endocrinol Diabetes; 113(8): 471 – 474

Kann PH (2006a)
Endosonographische Bildgebung bei neuroendokrinen Pankreastumoren –
Eine kritische Bestandsaufnahme.
Med Klin; 101: 546 – 551

Kann PH, Kann B, Fassbender WJ, Forst T, Bartsch DK, Langer P (2006b)
Small neuroendocrine pancreatic tumors in multiple endocrine neoplasia type
1 (MEN1): least significant change of tumor diameter as determined by
endoscopic ultrasound (EUS) imaging.
Exp Clin Endocrinol Diabetes; 114(7): 361 – 365

Kann PH, Balakina E, Ivan D, Bartsch DK, Meyer S, Klose K-J, Behr T,
Langer P (2006c)
Natural course of small, asymptomatic neuroendocrine pancreatic tumours in
multiple endocrine neoplasia type 1: an endoscopic ultrasound imaging
study.
Endocr Relat Cancer; 13: 1195 – 1202

Kann PH, Meyer S, Zielke A, Langer P, Ivan D (2006d)
Die neue Rolle der Endosonographie in der Endokrinologie: Bildgebung der Nebennieren und des endokrinen Pankreas.
Dtsch Med Wochenschr; 131: 567 – 572

Kann PH, Ivan D, Pfützner A, Forst T, Langer P, Schäfer S (2007)
Preoperative diagnosis of insulinoma: low body mass index, young age, and female gender are associated with negative imaging by endoscopic ultrasound.
Eur J Endocrinol; 157(2): 209 – 213

Kann PH (2007a)
The value of endoscopic ultrasound in localizing gastrinoma.
Wien Klin Wochenschr; 119(19-20): 585 – 587

Kikuchi M, Ohkura N, Yamaguchi K et al. (2004)
Gene dose mapping delineated boundaries of a large germline deletion responsible for multiple endocrine neoplasia type 1.
Cancer Lett; 208: 81 – 88

Kouvaraki MA, Shapiro SE, Cote GJ et al. (2006)
Management of Pancreatic Endocrine Tumors in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1.
World J Surg; 30: 643 – 653

Langer P, Kann PH, Fendrich V, Richter G, Diehl S, Rothmund M, Bartsch DK (2004)
Prospective evaluation of imaging procedures for the detection of pancreaticoduodenal endocrine tumors in patients with multiple endocrine neoplasia type 1.
World J Surg; 28(12): 1317 – 1322

- Langer P, Bartsch DK, Fendrich V et al. (2005)
Minimal-invasive operative treatment of organic hyperinsulinism.
Dtsch Med Wochenschr; 130: 514 – 518
- Lippert BM, Teymoortash A, Folz BJ, Werner JA (2003)
Coagulation and temperatur distribution in Nd: YAG interstitial laser
thermotherapy: an in vitro animal study.
Lasers Med Sci; 18: 19 – 24
- MacFarlane MP, Fraker DL, Alexander HR et al. (1995)
Prospective study of surgical resection of duodenal and pancreatic
gastrinomas in multiple endocrine neoplasia type 1.
Surgery; 118: 973 – 979
- Mack MG, Straub R (2001)
Percutaneous MR imaging-guided laser-induced thermotherapy of hepatic
metastases.
Abdom Imaging; 26: 369 – 374
- Malagelada JR, Edis AJ, Edson MA et al. (1983)
Medical and surgical options in the management of patients with gastrinoma.
Gastroenterology; 84: 1524 – 1532
- Matsui Y, Nakagawa A, Kamiyama Y et al. (2000)
Selective thermocoagulation of unresectable pancreatic cancers by using
radiofrequency capacitative heating.
Pancreas; 20: 14 – 20
- McCarter MD, Fong Y (2000)
Metastatic liver tumors.
Semi Surg Oncol; 19(2): 177 – 188

Merkle EM, Haaga JR, Duerk JL et al. (1999)
MR imaging-guided radio-frequency thermal ablation in the pancreas in a porcine model with a modified clinical C-arm system.
Radiology; 213: 461 – 467

Meyenberger C, Bertschinger P, Zala GF, Marincek B (1995)
Endosonography in diagnosis of insulinoma.
Ultraschall Med; 16: 224 – 227

Mignon M, Cadiot G (1998)
Diagnostic and therapeutic criteria in patients with Zollinger-Ellison syndrome and multiple endocrine neoplasia type 1.
J Intern Med; 243: 489 – 494

Mols AM, Knappe V, Buhr HJ, Ritz JP (2004)
Laser-induced Thermotherapy (LITT): Dose-Effect Relation on Lung Tissue.
Med Laser Appl; 19: 160 – 166

Mueller-Lisse UG, Thoma M, Faber S et al (1999)
Coagulative interstitial laser-induced thermotherapy of benign prostatic hyperplasia: online imaging with a T2-weighted fast spin-echo MR sequence – experience in six patients.
Radiology; 210: 373 – 379

Mumtaz H, Hall-Craggs MA, Wotherspoon A, Paley M et al. (2000)
Laser therapy for breast cancer: MR imaging and histopathologic correlation.
Radiology; 3: 651 – 658

Norton JA (2005)
Surgical treatment and prognosis of gastrinoma.
Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol; 19(5): 799 – 805

Norton JA, Fang TD, Jensen RT (2006)
Surgery for gastrinoma and insulinoma in multiple endocrine neoplasia type 1.
J Natl Compr Canc Netw; 4(2): 148 – 153

Öberg K, Eriksson B (2005)
Endocrine tumours of the pancreas.
Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol; 19(5): 753 – 781

Riecken EO (1998)
Tumoren des Dünn- und Dickdarms
In: Classen M, Diehl V, Kochsiek K (Hrsg): Innere Medizin
Urban & Schwarzenberg München – Wien – Baltimore, 4. Auflage

Rindi G, Klöppel G (2004)
Endocrine Tumors of the Gut and Pancreas Tumor Biology and Classification
Neuroendocrinology; 80(suppl 1): 12 – 15

Ritzel U, Wietzke-Braun P, Brinck U, Leonhardt U, Ramadori G (2001)
Ultrasound imaging of Nd:YAG laser-induced tissue coagulation in porcine livers.
Ultraschall Med; 22(6): 284 – 288

Rösch T, Lightdale CJ, Botet JF, Boyce GA, Sivak MV et al. (1992)
Localization of pancreatic endocrine tumors by endoscopic ultrasonography.
N Engl J Med; 326: 1721 – 1726

Schumacher B, Lübke HJ, Frieling T, Strohmeyer G, Starke AAR (1996)
Prospective Study on the detection of insulinomas by endoscopic ultrasonography.
Endoscopy; 28: 273 – 276

Spiezia S, Vitale G, Di Somma C, Assanti AP, Ciccarelli A et al. (2003)
Ultrasound-Guided Laser Thermal Ablation in the Treatment of Autonomous
Hyperfunctioning Thyroid Nodules and Compressive Nontoxic Nodular
Goiter.

Thyroid; 13(10): 941 – 947

Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Charnley RM, Scheele J (1994)
Factors influencing the natural history of colorectal liver metastases.

Lancet; 343(8910): 1405 – 1410

Stroszcynski C Habilitationsschrift (2001a)

Einsatz der Magnetresonanztomographie zur Laser-induzierten
Thermotherapie.

Klinik und Poliklinik für Strahlenheilkunde, Charité Campus Virchow Klinikum
Berlin

Stroszcynski C, Hosten N, Puls R, Nagel S et al. (2001b)

Histopathological Correlation to MRI Findings During and After Laser-
Induced Thermotherapy in a Pig Pancreas Model.

Invest Radiol; 36: 413 – 420

Stroszcynski C, Gretschel S, Gaffke G, Puls R, Kretzschmar A, Hosten N,
Schlag PM, Felix R (2002)

Laser-induzierte Thermotherapie (LITT) bei malignen Lebertumoren: Einsatz
der Sonographie zur Katheterplatzierung und Prozessbeobachtung.

Ultraschall Med; 23(3): 163 – 167

Taylor I (1996)

Liver metastases from colorectal cancer: lessons from past and present
clinical studies.

Br J Surg; 83: 456 – 460

Thompson NW, Dzako PF, Fritts LL et al. (1994)
Role of endoscopic ultrasound in the localization of insulinomas and gastrinomas.
Surgery; 116: 1131 – 1138

TRUMPF GmbH + Co (1994)
Laserbearbeitung YAG-Laser
Laser: Die Grundlagen Kap. 3-3 – 3-12
Ditzingen

Veenendaal LM, de Jager A, Stapper G, Borel Rinkes IH, van Hillegersberg R (2006)
Multiple fiber laser-induced thermotherapy for ablation of large intrahepatic tumors.
Photomed Laser Surg; 24(1): 3 – 9

Vogl TJ, Mack MG, Roggan A et al. (1998)
Internally cooled power laser for MR-guided interstitial laser-induced thermotherapy for liver lesions: initial clinical results.
Radiology; 209: 381 – 385

Vogl TJ, Mack M, Straub R, Eichler K, Engelmann K, Roggan A et al (2000)
Perkutane interstitielle Thermotherapie maligner Lebertumoren.
Rofo; 172: 12 – 22

Vogl TJ, Straub R, Zangos S, Mack MG, Eichler K (2004)
MR-guided laser-induced thermotherapy (LITT) of liver tumours: experimental and clinical data.
Int J Hyperthermia; 20(7): 713 – 724

Zimmer T, Scherübl H, Faiss S, Stölzel U, Rieken E-O, Wiedenmann B (2000)
Endoscopic Ultrasonography of Neuroendocrine Tumours.
Digestion; 62(Suppl 1): 45 – 50

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Adamkiewicz, Basler, Baum, Becker, Eilers, Feuser, Gerdes, Geus, Gotzen, Griss, Happel, Hoffmann, Jungclas, Kann, Klenk, Koolmann, Kretschmer, Krieg, Kroll, Lang, Lill, Maisch, Mandrek, Moll, Mutters, Oertel, Remschmidt, Renz, Schäfer, Schmidt, Schnabel, Schneyer, Seitz, Seybert, Studer, Vohland, Weihe, Wilke, Wolf

Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Peter Herbert Kann für die Überlassung des Themas sowie die stets sehr freundliche und hilfreiche Unterstützung und Betreuung bei dieser Arbeit. Vielen Dank für die ständige Bereitschaft zur Beratung und Diskussion sowie die kritische Beleuchtung der Ergebnisse im Rahmen dieser Dissertation.

Im Weiteren gilt mein besonderer Dank Frau Dr. Diana Ivan, die mir mit zahlreichen Hilfestellungen bei der Durchführung sowie Gestaltung der Arbeit stets zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. Roland Moll aus dem Institut für Pathologie der Universitätsklinik Marburg gilt mein Dank für seine bereitwillige Mitarbeit in Bezug auf die Auswertung und Beurteilung der histopathologischen Präparate.

Herzlicher Dank gilt Frau Bettina Kann sowie Frau Pia Schuhmacher des Bereichs Endokrinologie und Diabetologie der Universitätsklinik Marburg für ihre stets freundliche und engagierte organisatorische Unterstützung.

Danken möchte ich auch Herrn Silvio Kraus aus dem Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH für die Bereitstellung der Perfusionspumpe.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Verlobten Marlitt Haist sowie meinen Eltern, ohne deren tatkräftige Unterstützung in allen Lebenslagen die Entstehung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.