Aus der Klinik für Chirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. T. Keck

Vergleich von Radiofrequenzablation und Elektrochemischer Lyse am Ex-vivo-Modell der isolierten und porcinen Leber unter Simulation des Pringle-Maneuvers

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Sektion Medizin-

vorgelegt von
Benedict-Douglas Sannwaldt
aus Ostercappeln

Lübeck 2014

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med Ralf Czymek

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Jens E. Meyer

Tag der mündlichen Prüfung: 09.03.2015

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 09.03.2015

Promotionskommision der Universität zu Lübeck

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1

1.1 Lebermalignitäten 1

1.1.1 Ätiologie 1

1.1.2 Therapie 2

1.2 Radiofrequenzablation 5

1.2.1 Historie 5

1.2.2 Wirkungsprinzip 5

1.3 Elektrochemische Lyse 8

1.3.1 Historie 8

1.3.2 Wirkungsprinzip 9

1.4 Perfusion 10

2. Fragestellung 13

3. Material und Methode 14

3.1 Organgewinnung 14

3.2 Perfusionsmodell 14

3.3 Radiofrequenzablation 17

3.4 Elektrochemische Lyse 20

3.5 Aufarbeitung der Gewebeproben 23

3.5.1 Beschreibung der Läsionen 23

3.5.2 Gefäße 24

3.6 Statistik 25

4. Ergebnisse 27

4.1 Organgewinnung und Versuchsdurchführung 27

4.1.1 Versuchsaufbau 27

4.1.2 Organgewinnung 27

4.1.3 Blutgefäße 28

4.2 RFA 28

4.2.1 Durchführung 28

4.2.2 Makroskopische Beschreibung 28

4.2.3 Histologische Beschreibung 29

4.2.4 Form 31

4.2.5 Größe 31

4.2.6 Perivaskuläre Ablation ... 31
4.2.7 Gefäßwände ... 33
4.2.8 Einfluss des Gefäßabstandes. ... 35
4.3 ECL ... 37
4.3.1 Durchführung ... 37
4.3.2 Makroskopische Beschreibung ... 37
4.3.3 Histologische Beschreibung ... 38
4.3.4 Form ... 39
4.3.5 Größe ... 39
4.3.6 Perivaskuläre Ablation ... 40
4.3.7 Gefäßwände ... 40
4.4 Vergleich RFA und ECL ... 41
4.4.1 Makroskopische und Histologische Beschreibung ... 41
4.4.2 Form ... 41
4.4.3 Größe ... 42
4.4.4 Perivaskuläre Ablation ... 42
4.4.5 Gefäßwände ... 43
5. Diskussion ... 45
5.1 Therapiestandard ... 45
5.2 RFA ... 46
5.3 ECL ... 53
5.4 Gegenüberstellung beider Verfahren ... 56
5.5 Schlussfolgerung ... 59
5.6 Versuchsdurchführung und Kritik ... 60
6. Zusammenfassung ... 62
7. Anhang ... 63
8. Literaturverzeichnis ... 64
10. Danksagung ... 79
11. Lebenslauf ... 80
12. Veröffentlichungen ... 81

Abkürzungsverzeichnis

5-JÜR	–	5-Jahres-Überlebensraten
Abb.	–	Abbildung
°C	–	Grad Celsius
CCC	–	Cholangiozelluläres Karzinom
cm	–	Zentimeter
CT	–	Computertomographie
C	–	Coulomb
ECL	–	Elektrochemische Lyse
g	–	Gramm
HE	–	Hämatoxylin-Eosin
HCC	–	Hepatozelluläres Karzinom
HR	–	Hepatische Resektion
HSE	–	Heat-Sink-effect
i.E.	–	internationale Einheiten
mA	–	Milliampere
min	–	Minuten
mm	–	Millimeter
mmHg	–	Millimeter-Quecksilbersäule
MRT	–	Magnetresonanztomographie
mV	-	Millivolt
MWA	-	Mikrowellenablation
KA	–	Kryooablation
kHz	–	Kilohertz
KRLM	–	Kolorektale Lebermetastasen
PEI	–	Perkutane Ethanolinjektion
RFA	–	Radiofrequenzablation
TACE	–	Transarterielle Chemoembolisation
χ^2-Test	-	Chi-Quadrat-Test

1. Einleitung

1.1 Lebermalignitäten

1.1.1 Ätiologie

Primäre Lebermalignome gehören zu den fünf häufigsten malignen Tumoren der Welt. Sie machen die dritthäufigste Krebs-assoziierte Todesursache weltweit aus [85]. Das Hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist mit 85-90 % der häufigste maligne primäre Lebertumor. Die Inzidenzraten variieren je nach geographischer Lage, Geschlecht und Ethnie sehr stark mit < 5 bis > 40 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner im Jahr [28]. Wegen der hohen Rate an Hepatitis B- und C- Infektionen treten mehr als 80 % der HCC-Fälle in Ostasien und Afrika auf. In diesen Hochinzidenzgebieten nahm die Häufigkeit der Neuerkrankungen in den letzen Jahren ab. In Gebieten mit niedrigen Inzidenzraten (Nordamerika, Europa) ist die Anzahl der Neuerkrangungen in den letzten Jahren aufgrund zunehmender Prävalenz von Hepatitis-C Infektionen jedoch gestiegen [70]. Neben den chronischen Infektionen mit Hepatitis B- und Hepatitis C-Viren stellen Leberzirrhose durch Alkoholabusus, hereditäre Hämochromatose, Diabetes mellitus und Adipositas sowie eine Exposition mit Aflatoxin B_1, Nikotinabusus, das regelmäßie Kauen von Betelnuss und die Einnahme oraler Kontrazeptiva über 5 Jahre weitere Risikofaktoren für das HCC dar [7].

Mit weniger als 10 % aller primären Lebermalignome ist das cholangiozelluläre Karzinom (CCC) das zweithäufigste dieser Art. Die Inzidenz wird mit 0,6 bis 0,8 Neuerkrankungen auf 100.000 Einwohner angegeben. Risikofaktoren des CCC sind Gallensteine, eine chronische Infektion mit *Salmonella typhi*, primär sklerosierende Cholangitis, Colitis ulcerosa und Choledochuszysten [49].

Die häufigsten malignen Lebertumore insgesamt sind Lebermetastasen [6]. Abgesehen von Lymphknoten ist die Leber aufgrund ihrer Filterfunktion des portalvenösen Blutstroms das am häufigsten von Metastasen befallene Organ.

Mit 51 % macht das kolorektale Karzinom den größten Teil der Primärtumore von Lebermetastasen aus, gefolgt von Pankreaskarzinom und Mammakarzinom mit jeweils 13 % [41]. Das kolorektale Karzinom ist die dritthäufigste Krebserkrankung und zweithäufigste Krebs-assoziierte Todesursache weltweit [112]. Beachtet man, dass bis zu 75 % der betroffenen Patienten im Verlauf der Erkrankung Lebermetastasen ausbilden, so wird die Wichtigkeit dessen Therapie deutlich [41].

1.1.2 Therapie

Resektion

Unter Einhaltung strikter Kriterien (Milan-Kriterien) hinsichtlich Tumorgröße, Zahl und Lokalisation (solitäres Karzinom < 5cm oder maximal 3 Knoten < 3cm, keine extrahepatische Manifestation, keine vaskuläre Invasion)[68], stellt die Lebertransplantation mit 5-Jahres-Überlebensraten (5-JÜR) bis zu 74 % die beste kurative Therapieoption beim HCC mit Leberzirrhose dar [62]. Diese Therapie ist mangels Spenderorganen und wegen der strengen Indikationsstellung nur wenigen Patienten vorbehalten [119,123].

Die chirurgische Resektion (HR) gilt als zuverlässige Therapieoption. Sie ist die Therapie der Wahl des HCC ohne Zirrhose sowie von kolorektalen Lebermetastasen (KRLM) [17,31,75]. Die 5-JÜR liegen bei 31 – 58 % für KRLM [16,27] und 40 – 70 % für das HCC [26,30]. Für die Resektion solitärer KRLM wird eine 5-JÜR von 71 % angegeben [1]. Aufgrund geringer hepatischer Reserven, multifokaler Tumorausbreitung und extrahepatischer Komorbidität sind nur 20-30 % der Patienten mit HCC [91] und 10 – 15 % der Patienten mit KRLM [19] einer chirurgischen Resektion zugänglich.

Chemotherapie

Eine adjuvante Chemotherapie mit Oxaliplatin und Irinotecan konnte nachweislich die Langzeitüberlebensraten bei KRLM verbessern [58,92]. Die Anwendung einer neoadjuvanten Chemotherapie bei KRLM ist derzeit noch individuell zu diskutieren. Die präoperative, hepatotoxische Wirkung der neoadjuvanten Therapie muss gegen den möglichen Therapiegewinn abgewägt werden. Primäre Resektabilität oder bei Regression resektable Befunde sowie die Komorbidität des Patienten, sollten in die Wahl der Therapie einfließen [12,103].

Bei Patienten mit HCC konnte weder durch adjuvante noch durch neoadjuvante Therapieregime eine Verlängerung des Überlebens erzielt werden. Chemotherapeutische Verfahren mit dem Multikinase-Inhibitor Sorafenib kommen nur beim fortgeschrittenen HCC mit palliativer Intention zum Einsatz [63,83,129].
Vielversprechende adjuvante Therapien wie die Interne Radiation mit I^{131} - markiertem Lipidiol und systemische Therapien mit Retinoiden oder Interferon bedürfen einer weiteren Evaluation durch kontrollierte Studien [8,56,74,110,117].

Lokale Verfahren

Um eine Therapie bei Inoperabilität gewährleisten zu können, sind in den letzten Jahren eine Reihe lokalablativer Therapiemöglichkeiten entwickelt worden. Diese lassen sich nach ihrem Wirkungsprinzip in verschiedene Kategorien einteilen. Dazu gehören radiogene Verfahren (selektive innere Radiotherapie, Brachytherapie), chemische Verfahren (perkutane Ethanolinjektion, transarterielle Chemoembolisation), thermische Verfahren (Radiofrequenzablation, Mikrowellenablation, Laser-induzierte Thermotherapie und Kryoablation), sowie elektrische Verfahren (Elektrochemische Lyse).
Die perkutane, CT-gesteuerte Brachytherapie gehört zu den radiogenen Therapieverfahren. Sie stellt eine neue Option lokal ablativer Methoden dar und muss noch durch kontrollierte Studien in ihrer Wirksamkeit überprüft werden. Vorteile gegenüber thermischen Verfahren liegen in der Möglichkeit, gefäßnahe Tumoren und auch größere Tumoren > 5 cm effektiv zu abladieren [95].
Die perkutane Ethanolinjektion (PEI) zählt neben der transarteriellen Chemoembolisation (TACE) zu den chemisch-mechanischen Verfahren. Die PEI gilt als Therapieoption kleiner HCC. Sie wird als kostengünstig, einfach durchzuführen und komplikationsarm beschrieben [53]. Im Vergleich mit der Radiofrequenzablation (RFA) ist sie aber hinsichtlich Rezidivraten und Langzeitüberleben unterlegen. Lokalrezidivraten lagen nach 3 Jahren für die RFA bei 14 %, für die PEI bei 34 %. 3 Jahres-Überlebensraten lagen für RFA bei 74 % und für die PEI bei 51 % [57].
Die Wirkung der TACE beruht auf dem Einbringen von Embolisaten in die arterielle Strombahn, die einen hypoxischen Effekt auf das Tumorgewebe haben und zusätzlich chemotherapeutische Substanzen freisetzen. Die TACE gilt als Standardtherapie bei multifokalen oder größeren, nicht resezierbaren HCC im Intermediärstadium und

wird mit 5-JÜR von 1-8 % angegeben [45,47]. Bisher fehlen noch einheitliche Therapieschemata.

Zu den thermischen Verfahren zählen die Radiofrequenzablation (RFA), die Laserinduzierte Thermotherapie (LITT), die Mikrowellenablation (MWA) und die Kryoablation (KA).

Bei der Laserinduzierten Thermotherapie wird ein Nd-YAG Laser über Quartz-Fasern in das Gewebe eingebracht und erzeugt dort durch die Induktion einer Hyperthermie Koagulationsnekrosen [118]. Vogl et al. führten die LITT an 603 Patienten durch. 5-JÜR wurden von ihnen insgesamt mit 37 % angegeben. Komplikationen wie Pleuraergüsse, Abdominalblutungen, Leberabszesse, Pneumothoraces oder Gallenwegsverletzungen wurden insgesamt mit einer Häufigkeit von 1,5 % beschrieben [120].

Die MWA erzeugt über hochfrequent wechselnde, elektromagnetische Felder im Zielgewebe Hitze. Ein Vorteil gegenüber anderen thermischen Verfahren besteht in einer geringen Anfälligkeit für perfusionsbedingte Kühlungseffekte [4,9]. Von Nachteil ist die geringe Gewebepenetration und der Bedarf großer Elektroden, die eine perkutane Anwendung erschweren. Neue Applikationssysteme werden entwickelt, um diese Probleme zu beheben [9,130]. Der MWA wird mit 14-20 % eine recht hohe Komplikationsrate zugeschrieben [109]. Es fehlt ihr noch an randomisierten, klinischen Studien zu Langzeitüberleben und Rezidivraten.

Die KA imponiert mit einer hohen Komplikationsrate von 40,7 %, während die 5-JÜR bei 26 % liegt. Zudem unterliegt sie, verglichen mit der RFA, einer höheren Rekurrenzrate und Morbiditätsrate. Sie stellt in Effektivität und Sicherheit keine vergleichbare Alternative zur RFA [87,106].

Unter allen genannten lokalablativen Verfahren hat die RFA in Europa bisher den wichtigsten Stellenwert erlangt. Vor allem wegen ihrer einfachen Praktikabilität und der komplikationsarmen Anwendung, konnte sie sich gegenüber den anderen Verfahren durchsetzen [66]. Sie ist in Effektivität und Sicherheit der PEI, der KA und der TACE überlegen [59,87]. Die 5-JÜR der RFA werden bei KRLM mit 40 – 47,8 % [32,111] und für das HCC mit 41 - 55,4 % angegeben [13,51,78,93,114]. Im Vergleich zur Resektion ist die RFA bezüglich Langzeitüberleben bei der Therapie des HCC´s unterlegen [40,131]. Auch in der Therapie von KRLM werden bessere Ergebnisse mit der Resektion als mit der RFA bezüglich Rezidivraten und mittlerer Überlebensdauer

angegeben [94,102]. Einzelne Studien geben aber gleichwertige Ergebnisse der RFA und der Resektion bei der Behandlung kleiner HCC (< 4cm) [43] oder kleiner KRLM < 3 cm an [46]. Lencioni et al. postulieren in einem klinischen Review, dass beide Therapieverfahren abhängig von individuellen Patienteneigenschaften eine gerechtfertigte Anwendung finden können [52].

1.2 Radiofrequenzablation

1.2.1 Historie

Der erstmalige Gebrauch von Wechselstrom im Radiofrequenzbereich, um Gewebe zu erhitzen, wurde bereits 1891 von D´Arsonval beschrieben [23]. Clark berichtete 1911 von elektrischen Behandlungen an Patientinnen mit Mamma- und Hautkarzinomen [18]. 1928 wurde ein Radiofrequenzverfahren erstmals bei der Behandlung eines Hirntumores angewendet, um Gefäße zu kautherisieren [20]. Anfang der neunziger Jahre berichteten 2 Arbeitsgruppen über Systeme zur perkutanen Induktion von Koagulationsnekrosen im Lebergewebe [69,97]. Es folgten viele weitere tierexperimentelle Studien am Klein- und Großtier sowie zahlreiche klinische Studien, um die Praktikabilität und Effektivität des Verfahrens in der Behandlung von Leberkarzinomen zu verbessern. Heute gilt die Radiofrequenzablation in Europa und den USA als das meist angewandte lokalablative Verfahren zur Behandlung nicht resezierbarer Lebermalignome [66].

1.2.2 Wirkungsprinzip

Das Prinzip der RFA beruht auf der physikalischen Interaktion hochfrequenter Wechselstromfelder im biologischen Gewebe (375 – 480 kHz). Dieser sinusförmige Wechselstrom wird über Nadelelektroden in das Zielgewebe übertragen, um deren Spitze herum sich die Wechselstromfelder verdichten [84,89]. Das führt zu einer starken Agitation von Ionen und durch die entstehende Reibungswärme zu einer Erhitzung des Gewebes. Dadurch werden Zellmembranen destruiert, Proteine denaturiert und es erfolgt ein irreversibler Zelluntergang mit Ausbildung einer Koagulationsnekrose [35] (Abb. 1).

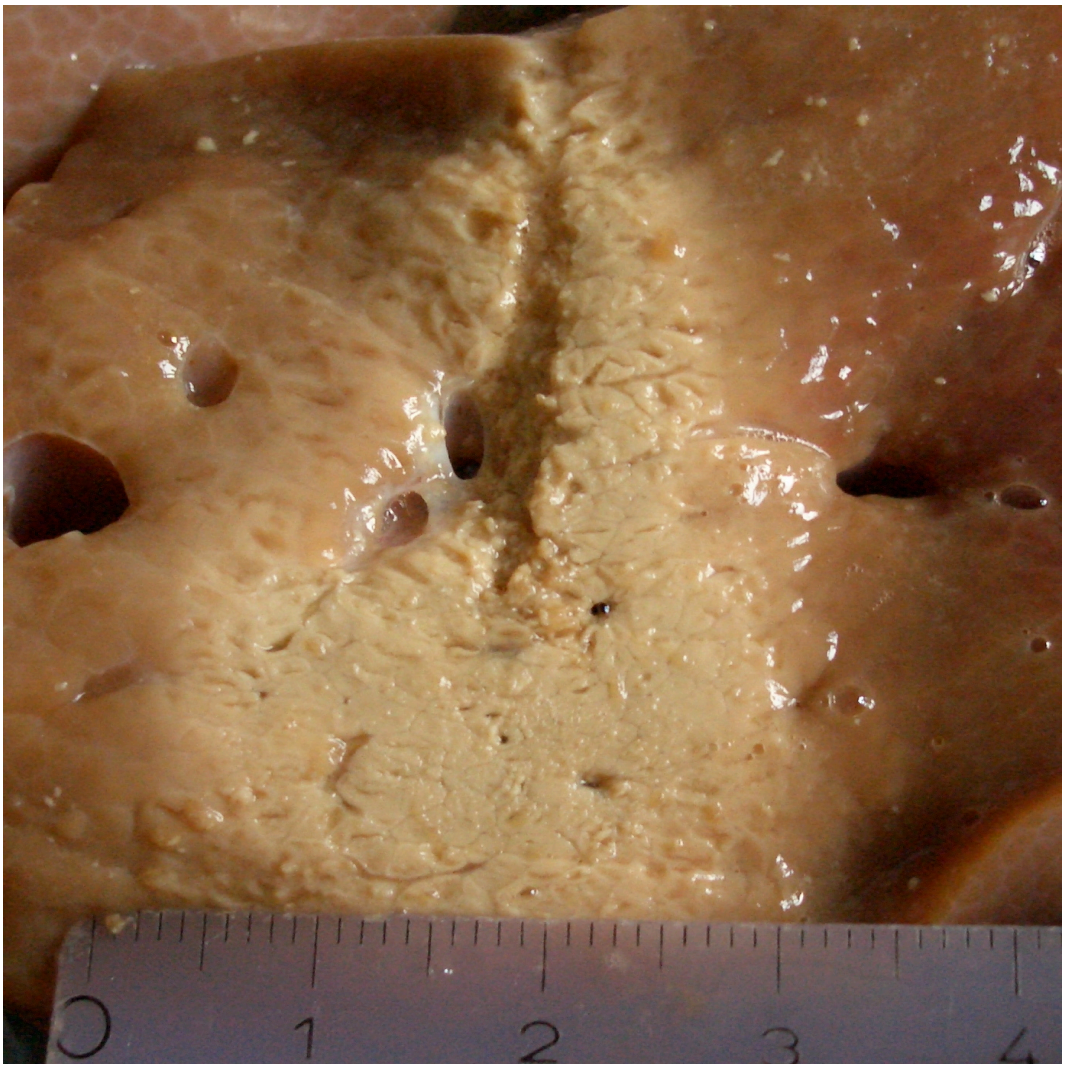


Abb. 1: Mittig aufgeschnittene Koagulationsnekrose im porcinen Lebergewebe nach RF-Ablation

Zur vollständigen Gewebekoagulation müssen dabei Temperaturen von 50 – 100 °C über mehrere Minuten erreicht werden [11]. Die Einbringung der Energie in das Gewebe erfolgt in der Regel über monopolare Elektroden. Um einen geschlossenen Stromkreislauf herzustellen, bedarf es einer Erdung durch Klebeelektroden, die auf den Situs oder das Zielgewebe aufgebracht werden müssen [89].

Durch den sehr schnellen Temperaturanstieg, kann es zu einer unerwünschten Verkohlung und Austrocknung des Gewebes kommen. Diese, als Karbonisierung bezeichnete Verkohlung, führt zu einer Impedanzerhöhung und Minderung der elektrischen Leitfähigkeit im Gewebe. Die Verringerung der Leitfähigkeit hat eine Limitierung des potenziellen Ablationsvolumens zur Folge [54].

Um den Effekt der Karbonisation zu umgehen, sind verschiedene Applikationsmodalitäten entwickelt worden. Dazu zählen monopolare, expandierbare Multiapplikationsnadeln, Elektroden mit einem internen Kühlungssystem oder die Installation von Kochsalzlösung in das Gewebe [34,60].

Expandierbare Multiapplikationsnadeln bestehen aus einer Hohlnadel, über die weitere gebogene Nadeln schirmartig in das Gewebe ausgefahren werden können. (Abb. 2). Jede dieser Nadeln erzeugt ein Destruktionsareal. Insgesamt addieren sich diese unterschiedlichen Areale zu einer großen Gewebsläsion [19]. Das destruierte Areal kann so von bis zu 16 mm bei Einzelelektroden auf einen Durchmesser bis zu 50 mm vergrößert werden. Ein Vorteil gegenüber anderen Systemen ist hier die Anpassung der gewünschten Läsion an die Tumorgröße über die variable Einstellung der Schirmelektrode [89].

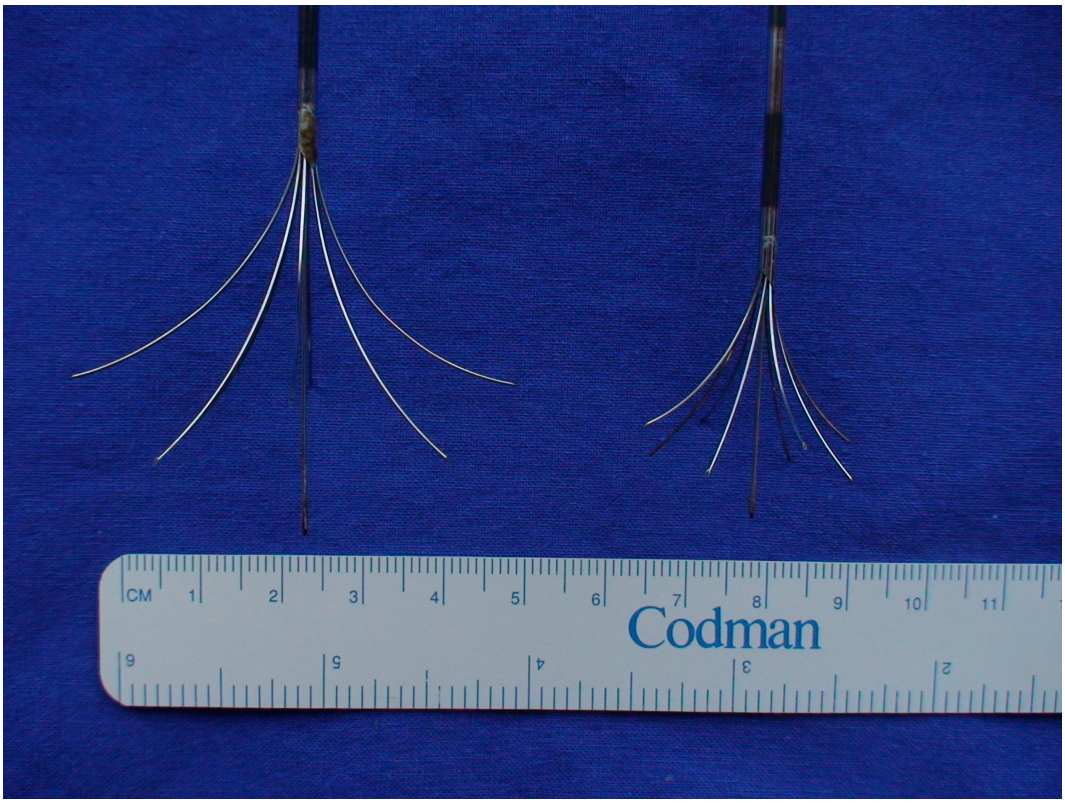


Abb. 2: Expandierbare RFA-Multiapplikationsnadeln, Elektrodenschirm links auf 5 cm und rechts auf 3 cm ausgefahren (RITA, Star-Burst Talon array)

Gekühlte Nadeln führen in ihrem Inneren dünne Kanäle, über die eine Perfusion mit gekühlter Flüssigkeit erfolgen kann. Die Kühlung der Nadel verhindert die

Karbonisierung des anliegenden Gewebes. Sie ermöglicht eine andauernde elektrische Leitfähigkeit und das Erreichen zytotoxischer Temperaturen in peripheren Bereichen [36]. Auch die permanente Perfusion des Zielgewebes über die Nadel mit Kochsalzlösung ermöglicht eine Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit des Gewebes. Nachteil hierbei ist eine ungleichmäßige Verteilung der Flüssigkeit, was unvorhergesehene Formen der Läsionen zur Folge hat [72].

Während der RFA-Applikation bieten sich dem Anwender zwei Methoden, um den Ablationserfolg abzuschätzen. Temperaturgesteuerte Systeme messen über Thermosensoren an den Nadelspitzen die Temperatur des anliegenden Gewebes und bieten so eine Möglichkeit zur Kontrolle des Ablationsvorgangs. Impedanzgesteuerte Systeme registrieren die elektrische Leitfähigkeit im Zielgewebe und ermöglichen darüber eine Evaluation des Ablationsvorgangs.

Die intraoperative Platzierung der RFA-Sonden erfolgt Ultrasschall-, MRT-, oder CT-gesteuert. Vorzugsweise erfolgt die Applikation über einen perkutanen Zugang. Um eine bessere Erreichbarkeit von Tumoren zu gewährleisten, ist die Applikation auch über einen laparoskopischen Zugang oder während einer offenen Laparotomie möglich. Die Positionierung der Elektrode erfolgt mittig im Tumor. So ist eine vollständige Ablation mit einem suffizienten Sicherheitsabstand um den Tumor herum möglich [89].

1.3 Elektrochemische Lyse

1.3.1 Historie

Die Elektrochemische Lyse (ECL) gilt als eine Alternative unter den lokalablativen Therapiemodalitäten. Die ersten Berichte des Effektes elektrischen Stromes auf Tumorgewebe lassen sich bis 1875 zurück datieren [2]. Humphrey und Seal führten bereits 1959 experimentelle Studien an Sarkomen der Maus durch [44]. Nordenström veröffentlichte ab 1978 eine Reihe klinisch-experimenteller Studien zur Behandlung maligner Lungentumoren mittels ECL [8082]. Es folgten eine Vielzahl tierexperimenteller Studien an diversen Tumorarten und unterschiedlichen Tiermodellen [99101].

Auf den Arbeiten von Nordenström basierend wurde die ECL 1989 in China als sicher eingestuft und staatlich anerkannt. Trotz einer umfangreichen Anwendung der ECL in China ist die Datenlage klinischer Studien in internationalen Zeitschriften bisher als spärlich einzustufen. In Europa und den USA findet diese Methode daher noch keine Anwendung im klinischen Alltag.

1.3.2 Wirkungsprinzip

Das Prinzip der ECL beruht auf der Anlage eines niedrigen Gleichstroms (< 100 mA) zwischen mindestens zwei in das Zielgewebe eingebrachter Elektroden [79]. In dem elektrischen Feld wandern Ionen, ihrer Ladung entsprechend, unter Aufspaltung interstitieller und intrazellulärer Moleküle zu den polarisierten Elektroden.

Baxter et al. fanden heraus, dass die ECL nur einen geringen Anstieg der Temperatur verursacht. Dieser geringe Temperaturanstieg würde nicht ausreichen, um Gewebenekrosen herbeizuführen.

Das bedeutet, dass eine pH-Wert Alteration und die Erzeugung zytotoxischer Produkte bei der ECL die Gewebeläsionen verursachen müssen [3]. Finch et al. beschreiben die Alteration des pH-Wertes als maßgebenden Faktor der Gewebedestruktion [29]. Dieser wird durch Hydrolyse an der Anode extrem sauer, an der Kathode hingegen alkalisch. Als weitere zytotoxische Noxen gelten die Liberation von Chlorgas an der Anode und Wasserstoff an der Kathode [3,82,101], sowie die Induktion kapillärer Mikrothrombosen im Ablationsfeld [82].

Es laufen folgende Reaktionen an den Elektroden ab [121]:

Anode:

$2\ H_2O \leftrightarrow O_2 + 4\ H^+ + 4\ e^-$

$2\ Cl^- \leftrightarrow Cl_2 + 2e^-$

pH (1-2)

Kathode

$2\ H_2O + 2e^- \leftrightarrow H_2 + 2\ OH^-$

pH (10-12)

Alle genannten Prozesse lassen ein zytotoxisches Milieu entstehen und führen zu irreversiblem Zelluntergang. So entstehen um die Elektroden herum sphäroidale Nekrosen. Die Größe dieser Läsionen ist abhängig von der Elektrodenanordnung und der Menge der applizierten Ladung [21,101]. Sie unterliegt einem Dosis-Wirkungsprinzip, was bedeutet, dass eine Korrelation zwischen der applizierten Ladung und der Läsionsgröße besteht [21,22,96,122]. Die Ladung wird als Produkt von Zeit und Stromstärke definiert:

1) Elektrische Ladung (Coulomb) = Stromstärke (Ampere) x Zeit (Sekunden)

2) Stromstärke (A) = elektrische Leistung (Watt) / Ladung (Volt)

Eine Steigerung der Größe von Gewebenekrosen kann also nur über eine Steigerung der elektrischen Ladung erzielt werden. Das bedeutet, dass entweder eine Erhöhung der Stromstärke oder eine längere Applikationszeit erfolgen muss, um größere Nekrosen zu erzeugen. Da die Stromstärke nicht unendlich hoch gewählt werden kann muss eine längere Applikationsdauer erfolgen, um Läsionen im Gewebe einer gewissen Größe zu erzeugen.
Die Applikation des Gleichstroms kann über einen perkutanen Zugang oder bei entsprechender Tumorlokalisation auch als Kombination mit anderen chirurgischen Eingriffen während einer Laparotomie erfolgen. In der Literatur wird die ECL als sichere, komplikationsarme und effektive Therapie nicht resezierbarer Lebertumoren beschrieben [3,125,127], die mangels valider Daten zu Verlaufsbeobachtung, Einstellungsparametern und Elektrodenpositionierung noch nicht zu einer standardisierten, klinischen Anwendung im europäischen Raum gelangt ist.

1.4 Perfusion

Ein wichtiger limitierender und umstrittener Aspekt bei thermischen Ablationen ist der Kühlungseffekt der Gefäße. Pennes trug bereits 1948 mit seinen physiologischen Studien und der Beschreibung des “Arterial-tissue heat transfer term” zum Verständnis des Kühl-und Erwärmungseffektes des Blutflusses bei [88].

Diesem von Goldberg et al. als “Heat-sink-effect” (HSE) beschriebenen Kühlungseffekt [33] liegt ein konvektiver Abtransport der Hitze über den intravasalen Flüssigkeitstrom zu Grunde [4]. Es kommt im perivasalen Bereich zu einer Minderung zytotoxischer Temperaturen. Die Folge ist eine veränderte Form der Läsionen durch den Gefäßverlauf und die Persistenz von vitalem Gewebe um die Gefäße herum [105].

Bei Beachtung der physiologischen Aufteilung der Leberperfusion (70% Portalvene, 30 % Leberarterie) kann ein deutlich größere Einfluss der portalvenösen Durchblutung auf die Ablationen nachvollzogen werden. Dies wird in Studien bestätigt, in denen Ablationen während selektivem Verschluss von A. hepatica, Vena portae, V. hepatica oder Kombinationen daraus, durchgeführt wurden [10,98]. Andere Autoren postulieren einen additionalen Effekt auf die Ablation bei zusätzlicher Okklusion der A. hepatica [15].

Czymek et al. konnten in ihren Versuchen am Ex-vivo-Perfusionsmodell der porcinen Leber einen “Heat-Sink-Effect” bei RF-Ablationen feststellen, wohingegen die ECL keinem Einfluss der Organperfusion unterlag [22]. Metcalfe et al. hingegen postulieren, dass sowohl RFA als auch ECL in unmittelbarer Nähe zu Lebervenenästen keine zuverlässigen Ablationsmethoden seien [71].

Um bei thermischen Verfahren den Kühlungseffekt der Gefäße zu umgehen, besteht die Möglichkeit, die Leberperfusion während der Ablation zu verringern. Dies kann mechanisch über eine Abklemmung der zuführenden Lebergefäße (Pringle-Maneuver) [86], über Perkutane Ballon-Okklusion (PBO) [24], über eine medikamentöse Senkung der Perfusion [37] oder durch intravasale Embolisation [108] erfolgen. Dadurch wurden bessere Ergebnisse mit der RFA bezüglich der Läsionsgröße und Energieeffizienz erzielt [38,86,98].
In einer In-vivo-Studie am Schwein wurden durch die Anwendung des Pringle-Maneuvers mehr Komplikationen bei Ablationen nahe der Portalvene beobachtet [76]. Demgegenüber wurden in einer klinischen Studie am Patienten keine Unterschiede bezüglich des Auftretens von Komplikationen durch die Anwendung des PBO beobachtet. [24].

Vergleichende Studien der ECL und der RFA, bei gleichzeitiger Anwendung von perfusionsverringernden Methoden wie des Pringle-Maneuvers, sind bisher nicht bekannt. Ob die Anwendung des Pringle-Maneuvers, entgegen der Annahmen, einen Effekt auf die Ausbildung der ECL-Läsionen hat ist bisher ungeklärt.

2. Fragestellung

Im Vordergrund dieser Arbeit steht der Vergleich der beiden lokalablativen Methoden ECL und RFA unter dem Einfluss der Organperfusion an einem ex-vivo Perfusionsmodell der Schweineleber. Dabei sollen folgende Annahmen untersucht werden:

a) Die Anwendung des Pringle-Maneuvers führt zu größeren, gleichmäßiger geformten Läsionen und zur effizienteren perivaskulären Ablation bei der RFA.
b) Die Anwendung des Pringle-Maneuvers führt nicht zu Unterschieden bezüglich Läsionsgröße, Gleichmäßigkeit der Läsionen oder Effizienz der perivaskulären Ablation bei der ECL.
c) Bei Anwendung des Pringle-Maneuvers während der RFA werden gleichwertige Ergebnisse wie mit der ECL im Bezug auf die Effizienz perivaskulärer Ablationen erzielt.

3. Material und Methode

3.1 Organgewinnung

Zur Durchführung der Versuche wurden porcine Lebern (Piétrain Hausschwein, männlich) verwendet, die von einem Schlachthof (Schacht GmbH, Bad Oldesloe) bezogen wurden. Unmittelbar nach der Schlachtung erfolgte die Übergabe der Organe. Es handelte sich um Organpakete bestehend aus Zunge, Trachea, Lungen, Herz und Leber. Die Lebern wurden unter Erhalt der Vena portae in der Leberpforte freipräpariert. Anschließend erfolgte die Perfusion der ganzen Leber oder einzelner Leberlappen, die eine ausreichende Dicke für die spätere Positionierung der Ablationselektroden aufwiesen. Hierzu wurde die Vena portae oder deren Hauptäste über ein Adapter an ein Infusionssystem angeschlossen und mit einer Tabaksbeutelnaht gefestigt.

Aus praktischen Gründen wurde der Perfusionsanteil über die A. hepatica vernachlässigt, der nur 1/3 der gesamten Leberdurchblutung ausmacht und deren Einfluss auf die Ablationsergebnisse umstritten ist [10,98,113].

Es wurden 1,5 -3 Liter gekühlte, heparinisierte Elektrolytlösung (Ringerlösung 12° C, 2000 i.E. Heparin/Liter Elektrolytlösung) per Schwerkraft infundiert. Eine Aufhellung der perfundierten Lappen und ein Austritt klarer Flüssigkeit aus der Vena cava wurden als Zeichen suffizienter Spülung gewertet. Diese Perfusion diente der Ausspülung von Blutbestandteilen und der Vermeidung von thrombotischen, Ereignissen, um eine spätere Dauerperfusion im Labor zu ermöglichen.

Die so präparierte Leber wurde in eine mit isotonischer Ringerlösung gefüllte Plastiktüte überführt und in einer mit Crush-Eis gefüllten Styroporbox gekühlt in einen Laborrraum der Klinisch-Experimentellen Forschung, Universität zu Lübeck, transportiert.

3.2 Perfusionsmodell

Nach der Organgewinnung und dem Transport in den Laborraum wurde die Leber in ein Perfusionssystem überführt. Dieses wurde nach dem zur Perfusion von Rinderlebern entwickelten Modell von Herrn PD Dr. Lubienski (Radiologisches

Versorgungszentrum Minden-Löhne) konzipiert und für unsere Versuche mit Schweinelebern entsprechend adaptiert und modifiziert [67].
Die Leber wurde in eine Plexiglaswanne mit auf ca. 35 °C vorgewärmter Ringerlösung gelegt. Die Pfortader oder deren in die ausgewählten Leberlappen führenden Hauptäste wurden über einen Adapter an ein Perfusionssystem angeschlossen. Eine Zahnradpumpe (ISMATEC ISM 405A, Glattbrugg, Schweiz) ermöglichte die Aufnahme der Elektrolytlösung aus dem Becken, deren Erwärmung in einem Umwälzthermostat (Haake, Typ 001-4202/ 001-7992, Berlin, Deutschland) und die Perfusion der Leber. Das Umwälzthermostat war auf 41 ° C eingestellt. Da die Flüssigkeit bei dem Durchtritt durch das Schlauchsystem noch von der Raumluft gekühlt wurde, konnte so eine Zieltemperatur im Organ von 37° C erreicht werden.
Die Temperatur im Organ wurde mit einem Einstichthermometer gemessen.

Der venöse Perfusionsdruck wurde auf 18-20 mmHg eingestellt und unterlag, über ein in den Perfusionskreislauf eingeschaltetes Manometer, ständigen Druckkontrollen. Um die Ablation bei einer standardisierten Ausgangstemperatur durchzuführen, wurden die Organe bereits vor dem Ablationsstart mit der erwärmten Flüssigkeit perfundiert. Durch einen Flüssigkeitsaustritt aus der Vena cava und eine messbare Erwärmung der perfundierten Lappen konnte eine erfolgreiche Perfusion verifiziert werden. Um die Unterbindung der Leberperfusion durch das Pringle-Maneuver zu simulieren, wurde die Perfusion nach einer Vorlaufzeit abgestellt. Abbildung 3 zeigt schematisch den Aufbau des Perfusionssystems am Beispiel der ECL.

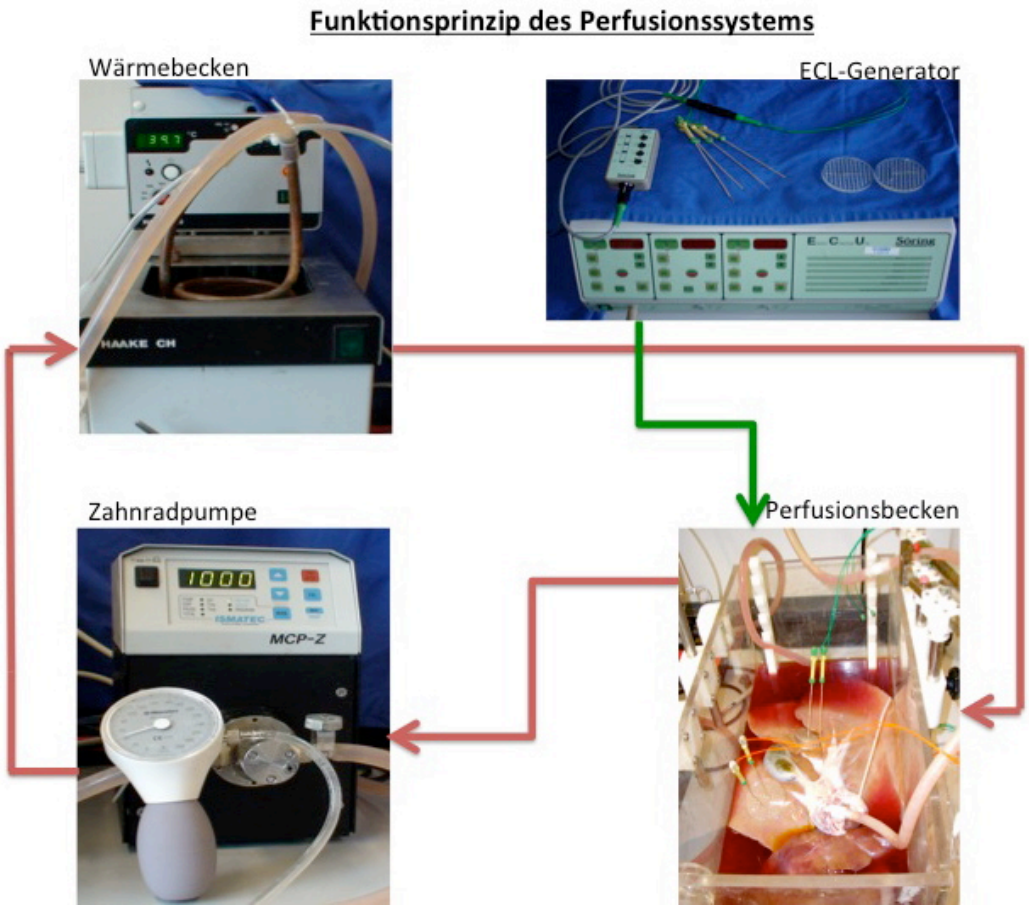


Abb. 3: Schematische Darstellung des Perfusionsmodells anhand der ECL (Rot: Schlauchsystem für die Perfusionsflüssigkeit. Grün: Kabelverbindung vom ECL-Generator zu den Elektroden)

3.3 Radiofrequenzablation

Für die Ablationen mittels RFA verwendeten wir ein monopolares Radiofrequenzsystem (Firma RITA, Medical Systems, Manchester, USA), bestehend aus dem Hochfrequenz-Generatormodell 1500X und den zugehörigen Star Burst Talon Array-Elektroden. Das verwendete Gerät zeigt Abbildung 4.

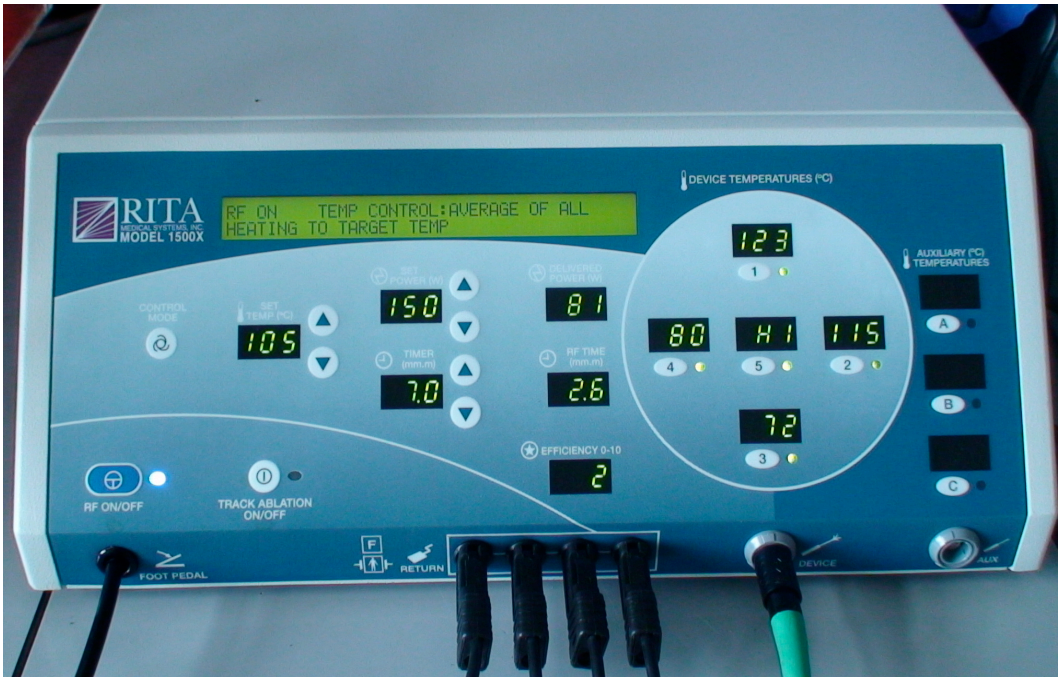


Abb. 4: RF-Generator, mit Konnektion zur RF-Elektrode (rechts) und zum Metallgitter (Mitte)

Die monopolare Ablationsform erfordert einen geschlossenen Stromkreis zwischen RFA-Sonde, Zielgewebe und RFA-Generator. Um diesen zu gewährleisten, wurden die Schweinelebern auf einem Metallgitter positioniert, das mit dem Hochfrequenzgenerator verbunden wurde (Abb 5).

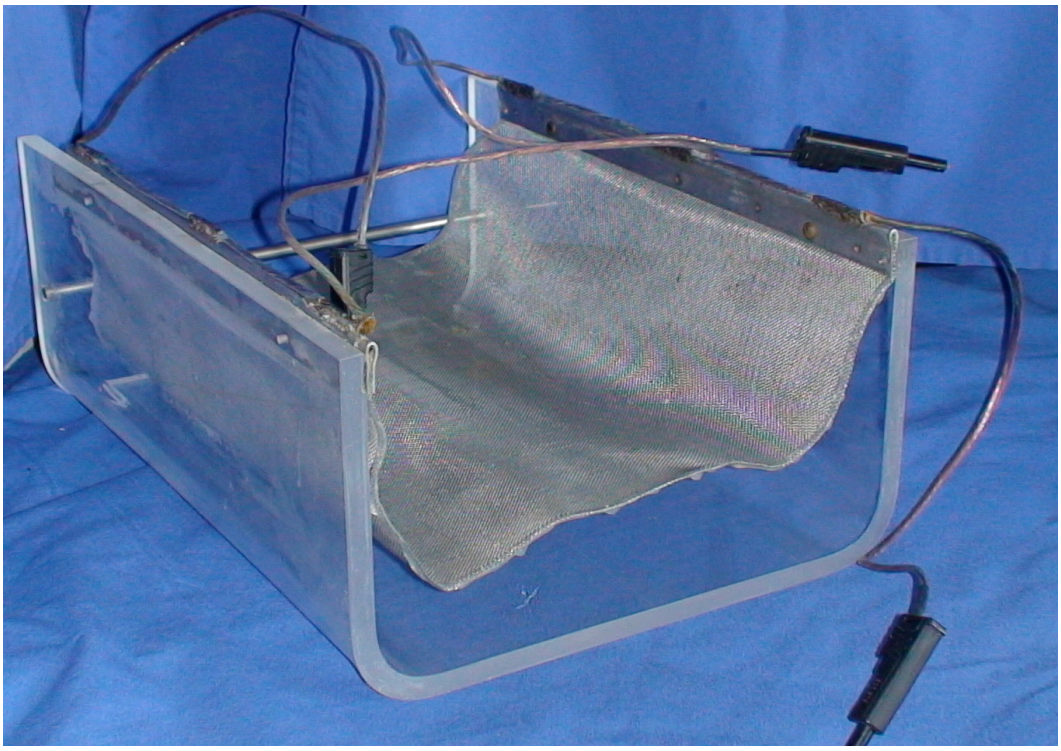


Abb. 5: Metallgitter mit Verbindungskabeln zum RF-Generator als Ableitungselektrode

Die Einführung der Elektroden in die Leber erfolgte ultraschallgestützt, um eine Positionierung in der Nähe eines portalvenösen Gefäßes zu gewährleisten (Abstand < 10 mm, Gefäßdurchmesser > 3 mm). Nach erfolgreicher Platzierung wurde der Elektrodenschirm auf Stufe 3 eingestellt und somit in einer Tiefe von 2,7 cm auf 2,7 cm ausgefahren. Dieser Parameter wurde gewählt, da laut Bedienungsanleitung des Herstellers diese Einstellung für die Erzeugung von Nekrosen mit einem Durchmesser von bis zu 3 cm empfohlen wird. Eine größere Einstellung des Elektrodenschirms führte in der Studie von Czymek et al. zu vermehrten Versuchsabbrüchen. Zudem konnten durch eine Einstellung auf Stufe 5 keine größeren Läsionen und keine Verbesserung der vaskulären Ablationen erzeugt werden [22].

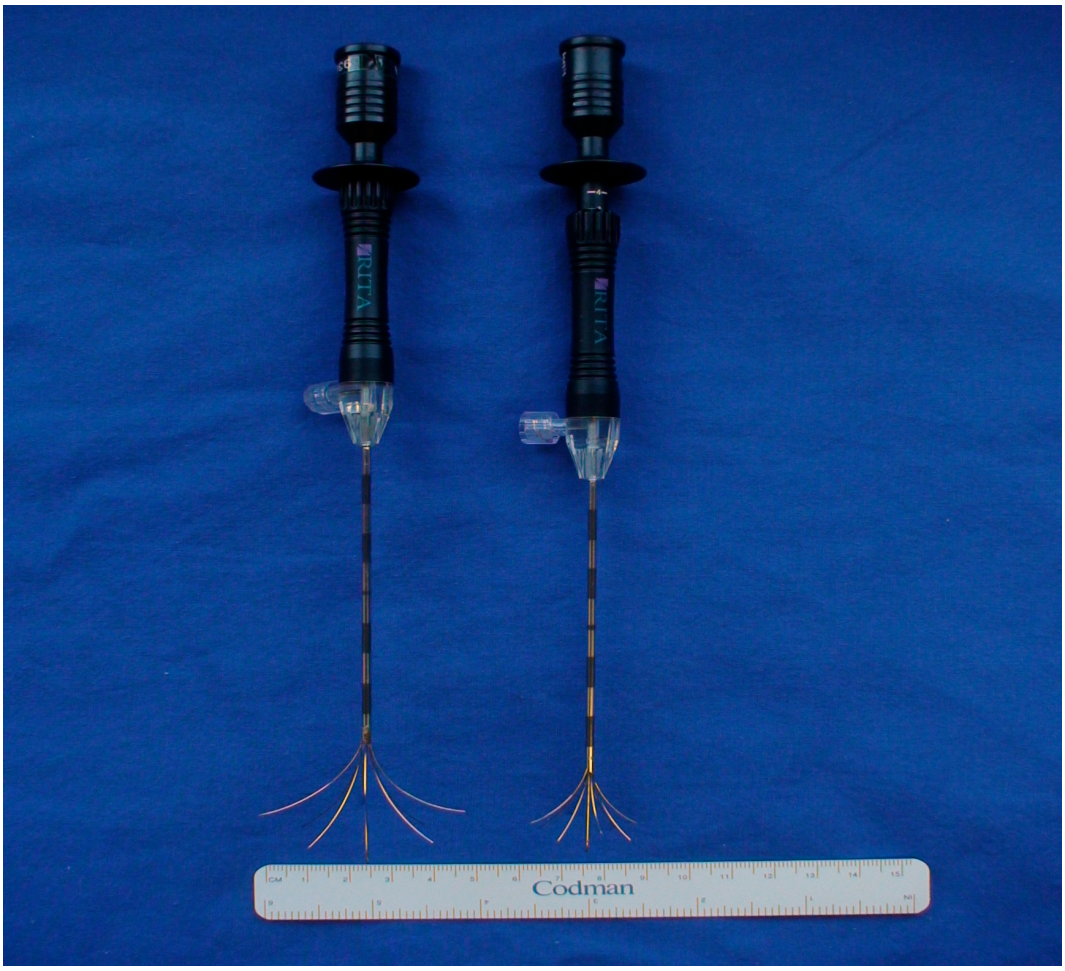


Abb. 6: RFA-Elektroden auf Stufe 5 und Stufe 3 ausgefahren (RITA Starburst Talon-Array)

Die Einstellungen am Generator betrugen für die Zieltemperatur 105 °C, Leistung 150 Watt und die Ablationszeit 10 Minuten (min). Der Ablationszeit von 10 min ging stets eine Aufheizphase von 2,6 – 3,1 min voraus, um die einzelnen Elektrodenarme auf die Zieltemperatur von 105°C zu bringen. Die aktuelle Temperatur wurde während des gesamten Vorgangs über Messfühler an jedem Elektrodenarm gemessen und angezeigt.

Zur Stabilisierung der Elektrode dienten am Plexiglasbehälter angebrachte Haltearme.

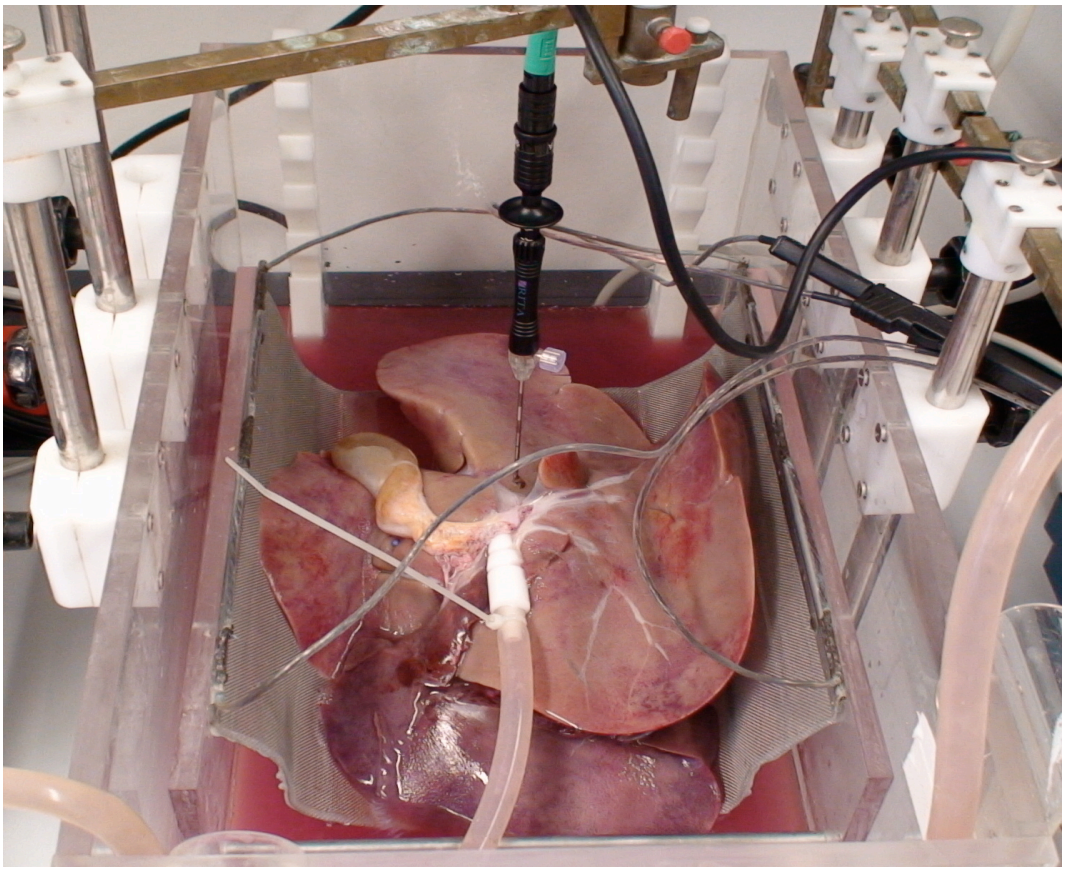


Abb. 7: Organ im Perfusionsbecken mit poitionierter RFA-Elektrode. Perfusionsschlauch über Adapter an die Pfortader angeschlossen.

Die RF-Ablation wurde in zwei Versuchsreihen durchgeführt. Eine unter den bereits beschriebenen Perfusionsbedingungen, bei der anderen wurde die Perfusion nach der Vorlaufzeit abgestellt um das Pringle-Maneuver zu simulieren.
Nach der Ablation wurde die sogenannte Track-Ablation durchgeführt. Hierbei wird die Sonde bei eingefahrenem Elektrodenschirm und einer von 25 Watt langsam reduzierten Leistung über einen Zeitraum von 1 Minute entfernt. In vivo dient diese Methode der Vermeidung von Blutungen und Tumorzellverschleppung im Einstichkanal. In unserem Modell dient sie lediglich der vollständigen Simulation des Verfahrens.

3.4 Elektrochemische Lyse

Die Ablationen mittels ECL wurden mithilfe eines Niederspannungsgerätes ECU 300 (Electro Chemical Unit 300, Firma Söring GmbH Medizintechnik, Quickborn,

Deutschland) durchgeführt. Verwendet wurden Platinelektroden mit einem Durchmesser von 1 mm. Die Versuche wurden alle im Zweier-Cluster durchgeführt. Das heißt, es kamen zwei Elektroden unterschiedlicher Polarität zum Einsatz. Der Bereich um die positiv geladene Elektrode (Anode) wurde mit einer Stecknadel markiert, um die Elektroden später ihrer Polarität zuordnen zu können. Die Positionierung der Elektroden erfolgte ultraschallgestützt, sodass zwischen den beiden Elektroden ein Gefäß von > 3 mm Durchmesser lag. Eine Schablone aus Plexiglas ermöglichte die Fixierung der Elektroden in dem gewählten Abstand von 2 cm. Die Einrichtung und Konnektion des Organes mit den Perfusionsschläuchen und Elektrodenkabeln erkennt man in Abbildung 8.

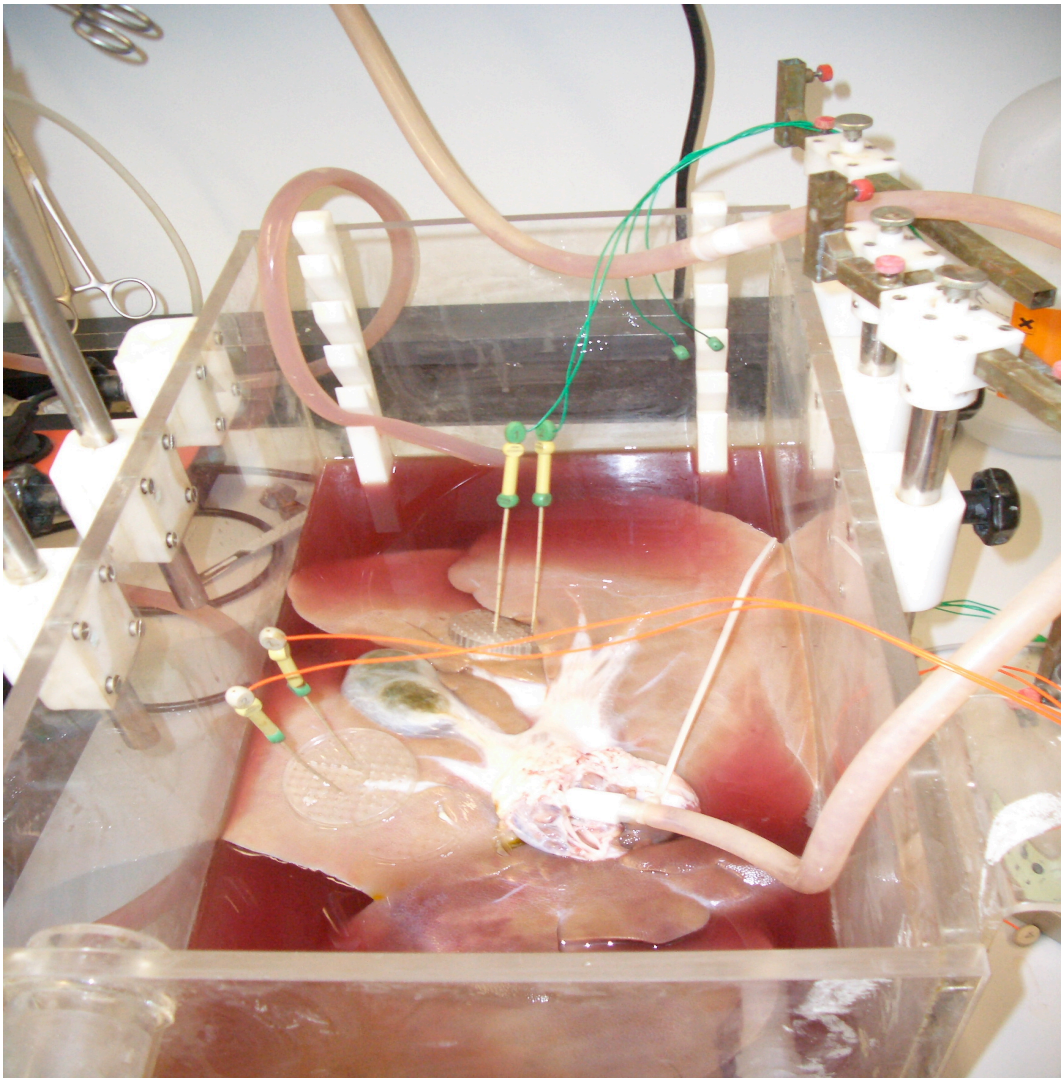


Abb. 8: Simultane ECL-Ablation in 2 Leberlappen. Je 2 Elektroden über die Plexiglasschablonen im Gewebe positioniert. Pfortader über Adapter mit Perfusionsschlauch verbunden.

Das verwendete Gerät ECU 300 verfügt über drei getrennt voneinander programmierbare Ablationskanäle. So konnten, bei ausreichender Größe der einzelnen Leberlappen, pro Leber 2-3 Ablationen gleichzeitig durchgeführt werden. Abbildung 9 zeigt das Niederspannungsgerät inklusive der Elektroden und der Plexiglasschablonen.

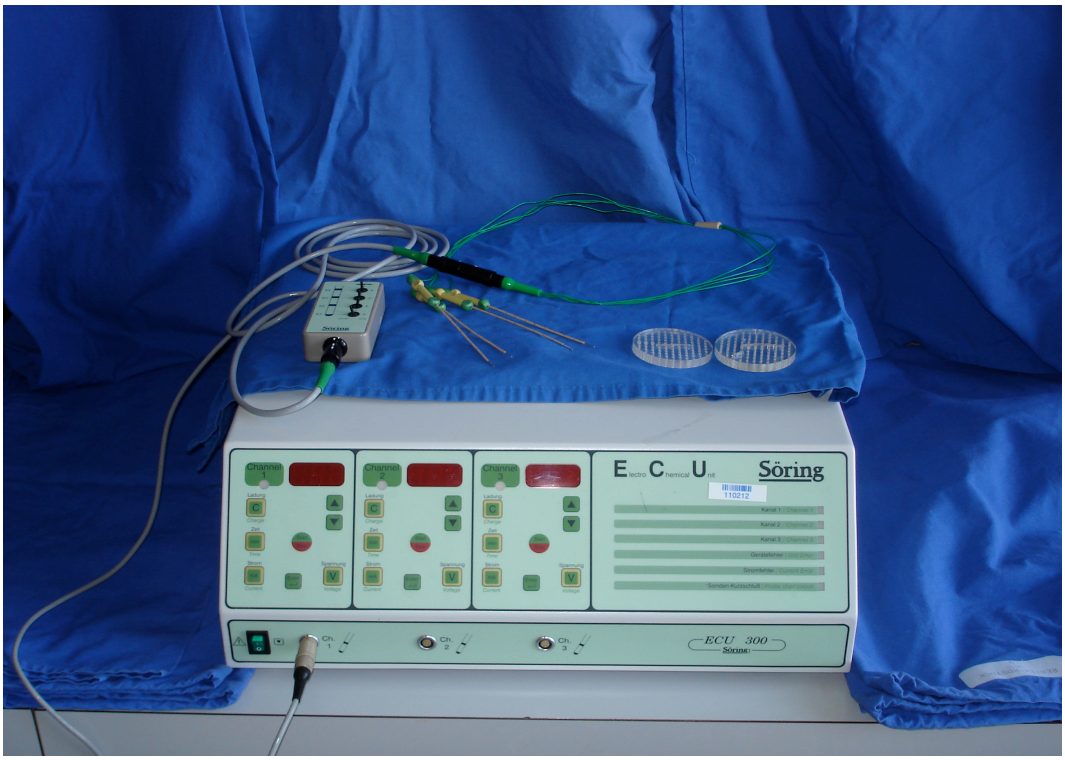


Abb. 9: ECL-Niederspannungsgerät (Söring, ECU 300), Platinelektroden und Plexiglasschablonen

Es erfolgten 2 Versuchsreihen mit identischen Einstellungsparametern für die Ablation. Die Ladung betrug 25 Volt (V) bei einer Stromstärke von 50 mA, die Ablationszeit 100 min und die daraus resultierende Ladung 300 Coulomb (C) (Stromstärke x Zeit). Die zu applizierende Ladung von 300 C und der Elektrodenabstand von 2 cm wurden basierend auf den Ergebnissen der Studie von Czymek et al. gewählt [22]. So wurden Läsionen von vergleichbarer Größe derer der RFA erzeugt. Außerdem führte die Applikation einer Ladung > 300 C nur zu unsignifikanter Steigerung des Ablationsvolumens.

Wie bei der RFA unterschieden sich die beiden Versuchsreihen nur durch die Simulation des Pringle-Maneuvers vor Ablationsbeginn.

3.5 Aufarbeitung der Gewebeproben

3.5.1 Beschreibung der Läsionen

Makroskopie

Nach abgeschlossener Ablation wurde der entsprechende Leberlappen entnommen. Die Läsion wurde entlang des Stichkanals eröffnet und dabei mittig zerteilt. Es folgten die Vermessung und die Beurteilung von Form, Farbe und durch die Läsion ziehender Gefäße. Der maximale Diameter wurde bestimmt. Kam es bei der ECL nicht zu einer vollständigen Verschmelzung beider Ablationszonen von Kathode und Anode, so wurden beide Zonen einzeln vermessen und ihrer Form nach als ungleichmäßig bezeichnet. Die Form wurde als Gesamteindruck bezüglich Geometrie und Gleichmäßigkeit notiert. Das Ausmaß der Läsion ließ sich optisch anhand der Farbe und Gewebekonsistenz bestimmen.

Histologie

Nach abgeschlossener makroskopischer Begutachtung wurde die Gewebeprobe für mindestens 48 Stunden in Formalinlösung (4,5 %-ige, gepufferte Formaldehydlösung) fixiert. Der Querschnitt wurde in 4 Quadranten zerteilt und die nach innen weisenden Kanten farblich markiert. Die Gewebeproben wurden in vorgefertigte Zuschnittkapseln gegeben und bis zur Weiterverarbeitung in Formalin belassen. Der Zuschnitt in die Kapseln erfolgte nach in Abb. 10 dargestelltem Schema.

Buchstaben – und Zahlenmarkierungen auf den Kapseln ermöglichten eine verblindete histologische Beurteilung der Läsionen und eine spätere Zuordnung der Ergebnisse zu den Versuchsgruppen. Diese Gewebeproben wurden dann in Paraffin eingebettet, auf eine Schichtdicke von 4 µm zugeschnitten, auf Standardobjektträger platziert und mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) eingefärbt. (Färbeschema s. Anhang). Die histologische Untersuchung erfolgte in freundlicher Zusammenarbeit mit Herrn Maximilian Gebhard im Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck.

Die Beurteilung der lädierten Zone und der Gefäße erfolgte standardisiert unter einer 25-fachen Vergrößerung und einer 40-fachen Vergrößerung.

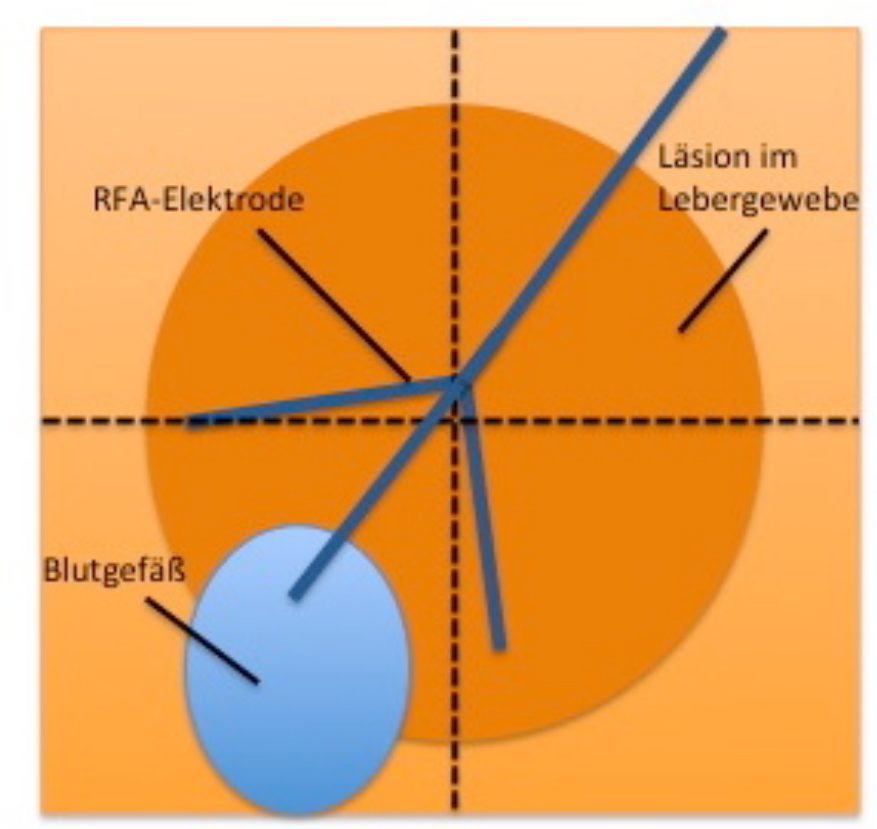


Abb. 10: Schema für den Zuschnitt in die Gewebekapseln. Die gestrichelten Linien stellen die Schnittführung dar.

3.5.2 Gefäße

Makroskopie

Im Querschnitt des Gewebes wurde standardisiert der kleinste Durchmesser der Gefäße innerhalb der Läsion bestimmt. Es wurden makroskopisch nur Gefäße ≥ 3 mm eingeschlossen, da dem Heat-Sink-effect (HSE) eine Abhängigkeit von der Gefäßgröße zugeschrieben wird. Lu et al. beobachteten bei einem Gefäßdurchmesser n > 4mm einen HSE an 100 % der Gefäße, bei Gefäßen von 3-4 mm Durchmesser nur noch an 60-80 % [64]. Zudem war die Beurteilung kleinerer Gefäße makroskopisch erschwert. Die Lage der Gefäße in der Läsion wurde skizziert und ausgemessen. Sie galt später als Orientierung in der histologischen Untersuchung. Trotz eines unscharfen Übergangs vom abladierten zum unversehrten Gewebe im histologischen Bild konnte so nachvollzogen werden, ob ein Gefäß tatsächlich in der Läsion lag.

Desweiteren wurde der perivaskuläre Bereich beurteilt. Glich dieser Bereich in Farbe und Konsistenz dem unversehrten Gewebe, so wurde dies als perivaskuläre Aussparung der Ablation bezeichnet.

Histologie

Um einen vergleichbaren Standard herzustellen, haben wir nur Gefäße von einem Durchmesser v > 1mm in die histologische Auswertung eingeschlossen. Zusätzlich zur makroskopischen Auswertung wurden auch Gefäße eines Durchmessers von 1 – 3 mm untersucht, um einen möglichen "Heat-Sink-effect" an kleineren Gefäßen mit einzubeziehen. Es wurden auch Gefäße in die histologische Auswertung eingeschlossen, die wegen eines ungünstigen Verlaufes in den Schnittebenen makroskopisch nicht nachzuvollziehen waren. Die histologische Untersuchung nahmen wir zunächst in der Übersicht unter 25-facher Vergrößerung vor. Eine genauere Beurteilung der Gefäßwände erfolgte zusätzlich unter 40-facher Vergrößerung. Die Blutgefäße wurden anhand ihrer Wandstruktur und des perivasalen Lebergewebes beurteilt. Zur Beurteilung der Blutgefäße im Läsionsareal wurden Gefäße aus dem abladierten Lebergewebe und Gefäße aus Vergleichsproben unversehrten Lebergewebes miteinander verglichen. Als intakt galten Gefäße mit einer durchgängigen Tunica Intima einschließlich regelmäßiger, ovaler Zellkerne sowie eine regelmäßige und gut definierbare Struktur der glatten Muskulatur und der Bindegewebsfasern der Media. Bei der RFA wurde die Gefäßlage unterschieden und nach dem Abstand zur Läsionsmitte ebenfalls in 2 Gruppen (v1 < 10mm, v2 ≥ 10mm) unterteilt, um einen Einfluss der Gefäßlage auf die Ablationen zu untersuchen. Bei der ECL war diese Unterscheidung nicht notwendig, da so gut wie alle Gefäße vollständig abladiert wurden.

3.6 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte anhand einer deskriptiven Analyse der vorliegenden Daten.

Der Vergleich zweier Gruppen hinsichtlich metrischer Parameter (Temperatur in °C, Breite in cm) erfolgte aufgrund von unabhängigen Variablen und normalverteilten Stichproben (Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest > 0,05) mittels studentischem T-

Test. Vergleiche zwischen Gruppen hinsichtlich eines diskret kodierten Merkmals wurden mit dem χ^2-Test (Chi-Quadrat) durchgeführt. Es wurde unter beidseitiger Testung ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ definiert, sodass ein Test bei $p < 0{,}05$ als signifikant bewertet wurde. Die gesammelten Daten wurden zunächst in Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA) verarbeitet und gespeichert. Die Auswertung erfolgte mit dem Statistik-Paket SPSS 20 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM, Armonk, NY, USA)

4. Ergebnisse

4.1 Organgewinnung und Versuchsdurchführung

4.1.1 Versuchsaufbau

Insgesamt wurden in 27 porcinen Lebern 61 Läsionen durch die verschiedenen Verfahren produziert. 12 Schweinelebern wurden in die Gruppe des RFA-Verfahrens, 15 in die Gruppe des ECL-Verfahrens randomisiert. Dabei wurden 15 Läsionen mittels RFA bei druckkontrollierter, kontinuierlicher Perfusion (Gruppe 1) und 15 weitere Läsionen mit der RFA, aber unter Simulation des Pringle-Maneuvers gesetzt (Gruppe 2). 16 Läsionen wurden mittels ECL bei druckkontrollierter, kontinuierlicher Perfusion (Gruppe 3) und 15 Läsionen mit der ECL unter Simulation des Pringle-Maneuvers erzeugt (Gruppe 4). Sechs Proben wurden aufgrund fehlender Einschlüsse von Gefäßen in die Läsion von der Wertung ausgeschlossen. Eine Übersicht über die Einteilung in die Versuchsgruppen zeigt Tabelle 1.

Verfahren	Perfusion +	Perfusion –
RFA	Gruppe 1 (n = 15)	Gruppe 2 (n = 15)
ECL	Gruppe 3 (n = 16)	Gruppe 4 (n = 15)

Tab. 1: Einteilung der Versuchsgruppen

4.1.2 Organgewinnung

Das mittlere Organgewicht betrug vor Beginn der Perfusion 1980,6 g ± 1030 g und nach dem Eingriff 2055,9 g ± 1081 g. Die Organtemperatur bei Übergabe im Schlachthof lag bei durchschnittlich 38,8 ± 1,8 °C. Gegenüber der normalen Körpertemperatur des Schweines von 38,3 ° C ± 0,3 ist dieser Wert leicht erhöht [90]. Eine Erklärung dafür wäre der außergewöhnliche Stresszustand der Tiere durch den Transport zum Schlachthof und die Schlachtung. Die Zeit von der Schlachtung bis zur Reperfusion im Labor betrug im Durchschnitt 124,8 ± 147 min. Um die, während des Transportes gekühlte Leber auf physiologische Temperaturen

zu bringen, wurde sie vor Beginn der Ablation für 23,11 ± 30 min mit erwärmter Ringerlösung perfundiert. Während der Ablation betrug die Temperatur in der Leber im Mittel 37,4 ± 1,3 °C. Nach Austritt aus der Leber betrug die Temperatur der Flüssigkeit im Perfusionsbecken 34,8 °C ± 3,6 °C. Der Perfusionsdruck wurde über manometrische Kontrollen, dem Organwiderstand angepasst, auf 18 – 20 mmHg eingestellt.

4.1.3 Blutgefäße

Makroskopisch wurden 101 Gefäße mit einem Durchmesser D ≥ 3mm in die Auswertung eingeschlossen. Davon lagen n = 27 (v = Anzahl Blutgefäße) in den RFA-Querschnitten von Gruppe 1, n = 24 in denen von Gruppe 2, n = 34 in den ECL-Querschnitten von Gruppe 3 und n = 16 in denen von Gruppe 4.

In der histologischen Untersuchung wurden n = 165 Gefäße mit einem Durchmesser > 1 mm in die Auswertung eingeschlossen. Davon lagen n = 41 Gefäße in den histologischen Schnitten der RFA-Läsionen von Gruppe 1 und n = 41 der Gefäße lagen in Gruppe 2. N = 47 Gefäße lagen in den ECL-Schnitten von Gruppe 3 und n = 36 Gefäße in denen von Gruppe 4.

4.2 RFA

4.2.1 Durchführung

Der Elektrodenschirm wurde nach Platzierung in der Leber auf Stufe 3 (2,7 cm) ausgefahren. Die Ablationszeit betrug nach einer Aufheizphase (Zieltemperatur 105° C) von durchschnittlich 2,8 ± 0,5 Minuten immer 10 Minuten.

Die vom RF-Generator gesteuerte Energieapplikation wurde an zwei Zeitpunkten abgelesen, da sie von Beginn bis zum Ende der Ablation abnahm. Der RF-Generator applizierte in Gruppe 1 zu Anfang des Vorgangs mit durchschnittlich 44,73 ± 59 Watt signifikant mehr Energie als in Gruppe 2 mit 28,73 ± 51 Watt (p = 0,013, T-Test). Am Ende des Ablationsvorgangs lag die Energieapplikation in Gruppe 1 bei 23,13 ± 29 Watt, in Gruppe 2 bei 13,00 ± 32 Watt (p = 0,01, T-Test).

4.2.2 Makroskopische Beschreibung

Bereits bei der Entnahme der Lebern aus dem Perfusionsbecken waren die RFA-Läsionen im Gewebe als runde Verhärtungen tastbar. Nach Eröffnung des Gewebes

entlang des Stichkanals ließen sich anhand der helleren Farbe und härteren Gewebekonsistenz die Läsionen vom umgebenden Gewebe abgrenzen (s. Abb. 11). Der Übergang von abladiertem zu normalem Gewebe war unscharf und nicht exakt festzulegen. Die geometrische Form erschien birnenförmig bis oval.

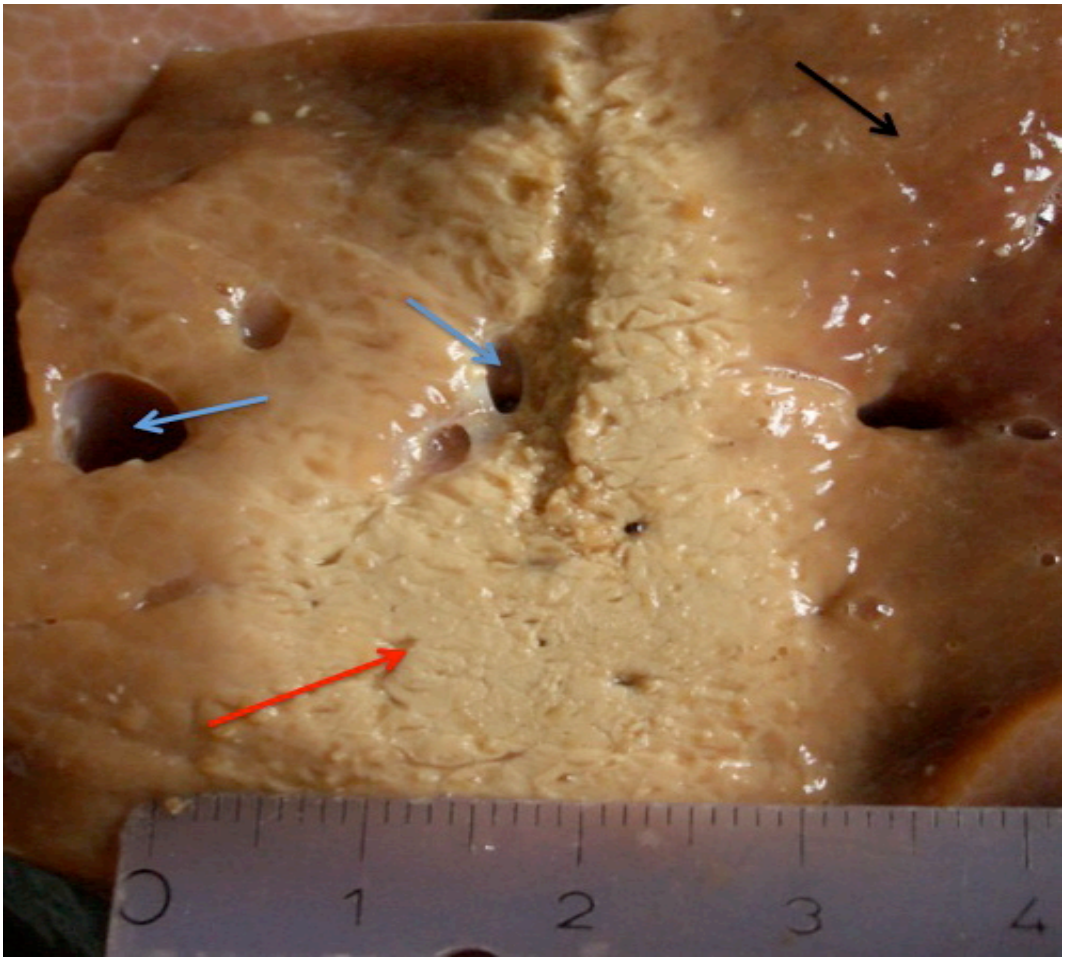


Abb. 11: RFA-Läsion im Querschnitt, Abladiertes Gewebe (Roter Pfeil), Unversehrtes Gewebe (Schwarzer Pfeil), Blutgefäße (Blaue Pfeile)

4.2.3 Histologische Beschreibung

Die RFA-Läsionen im Lebergewebe stellten sich nach der HE-Färbung durch eine Veränderung des Interstitiums, der Parenchymstrukturen sowie der Färbung dar. Das Zytoplasma der intraläsionalen Hepatozyten erschien eosinophiler und von der Struktur homogener. Die Zellkerne hingegen waren in ihrer Morphologie unverändert. Die Sinusoide waren verquollen, das interlobuläre Bindegewebe wirkte kondensiert und von der Färbung basophiler. Der Übergang zwischen abladiertem und normalem Gewebe war nicht eindeutig abzugrenzen. Insgesamt war

intraläsional der typische, histologische Aufbau des Lebergewebes noch grob nachzuvollziehen. Abb. 12 zeigt einen Ausschnitt mittels RFA abladierten Gewebes.

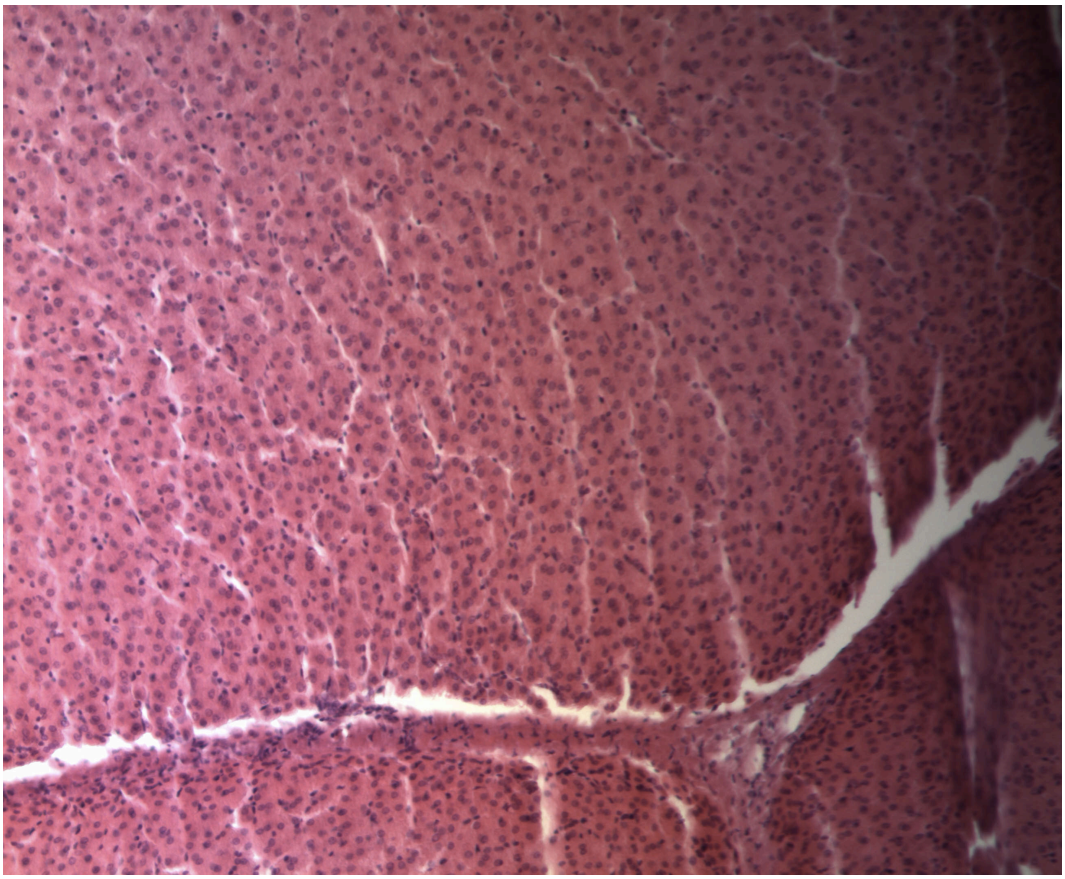


Abb. 12: Lebergewebe nach RF-Ablation, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung,

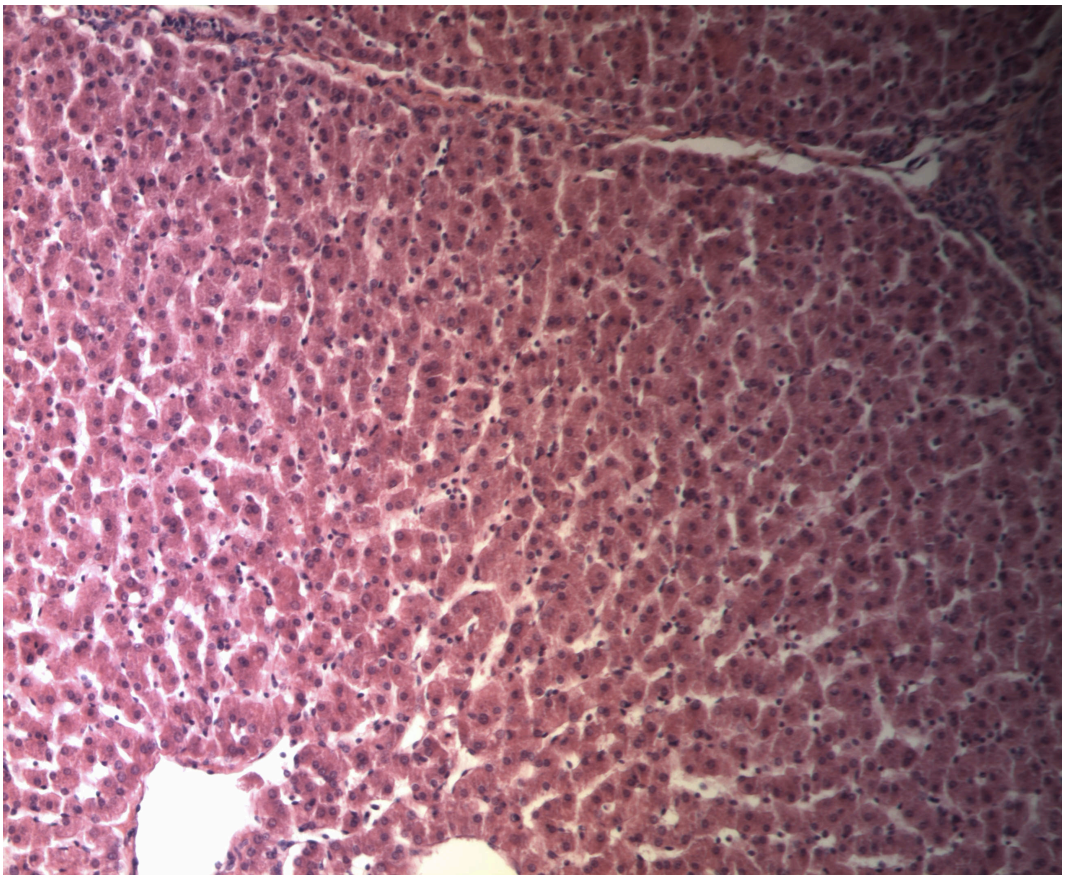


Abb. 13: Unversehrtes Lebergewebe nach 2h Perfusion, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung

4.2.4 Form

In Gruppe 1 (RFA ohne Pringle) wiesen 33,3 % (n = 5) der Läsionen unregelmäßige Formen auf, in Gruppe 2 (RFA mit Pringle) waren es 13,3 % (n = 2) der Läsionen. Dieser Unterschied war nicht signifikant (χ^2-Test).

4.2.5 Größe

Der maximale Diameter der Läsionen in Gruppe 1 betrug durchschnittlich 3,11 ± 1,0 cm. In Gruppe 2 lag er bei 3,38 ± 1,1 cm. Vergleicht man Gruppe 1 und 2 miteinander, so war der maximale Diameter in Gruppe 1 signifikant größer als in Gruppe 2 (p = 0,028, T-Test).

4.2.6 Perivaskuläre Ablation

Anhand der Färbung ließen sich um Gefäße herum deutlich Aussparungen intakten Gewebes erkennen. So gab es innerhalb der erwarteten, ovalären Form der Läsionen

Bereiche mit intaktem Gewebe. In Abbildung 14 ist ein Beispiel dieser perivaskulären Aussparungen dargestellt.

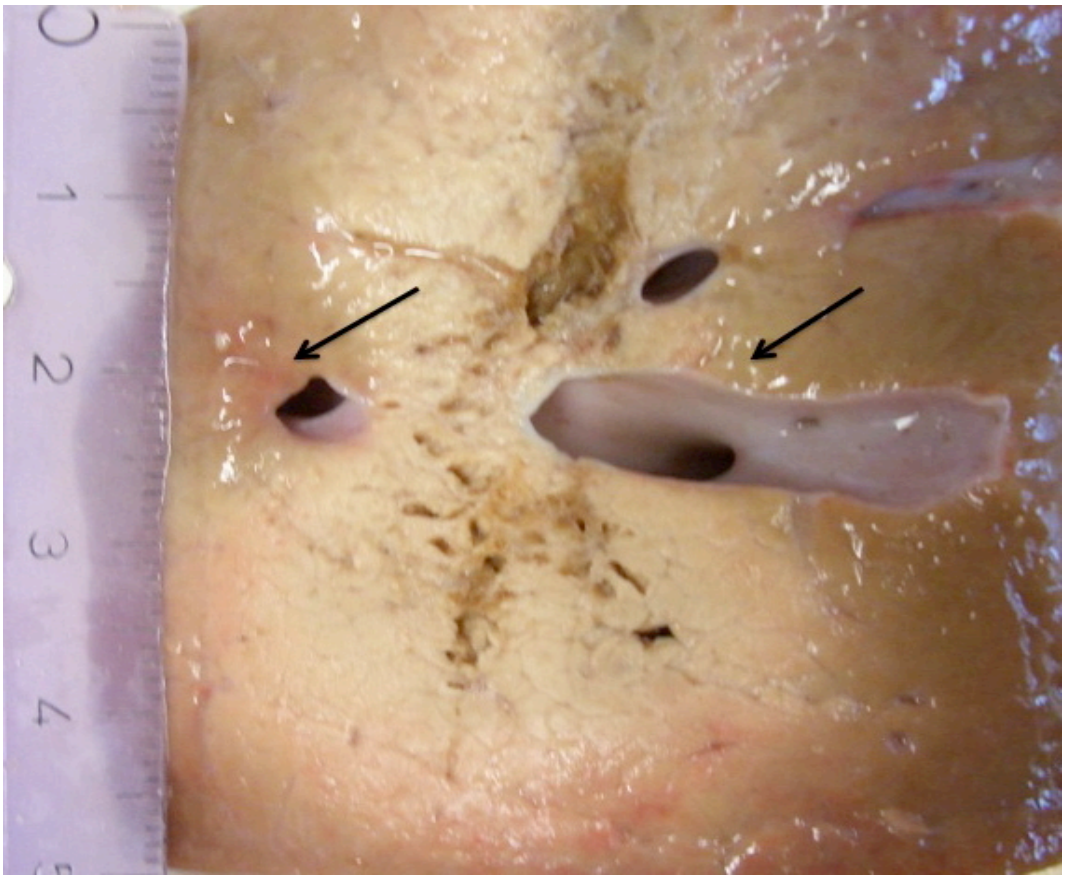


Abb 14: RFA-Läsion im Querschnitt mit perivaskulären Aussparungen (Schwarze Pfeile)

In der Gruppe 1 waren makroskopisch an 74,1 % (n = 20) Gefäßen Aussparungen mit intaktem Gewebe zu erkennen. In Gruppe 2 mit Pringle war bei 33,3% (n = 8) der Gefäße perivaskulär intaktes Gewebe auszumachen.
Im Vergleich der RFA-Gruppen traten signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen intakten Gewebes in Gruppe 1 (RFA ohne Pringle) als in Gruppe 2 (RFA mit Pringle) auf ($p = 0{,}004$, χ^2 - Test).
Die Betrachtung der perivasalen Zone im histologischen Bild ergab, dass in Gruppe 1 68,3 % (n = 28) der Gefäße umliegend noch Bereiche mit intakten Zellen aufwiesen.
In Gruppe 2 waren 43,9 % (n = 18) der Gefäße noch von intakten Zellen umgeben.
Im Vergleich konnten in Gruppe 1 signifikant mehr Gefäße mit intaktem, perivasalen Gewebe beobachtet werden als in Gruppe 2 ($p = 0{,}026$, χ^2 - Test).



Abb. 15: RFA-Läsion mit Blutgefäß (Blauer Pfeil) und perivaskulär vitalem Gewebe, HE-Färbung, 25-fache Vergrößerung

4.2.7 Gefäßwände

Die Struktur von Blutgefäßen wurde mit Blutgefäßen in nicht-abladiertem Gewebe verglichen. Lädierte Gefäße zeigten Intimazerreißungen, eine verquollene und eosinophiler angefärbte Tunica media oder gar eine völlige Auflösung der Struktur der Tunica media. In Abbildung 17 sieht man eine nach einer RF-Ablation zerstörte Gefäßwand. Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 16 die Wand eines Blutgefäßes in unversehrtem Lebergewebe.

Die histologischen Untersuchungen ergaben, dass in der Gruppe 1 68,3 % (n = 28) der Blutgefäße post-ablationem noch intakt waren. In Gruppe 2 waren noch 56,1 % (n = 23) der Gefäßwände intakt. Vergleicht man beide RFA-Gruppen miteinander, so ergibt sich in der Anzahl intakter Gefäße kein Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 ($p = 0{,}255$, χ^2-Test).

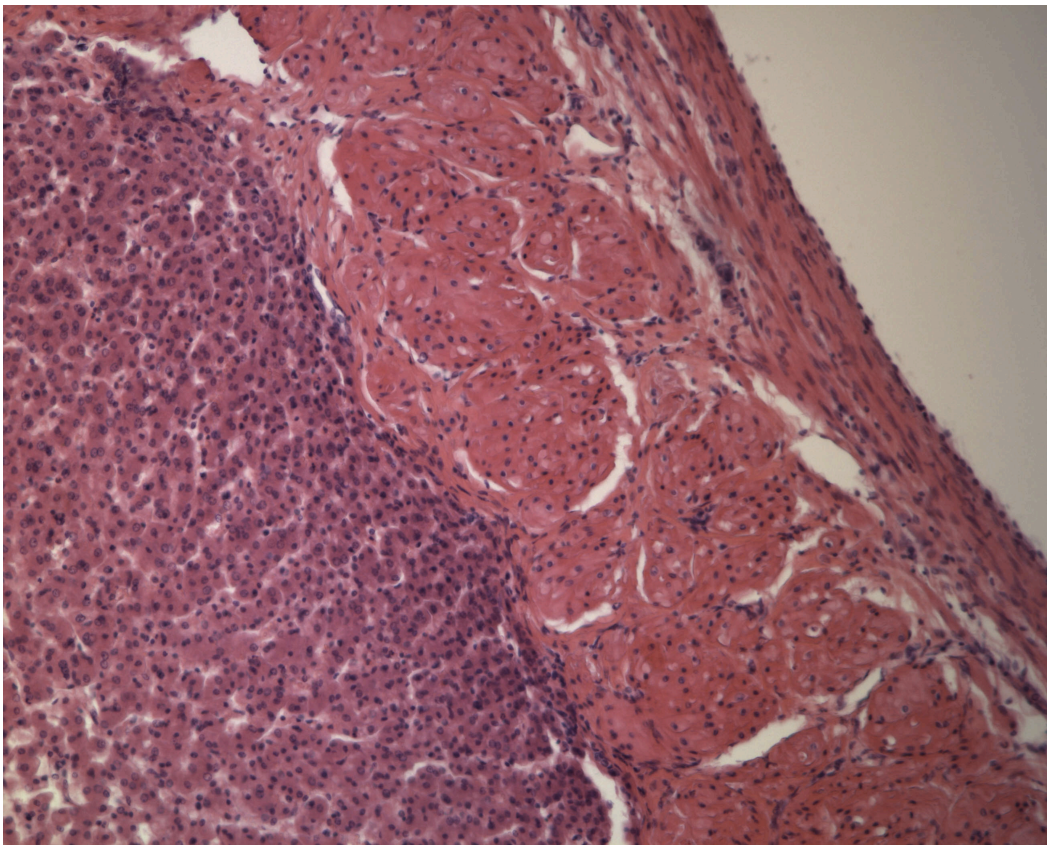


Abb. 16: Unversehrte Gefäßwand (rechts) mit anliegendem unversehrtem Lebergewebe (links), HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung

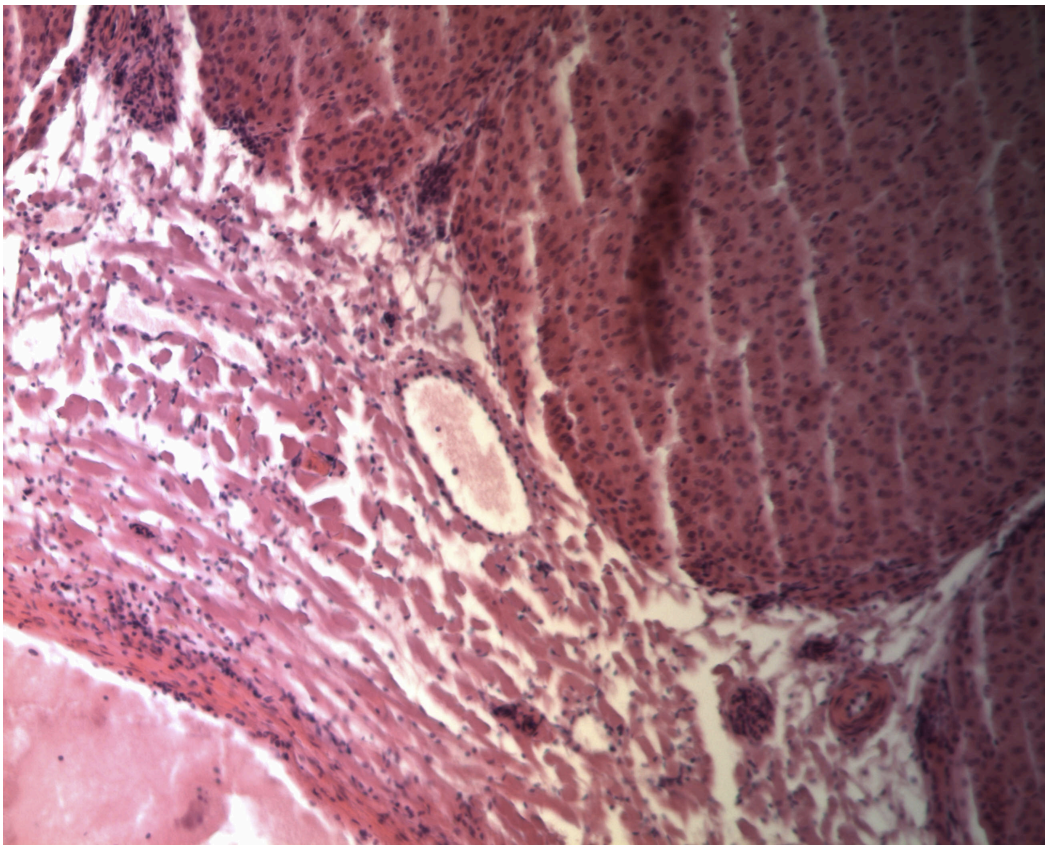


Abb. 17: Destruierte Gefäßwand (links unten) mit destruiertem Lebergewebe (rechts oben) nach RF-Ablation, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung

4.2.8 Einfluss des Gefäßabstandes.

Bei den RFA-Läsionen teilten wir die Gefäße nach ihrem Abstand von der Elektrodenspitze zur statistischen Beurteilung in 2 Gruppen ein (entweder zentral < 10 mm oder peripher ≥ 10 mm).

Innerhalb der Gruppe 1 wurden an zentralen Gefäßen bei 56,2 % (n = 9) perivaskuläre Aussparungen intakten Gewebes ausgemacht. Histologisch waren 53,6 % (n = 15) dieser Gefäße intakt und bei 53,6 % (n = 15) waren perivaskulär intakte Zellen zu erkennen.

Im peripheren Bereich der Läsionen wiesen alle Gefäße (n = 11) Aussparungen mit intaktem Gewebe auf. Histologisch waren 100 % (n = 13) dieser Gefäße intakt und ließen intakte Zellen in ihrer Umgebung erkennen (n = 13).

In der Gruppe 2 mit Pringle-Maneuver wurden an 26,7 % (n = 4) der zentralen Gefäße perivaskuläre Aussparungen mit intaktem Gewebe verifiziert . Histologisch waren 42,9 % (n = 12) der Gefäße intakt, 25 % (n = 7) zeigten perivasal intakte

Zellen. Bei peripheren Gefäßen gab es 44,4 % (n = 4) mit vitalen Aussparungen, histologisch waren 84,6 % (n = 11) der Gefäße intakt und es zeigten sich an 84,6 % (n = 11) intakte Zellen.

Bei der RFA ohne Pringle-Maneuver ist ein deutlicher Einfluss der Gefäßdistanz auf das Ablationsergebnis vorhanden. Liegen die Gefäße in der Peripherie eines Ablationsgebietes, gibt es makroskopisch mehr perivasale Aussparungen (p = 0,011, χ^2-Test) häufiger intakte Gefäßwände (p = 0,003, χ^2-Test) und häufiger perivaskulär vitale Zellen (p = 0,003, χ^2-Test).
Bei den RF-Ablationen mit Pringle-Maneuver ist der Einfluss der Gefäßdistanz auf makroskopisch perivasale Aussparungen nicht signifikant. Mikroskopisch sind im peripheren Bereich häufiger intakte Gefäßwande (p = 0,012, χ^2-Test) und häufiger perivaskulär intakte Zellen auszumachen (p < 0,001, χ^2-Test)
Eine Zusammenfassung der Ablationen im Gefäßbereich unter Einbeziehung der Distanz zwischen Elektrode und Gefäß ist in Tabelle 2 und Tabelle 3 dargestellt.

Tab. 2: Einfluss der Gefäßlage auf die perivaskuläre RF-Ablation, Makroskopisch

Gefäßlage	**RFA ohne Pringle**	**RFA mit Pringle**
Perivaskuläre Aussparung, Distanz < 10mm	56,2 % (n = 9)	26,7 % (n= 4)
Perivaskuläre Aussparung, Distanz ≥ 10mm	100 % (n = 11)	44 % (n = 4)
Signifikanz (χ^2-Test)	p : 0,011	p : 0,371

Tab. 3: Einfluss der Gefäßlage auf die RF-Ablation an Gefäßen, Mikroskopisch

Gefäßlage	**RFA ohne Pringle**	**RFA mit Pringle**
Intakte Gefäßwände, Distanz < 10mm	53,6 % (n= 15)	42,9 % (n = 12)
Intakte Gefäßwände, Distanz ≥ 10mm	100% (n= 13)	84, 6 % (n = 11)
Signifikanz (χ^2-Test)	p : 0,003	p : 0,012
Perivaskulär intakte Zellen, Distanz <	53,6 % (n = 15)	25 % (n = 7)
Perivaskulär intakte Zellen, Distanz ≥	100% (n = 13)	84, 6 % (n= 11)
Signifikanz (χ^2-Test)	p : 0,003	p < 0,001

4.3 ECL

4.3.1 Durchführung

Die Elektroden wurden in einem Abstand von 2 cm platziert, sodass immer ein Gefäß mittig zwischen den Elektroden verlief. Der Stromgenerator wurde auf eine Stromstärke von 25 mA, eine Spannung von 50 mV und eine Applikationsdauer von 100 Minuten eingestellt. Somit wurde über diesen Zeitraum insgesamt eine Ladung von 300 C appliziert. Bei dem Vorgang der ECL kam es in keinem Fall zu Problemen oder Verzögerungen des ECL-Generators.

4.3.2 Makroskopische Beschreibung

Nach Durchführung der ECL waren die Läsionen ebenfalls manuell tastbar. An der Kathode war die Läsion weicher als an der Anode, an den Einstichstellen der Elektroden traten Gasblasen aus.

Nach Eröffnung der Läsion entlang der Stichkanäle imponierte um jede der Elektroden eine zylinderförmige Läsion, die anhand der Farbe und Konsistenz scharf vom unversehrten Gewebe abzugrenzen war. An der Anode erschien die Läsion in Form einer Koagulationsnekrose. Die Farbe war heller und die Konsistenz härter als das unversehrte Gewebe. An der Kathode imponierte das Gewebe kolliquationsartig destruiert und von bernsteinfarbener, verflüssigter Konsistenz (Abb. 18).

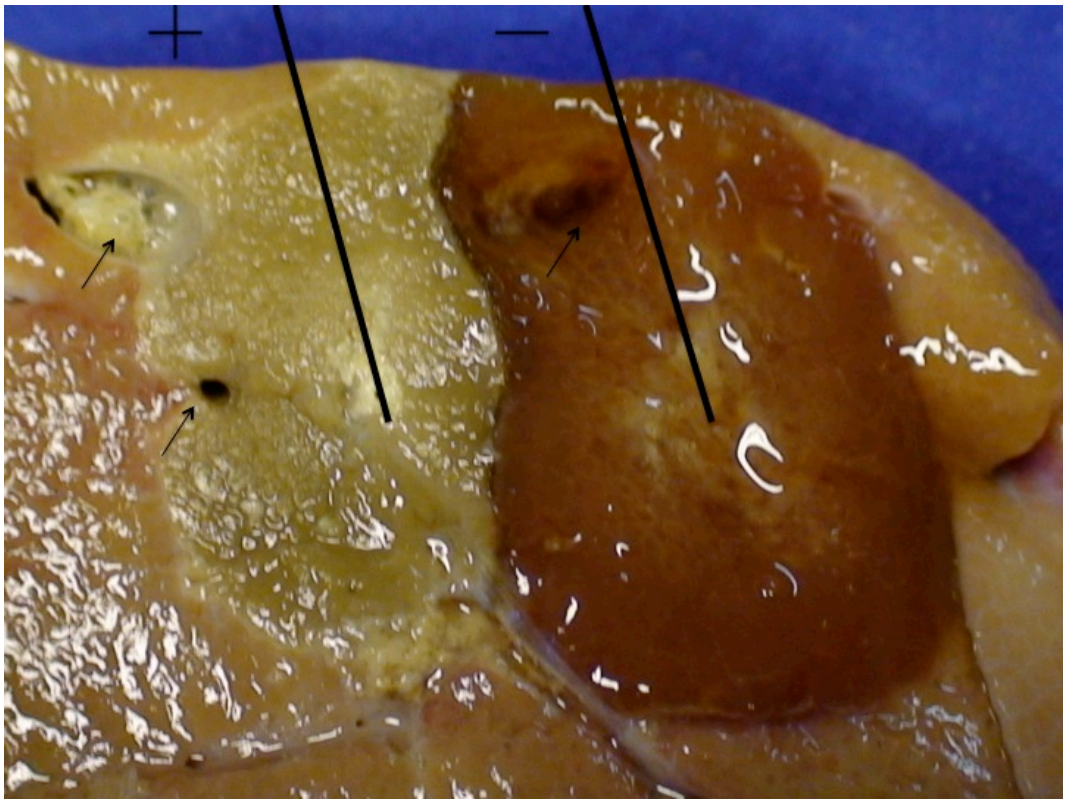


Abb. 18: ECL-Läsion im Querschnitt, Elektrodenposition schematisch dargestellt, Kolliquationsnekrose Kathode (-), Koagulationsnekros Anode (+), Blutgefäße (Pfeile)

4.3.3 Histologische Beschreibung

Die ECL-Läsionen imponierten mit einer deutlich stärker ausgeprägten Veränderung der zellulären und interstitiellen Strukturen als die der RFA. Einen Ausschnitt aus einer ECL-Läsion zeigt Abbildung 19. An der Kathode zeigte sich das Bild einer Kolliquationsnekrose. Das Zytoplasma erschien homogen und blass eosinophil. Die Zellgrenzen waren vollständig aufgehoben. Die Zellkerne imponierten achromatisch und aufgequollen. Sinusoide waren verquollen und in ihrem Verlauf nicht mehr nachzuvollziehen. Der Übergang zu unversehrtem Gewebe war immer scharf abzugrenzen. An der Anode trat das histologische Bild einer Koagulationsnekrose auf. Das Zytoplasma erschien stark eosinophil. Zellgrenzen waren nicht mehr auszumachen und die Zellanordnung erschien in einer balkenartig angeordneten Struktur. Die Zellkerne wirkten kondensiert. Der Übergang zum unversehrten Gewebe war scharf abzugrenzen. Zwischen dem Bereich der Anode und dem der Kathode existierte eine schmale, scharf abzugrenzende, eosinophile Übergangszone. Insgesamt war in keinem Bereich der ECL-Läsionen die histologische Struktur des ursprünglichen Lebergewebes noch nachzuvollziehen.

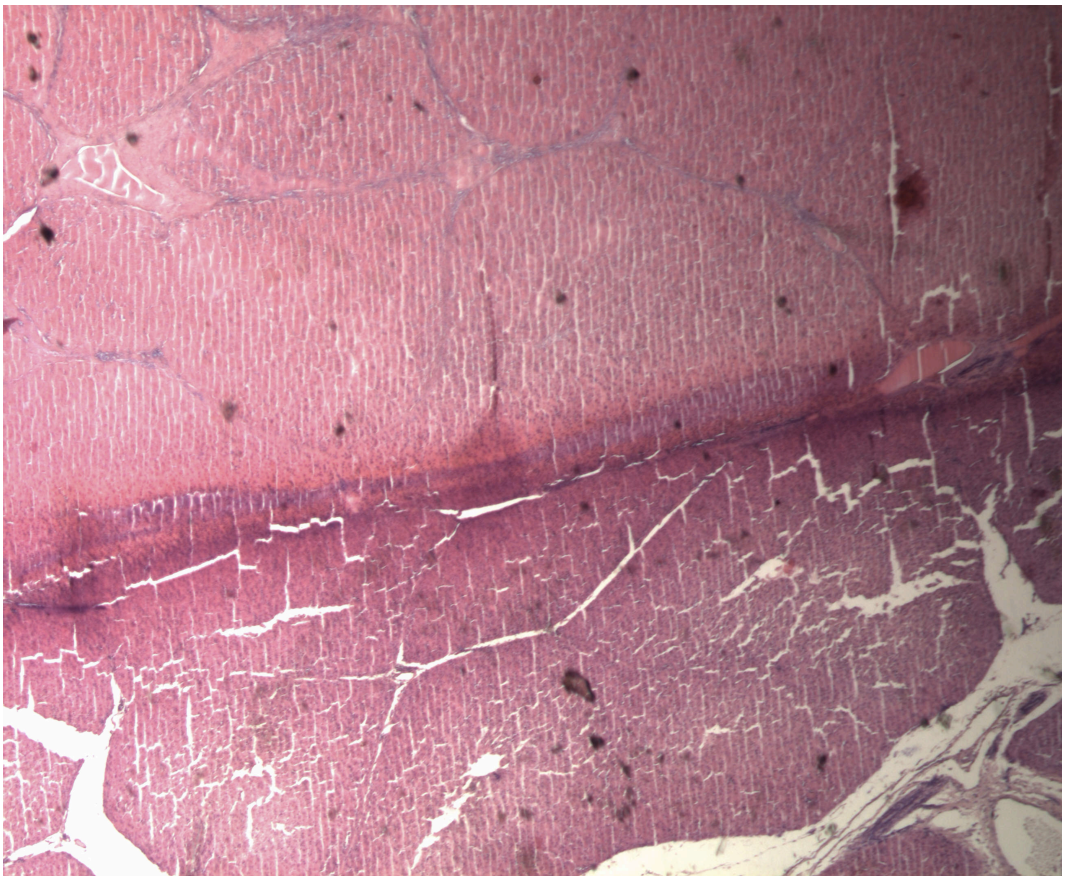


Abb. 19: Lebergewebe nach ECL-Ablation (Oben Kathodenbereich, Unten Anodenbereich, dazwischen eosinophile Übergangszone), 25-fache Vergrößerung

4.3.4 Form

Bei unregelmäßigen Formen der Läsionen oder unvollständigen Verschmelzungen der beiden Areale von Kathode und Anode wurden die Ablationen als unregelmäßig bezeichnet. In Gruppe 3 (ECL ohne Pringle) zeigten 25 % (n = 4) der Läsionen eine unregelmäßige Form. In Gruppe 4 (ECL mit Pringle) traten 40 % (n=6) der Läsionen mit unregelmäßigen Formen auf. Diese Unterschiede sind nicht signifikant (χ^2-Test).

4.3.5 Größe

Läsionen in Gruppe 3 wiesen den größten maximalen Diameter mit 4,18 ± 1,4 cm auf. In Gruppe 4 betrug der maximale Diameter 3,95 ± 1,0 cm. Im Vergleich der beiden ECL-Gruppen miteinander war der maximale Durchmesser der Gruppe 3 nicht signifikant unterschiedlich zu Gruppe 4 (p = 0,085, T-Test).

4.3.6 Perivaskuläre Ablation

In der makroskopischen Begutachtung wiesen in Gruppe 3 5,9 % (n = 2) und in Gruppe 4 keines der Gefäße Aussparungen intakten Gewebes auf.

In der Gegenüberstellung von Gruppe 3 und 4 gab es keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich perivaskulärer Aussparungen ($p = 0{,}322$, χ^2-Test).

In der histologischen Betrachtung imponierte in Gruppe 3 und 4 kein Gefäß mit umliegend intakten Zellen. Die Ablation reichte hier immer bis an die Gefäße heran.

Zwischen den beiden ECL-Gruppen gab es keine Unterschiede.

4.3.7 Gefäßwände

Die Gefäße wurden wie bei der RFA nach der Beschaffenheit des Wandaufbaus beurteilt. Bei der ECL waren in Gruppe 3 noch 4,3 % (n = 2) und in Gruppe 4 noch 5,6% (n = 2) der Gefäße intakt. Es besteht kein signifiikanter Unterschied zwischen Gruppe 3 und 4 (χ^2-Test). Abb. 20 zeigt den Anschnitt einer Gefäßwand nach ECL-Ablation.

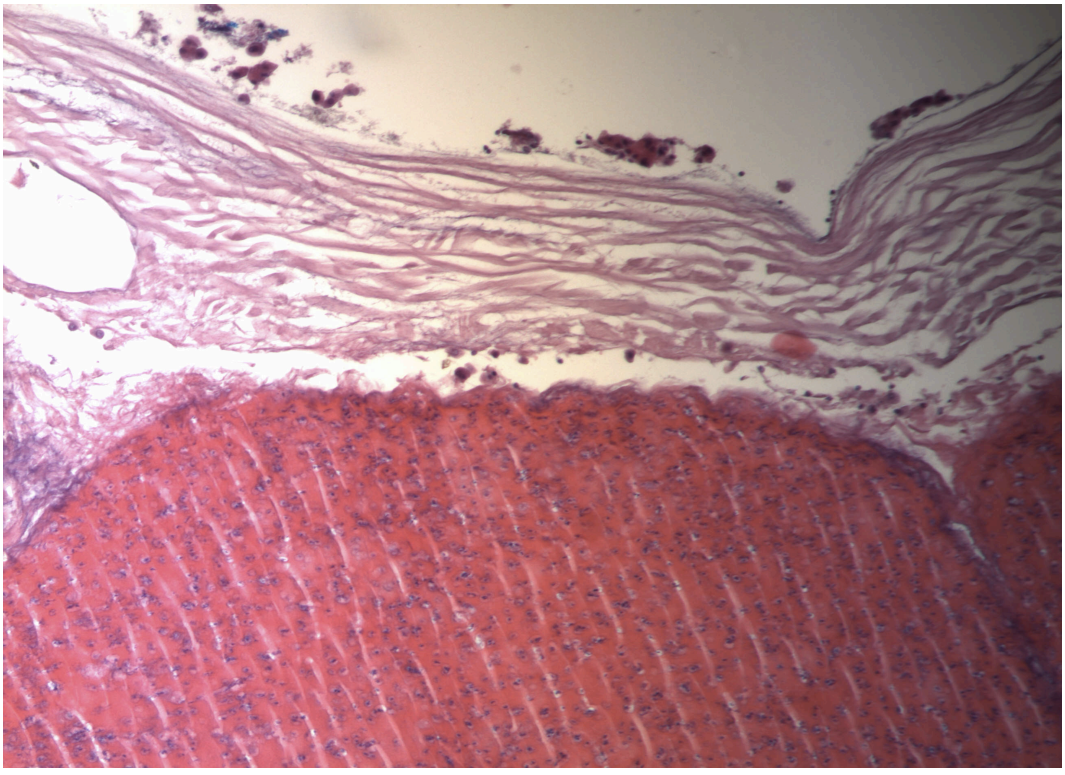


Abb. 20: Destruierte Gefäßwand (oben) mit destruiertem Lebergewebe (unten) nach ECL-Ablation, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung

4.4 Vergleich RFA und ECL

4.4.1 Makroskopische und Histologische Beschreibung

Makroskopisch waren die Läsionen bei beiden Verfahren gut gegen das umgebende Gewebe abzugrenzen. Bei der ECL war der Übergang vom abladierten zum unversehrten Gewebe aber deutlicher und schärfer abgegrenzt. Insgesamt war das Lebergewebe nach der ECL-Ablation von der Struktur viel deutlicher destruiert als das Gewebe nach der RF-Ablation. Während innerhalb der ECL-Läsionen kaum noch ursprüngliche Zellstrukturen zu erkennen waren, war die Struktur des Lebergewebes in den RF-Ablationen noch nachzuvollziehen.

4.4.2 Form

Die Form der Läsionen war bei der RFA in einigen Fällen asymmetrisch oder durch Gefäßverläufe beeeinflusst. Bei ECL-Läsionen fand bei einigen Ablationen keine Verschmelzung der beiden Ablationsareale von der Kathode und der Anode statt. Im Vergleich von RFA und ECL ergaben sich keine signifikanten Werte (χ^2-Test).

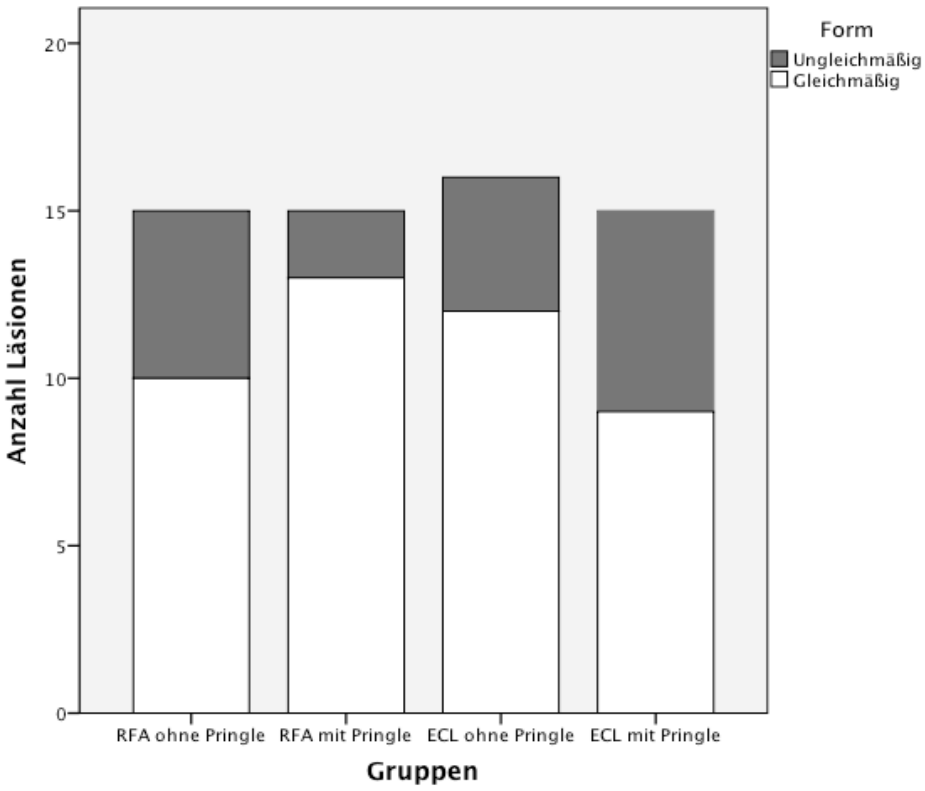


Abb. 21: Anteil an Ablationen mit ungleichmäßiger Form (grau).

4.4.3 Größe

Auf einen Vergleich der Größenausdehnung der Läsionen wurde verzichtet, da sowohl bei RFA als auch bei ECL die Läsionsgröße sehr stark von den Einstellungsparametern abhängt. Die applizierte Stromstärke, Ladung und das Arrangement der Elektroden wirken sich entscheidend auf die Läsionsgröße aus. Abb. 22 zeigt zusammengefasst die Ergebnisse der Ausmessung von RFA- und ECL-Läsionen.

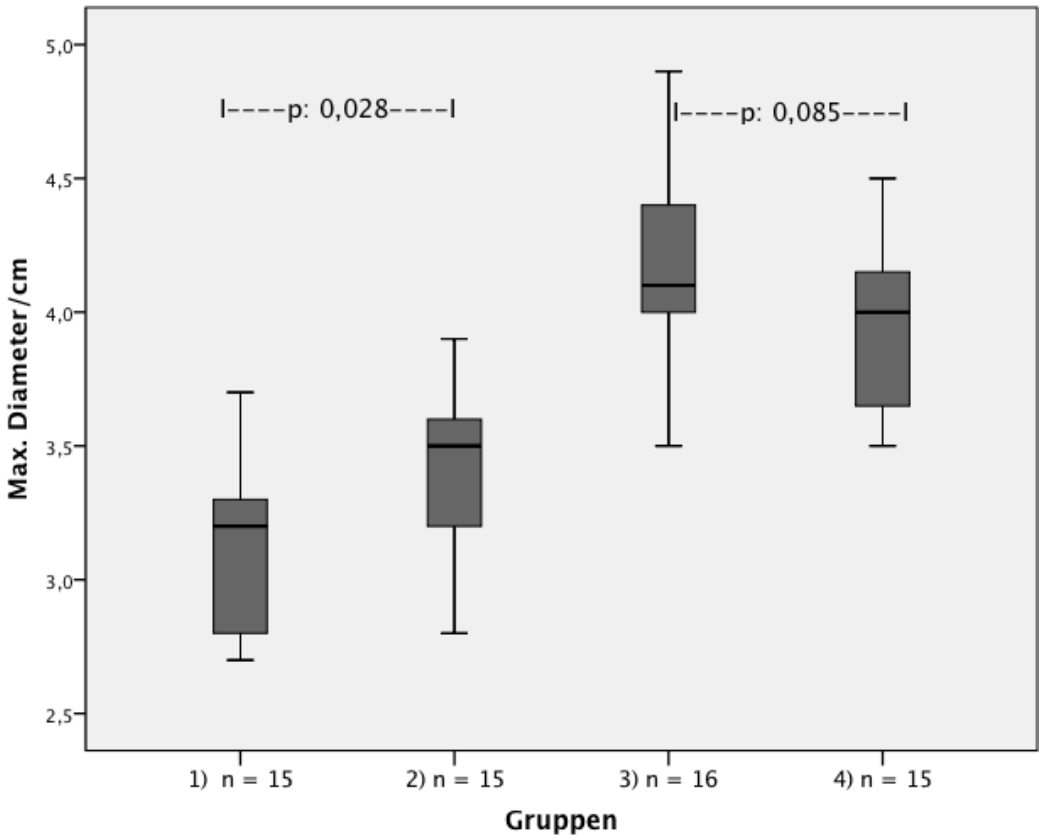


Abb. 22: Maximaler Diameter der Läsionen im Querschnitt.

4.4.4 Perivaskuläre Ablation

In der makroskopischen Betrachtung des perivaskulären Ablationsergebnisses ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen der RFA und der ECL.

In Gruppe 1 (RFA ohne Pringle) traten signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen auf als in der Gruppe 3 (ECL ohne Pringle) ($p < 0{,}001$, χ^2-Test). Auch in Gruppe 2 (RFA mit Pringle) zählten wir signifikant mehr dieser Gefäße als in der Gruppe 3 (ECL ohne Pringle)($p = 0{,}006$, χ^2-Test). Auch verglichen mit Gruppe 4 (ECL

mit Pringle) traten in beiden RFA-Gruppen signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen auf ($p < 0{,}001$, χ^2-Test).

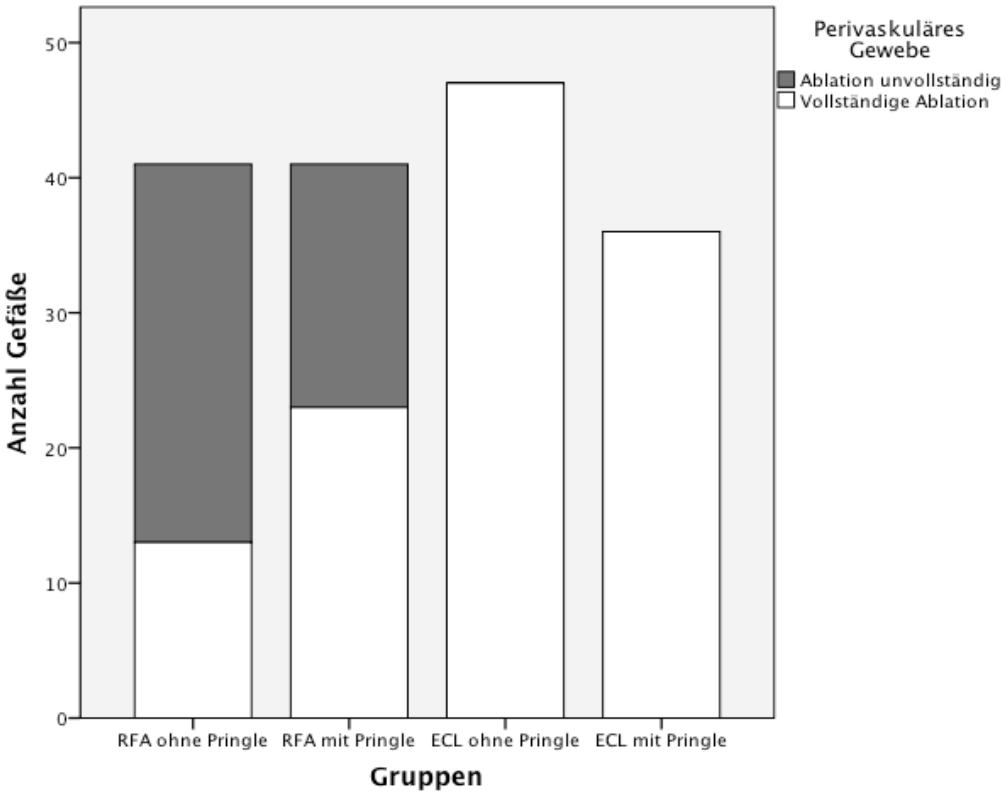


Abb. 23: Anteil der Blutgefäße mit mikroskopisch angrenzend intaktem Gewebe (grau)

In der histologischen Untersuchung der perivaskulären Ablationen zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen RFA und ECL.

In Gruppe 1 konnten signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen gezählt werden als in den Gruppen 3 oder 4 ($p < 0{,}001$, χ^2-Test). In Gruppe 2 (RFA mit Pringle) waren es signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen als in der Gruppe 3 (ECL ohne Pringle) oder in Gruppe 4 (ECL mit Pringle) ($p < 0{,}001$, χ^2-Test).

4.4.5 Gefäßwände

Der Anteil der histologisch untersuchten Gefäße mit strukturell intakten Gefäßwänden der RFA-Läsionen wurde mit denen der ECL-Läsionen verglichen. Sowohl in Gruppe 1 als auch Gruppe 2 ist der Anteil der intakten Gefäße signifikant höher als im Vergleich mit Gruppe 3 oder 4 ($p < 0{,}001$, χ^2-Test)

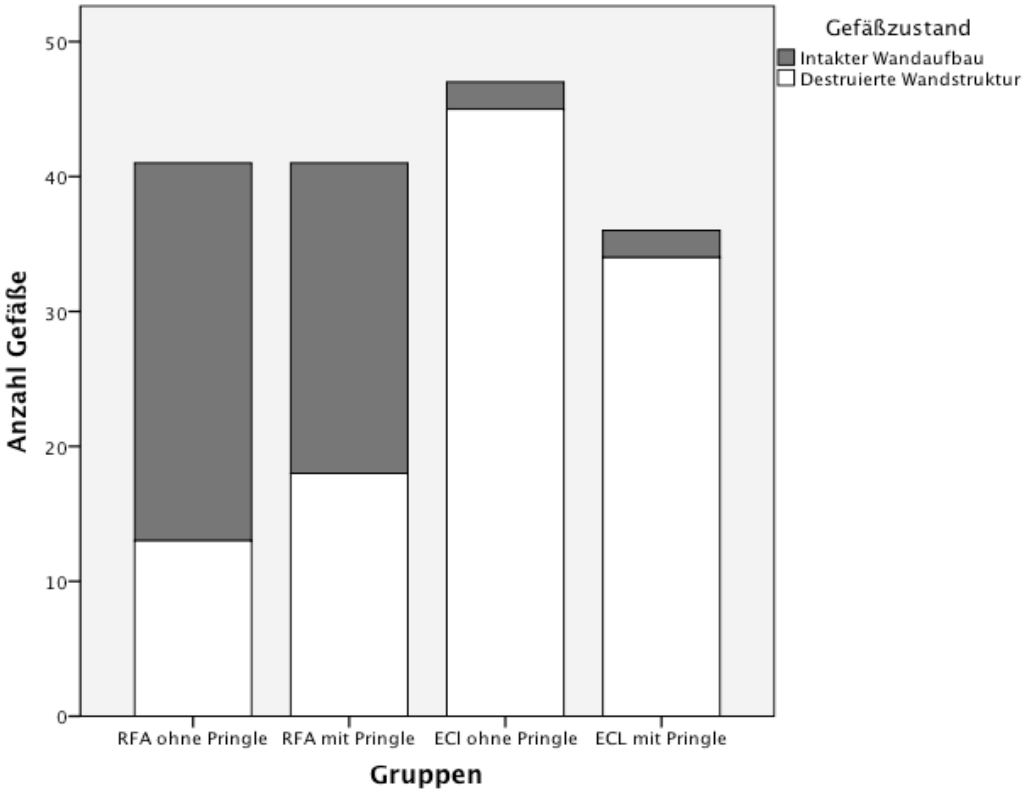


Abb. 24: Anteil der Blutgefäße mit intakter Wandstruktur post ablationem (grau)

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der perivaskulären Ablation ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: Übersicht über die Ergebnisse der perivaskulären Ablation

Perivaskuläre Ablation	**RFA ohne Pringle**	**RFA mit Pringle**	**ECL ohne Pringle**	**ECL mit Pringle**
Gefäße mit perivaskulär intaktem Gewebe, Makroskopie	74,1% (20 von 27)	33,8 % (8 von24)	5,9 % (2 von 34)	0 % (0 von 16)
Gefäße mit Perivaskulär intaktem Gewebe, Mikroskopie	68,3 % (28 von 41)	43,9 (18 von 41)	0 % (0 von 47)	0 % (0 von 36)
Intakte Gefäßwände, Mikroskopie	68,3 % (28 von 41)	56,1 % (23 von 41)	4,3 % (2 von 47)	5,6 % (2 von 36)

5. Diskussion

5.1 Therapiestandard

Während in Europa Metastasen einen Großteil der Lebermalignitäten ausmachen (> 90%), die überwiegend vom Kolorektalen Karzinom ausgehen, so stellt im asiatischen und und afrikanischen Raum das Hepatozelluläre Karzinom den größten Anteil maligner Lebertumoren [73].

Ohne Therapie liegt die 5-JÜR für Patienten mit metastasiertem Kolorektalem Karzinom bei 3 % [39]. Patienten mit HCC und Leberzhirrose sind, bei Erfüllung der Milan-Kriterien, einer Heilung durch Lebertransplantation zugängig [119,123].

Abgesehen von dieser limitierten Option stellt die Resektion derzeit noch den Goldstandard für die Therapie jeglicher Lebermalignitäten dar. Allerdings sind nur 10-20 % der Patienten mit malignen Lebertumoren für eine Therapie durch Resektion geeignet. Deshalb wurde eine Reihe von Therapieverfahren zur lokalen Tumordestruktion entwickelt. Hierbei stellt die RFA in Europa und den USA wegen ihrer einfachen Handhabung und der sicheren Durchführung die am häufigsten verwendete Alternative dar. Für kleine Malignitäten wurden sogar vergleichbare Ergebnisse zur Resektion hinsichtlich 5-JÜR und Rekurrenzraten erzielt [43,46].

Eine multizentrische Studie in Italien bezeichnete die RFA als sichere Methode, mit einer Mortalität von 0,3 % und Rate an Majorkomplikationen von 2,2 %. Hierzu zählten hämorrhagische Peritoneii, Tumorzellverschleppung, intrahepatische Abszesse und Dünndarmperforationen [61]. Neben einer offen-chirurgischen oder laparoskopischen Anwendung bietet die RFA die Möglichkeit der perkutanen Anwendung unter Bildgebungskontrolle.

Die Organperfusion führt zur Produktion kleinerer Läsionen und zu unvollständigen perivaskulären Ablationen [5]. Um diesen „Heat-Sink Effect“ zu umgehen, besteht die Möglichkeit, die Organperfusion durch das sogenannte Pringle-Maneuver zeitweise zu unterbrechen.

Die ECL ist ein neueres Verfahren zur Induktion fokaler Gebewebenekrosen. Es wurden erste Studien durchgeführt, bei denen die ECL vor einer hepatischen

Resektion versuchsweise an Patienten durchgeführt wurde. Hier wurde der ECL eine gute systemische Verträglichkeit zugeschrieben. Sie gilt als sicheres Verfahren, das in der Lage ist, vollständige und umschriebene Nekrosen in Lebergewebe zu erzeugen [42,124,126].

Hinz et al. stellten 2008 einen Vergleich beider Verfahren am Schweinemodell auf, um deren Sicherheit und Effektivität zu untersuchen. Dabei führten sie die Ablationen in peripheren Bereichen der Leber bei normaler Perfusion durch. Sie bezeichneten die ECL als ebenso effektiv wie die RFA, konnten aber keine Aussagen über die Effizienz beider Verfahren im perivaskulären Bereich treffen [42]. Czymek et al. führten die RFA und ECL an perfundierten, porcinen Lebern im ex-vivo Modell durch. Dabei konnten sie sowohl makroskopisch, als auch histologisch den "Heat-Sink-Effect" im perivaskulären Bereich nach der RFA verifizieren. Die ECL hingegen ging immer mit vollständigen Ablationen einher [22]. In einem anderen Vergleich von RFA und ECL am Schweinelebermodell in vivo wurde der ECL zwar seltener aber trotzdem ebenso wie der RFA eine ineffiziente Ablation an Gefäßästen zugeschrieben [71].

Bisher existieren noch keine vergleichenden Studien von RFA und ECL mit gleichzeitiger Einflussnahme auf die Perfusion. Wir möchten im standardisierten, porcinen Ex-vivo-Modell grundlegende Beobachtungen dieser beiden Verfahren im makroskopischen und histologischen Bereich anstellen.

5.2 RFA

Die von uns erzeugten RFA-Läsionen waren, unabhängig von der Perfusion, deutlich vom umgebenden Gewebe zu unterscheiden, wiesen aber einen unscharfen Übergang vom abladierten zum unversehrten Gewebe auf. Auch mikroskopisch ließ sich die Grenze zum unversehrten Gewebe nicht eindeutig festlegen. Der Übergang war fließend. Diese Beobachtung geht mit den Ergebnissen von Hinz et al. überein, obwohl sie im Gegensatz zu unseren ausfahrbaren Multiapplikationselektroden eine monopolare „Cool-Tip"-Elektrode benutzten. Sie führten Ablationen mittels RFA und ECL an Schweinelebern in vivo durch, um deren Effektivität und Sicherheit zu untersuchen. Bei RF-Ablationen beschrieben sie eine transitorische Zone um die

Läsion herum, in der sowohl avitale als auch intakte Zellen gefunden wurden [42]. Wir fanden histologisch ebenfalls einen diffusen Übergangsbereich vom abladierten zum intakten Gewebe.

Die Tatsache, dass bei den RFA-Prozeduren mit Pringle-Maneuver über die gesamte Ablationszeit weniger Energie vom Generator appliziert werden musste, um die Zieltemperatur zu erreichen ($p < 0,05$), wurde als Hinweis auf den Kühlungseffekt der Perfusion gewertet. Der Flüssigkeitsstrom in den Blutgefäßen führt über die Mechanismen der Konvektion zu einem Abtransport der erzeugten Wärmeenergie. Die physikalische Gleichung $Q = h \times A \times (T_1 - T_2) \times \Delta t$ (mit Q = übertragene Wärmemenge, h = Wärmeübergangskoeffizient, A = Kontaktfläche, T_1/T_2 = Temperatur der beteiligten Medien und Δt = Zeitintervall) beschreibt den Temperaturverlust über einen Flüssigkeitsstrom. Demnach muss in Gewebe mit perfundierten Gefäßen mehr Energie appliziert werden, als in Gewebe ohne Flüssigkeitstrom, um eine festgelegte Temperatur zu erzielen.
Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 bezüglich der Gleichmäßigkeit der erzeugten Läsionen festgestellt ($p = 0,195$). Die Organperfusion wirkte sich in unseren Versuchen nicht auf die Form der Läsionen aus.

Ein wichtiger Faktor zur Verifizierung des Kühlungseffektes ist die Größe der erzeugten Läsionen. So konnte in unseren Ergebnissen gezeigt werden, dass bei Anwendung des Pringle-Maneuvers maßgeblich größere RFA-Läsionen entstanden sind ($p = 0,028$). Bei Unterbindung der Perfusion wird der Kühlungseffekt des Flüssigkeitsstromes in Blutgefäßen verringert, sodass der Temperaturanstieg im Ablationsgebiet gleichmäßiger ist und zytotoxische Temperaturen auch weiter peripher im Gewebe entstehen.
Andere Studien erzielten ebenfalls größere Läsionen mit dem RFA-Verfahren unter Verringerung der Organperfusion [10,14,15,25,38,98,105,107]. Scott et al. führten in vivo laparoskopische RF-Ablationen an simulierten Tumoren in porcinen Lebern durch. Die Hälfte der Ablationen wurde mit simultaner Anwendung des Pringle-Maneuvers durchgeführt. Ähnlich wie in unseren Versuchen verwendeten sie eine ausfahrbare Schirmelektrode mit 4 Elektrodenarmen, die auf einen Durchmesser

von 3 cm eingestellt wurde. Die Zieltemperatur betrug 100 °C und die Ablationszeit nach einer Aufheizphase 8 min. Sie berichten sowohl über signifikant größere Läsionen in der Pringle-Gruppe, gemessen am Durchmesser der Läsionen, als auch über symmetrischere Läsionen. Damit bestätigen sie die Ergebnisse unserer Studie an einem In-vivo-Modell [105]. Rossi et al. führten in vivo RF-Ablationen an porcinen und bovinen Lebern durch. Dabei verringerten sie die Perfusion durch das Pringle-Maneuver oder einen selektiven Verschluss entweder der Portalvene, der Arteria hepatica oder der Lebervenen. Sie verwendeten ebenfalls ausfahrbare Schirmelektroden bei Zieltemperaturen von 95-115 °C und Ablationszeiten von 20 min. Die größten Läsionen erzielten sie durch Anwendung des Pringle-Maneuvers, wobei der Verschluss der Arteria hepatica nur zu moderat größeren Läsionen im Vergleich zu normal perfundierten Organen führte [98]. Chinn et al. führten ähnliche Versuche mit ausfahrbaren Schirmelektroden an Schweinelebern durch und berichten ebenfalls über größere Läsionen mit Anwendung des Pringle-Maneuvers als mit selektivem Verschluss von hepatischen Gefäßen oder keinem Verschluss [15].

Interessante Ergebnisse ergaben sich bei Betrachtung des perivasalen Gewebes. Sowohl in der makroskopischen ($p = 0,004$) als auch in der histologischen ($p = 0,026$) Untersuchung zählten wir in der RFA-Gruppe ohne Pringle-Maneuver signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen intakten Gewebes als in der RFA-Gruppe mit Pringle. Trotzdem imponierten auch in der Pringle-Gruppe noch makroskopisch 33,8 % (8 von 24) der Gefäße mit perivaskulär intaktem Gewebe, in der Histologie waren es sogar 43,9 % (18 von 41). Der Unterschied zwischen Makroskopie und Histologie erklärt sich einerseits dadurch, dass im histologischen Bild kleinere Bereiche mit intakten Zellen erfasst wurden, die makroskopisch nicht zu erkennen waren. Außerdem wurden histologisch kleinere Gefäße < 3mm in die Auswertung eingeschlossen, die makroskopisch aufgrund der Schnittebene oder schlechter Beurteilbarkeit nicht ausgewertet wurden.
Als Erklärung der unvollständigen perivaskulären Ablationen kann der „Heat-Sink Effect“ herangezogen werden. In unmittelbarer Umgebung der perfundierten Gefäße kommt es über den oben genannten Mechanismus der Konvektion zu einer lokalen Kühlung.

Als Erklärung der unvollständigen Ablationen trotz Pringle-Maneuver käme eine passive Flüssigkeitsverschiebung durch die hohe Temperaturdifferenz zwischen Gewebe an der Elektrode und peripherem Gewebe in Frage. Andererseits wäre in Flüssigkeit eine geringere, oszillationsbedingte Hitzeentwicklung als in festem Gewebe denkbar. Um die Ursache dafür genau zu klären, wären physikalische Untersuchungen notwendig. Nordenström beschrieb eine geringere elektrische Leitfähigkeit in der intravasalen Flüssigkeit als im parenchymatösen Gewebe. Diese Beobachtung käme ebenfalls als Erklärung für die unvollständigen Ablationen im nicht-perfundierten Gewebe in Frage [82].
Czymek et al. berichten in vorhergehenden Studien ebenfalls über perivaskuläre Residuen von intaktem Gewebe nach RF-Ablation. Dabei verwendeten sie dasselbe Perfusionsmodell sowie dieselben Elektroden die in unserer Studie zum Einsatz kamen. Sie wählten verschiedene Einstellungen des Elektrodenschirmes, führten die Untersuchung aber nur an perfundierten Organen durch [22]. Auch Studien in denen andere Modelle und Einstellungsparameter verwendet wurden, berichten ebenfalls über perivaskuläre, vitale Geweberückstande nach RF-Ablation. Bhardwaj et al. berichten in ihrer Studie zum Vergleich von RFA, MWA und Kryotherapie über histologisch nachgewiesene, vitale Zellen an Blutgefäßen nach den Ablationen [4]. Trotz der Verwendung von monopolaren, gekühlten Elektrodennadeln und der In-vivo-Ablation an Rattenlebern mit 10 W Stromstärke gehen die Ergebnisse mit den Ergebnissen unserer Studie einher. Ein Vergleich zu Ablationen mit dem Pringle-Maneuver wurde dabei nicht gestellt. Metcalfe et al. wiesen ebenfalls vitales Gewebe bei Ablationen angrenzend an Lebervenen nach. Sie verwendeten ähnliche Elektroden wie in unserem Versuch, abladierten jedoch etwas kürzer (6 min) bei einer Zieltemperatur von 90 °C [71].

Interpretiert man die Ergebnisse zur perivaskulären Ablation klinisch, so wäre bei der Ablation von Tumorgewebe dieses perivaskulär intakte Gewebe als potentieller Ausgangspunkt von lokaler Tumorprogression und Lokalrezidiven anzusehen.
Lu et al. postulierten, dass die perivaskuläre Lage von Tumoren an Gefäßen > 3mm ein wichtiger, unabhängiger Faktor für Tumorresiduen sei. Sie berichten, dass von perivaskulär gelegenen Tumoren 47 % erfolgreich behandelt wurden, während von den nicht-perivaskulär gelegenen Tumoren 88 % erfolgreich behandelt wurden [65].

Da die Ablationen an Patienten durchgeführt wurden, denen eine Lebertransplantation bevorstand, konnten sie sowohl radiologische als auch histologische Untersuchungen zur Bewertung des Ablationserfolges durchführen.
Kim et al. führten bei 62 Patienten an 72 Leberzellkarzinomen perkutane Radiofrequenzablationen durch. Sie gaben eine Tumorlage angrenzend an große, hepatische Blutgefäße als signifikanten Faktor für lokale Tumorprogression an [48]. Kim et al. führten ihre Untersuchungen in klinischen Studien an Patienten durch. Zur Beurteilung von Tumorprogression und Lokalrezidiven kamen in ihrer Studie nur bildgebende Verfahren zum Einsatz. Eine histologische Betrachtung der abladierten Tumoren konnte an Patienten nicht durchgeführt werden. Eine sichere Korrelation von perivaskulär überlebendem Gewebe und daraus entstehenden Tumorrezidiven ist somit schwierig nachzuvollziehen.
Bringt man deren Ergebnisse mit unseren Ergebnissen oder denen von Bhardwaj et al. [4] in Verbindung, so kann die Idee gefestigt werden, dass Reste von nicht-abladiertem Gewebe in Gefäßnähe ein wichtiger Faktor der Tumorprogression sind.

Neben dem postablativen Bild des perivaskulären Gewebes werteten wir den Zustand der Gefäßwande in der histologischen Betrachtung als weiteren potentiellen Faktor des Ablationserfolges. In der Perfusionsgruppe imponierten noch 63,8 % der Gefäße mit anatomisch korrektem Aufbau der Gefäßwand. Auch in der Nicht-Perfusionsgruppe waren 56,1 % der Gefäße noch unversehrt ($p = 0,265$). Dementsprechend führt auch die RFA bei unterbundener Perfusion überwiegend nicht zu einer Ablation der Gefäßwände, was indirekt als Zeichen unvollständiger Ablationen gesehen werden kann. Gründe hierfür können wiederum ein verbleibender Kühlungseffekt durch einen passiven Flüssigkeitsstrom oder eine geringere Hitzeentwicklung in der intravasalen akorpuskulären Flüssigkeit sein. Möglicherweise unterliegt die Destruktion der Gefäßwände und die vollständige perivaskuläre Ablation aber auch Prozessen, die mit der HE-Färbung und unseren Mitteln nicht erfasst werden konnten. Immunologische Prozesse und Entzündungsreaktionen können mit der HE-Färbung nicht erfasst werden. Wir können mit unserer Methode nur einen momentanen Zustand des Gewebes beschreiben. Ob eine Destruktion oder Regeneration veränderter Gefäßwände im

zeitlichen Verlauf stattfinden würde, könnte man nur in einer Verlaufsbeobachtung anhand eines In-vivo-Experimentes feststellen.
Shen et al. führten RF-Ablationen in vivo an Schweinelebern durch und berichten sowohl bei Anwendung des Pringle-Maneuvers, als auch ohne Pringle-Maneuver von unversehrten Gefäßwänden. Obwohl wir ähnliche Elektroden und Einstellungsparameter verwendeten, wurden in der Perfusions- und der Pringle-Gruppe bis zu 43,9 % der Gefäßwände als destruiert gewertet. Shen et al. führten ihre Ablationen nahe an den Hauptstämmen der Hepatischen Vene oder der Pfortader durch, während wir die Ablationen an kleineren, peripheren Ästen durchführten, die komplett in dem Nekroseareal lagen. Zudem werteten sie hitzeinduzierte, transmurale Thrombosen und Endothelschäden als Parameter der Gefäßdestruktion. Wir konnten durch die Verwendung akorpuskulärer Perfusionsflüssigkeit keine thrombotischen Ereignisse beschreiben. Außerdem werteten wir eine strukturelle Veränderung der gesamten Gefäßwand als Parameter für geschädigte Gefäße.

Interessanterweise sprechen zwei neuere Studien gegen die oben genannten Ergebnisse von Kim et al, Lu et al. und unsere Ergebnisse. Sie postulieren eine gleichsam effiziente RF-Ablation von perivaskulären und peripheren Tumoren [77,115]. Möglicherweise begründen sich diese Ergebnisse durch die Anwendung unterschiedlicher Applikationssysteme mit internen Kühlungssystemen und Cluster-Elektroden. Außerdem wurden in diesen Studien bei größeren Tumoren mehrere, aufeinanderfolgende Ablationen durchgeführt. Zudem betrachteten sie die Ergebnisse bezüglich Überlebensraten und Tumorprogression nur im Bezug auf die Lokalisation an Blutgefäßen. Sie können keine Aussage treffen, ob eine simultane Reduktion des Blutflusses bei perivaskulären Ablationen noch bessere Ergebnisse erzielen würde. Interessant wäre außerdem eine histologische Betrachtung des perivaskulären Gewebes in diesen Studien gewesen. Somit hätte nachvollzogen werden können, ob in den Läsionen eine vollständige Ablation der perivaskulären Tumoren stattgefunden hat und somit eine Korrelation zwischen histologischem Ergebnis und Tumorrezidiven besteht. Ein Follow-up von 12 Monaten ist möglicherweise auch nicht ausreichend, da Tumorrezidive entstehen können, die mit bildgebenden Verfahren erst später zu entdecken sind. Lu et al. beschreiben ein

Intervall zwischen RFA und Transplantation von 0,5 – 21 Monaten. Sie konnten aber durch die Transplantation auch histologische Untersuchungen zusätzlich zu bildgebenden durchführen, was die unterschiedlichen Ergebnisse erklären könnte.

Lehmann et al. führten am Ex-vivo-Schweinelebermodell RF-Ablationen in unterschiedlichen Abständen zu perfundierten Glasröhren durch. Näher an den Glasröhren gelegene Ablationen waren häufiger unvollständig als Ablationen in einem größeren Abstand. Der Gefäßdurchmesser und die Flussstärke hatten keine Wirkung auf die Ablationen [50].

Im Gegensatz zu Lehmann et al. untersuchten wir neben der makroskopischen Betrachtung des Ablationsquerschnittes auch histologisch die perivaskulären Zellen und zogen für unsere Beobachtung echte Gefäße anstatt Glasröhren heran.

An peripheren Blutgefäßen (Abstand > 10 mm zur Elektrodenspitze) waren in der Pringle-Gruppe sowohl makroskopisch ($p = 0,011$), als auch histologisch häufiger perivaskulär intaktes Gewebe ($p = 0,003$) und intakte Blutgefäße ($p = 0,003$) zu erkennen. In der Pringle-Gruppe waren histologisch ebenfalls häufiger perivaskuläre Aussparungen intakten Gewebes ($p < 0,001$) und intakte Gefäße ($p = 0,012$) im peripheren Gewebe zu erkennen. Makroskopisch waren hier nicht mehr Gefäße mit angrenzend intaktem Gewebe auszumachen ($p = 0,371$). Diese Diskrepanz zwischen Makroskopie und Histologie liegt möglicherweise an der zusätzlichen Auswertung kleinerer Gefäße im histologischen Schnittbild, die makroskopisch nicht erfasst wurden.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass die applizierte Wärmeenergie zur Läsionsmitte hin deutlich konzentrierter ist und den Kühlungseffekt der Gefäße zum Teil kompensieren kann. Die von uns verwendeten Multiapplikationssysteme verursachen im Zentrum der radiär angeordneten Elektrodenarme anscheinend eine Potenzierung der Energie, die auch perfundierte Gefäße vollständiger zu abladieren vermag. Zudem sind zentral gelegene Gefäße von mehreren Seiten von Elektroden umgeben. Am Rand des Ablationsgebietes ist die Energie, die zur Gewebsdestruktion führt, demnach geringer und der Kühlungseffekt hat einen stärkeren Einfluss auf die Ablation. Bei der bipolaren Elektrodenanordnung von Lehman et al. erreicht die Radiofrequenzenergie die Gefäße nur von einer Seite. Diese Beobachtung ist von klinischer Relevanz, wenn man beachtet, dass mit Multiapplikationssystemen die

perivaskuläre Ablation in zentralen Bereichen wesentlich vollständiger ist als im peripheren Ablationsbereich. Diese Tatsache müsste in die Planung des Eingriffes einbezogen werden.

5.3 ECL

In diesen Versuchen wurden mit der ECL gleichmäßige sowie von der Größe her einheitliche Läsionen erzeugt. Damit wurden die Ergebnisse anderer tierexperimenteller Studien an Schweine- und Rattenlebern bestätigt, die dosisabhängig Läsionen einheitlicher Größe und Form erzeugen konnten. Wemyss-Holden et al. induzierten definierte, fokale Läsionen in Rattenlebern ohne Komplikationen. Die Läsionen heilten im Verlauf von 6 Monaten aus und hinterließen eine fibröse Narbe. Dabei applizierten sie nur 5 C bei einer Stromstärke von 10 mA [127]. Bei der Durchführung an Schweinelebern wurden ebenfalls scharf abgegrenzte, definierte Läsionen erzeugt [126].

Erstmalig untersuchten wir die ECL unter dem Gesichtspunkt der Perfusion und stellten 2 Versuchsgruppen auf, einmal mit und einmal ohne Pringle-Maneuver. Die Anwendung des Pringle-Maneuvers hatte keine signifikante Auswirkung auf die Regelmäßigkeit der Form der Läsionen. In der Nicht-Pringle Gruppe waren etwas seltener unregelmäßie Läsionen zu finden ($p = 0{,}372$).
Hinz et al. [42] beschrieben ihre ECL-Läsionen insgesamt als ungleichmäßig, was einen Widerspruch zu unseren Ergebnissen darstellt. Sie verwendeten in ihrem Versuchsaufbau eine simultane Anordnung von vier Elektroden, statt 2 Elektroden wie in unseren Versuchen und applizierten eine Ladung von 150 C, während wir 300 C applizierten. Außerdem injizierten sie vor der Ablation eine artifizielle Tumormasse aus einem erwärmten Agarose-, Zellulose-, Glycerol-, Methylenblau – Gemisch. Diese avitale Tumormasse kann andere elektrische und chemische Eigenschaften aufweisen als das Lebergewebe. Die Wirkung der ECL beruht auf Veränderungen des Zellstoffwechsels und des physiologischen Milieus wie pH-Alteration, Elektrolyt- und Wasserverschiebung sowie Mikrothrombosierung. Daher wären in einer avitalen Masse andere Vorgänge als im umgebenden Gewebe zu erwarten. Diese Unterschiede könnten die differierenden Beobachtungen bezüglich der Regelmäßigkeit der Läsionen erklären.

Bei Betrachtung der Größe der Läsionen hatte die Anwendung des Pringle-Maneuvers keine signifikant größeren Läsionen zur Folge. In der Nicht-Pringle-Gruppe waren die Läsionen jedoch im Durchschnitt etwas größer als in der Pringle-Gruppe ($p = 0,085$). Könnte man diese Beobachtung in anderen Studien in vivo bestätigen, so wäre die Anwendung des Pringle-Maneuvers bei ECL-Ablationen als überflüssig zu bezeichnen. Es bestand sogar eher die Tendenz zu größeren und regelmäßigeren Läsionen bei normaler Organperfusion. Mögliche Gründe dafür wären eine veränderte elektrische Leitfähigkeit in nicht perfundiertem Gewebe oder der lokale Verbrauch physiologischer Moleküle, die für eine pH-Veränderung und die Entstehung zytotoxischer Noxen notwendig sind.

In der makroskopischen Begutachtung konnte eine vollständige Ablation der perivaskulären Zone mittels ECL festgestellt werden. Nur bei zwei Proben in Gruppe 3 war ein Abbruch der Läsion hinter einem großen Gefäß zu erkennen. Die Elektrodenspitze kam dabei innerhalb des Gefäßes zu liegen, was eine Änderung der elektrischen Leitfähigkeit im flüssigkeitsgefüllten Gefäß verursacht haben könnte. Trotzdem war die Gefäßwand läsionsseitig vollständig abladiert.
Histologisch führten die Ablationen, unabhängig von der Perfusion, immer unmittelbar bis an die Gefäße heran. Es war in keinem Fall intaktes Gewebe innerhalb der Läsionen auszumachen. Andere Studien fanden bei der Durchführung an perfundierten Organen auch bei verschiedenen Elektrodenanordnungen und Dosisapplikationen kein perivaskulär intaktes Gewebe [22,126].

In der histologischen Untersuchung war der Aufbau des Lebergewebes nicht mehr nachzuvollziehen. Die Zellstrukturen waren vollständig destruiert und die Zellkerne deutlich verändert. Das abladierte Gewebe war scharf vom unversehrten Gewebe abzugrenzen. Hinz et al. berichteten in ihrer Studie zur ECL am In-vivo-Schweinelebermodell ebenfalls über vollständig zerstörte Zellstrukturen und eine scharfe Trennung zwischen abladiertem und unversehrtem Gewebe [42]. Czymek et al. bestätigten diese Ergebnisse am Ex-vivo-Perfusionsmodell der Schweineleber bei einem ähnlichen Versuchsaufbau wie unsere Studie [21]. Wemyss-Holden et al. führten in einer klinischen Studie vor der Resektion von Lebermetastasen die ECL an

Patienten durch und untersuchten die Läsionen anschließend histologisch. Auch sie berichteten über vollständige Ablationen und konnten keine intakten Zellen innerhalb der Läsion nachweisen [124]. Hinz et al. beobachteten bei der ECL zusätzlich eine starke, inflammatorische Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen, Histiozyten und neutrophilen Granulozyten. An unserem ex-vivo Modell mit akorpuskulärer Perfusionsflüssigkeit konnte eine zelluläre Entzündungsreaktion oder eine systemische Reaktion nicht beurteilt werden. Dazu untersuchten Teague et al. in einer Studie die systemischen Auswirkungen der ECL am Schwein. Sie konnten kein „Systemic inflammatory response syndrome (SIRS)“ oder Organschäden nachweisen. Somit ist eine gute systemische Verträglichkeit der ECL anzunehmen.

Neben der perivaskulären Destruktion des Lebergewebes galt die Destruktion der Gefäßwände als weiterer Faktor für vollständige Ablationen. Bei der ECL waren unabhängig von der Perfusion fast alle Gefäßwände in ihrer Struktur destruiert. Ein von Metcalfe et al. beschriebener „Current-Sink Effect“ [71] ist an unserem Modell nicht zu beobachten.

Wemyss-Holden et al. berichteten über eine sichere Ablation von Gewebe an Lebervenen im In-vivo-Schweinelebermodell und postulieren ein Ausbleiben von Verletzungen der Gefäßwände [125,126]. Gefäße wurden als intakt bezeichnet aber keine Kriterien für deren Beurteilung genannt. Die Ergebnisse gehen hinsichtlich der Erzeugung reproduktiver und einheitlicher Läsionen mit unseren Ergebnissen einher. Bezüglich des Effektes auf die Gefäßwände sind die Ergebnisse von Wemyss-Holden et al. kontrovers zu unseren, da in unserer histologischen Betrachtung alle Gefäße sichtbar von der Ablation betroffen waren. Anzumerken wäre aber die unterschiedliche Auswahl der Gefäße. Wir platzierten unsere Elektroden im peripheren Lebergewebe, sodass ein größeres Gefäß (max 12 mm) mittig zwischen den beiden Elektroden oder unmittelbar angrenzend lag. Wemyss-Holden et al. platzierten die Elektroden neben großen hepatischen Venen, trafen aber keine genauen Aussagen bezüglich des Gefäßdurchmessers. Man müsste bei unserem Versuchsaufbau auch weitergehend untersuchen, ob die beobachtete Veränderung der Gefäßwände langfristig als Destruktion zu werten ist und ob sie in vivo Komplikationen nach sich ziehen würde.

Wemyss-Holden et al. führten in einer Langzeit-Follow up Studie ECL-Ablationen an Schweinelebern in vivo durch. Alle Tiere vertrugen die Prozedur gut und zeigten keine Komplikationen. Nach 4 Monaten war eine Verkleinerung und fibröse Umsetzung mit nur noch kleinen Nekroseherden der ECL-Läsionen zu beobachten [128]. Leider wurden die Ablationen nicht explizit in unmittelbarer Nähe zu größeren Blutgefäßen durchgeführt, sodass sich keine genaue Aussage bezüglich Ablationen in Gefäßnähe treffen lässt.

5.4 Gegenüberstellung beider Verfahren

Bisher existieren nur wenige Studien, in denen ein direkter Vergleich zwischen RFA und ECL gezogen wird. Wir verglichen beide Verfahren unter dem Aspekt der Perfusion, dessen Einfluss auf Läsionsgröße und -form, sowie den perivaskulären Ablationserfolg. Die Vergleiche bezüglich der Form von ECL und RFA Läsionen sind in keinem Fall signifikant. Beide Verfahren produzieren gleichermaßen regelmäßig geformte Läsionen.

Da die gewünschte Läsionsgröße bei beiden Verfahren immer von mehreren variablen Parametern abhängt (Applikationszeit, Energiedosis, Elektrodenarrangement), verzichteten wir auf eine Gegenüberstellung der Größenausdehnung von ECL und RFA. Beide Verfahren sind je nach Einstellungsparametern in der Lage, Läsionen zu erzeugen, um Tumoren von mehreren Zentimetern Größe zu abladieren. Die RFA unterscheidet sich aber deutlich von der ECL durch die Abhängigkeit der Läsionsgröße von der Perfusion. Die ECL blieb von der Perfusion unbeeinflusst, während die Anwendung des Pringle-Maneuvers zu signifikant größeren RFA-Läsionen führte.

Bei den RFA-Läsionen wurde eine Transitionszone mit intaktem und destruiertem Gewebe am Übergang vom abladierten zum unversehrten Gewebe beobachtet. In situ wäre daher auf einen ausreichenden Sicherheitsabstand bei der Auswahl der Tumorgröße zu achten. Die ECL führt zu vollständigen und scharf begrenzten Läsionen. Da es aber zu einer unzureichenden Verschmelzung der Ablationsareale von Kathode und Anode mit der Ausbildung von 8-förmigen Läsionen kam, sollte auch hier eine passende Elektrodenanordnung zur Tumorgröße mit ausreichendem Sicherheitsabstand gewählt werden.

In der Betrachtung des perivaskulären Bereiches ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen RFA und ECL. Bei der makroskopischen Betrachtung der Läsionen gab es in der ECL-Gruppe ohne Pringle-Maneuver signifikant weniger Gefäße mit perivaskulären Aussparungen als in der RFA Gruppe ohne Pringle-Maneuver ($p < 0,001$) und mit Pringle-Maneuver ($p = 0,006$). Im histologischen Bild sah man an keinem Gefäß der ECL-Läsionen perivaskuläre Aussparungen. In beiden RFA – Gruppen waren jeweils signifikant mehr Gefäße mit perivaskulären Aussparungen und signifikant häufiger intakte Gefäße als in den ECL-Gruppen auszumachen ($p < 0,001$).
Somit ist die ECL der RFA, egal ob mit oder ohne Perfusion, den perivaskulären Ablationserfolg betreffend überlegen und führt signifikant häufiger zu einer vollständigen Ablation des perivaskulären Gewebes.
Unsere Ergebnisse zur Ablation der Gefäßwände widersprechen denen von Hinz et al. und Wemyss-Holden et al. [42,126]. Beide Arbeitsgruppen haben bei der ECL keine nekrotischen Veränderungen der Gefäßwände festgestellt. Ihrer Publikation ist aber nicht zu entnehmen, welche Parameter zur Beurteilung der Gefäße betrachtet wurden. Wemyss Holden et al. beschrieben lediglich das Auftreten von Thrombotischen Ereignissen.

Aufgrund unserer Ergebnisse muss der ECL somit ein maßgeblicher Vorteil hinsichtlich perivaskulärer Ablationen zugesprochen werden.
Metcalfe et al. veröffentlichen eine Studie zum Vergleich von RFA und ECL an großen hepatischen Venen im Schweinelebermodell [71]. Sie führten beide Verfahren in vivo an porcinen Lebern, in umittelbarer Nähe zu einer der vier Hauptäste der Lebervenen durch. Einhergehend mit unseren Ergebnissen fanden sie komplette Nekrosen, die unmittelbar bis an die Vene reichten, häufiger mit der ECL als mit der RFA. Sie postulieren diese Ergebnisse aber als nicht signifikant. Gegensätzlich zu unserer Studie fanden sie inkomplette Nekrosen mit der ECL bei 2 von 9 Ablationen und postulieren damit einen „Current-Sink-Effect“ der ECL. Bei nur 9 Ablationen mangelt es allerdings an statistischer Aussagekraft ihrer Ergebnisse. Darüberhinaus applizierten sie lediglich eine Ladung von 100 C gegenüber 300 C in unserer Studie, was die inkompletten Nekrosen erklären könnte. Wir führten unsere Untersuchungen an peripheren Ästen der Portalvenen durch, während sie zentrale

Hauptäste der Lebervenen wählten. Eine Aussage zum Gefäßdurchmesser trafen sie nicht, sodass diesbezüglich keine Vergleiche gezogen werden können.
Metcalfe et al. beschrieben außerdem geschädigte Gefäße durch beide Methoden und Komplikationen wie murale Thrombosen. Auch wir fanden geschädigte Gefäße mit beiden Methoden, konnten aber Nebenereignisse wie Thrombosen in unserem Modell mit akorpuskulärer Perfusionsflüssigkeit nicht beurteilen.

Zur Verbesserung des Ablationsergebnisses mittels RFA kann eine Verringerung der Organperfusion dienen. Diesbezüglich muss erwähnt werden, dass in tierexperimentellen Studien am Schwein erhöhte Risiken für vaskuläre und biliäre Komplikationen durch das Pringle-Maneuver beschrieben wurden [76]. Ng et al. berichten über thrombotische Verschlüsse der Portalvene und der Leberarterie bei RF-Ablationen und Anwendung des Pringle-Maneuvers. RF-Ablationen ohne Pringle führten nicht zu Komplikationen, erzielten aber widersprüchlich zu unseren Ergebnissen trotzdem vollständige Nekrosen. Man muss hier wiederum die Anwendung von intern gekühlten, singulären Elektroden anmerken.
Andere Studien konnten kein erhöhtes Komplikationsrisiko durch Gefäßokklusion beobachten. De Baere et al. beschreiben in ihrer Studie zur RFA am Patienten ähnliche Komplikationsraten für RFA in Kombination mit Perkutaner Ballonokklusion (PBO) oder ohne PBO [24], wobei sie je nach Tumorgröße unterschiedliche Elektroden verwendeten.
Häufiger auftretende Komplikationen durch Gefäßokklusion während der RF-Ablation würden weiterhin für eine Einführung der ECL sprechen. Diese bleibt von der Organperfusion unbeeinflusst. Ungeachtet der nicht ganz eindeutigen Studienlage zu Komplikationen durch Perfusionsminderung muss konstatiert werden, dass jegliche Manipulation der Blutgefäße und der Organperfusion, sei es durch Abklemmung oder intravaskuläre Okklusionsverfahren, eine höhere Invasivität und somit potentiell ein Risiko für Komplikationen darstellt.

Weiterhin finden sich nennenswerte Differenzen beider Verfahren in deren Handhabung. Ein maßgeblicher Nachteil der ECL liegt in der längeren Anwendungsdauer. In unseren Versuchen wählten wir eine Anwendungsdauer von 100 Minuten, um eine Ladung von 300 C zu applizieren. Die RFA ist mit einer

Anwendungsdauer von maximal 13 Minuten deutlich schneller durchzuführen. Durch die simultane Ablation eines Tumors mit mehreren Elektrodenpaaren kann die Anwendungsdauer der ECL aber verkürzt werden. Dazu verfügt der EC-Generator der Firma Söring über drei parallele Ablationskanäle. Andere Studien berichten über deutlich kürzere Anwendungszeiten von nur 30 min, indem sie mehrere Elektrodenpaare verwendeten oder weniger Ladung (100 C) applizierten [42,124].

In unserer Studie wurden 2 Elektroden in das Zielgewebe eingebracht. Die RFA benötigte nur eine Elektrode. Somit wäre die Einbringung der Elektroden bei der RFA einfacher und das Risiko, wichtige Strukturen zu verletzen, geringer. Entkräftend muss man aber die effiziente Verwendung von singulären ECL-Elektroden in anderen Studien beachten. In diesen Elektroden sind Anode und Kathode in einem Schaft integriert [124].

Sowohl RFA als auch ECL sind der Anwendung über einen perkutanen Zugang zugänglich. Alternativ können beide Methoden aber auch laparoskopisch oder bei einer offenen Laparotomie durchgeführt werden. In der Praktikabilität bestehen demnach keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden Verfahren.

5.5 Schlussfolgerung

Um noch einmal auf die Hypothesen im Kapitel „Fragestellung“ einzugehen, kann anhand unserer Ergebnisse ein deutlicher Einfluss der Anwendung des Pringle-Maneuvers auf die RFA bekräftigt werden. Mit dem Pringle-Maneuver werden größere Läsionen und effizientere perivaskuläre Ablationen erzeugt. Ein Einfluss des Pringle-Maneuvers auf die ECL besteht nicht. Im Vergleich erzielt die RFA auch mit Anwendung des Pringle-Maneuvers keine vergleichbare, perivaskuläre Ablation wie die ECL.

Insgesamt muss man sich anhand unserer Ergebnisse für die Etablierung der ECL durch weiter experimentelle Studien am Großtier und kontrollierte, klinische Studien am Patienten aussprechen. Die vermeintlichen Nachteile der ECL durch eine schwierigere Handhabung sind in anderen Studien bereits minimiert worden. Im Bezug auf die Läsionsgrößen, Reproduzierbarkeit der Läsionen und Sicherheit der Ablationen bietet die aktuelle Studienlage vielversprechende Ergebnisse. Im Bezug

auf perivaskuläre Ablationen und das umstrittene Risiko der Anwendung des Pringle-Maneuvers liegt aufgrund unserer Ergebnisse ein deutlicher Vorteil bei der ECL.

Als neue Möglichkeit wird derzeit die als „Bimodal electric tissue ablation“ (BETA) bezeichnete, simultane Anwendung von ECL und RFA erprobt. Cockburn et al. sowie Tiong et al. demonstrieren größere Ablationszonen durch die Kombination beider Verfahren [116]. Ob eine Verbesserung der Effizienz und eine Verbesserung perivaskulärer Ablationen erzielt werden kann, bleibt offen und müsste ebenfalls in weiteren experimentellen Studien untersucht werden.

5.6 Versuchsdurchführung und Kritik

Während der Perfusionszeit kam es zu einer moderaten Gewichtserhöhung der Lebern. Dennoch werteten wir das histologische Bild und die moderate Erhöhung des Organgewichtes von durchschnittlich 1980,6 g ± 1030 g auf 2055,9 ± 1081 g als indirektes Zeichen eines ausgebliebenen interstitiellen Ödems. Bedeutende Probleme gab es beim Aufbau und bei der Durchführung der Versuche nicht.

Die Kritikpunkte an unserem Vorgehen liegen überwiegend der Verwendung eines Ex-vivo-Perfusionsmodells zur Einsparung von Tierversuchen zu Grunde. Kritisch anzumerken ist die Durchführung unserer Versuche am gesunden Lebergewebe. Wir verzichteten aber bewusst auf die Einbringung von Tumormimikry in Form von Kollagen- oder Agargelpräparaten, wie es in anderen Studien durchgeführt wurde [42]. Unser Ziel war die makroskopische und histologische Beschreibung der Läsionen und der darin liegenden Gefäße. Eine Einbringung von Fremdmaterial hätte zu einer Veränderung der Gewebestruktur, möglicherweise zu einer Veränderung der elektrischen Eigenschaften und vermutlich somit zu einer Verfälschung der Ergebnisse geführt. Aufgrund der Ergebnisse von Li et al. nehmen wir an, dass durch die ECL gesunde und maligne Zellen gleichermaßen zerstört werden [55].

Ein weiterer Kritikpunkt ist die Verwendung von akorpuskulärer Elektrolytlösung als Perfusat. Blut enthält sowohl zelluläre Bestandteile und neben Proteinen auch eine andere Zusammensetzung der Elektrolyte. Der physikalische Kühlungseffekt ist

damit sicher annähernd zu imitieren, ein Einfluss auf die von der ECL erzeugten pH- und Elektrolytänderungen muss erwogen werden. Außerdem können an unserem Modell systemische Reaktionen auf die Ablation wie eine zelluläre Infiltration oder thrombembolische Ereignisse nicht erfasst werden.

Als letzter Kritikpunkt ist die transportbedingte hypotherme Ischämiezeit von bis zu 227 Minuten anzumerken. Während dieser Zeit wurden die Organe ohne Perfusion auf Eis gelagert, um einen Transport vom Schlachthof in das Forschungslabor zu ermöglichen. Da aber auch in der Transplantantionsmedizin kalte Ischämiezeiten von mehreren Stunden toleriert werden, ist nicht von einem Einfluss auf die Ablationsergebnisse auszugehen. Schon et al. postulieren, dass auch nach einstündiger warmer Ischämie und anschließender Reperfusion von über 4 Stunden von einer intakten Organfunktion ausgegangen werden kann [104].

Letztendlich könnten diese Kritikpunkte durch ein In-vivo-Modell oder durch klinische Studien weitestgehend eliminiert werden.

6. Zusammenfassung

Hintergrund: Maligne Lebertumoren sind zum Diagnosezeitpunkt überwiegend nicht mehr operabel. Als Alternative kommen lokalablative Verfahren wie ECL und RFA in Frage. In dieser Studie wird der Einfluss der Perfusion auf die ECL untersucht und ein Vergleich von ECL und RFA im Hinblick auf die Organperfusion gestellt

Material und Methode: Porcine Lebern wurden in eine Perfusionssystem mit erwärmter Elektrolytlösung eingefügt. Zur Simulation des Pringle-Maneuvers wurde die Perfusion mit Elektrolytlösung abgestellt. Es wurden 61 Ablationen an 27 Lebern durchgeführt. RFA ohne Pringle-Maneuver (Gr. 1, n = 15), RFA mit Pringle-Maneuver (Gr. 2, n= 15), ECL ohne Pringle-Maneuver (Gr. 3, n = 16) und ECL mit Pringle-Maneuver (Gr. 4, n = 15). Nach der Ablation folgte eine makroskopische und histologische Begutachtung der Läsionen.

Ergebnisse: Beide Verfahren führten zu reproduzierbaren und gleichermaßen regelmäßigen Läsionen. Der max. Diameter in Gr. 1 (3,11 ± 1,0cm) war signifikant kleiner als in Gr. 2 (3,38 ± 1,1 cm) ($p = 0,028$). Läsionen in Gr. 3 (4,18 ± 1,4) und in Gr. 4 (3,95 ± 1,0 cm) waren gleich groß. Die perivaskuläre Ablation war in Gruppe 1 häufiger unvollständig als in Gruppe 2 ($p < 0,026$). Im histologischen Bild wurden Gefäße nahe der Elektrode mit der RFA effizienter abladiert als Gefäße in der Peripherie der Läsion ($p < 0,05$). In Gruppe 3 und 4 wurden Gefäße und perivaskuläres Gewebe nahezu immer vollständig abladiert. In Gruppe 1 und 2 kam es jeweils signifikant häufiger zu unvollständigen, perivaskulären Ablationen als in Gruppe 3 oder 4 ($p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Die ECL erzeugt ebenso wie die RFA reproduzierbare und gleichmäßige Läsionen in Schweinelebern. Sie unterliegt keinem Einfluss der Organperfusion und erzielt vor allem perivaskulär effizientere Ablationen als die RFA mit oder ohne Pringle-Maneuver. Könnte man Praktikabilität und Anwendungsdauer der ECL verbessern so wäre sie als ernst zu nehmende Alternative in der lokalablativen Therapie von Lebertumoren zu betrachten.

7.Anhang

Schema HE-Färbung:

1. Alkoholreihe**:**

    100 % je 2x 2min

    Xylol 3x je 5 min

    96 % je 2x 2min

    70 % 1x 1min

2. Millipore spülen
3. Leitungswasser spülen
4. Hämatoxylin 4,5 min
5. Leitungswasser spülen über 10 min
6. Eosin 20-40 sek
7. Leitungswasser eintippen
8. Aufsteigende Alkoholreihe
9. Xylol 3x eintippen
10. Eindeckeln mit Eukitt

8. Literaturverzeichnis

1 Aloia, T. A., Vauthey, J. N., Loyer, E. M., Ribero, D., Pawlik, T. M., Wei, S. H., Curley, S. A., Zorzi, D.Abdalla, E. K. (2006). "Solitary colorectal liver metastasis: resection determines outcome." Archives of surgery **141**(5): 460-466; discussion 466-467.

2 Althaus, J. (1875). "Further observations on the electrolytic disper- sion of tumours." BMJ 75:606–608.

3 Baxter, P. S., Wemyss-Holden, S. A., Dennison, A. R.Maddern, G. J. (1998). "Electrochemically induced hepatic necrosis: the next step forward in patients with unresectable liver tumours?" The Australian and New Zealand journal of surgery **68**(9): 637-640.

4 Bhardwaj, N., Strickland, A. D., Ahmad, F., Atanesyan, L., West, K.Lloyd, D. M. (2009). "A comparative histological evaluation of the ablations produced by microwave, cryotherapy and radiofrequency in the liver." Pathology **41**(2): 168-172.

5 Bhardwaj, N., Strickland, A. D., Ahmad, F., Dennison, A. R.Lloyd, D. M. (2010). "Liver ablation techniques: a review." Surgical endoscopy **24**(2): 254-265.

6 Blaker, H., Hofmann, W. J., Theuer, D.Otto, H. F. (2001). "[Pathohistological findings in liver metastases]." Der Radiologe **41**(1): 1-7.

7 Blonski, W., Kotlyar, D. S.Forde, K. A. (2010). "Non-viral causes of hepatocellular carcinoma." World journal of gastroenterology : WJG **16**(29): 3603-3615.

8 Boucher, E., Corbinais, S., Rolland, Y., Bourguet, P., Guyader, D., Boudjema, K., Meunier, B.Raoul, J. L. (2003). "Adjuvant intra-arterial injection of iodine-131-labeled lipiodol after resection of hepatocellular carcinoma." Hepatology **38**(5): 1237-1241.

9 Brace, C. L., Laeseke, P. F., Sampson, L. A., Frey, T. M., van der Weide, D. W.Lee, F. T., Jr. (2007). "Microwave ablation with multiple simultaneously powered small-gauge triaxial antennas: results from an in vivo swine liver model." Radiology **244**(1): 151-156.

10 Brieger, J., Pereira, P. L., Trubenbach, J., Schenk, M., Krober, S. M., Schmidt, D., Aube, C., Claussen, C. D.Schick, F. (2003). "In vivo efficiency of four commercial monopolar radiofrequency ablation systems: a comparative experimental study in pig liver." Investigative radiology **38**(10): 609-616.

11 Buscarini, L.Rossi, S. (1997). "Technology for Radiofrequency Thermal Ablation of Liver Tumors." Seminars in laparoscopic surgery **4**(2): 96-101.

12 C. Pox, S. A., S. Bischoff, U. Graeven, M. Hass, P. Heußner, W. Hohenberger, A. Holstege, J. Hübner, F. Kolligs, M. Kreis, P. Lux, J. Ockenga, R. Porschen, S. Post, N. Rahner, A. Reinacher-Schick, J.F. Riemann, R. Sauer, A. Sieg, W. Scheppach, W. Schmitt, H.-J. Schmoll, K. Schulmann, A. Tannapfel, W. Schmiegel (2013). "S3 Leitlinie Kolorektales Karzinom." AWMF Leitlinienprogramm Onkologie: pp 149 - 163.

13 Cabassa, P., Donato, F., Simeone, F., Grazioli, L.Romanini, L. (2006). "Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: long-term experience with expandable needle electrodes." AJR. American journal of roentgenology **186**(5 Suppl): S316-321.

14 Chang, C. K., Hendy, M. P., Smith, J. M., Recht, M. H.Welling, R. E. (2002). "Radiofrequency ablation of the porcine liver with complete hepatic vascular occlusion." Annals of surgical oncology **9**(6): 594-598.

15 Chinn, S. B., Lee, F. T., Jr., Kennedy, G. D., Chinn, C., Johnson, C. D., Winter, T. C., 3rd, Warner, T. F.Mahvi, D. M. (2001). "Effect of vascular occlusion on radiofrequency ablation of the liver: results in a porcine model." AJR. American journal of roentgenology **176**(3): 789-795.

16 Choti, M. A., Sitzmann, J. V., Tiburi, M. F., Sumetchotimetha, W., Rangsin, R., Schulick, R. D., Lillemoe, K. D., Yeo, C. J.Cameron, J. L. (2002). "Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases." Annals of surgery **235**(6): 759-766.

17 Chow, D. H., Sinn, L. H., Ng, K. K., Lam, C. M., Yuen, J., Fan, S. T.Poon, R. T. (2006). "Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma and metastatic liver tumors: a comparative study." Journal of surgical oncology **94**(7): 565-571.

18 Clark, W. L. (1911). "Oscillatory dessication in the treatment of accessible malignant growths and minor surgical conditions." **29**: 169-183.

19 Curley, S. A., Izzo, F., Delrio, P., Ellis, L. M., Granchi, J., Vallone, P., Fiore, F., Pignata, S., Daniele, B.Cremona, F. (1999). "Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients." Annals of surgery **230**(1): 1-8.

20 Cushing H, B. W. (1928). "Electrosurgery as an aid to the removal of intracranial tumors." Surg Gynecol Obstet **47**: 751 - 784.

21 Czymek, R., Dinter, D., Loffler, S., Gebhard, M., Laubert, T., Lubienski, A., Bruch, H. P.Schmidt, A. (2011). "Electrochemical treatment: An investigation of dose-response relationships using an isolated liver perfusion model." Saudi journal of gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association **17**(5): 335-342.

22 Czymek, R., Loeffler, S., Dinter, D., Gebhard, M., Schmidt, A., Jungbluth, T., Kleemann, M., Bruch, H. P.Lubienski, A. (2012). "Intrahepatic radiofrequency ablation versus electrochemical treatment ex vivo." The Journal of surgical research **174**(1): 106-113.

23 D'Arsonval, M. (1891). "Action physiologique des courants alternatifs." CR Soc Biol **43**: 283-286.

24 de Baere, T., Deschamps, F., Briggs, P., Dromain, C., Boige, V., Hechelhammer, L., Abdel-Rehim, M., Auperin, A., Goere, D.Elias, D. (2008). "Hepatic malignancies: percutaneous radiofrequency ablation during percutaneous portal or hepatic vein occlusion." Radiology **248**(3): 1056-1066.

25 Denys, A. L., De Baere, T., Mahe, C., Sabourin, J. C., Sa Cunha, A., Germain, S.Roche, A. (2001). "Radio-frequency tissue ablation of the liver: effects of vascular occlusion on lesion diameter and biliary and portal damages in a pig model." European radiology **11**(10): 2102-2108.

26 Duffy, J. P., Hiatt, J. R.Busuttil, R. W. (2008). "Surgical resection of hepatocellular carcinoma." Cancer journal **14**(2): 100-110.

27 EK, A., JN, V., LM, E., Ellis, V., Pollock, R., Broglio, K. R., Hess, K.Curley, S. A. (2004). "Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases." Annals of surgery **239**(6): 818-825; discussion 825-817.

28 El-Serag, H. B.Rudolph, K. L. (2007). "Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis." Gastroenterology **132**(7): 2557-2576.

29 Finch, J. G., Fosh, B., Anthony, A., Slimani, E., Texler, M., Berry, D. P., Dennison, A. R.Maddern, G. J. (2002). "Liver electrolysis: pH can reliably monitor the extent of hepatic ablation in pigs." Clinical science **102**(4): 389-395.

30 Fong, Y., Sun, R. L., Jarnagin, W.Blumgart, L. H. (1999). "An analysis of 412 cases of hepatocellular carcinoma at a Western center." Annals of surgery **229**(6): 790-799; discussion 799-800.

31 Forner, A., Llovet, J. M.Bruix, J. (2012). "Hepatocellular carcinoma." Lancet **379**(9822): 1245-1255.

32 Gillams, A. R.Lees, W. R. (2009). "Five-year survival in 309 patients with colorectal liver metastases treated with radiofrequency ablation." European radiology **19**(5): 1206-1213.

33 Goldberg, S. N., Charboneau, J. W., Dodd, G. D., 3rd, Dupuy, D. E., Gervais, D. A., Gillams, A. R., Kane, R. A., Lee, F. T., Jr., Livraghi, T., McGahan, J. P., Rhim, H., Silverman, S. G., Solbiati, L., Vogl, T. J.Wood, B. J. (2003). "Image-guided tumor ablation: proposal for standardization of terms and reporting criteria." Radiology **228**(2): 335-345.

34 Goldberg, S. N.Gazelle, G. S. (2001). "Radiofrequency tissue ablation: physical principles and techniques for increasing coagulation necrosis." Hepato-gastroenterology **48**(38): 359-367.

35 Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Compton, C. C., Mueller, P. R.Tanabe, K. K. (2000). "Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: radiologic-pathologic correlation." Cancer **88**(11): 2452-2463.

36 Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Solbiati, L., Rittman, W. J.Mueller, P. R. (1996). "Radiofrequency tissue ablation: increased lesion diameter with a perfusion electrode." Academic radiology **3**(8): 636-644.

37 Goldberg, S. N., Hahn, P. F., Halpern, E. F., Fogle, R. M.Gazelle, G. S. (1998). "Radio-frequency tissue ablation: effect of pharmacologic modulation of blood flow on coagulation diameter." Radiology **209**(3): 761-767.

38 Goldberg, S. N., Hahn, P. F., Tanabe, K. K., Mueller, P. R., Schima, W., Athanasoulis, C. A., Compton, C. C., Solbiati, L.Gazelle, G. S. (1998). "Percutaneous radiofrequency tissue ablation: does perfusion-mediated tissue cooling limit coagulation necrosis?" Journal of vascular and interventional radiology : JVIR **9**(1 Pt 1): 101-111.

39 Golling M, Lehnert T., Bechstein WO (2006). Chirurgische Resektion von Lebermetastasen. In:Schmoll HJ, Höffken K, Possinger K (Hrsg): Kompendium internistische Onkologie, 4. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg, S. 907-936

40 Guo, W. X., Zhai, B., Lai, E. C., Li, N., Shi, J., Lau, W. Y., Wu, M. C.Cheng, S. Q. (2010). "Percutaneous radiofrequency ablation versus partial hepatectomy for multicentric small hepatocellular carcinomas: a nonrandomized comparative study." World journal of surgery **34**(11): 2671-2676.

41 Hess, K. R., Varadhachary, G. R., Taylor, S. H., Wei, W., Raber, M. N., Lenzi, R.Abbruzzese, J. L. (2006). "Metastatic patterns in adenocarcinoma." Cancer **106**(7): 1624-1633.

42 Hinz, S., Egberts, J. H., Pauser, U., Schafmayer, C., Fandrich, F.Tepel, J. (2008). "Electrolytic ablation is as effective as radiofrequency ablation in the treatment of artificial liver metastases in a pig model." Journal of surgical oncology **98**(2): 135-138.

43 Hong, S. N., Lee, S. Y., Choi, M. S., Lee, J. H., Koh, K. C., Paik, S. W., Yoo, B. C., Rhee, J. C., Choi, D., Lim, H. K., Lee, K. W.Joh, J. W. (2005). "Comparing the outcomes of radiofrequency ablation and surgery in patients with a single small hepatocellular carcinoma and well-preserved hepatic function." Journal of clinical gastroenterology **39**(3): 247-252.

44 Humphrey, C. E.Seal, E. H. (1959). "Biophysical approach toward tumor regression in mice." Science **130**(3372): 388-390.

45 Huppert, P. E., Lauchart, W., Duda, S. H., Torkler, C., Kloska, S. P., Weinlich, M., Benda, N., Pereira, P.Claussen, C. D. (2004). "[Chemoembolization of hepatocellular carcinomas: which factors determine therapeutic response and survival?]." RoFo : Fortschritte auf dem Gebiete der Rontgenstrahlen und der Nuklearmedizin **176**(3): 375-385.

46 Hur, H., Ko, Y. T., Min, B. S., Kim, K. S., Choi, J. S., Sohn, S. K., Cho, C. H., Ko, H. K., Lee, J. T.Kim, N. K. (2009). "Comparative study of resection and radiofrequency ablation in the treatment of solitary colorectal liver metastases." American journal of surgery **197**(6): 728-736.

47 Jansen, M. C., van Hillegersberg, R., Chamuleau, R. A., van Delden, O. M., Gouma, D. J.van Gulik, T. M. (2005). "Outcome of regional and local ablative therapies for hepatocellular carcinoma: a collective review." European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology **31**(4): 331-347.

48 Kim, Y. S., Rhim, H., Cho, O. K., Koh, B. H.Kim, Y. (2006). "Intrahepatic recurrence after percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: analysis of the pattern and risk factors." European journal of radiology **59**(3): 432-441.

49 Lang H, Mischinger HJ. (2008). Primäre Malignome der Leber. In: Gant M, Schlag PM: Chirurgische Onkologie-Strategien und Standards für die Praxis. 1.Auflage, Springer Verlag Wien/New York, S. 185-199,

50 Lehmann, K. S., Ritz, J. P., Valdeig, S., Knappe, V., Schenk, A., Weihusen, A., Rieder, C., Holmer, C., Zurbuchen, U., Hoffmann, P., Peitgen, H. O., Buhr, H. J.Frericks, B. B. (2009). "Ex situ quantification of the cooling effect of liver vessels on radiofrequency ablation." Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft fur Chirurgie **394**(3): 475-481.

51 Lencioni, R., Cioni, D., Crocetti, L., Franchini, C., Pina, C. D., Lera, J.Bartolozzi, C. (2005). "Early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation." Radiology **234**(3): 961-967.

52 Lencioni, R.Crocetti, L. (2012). "Local-regional treatment of hepatocellular carcinoma." Radiology **262**(1): 43-58.

53 Lencioni, R. A., Allgaier, H. P., Cioni, D., Olschewski, M., Deibert, P., Crocetti, L., Frings, H., Laubenberger, J., Zuber, I., Blum, H. E.Bartolozzi, C. (2003). "Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection." Radiology **228**(1): 235-240.

54 Leveillee, R. J., Hoey, M. F., Hulbert, J. C., Mulier, P., Lee, D.Jesserun, J. (1996). "Enhanced radiofrequency ablation of canine prostate utilizing a liquid conductor: the virtual electrode." Journal of endourology / Endourological Society **10**(1): 5-11.

55 Li, K., Xin, Y., Gu, Y., Xu, B., Fan, D.Ni, B. (1997). "Effects of direct current on dog liver: possible mechanisms for tumor electrochemical treatment." Bioelectromagnetics **18**(1): 2-7.

56 Lin, S. M., Lin, C. J., Hsu, C. W., Tai, D. I., Sheen, I. S., Lin, D. Y.Liaw, Y. F. (2004). "Prospective randomized controlled study of interferon-alpha in preventing hepatocellular carcinoma recurrence after medical ablation therapy for primary tumors." Cancer **100**(2): 376-382.

57 Lin, S. M., Lin, C. J., Lin, C. C., Hsu, C. W.Chen, Y. C. (2005). "Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less." Gut **54**(8): 1151-1156.

58 Liu, J. H., Hsieh, Y. Y., Chen, W. S., Hsu, Y. N., Chau, G. Y., Teng, H. W., King, K. L., Lin, T. C., Tzeng, C. H.Lin, J. K. (2010). "Adjuvant oxaliplatin- or irinotecan-containing chemotherapy improves overall survival following resection of metachronous colorectal liver metastases." International journal of colorectal disease **25**(10): 1243-1249.

59 Livraghi, T. (2003). "Radiofrequency ablation, PEIT, and TACE for hepatocellular carcinoma." Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery **10**(1): 67-76.

60 Livraghi, T., Goldberg, S. N., Lazzaroni, S., Meloni, F., Ierace, T., Solbiati, L.Gazelle, G. S. (2000). "Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions." Radiology **214**(3): 761-768.

61 Livraghi, T., Solbiati, L., Meloni, M. F., Gazelle, G. S., Halpern, E. F.Goldberg, S. N. (2003). "Treatment of focal liver tumors with percutaneous radio-frequency ablation: complications encountered in a multicenter study." Radiology **226**(2): 441-451.

62 Llovet, J. M., Bruix, J., Fuster, J., Castells, A., Garcia-Valdecasas, J. C., Grande, L., Franca, A., Bru, C., Navasa, M., Ayuso, M. C., Sole, M., Real, M. I., Vilana, R., Rimola, A., Visa, J.Rodes, J. (1998). "Liver transplantation for small hepatocellular carcinoma: the tumor-node-metastasis classification does not have prognostic power." Hepatology **27**(6): 1572-1577.

63 Llovet, J. M., Schwartz, M.Mazzaferro, V. (2005). "Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma." Seminars in liver disease **25**(2): 181-200.

64 Lu, D. S., Raman, S. S., Vodopich, D. J., Wang, M., Sayre, J.Lassman, C. (2002). "Effect of vessel size on creation of hepatic radiofrequency lesions in pigs: assessment of the "heat sink" effect." AJR. American journal of roentgenology **178**(1): 47-51.

65 Lu, D. S., Yu, N. C., Raman, S. S., Limanond, P., Lassman, C., Murray, K., Tong, M. J., Amado, R. G.Busuttil, R. W. (2005). "Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: treatment success as defined by histologic examination of the explanted liver." Radiology **234**(3): 954-960.

66 Lubienski, A. (2005). "Radiofrequency ablation in metastatic disease." Recent results in cancer research. Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer **165**: 268-276.

67 Lubienski, A., Bitsch, R. G., Lubienski, K., Kauffmann, G.Duex, M. (2006). "Radiofrequency ablation (RFA): development of a flow model for bovine livers for extensive bench testing." Cardiovascular and interventional radiology **29**(6): 1068-1072.

68 Mazzaferro, V., Regalia, E., Doci, R., Andreola, S., Pulvirenti, A., Bozzetti, F., Montalto, F., Ammatuna, M., Morabito, A.Gennari, L. (1996). "Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis." The New England journal of medicine **334**(11): 693-699.

69 McGahan, J. P., Brock, J. M., Tesluk, H., Gu, W. Z., Schneider, P.Browning, P. D. (1992). "Hepatic ablation with use of radio-frequency electrocautery in the animal model." Journal of vascular and interventional radiology : JVIR **3**(2): 291-297.

70 McGlynn, K. A., Tsao, L., Hsing, A. W., Devesa, S. S.Fraumeni, J. F., Jr. (2001). "International trends and patterns of primary liver cancer." International journal of cancer. Journal international du cancer **94**(2): 290-296.

71 Metcalfe, M. S., Mullin, E. J., Texler, M., Berry, D. P., Dennison, A. R.Maddern, G. J. (2007). "The safety and efficacy of radiofrequency and electrolytic ablation created adjacent to large hepatic veins in a porcine model." European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology **33**(5): 662-667.

72 Miao, Y., Ni, Y., Mulier, S., Wang, K., Hoey, M. F., Mulier, P., Penninckx, F., Yu, J., De Scheerder, I., Baert, A. L.Marchal, G. (1997). "Ex vivo experiment on radiofrequency liver ablation with saline infusion through a screw-tip cannulated electrode." The Journal of surgical research **71**(1): 19-24.

73 Müller, M. (2010). Chirurgie für Studium und Praxis 2010/11, 10. Auflage, Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach, S. 245-249

74 Muto, Y., Moriwaki, H., Ninomiya, M., Adachi, S., Saito, A., Takasaki, K. T., Tanaka, T., Tsurumi, K., Okuno, M., Tomita, E., Nakamura, T.Kojima, T. (1996). "Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group." The New England journal of medicine **334**(24): 1561-1567.

75 Network., N. C. C. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Hepatobiliary Cancers,Version1 http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/hepatobiliary.pdf. Tag des Zugriffs: 22.01.2013

76 Ng, K. K., Lam, C. M., Poon, R. T., Shek, T. W., Fan, S. T.Wong, J. (2004). "Delayed portal vein thrombosis after experimental radiofrequency ablation near the main portal vein." The British journal of surgery **91**(5): 632-639.

77 Ng, K. K., Poon, R. T., Lam, C. M., Yuen, J., Tso, W. K.Fan, S. T. (2006). "Efficacy and safety of radiofrequency ablation for perivascular hepatocellular carcinoma without hepatic inflow occlusion." The British journal of surgery **93**(4): 440-447.

78 Ng, K. K., Poon, R. T., Lo, C. M., Yuen, J., Tso, W. K.Fan, S. T. (2008). "Analysis of recurrence pattern and its influence on survival outcome after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma." Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract **12**(1): 183-191.

79 Nilsson, E., von Euler, H., Berendson, J., Thorne, A., Wersall, P., Naslund, I., Lagerstedt, A. S., Narfstrom, K.Olsson, J. M. (2000). "Electrochemical treatment of tumours." Bioelectrochemistry **51**(1): 1-11.

80 Nordenstrom, B. E. (1978). "Preliminary trials of electrophoretic ionization in the treatment of malignant tumours." IRCS J Med SCI 6:537.

81 Nordenstrom, B. E. (1984). "Biologically closed electric circuits: acti- vation of vascular interstitial closed electric circuits for treat- ment of inoperable cancers." Bioelectricity 3:137-153.

82 Nordenstrom, B. E. (1994). "Survey of mechanisms in electrochemical treatment (ECT) of cancer." The European journal of surgery. Supplement. : = Acta chirurgica. Supplement(574): 93-109.

83 Ono, T., Nagasue, N., Kohno, H., Hayashi, T., Uchida, M., Yukaya, H.Yamanoi, A. (1997). "Adjuvant chemotherapy with epirubicin and carmofur after radical resection of hepatocellular carcinoma: a prospective randomized study." Seminars in oncology **24**(2 Suppl 6): S6-18-S16-25.

84 Organ, L. W. (1976). "Electrophysiologic principles of radiofrequency lesion making." Applied neurophysiology **39**(2): 69-76.

85 Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J.Pisani, P. (2005). "Global cancer statistics, 2002." CA: a cancer journal for clinicians **55**(2): 74-108.

86 Patterson, E. J., Scudamore, C. H., Owen, D. A., Nagy, A. G.Buczkowski, A. K. (1998). "Radiofrequency ablation of porcine liver in vivo: effects of blood flow and treatment time on lesion size." Annals of surgery **227**(4): 559-565.

87 Pearson, A. S., Izzo, F., Fleming, R. Y., Ellis, L. M., Delrio, P., Roh, M. S., Granchi, J.Curley, S. A. (1999). "Intraoperative radiofrequency ablation or cryoablation for hepatic malignancies." American journal of surgery **178**(6): 592-599.

88 Pennes, H. H. (1948). "Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm." Journal of applied physiology **1**(2): 93-122.

89 Pereira, P. L., Clasen, S., Boss, A., Schmidt, D., Gouttefangeas, C., Burkart, C., Wiskirchen, J., Tepe, G.Claussen, C. D. (2004). "[Radiofrequency ablation of liver metastases]." Der Radiologe **44**(4): 347-357.

90 Plonait, H. (2004). Fieberhafte Allgemeinerkrankungen. In: Waldmann KH, Wendt M (Hrsg): Lehrbuch der Schweinekrankheiten, 4. Auflage, Parey Verlag, Stuttgart, S. 93-94.

91 Poon, R. T., Fan, S. T., Lo, C. M., Ng, I. O., Liu, C. L., Lam, C. M.Wong, J. (2001). "Improving survival results after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study of 377 patients over 10 years." Annals of surgery **234**(1): 63-70.

92 Portier, G., Elias, D., Bouche, O., Rougier, P., Bosset, J. F., Saric, J., Belghiti, J., Piedbois, P., Guimbaud, R., Nordlinger, B., Bugat, R., Lazorthes, F.Bedenne, L. (2006). "Multicenter randomized trial of adjuvant fluorouracil and folinic acid compared with surgery alone after resection of colorectal liver metastases: FFCD ACHBTH AURC 9002 trial." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **24**(31): 4976-4982.

93 Raut, C. P., Izzo, F., Marra, P., Ellis, L. M., Vauthey, J. N., Cremona, F., Vallone, P., Mastro, A., Fornage, B. D.Curley, S. A. (2005). "Significant long-term survival after radiofrequency ablation of unresectable hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis." Annals of surgical oncology **12**(8): 616-628.

94 Reuter, N. P., Woodall, C. E., Scoggins, C. R., McMasters, K. M.Martin, R. C. (2009). "Radiofrequency ablation vs. resection for hepatic colorectal metastasis: therapeutically equivalent?" Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract **13**(3): 486-491.

95 Ricke, J., Wust, P., Wieners, G., Beck, A., Cho, C. H., Seidensticker, M., Pech, M., Werk, M., Rosner, C., Hanninen, E. L., Freund, T.Felix, R. (2004). "Liver malignancies: CT-guided interstitial brachytherapy in patients with

unfavorable lesions for thermal ablation." Journal of vascular and interventional radiology : JVIR **15**(11): 1279-1286.

96 Robertson, G. S., Wemyss-Holden, S. A., Dennison, A. R., Hall, P. M., Baxter, P.Maddern, G. J. (1998). "Experimental study of electrolysis-induced hepatic necrosis." The British journal of surgery **85**(9): 1212-1216.

97 Rossi, S., Fornari, F., Pathies, C.Buscarini, L. (1990). "Thermal lesions induced by 480 KHz localized current field in guinea pig and pig liver." Tumori **76**(1): 54-57.

98 Rossi, S., Garbagnati, F., De Francesco, I., Accocella, F., Leonardi, L., Quaretti, P., Zangrandi, A., Paties, C.Lencioni, R. (1999). "Relationship between the shape and size of radiofrequency induced thermal lesions and hepatic vascularization." Tumori **85**(2): 128-132.

99 Samuelsson, L. (1981). "Electrolysis and surgery in experimental tumours in the rat." Acta radiologica: diagnosis **22**(2): 129-131.

100 Samuelsson, L., Harnek, J., Ewers, S. B.Jonsson, L. (1994). "Electrochemical and megavolt treatment of rat tumours." The European journal of surgery. Supplement. : = Acta chirurgica. Supplement(574): 69-70.

101 Samuelsson, L., Olin, T.Berg, N. O. (1980). "Electrolytic destruction of lung tissue in the rabbit." Acta radiologica: diagnosis **21**(4): 447-454.

102 Schiffman, S. C., Bower, M., Brown, R. E., Martin, R. C., McMasters, K. M.Scoggins, C. R. (2010). "Hepatectomy is superior to thermal ablation for patients with a solitary colorectal liver metastasis." Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract **14**(12): 1881-1886; discussion 1886-1887.

103 Schlitt, H. J., Arnold, D., Knoefel, W. T., Ridwelski, K., Moehler, M., Tannapfel, A.Reinacher-Schick, A. (2008). "[Surgical and perioperative therapy of liver metastases]." Onkologie **31 Suppl 5**: 9-13.

104 Schon, M. R., Kollmar, O., Wolf, S., Schrem, H., Matthes, M., Akkoc, N., Schnoy, N. C.Neuhaus, P. (2001). "Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion." Annals of surgery **233**(1): 114-123.

105 Scott, D. J., Fleming, J. B., Watumull, L. M., Lindberg, G., Tesfay, S. T.Jones, D. B. (2002). "The effect of hepatic inflow occlusion on laparoscopic radiofrequency ablation using simulated tumors." Surgical endoscopy **16**(9): 1286-1291.

106 Seifert, J. K., Springer, A., Baier, P.Junginger, T. (2005). "Liver resection or cryotherapy for colorectal liver metastases: a prospective case control study." International journal of colorectal disease **20**(6): 507-520.

107 Shen, P., Fleming, S., Westcott, C.Challa, V. (2003). "Laparoscopic radiofrequency ablation of the liver in proximity to major vasculature: effect of the Pringle maneuver." Journal of surgical oncology **83**(1): 36-41.

108 Shibata, T., Isoda, H., Hirokawa, Y., Arizono, S., Shimada, K.Togashi, K. (2009). "Small hepatocellular carcinoma: is radiofrequency ablation combined with transcatheter arterial chemoembolization more effective than radiofrequency ablation alone for treatment?" Radiology **252**(3): 905-913.

109 Shimada, S., Hirota, M., Beppu, T., Matsuda, T., Hayashi, N., Tashima, S., Takai, E., Yamaguchi, K., Inoue, K.Ogawa, M. (1998). "Complications and management of microwave coagulation therapy for primary and metastatic liver tumors." Surgery today **28**(11): 1130-1137.

110 Shiratori, Y., Shiina, S., Teratani, T., Imamura, M., Obi, S., Sato, S., Koike, Y., Yoshida, H.Omata, M. (2003). "Interferon therapy after tumor ablation improves prognosis in patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus." Annals of internal medicine **138**(4): 299-306.

111 Solbiati, L., Ahmed, M., Cova, L., Ierace, T., Brioschi, M.Goldberg, S. N. (2012). "Small Liver Colorectal Metastases Treated with Percutaneous Radiofrequency Ablation: Local Response Rate and Long-term Survival with Up to 10-year Follow-up." Radiology.

112 Steward BW, K. P. e. (2003). Colorectal cancer. World cancer report. Lyon, IACR**:** 198-202.

113 Takamura, M., Murakami, T., Shibata, T., Ishida, T., Niinobu, T., Kawata, S., Shimizu, J., Kim, T., Monden, M.Nakamura, H. (2001). "Microwave coagulation therapy with interruption of hepatic blood in- or outflow: an experimental study." Journal of vascular and interventional radiology : JVIR **12**(5): 619-622.

114 Tateishi, R., Shiina, S., Teratani, T., Obi, S., Sato, S., Koike, Y., Fujishima, T., Yoshida, H., Kawabe, T.Omata, M. (2005). "Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases." Cancer **103**(6): 1201-1209.

115 Teratani, T., Yoshida, H., Shiina, S., Obi, S., Sato, S., Tateishi, R., Mine, N., Kondo, Y., Kawabe, T.Omata, M. (2006). "Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma in so-called high-risk locations." Hepatology **43**(5): 1101-1108.

116 Tiong, L. U., Field, J. B.Maddern, G. J. (2012). "Bimodal electric tissue ablation (BETA) compared with the Cool-Tip RFA system." ANZ journal of surgery **82**(4): 269-274.

117 Uenishi, T., Nishiguchi, S., Tamori, A., Yamamoto, T., Shuto, T., Hirohashi, K., Takemura, S., Tanaka, H.Kubo, S. (2006). "Influence of interferon therapy on outcome after surgery for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma."

Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology **36**(3): 195-200.

118 van Hillegersberg, R. (1997). "Fundamentals of laser surgery." The European journal of surgery = Acta chirurgica **163**(1): 3-12.

119 Vivarelli, M., Bellusci, R., Cucchetti, A., Cavrini, G., De Ruvo, N., Aden, A. A., La Barba, G., Brillanti, S.Cavallari, A. (2002). "Low recurrence rate of hepatocellular carcinoma after liver transplantation: better patient selection or lower immunosuppression?" Transplantation **74**(12): 1746-1751.

120 Vogl, T. J., Straub, R., Eichler, K., Sollner, O.Mack, M. G. (2004). "Colorectal carcinoma metastases in liver: laser-induced interstitial thermotherapy--local tumor control rate and survival data." Radiology **230**(2): 450-458.

121 von Euler, H., Nilsson, E., Olsson, J. M.Lagerstedt, A. S. (2001). "Electrochemical treatment (EChT) effects in rat mammary and liver tissue. In vivo optimizing of a dose-planning model for EChT of tumours." Bioelectrochemistry **54**(2): 117-124.

122 von Euler, H., Olsson, J. M., Hultenby, K., Thorne, A.Lagerstedt, A. S. (2003). "Animal models for treatment of unresectable liver tumours: a histopathologic and ultra-structural study of cellular toxic changes after electrochemical treatment in rat and dog liver." Bioelectrochemistry **59**(1-2): 89-98.

123 Wall, W. J.Marotta, P. J. (2000). "Surgery and transplantation for hepatocellular cancer." Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society **6**(6 Suppl 2): S16-22.

124 Wemyss-Holden, S. A., Berry, D. P., Robertson, G. S., Dennison, A. R., De La, M. H. P.Maddern, G. J. (2002). "Electrolytic ablation as an adjunct to liver resection: Safety and efficacy in patients." ANZ journal of surgery **72**(8): 589-593.

125 Wemyss-Holden, S. A., de la, M. H. P., Robertson, G. S., Dennison, A. R., Vanderzon, P. S.Maddern, G. J. (2000). "The safety of electrolytically induced hepatic necrosis in a pig model." The Australian and New Zealand journal of surgery **70**(8): 607-612.

126 Wemyss-Holden, S. A., Dennison, A. R., Finch, G. J., Hall Pd Pde, L.Maddern, G. J. (2002). "Electrolytic ablation as an adjunct to liver resection: experimental studies of predictability and safety." The British journal of surgery **89**(5): 579-585.

127 Wemyss-Holden, S. A., Robertson, G. S., Dennison, A. R., de la, M. H. P., Fothergill, J. C., Jones, B.Maddern, G. J. (2000). "Electrochemical lesions in the

rat liver support its potential for treatment of liver tumors." The Journal of surgical research **93**(1): 55-62.

128 Wemyss-Holden, S. A., Robertson, G. S., Dennison, A. R., Vanderzon, P. S., Hall, P. M.Maddern, G. J. (2000). "A new treatment for unresectable liver tumours: long-term studies of electrolytic lesions in the pig liver." Clinical science **98**(5): 561-567.

129 Yamamoto, M., Arii, S., Sugahara, K.Tobe, T. (1996). "Adjuvant oral chemotherapy to prevent recurrence after curative resection for hepatocellular carcinoma." The British journal of surgery **83**(3): 336-340.

130 Yu, N. C., Lu, D. S., Raman, S. S., Dupuy, D. E., Simon, C. J., Lassman, C., Aswad, B. I., Ianniti, D.Busuttil, R. W. (2006). "Hepatocellular carcinoma: microwave ablation with multiple straight and loop antenna clusters--pilot comparison with pathologic findings." Radiology **239**(1): 269-275.

131 Yun, W. K., Choi, M. S., Choi, D., Rhim, H. C., Joh, J. W., Kim, K. H., Jang, T. H., Lee, J. H., Koh, K. C., Paik, S. W.Yoo, B. C. (2011). "Superior long-term outcomes after surgery in child-pugh class a patients with single small hepatocellular carcinoma compared to radiofrequency ablation." Hepatology international **5**(2): 722-729.

9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

- **Abb. 1**: Mittig aufgeschnittene Koagulationsnekrose nach RF-Ablation……S. 10
- **Abb. 2:** Expandierbare RFA-Multiapplikationsnadeln, Elektrodenschirm links auf 5 cm und rechts auf 3 cm ausgefahren (RITA, Star-Burst Talon array).....S.11
- **Abb. 3:** Schematische Darstellung des Perfusionsmodells anhand der ECL.....S.20
- **Abb. 4**: RF-Generator, mit Konnektion zur RF-Elektrode (rechts) und zum Metallgitter (Mitte)……S.21
- **Abb. 5:** Metallgitter mit Verbindungskabeln zum RF-Generator als Ableitungselektrode……S.21
- **Abb. 6**: RFA-Elektroden auf Stufe 5 und Stufe 3 ausgefahren……S.22
- **Abb. 7**: Organ im Perfusionsbecken mit poitionierter RFA-Elektrode. Perfusionsschlauch über Adapter an die Pfortader angeschlossen……S.23
- **Abb. 8:** Simultane ECL-Ablation in 2 Leberlappen. Je 2 Elektroden über die Plexiglasschablonen im Gewebe positioniert. Pfortader über Adapter mit Perfusionsschlauch verbunden……S.25
- **Abb. 9**: Niederspannungsgerät, Platinelektroden und Plexiglasschablonen……S.26
- **Abb. 10:** Schema für den Zuschnitt in die Gewebekapseln. Die gestrichelte Linien stellen die Schnittführung dar……S.27
- **Abb. 11**: RFA-Läsion im Querschnitt, Abladiertes Gewebe (Roter Pfeil), Unversehrtes Gewebe (Schwarzer Pfeil), Blutgefäße (Blaue Pfeile).....S.32
- **Abb. 12:** Lebergewebe nach RF-Ablation, 40-fache Vergrößerung……S.33
- **Abb. 13:** Unversehrtes Lebergewebe nach 2h Perfusion, 40-fache Vergrößerung.....S.34
- **Abb 14**: RFA-Läsion im Querschnitt mit perivaskulären Aussparungen (Schwarze Pfeile).....S.35

- **Abb. 15:** RFA-Läsion mit Blutgefäß (Blauer Pfeil) und perivaskulär vitalem Gewebe, 25-fache Vergrößerung.....S.36
- **Abb. 16**: Unversehrte Gefäßwand (rechts) mit anliegendem unversehrtem Lebergewebe (links), HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung.....S.37
- **Abb. 17:** Destruierte Gefäßwand (links unten) mit destruiertem Gewebe (rechts oben) nach RFA-Ablation, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung….S.37
- **Abb. 18:** ECL-Läsion im Querschnitt, Kolliquationsnekrose Kathode (Schwarzer Pfeil), Koagulationsnekrose Anode (Roter Pfeil), Blutgefäße (BlauePfeile).....S.40
- **Abb. 19:** Lebergewebe nach ECL-Ablation (Oben Kathode, Unten Anode, dazwischen eosinophile Übergangszone), 25-fache Vergrößerung.....S.41
- **Abb. 20:** Destruierte Gefäßwand (oben) mit destruiertem Gewebe (unten) nach ECL-Ablation, HE-Färbung, 40-fache Vergrößerung…….....….S.43
- **Abb. 21**: Graphische Darstellung des Anteils an Läsionen mit ungleichmäßiger Form……..……S.44
- **Abb. 22:** Max. Diameter der Läsionen im Querschnitt……..S.45
- **Abb. 23**: Anteil der gezählten Blutgefäße mit mikroskopisch angrenzend intaktem Gewebe (grau)……..…..S.47
- **Abb. 24:** Anteil der Blutgefäße mit destruierter Wandstruktur (weiß)…....S.48

Tabellen

- **Tab. 1**: Einteilung der Versuchsgruppen……..S.30
- **Tab. 2:** Einfluss der Gefäßlage auf die perivasale RF-Ablation, Makroskopisch.....S.39
- **Tab. 3**: Einfluss der Gefäßlage auf die RF-Ablation an Gefäßen, Mikroskopisch.....S.39
- **Tab. 4**: Makroskopischer und histologischer Effekt der Ablationen auf Gefäßwände und umliegendes Gewebe.....S.31

10. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Ralf Czymek für die Überlassung dieses interessanten Dissertationsthemas, die zahlreichen Diskussionen und Anregungen dazu und die kritische Korrektur der vorläufigen Fassung dieser Dissertation bedanken.

Desweiteren gilt mein Dank meinem Betreuer Dr. med. Andreas Schmidt, der mir während der Erstellung dieser Arbeit als Mentor immer vorbildlich zur Seite stand. Durch seine Anleitung und Ideen hat er maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ich danke außerdem Herrn Maximilan Gebhard und dem Institut für Pathologie von Prof. Dr. med Alfred C. Feller für die freundliche und hilfreiche Unterstützung bei der Beurteilung der Histologie dieser Arbeit. Zudem gilt mein Dank Frau Gisela Grosser-Pape und den Mitarbeitern aus dem chirugischen Forschungslabor von Herrn Prof. Dr.Dr. med Jens K. Habermann für tatkräftige Unterstützung bei der Erstellung der histologischen Präparate.

Nicht zuletzt danke ich Frau Dr. med. Imke Weyers und Herrn Priv.-Doz. Dr. med Matthias Klinger aus dem Institut für Anatomie für die freundliche Bereitstellung des Ultraschallgerätes.

Großer Dank gilt außerdem der Unterstützung meiner Eltern und meiner Familie, die mir dieses Studium und den erfolgreichen Abschluss erst ermöglicht haben.

Außerdem danke ich meinem langjährigen Freund Philipp Bergmann, der mir stets mit viel Rat und Motivation ein wichtiger Ansprechpartner war.



11. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Benedict-Douglas Sannwaldt
Staatsangehörigkeit:	Deutsch
Geburtsdatum:	25. 05. 1987 in Ostercappeln
Anschrift:	Weimarer Weg 9
	32339 Espelkamp

Schulische Ausbildung

1993-1997	Grundschule in Espelkamp
2006	Allgemeine Hochschulreife,
	Söderblom-Gymnasium Espelkamp

Zivildienst

2006 – 2007	Adlerwarte Berlebeck, Stadt Detmold

Studium

Seit 2007	Studium der Humanmedizin, Universität zu Lübeck
09/2009	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
04/2011-12/2011	Beginn der experimentellen Versuche der Dissertation im Fach Chirurgie
02/2012-07/2012	Auslandstudium Universita degli studi di Firenze
02/2013-01/2014	Praktisches Jahr
	Wahlfach HNO: UKSH Lübeck
	Chirurgie: KKH Wilhemstift und BUK Hamburg/Boberg
	Innere: Sana Klinik Lübeck
04/2014-05/2014	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

12. Veröffentlichungen

Posterpräsentationen:

Sannwaldt BD,Schmidt A, Gebhard M, Habermann J, Bruch HP, Czymek R *Vergleich perivaskulärer Ablationen mittels Elektrochemischer Lyse (ECL) und Radiofrequenzablation (RFA) unter simuliertem Pringle-Manöver am Schweinelebermodell,* 191. Tagung der Vereinigung nordwestdeutscher Chirurgen

Sannwaldt BD, Schmidt A, Löffler S, Gebhard M, Bruch HP, Czymek R *Ex-vivo Vergleich der Elektrochemischen Lyse und der Radiofrequenzablation in Abhängigkeit von der Organperfusion* Uni im Dialog, 4. Doktorandentag Universität Lübeck

Originalarbeiten:

ausstehend

Auszeichnungen:

Posterpreis 191. Tagung der Vereinigung nordwestdeutscher Chirurgen in Kiel, 07.06. 2013