

Aus der Klinik für Strahlenheilkunde  
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin  
Berlin

DISSERTATION

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

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité  
Universitätsmedizin Berlin

von  
Anja Grabig  
aus Forst/ Lausitz

Gutachter:

1. Priv.-Doz. Dr. C. Stroszczyński

2. Prof. Dr. med. A. Dignaß

3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Düx

Datum der Promotion: 20.06.2006

## **Zusammenfassung**

Das Pankreaskarzinom hat bei steigender Inzidenz eine äußerst schlechte Prognose und ist häufig bei Diagnosestellung nicht mehr kurativ operabel. Die laserinduzierte Thermotherapie (LITT) gewann in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung als ein minimal invasives Verfahren zur perkutanen Ablation von parenchymatösen Tumoren. Dabei ist die Magnetresonanztomographie (MRT) eine Methode, mit der eine präzise Prozesskontrolle der Thermoablation und eine suffiziente Erfolgskontrolle zur Verfügung stehen.

Ziel der vorliegenden Studie war es, im Tierexperiment die Anwendung der LITT zur Ablation von Pankreasgewebe am Schwein zu erproben, sowie die Möglichkeiten der MRT als Online-Monitoringverfahren mit Hilfe einer histopathologischen Korrelation zu untersuchen. Dazu wurde an 15 Läuferschweinen das Pankreas einer perkutanen laserinduzierten Thermotherapie mit einer Leistung von 5, 10 und 20 Watt sowie zwei mal 5 Watt in Multiapplikatortechnik unter MRT Prozesskontrolle unterzogen. Anschließend wurde das Pankreasgewebe histologisch aufgearbeitet und die magnetresonanztomographisch detektierten Läsionen histopathologisch korreliert.

Das Auftreten einer schwerwiegenden Komplikation wie einer generalisierten Pankreatitis, Peritonitis oder Blutung wurde nicht beobachtet. Die durchgeführten Korrelationsanalysen zeigen eine hohe Übereinstimmung zwischen magnetresonanztomographisch dokumentiertem Thermoeffekt und histopathologisch verifizierter thermisch induzierter Nekrose. Interessanterweise wurden bei Anwendung von zwei Lasern niedriger Leistung in Multiapplikatortechnik, im Vergleich zur Anwendung von einem Laser mit höherer Leistung, größere Nekrosen induziert.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die LITT ein geeignetes und sicheres minimalinvasives Verfahren zur Ablation von Pankreasparenchym unter MRT-Monitoring ist. Weiterführende Untersuchungen zur Durchführbarkeit und Ermittlung der Genauigkeit der MRT als Monitoringverfahren sind erforderlich.

### **Schlagwörter:**

Magnetresonanztomographie, laserinduzierte Thermotherapie, Thermoablation, Pankreaskarzinom

## **Abstract**

Pancreatic carcinoma has an increasing incidence and a poor prognosis. Frequently at diagnosis pancreatic tumors are surgically unresectable. Laser-induced thermotherapy has become an area of considerable interest during the past few years as a minimally invasive method for percutaneous ablation of parenchymatous tumors. With magnetic resonance imaging (MRI) an accurate process control of thermocoagulation and a sufficient control of performance are possible.

Control of carcinoma growth of is still a problem. Therefore the aim of this study was to investigate the application of laser induced thermotherapy for ablation of pancreas in a porcine model and the possibility of MRI as an online-monitoring with histopathologic correlation. Laser applicators with energy of 5, 10, 20 and two lasers of 5 watt were placed in the pancreas of 15 female pigs. After sacrifice a pathological examination was performed and histological lesions were correlated with magnetic resonance detected lesions.

No serious adverse event like generalized pancreatitis, peritonitis or bleeding was observed. Correlation analysis showed a high correspondence between magnetic resonance documented thermoeffects and histopathologic verified lesions. Thermally induced lesions were best visualised on contrast-enhanced T1-weighted images. Interestingly application of two lasers with each 5 watt, greater lesions were generated than on application of one laser with higher energy. Over a period of 7 days increasing inhomogeneity and contraction of lesions were observed.

Our results show that laser-induced thermotherapy of pancreatic tissue was feasible in this porcine model, and online monitoring was practicable. Further studies are necessary to increase the accuracy of online MR imaging of thermal effects.

### **Keywords:**

Magnetic resonance imaging, laser-induced thermotherapy, LITT, thermoablation, pancreatic carcinoma

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<hr/>		
1.1	Derzeitiger Wissensstand	1
1.1.1	Das Pankreaskarzinom	1
1.1.2	Diagnosemöglichkeiten	4
1.1.3	Therapiemöglichkeiten	9
1.2	Prinzip der laserinduzierten Thermotherapie	11
1.3	Herleitung der Aufgabenstellung	16
1.4	Detaillierte Fragestellung	19
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODIK</b>	<b>20</b>
<hr/>		
2.1	Versuchstiere	20
2.2	Versuchsgruppen	21
2.3	Lasersystem und Applikatorset	22
2.4	Punktionstechnik unter CT-Kontrolle	24
2.5	Laserinduzierte Thermotherapie unter MRT-Kontrolle	26
2.6	Magnetresonanztomographie unmittelbar nach Thermotherapie und im Follow-up	27
2.7	Tötung der Tiere und Entnahme des Pankreas	28
2.8	Histologische Aufarbeitung	29
2.8.1	Herstellung der Gewebeblöcke	30
2.8.2	Herstellung der histologischen Schnittpräparate	31
2.9	Auswertekriterien	32

2.9.1	Auswertung der magnetresonanztomographischen Bilder	32
2.9.2	Beurteilung der makroskopischen Gewebeproben	32
2.9.3	Auswertung der histologischen Schnittpräparate	33
2.9.4	Grundlagen zur statistischen Analyse	33
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>34</b>
<hr/>		
3.1	Allgemein	34
3.2	Magnetresonanztomographische Ergebnisse	34
3.2.1	Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der Gruppe 1 (5F-Applikator, 5 Watt)	35
3.2.2	Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der Gruppe 2 (9F-Applikator, 10 Watt)	36
3.2.3	Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der Gruppe 3 (9F-Applikator, 20 Watt)	37
3.2.4	Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der Gruppe 4 (zwei 5F-Applikatoren, je 5 Watt)	38
3.2.5	Magnetresonanztomographische Intensität der Läsion unmittelbar nach LITT	39
3.2.6	Magnetresonanztomographische Intensität der Läsionen 7 Tage nach LITT	42
3.3	Makroskopische Ergebnisse	43
3.3.1	Allgemein	44
3.3.2	Makroskopische Ergebnisse im zeitlichen Verlauf	48
3.4	Mikroskopische Ergebnisse der histologisch aufgearbeiteten Präparate	50
3.4.1	Allgemein	50
3.4.2	Mikroskopische Ergebnisse in der 1. Gruppe (5F-Applikator, 5 Watt)	50
3.4.3	Mikroskopische Ergebnisse in der 2. Gruppe (9F-Applikator, 10 Watt)	52
3.4.4	Mikroskopische Ergebnisse in der 3. Gruppe (9F-Applikator, 20 Watt)	53

3.4.5	Mikroskopische Ergebnisse in der 4. Gruppe (zwei 5F-Applikatoren, je 5 Watt)	55
3.4.6	Mikroskopische Ergebnisse im zeitlichen Verlauf	56
3.4.7	Beurteilung des Ductus pancreaticus	59
3.4.8	Beurteilung weiterer Gewebestrukturen	61
3.5	Vergleichsbetrachtungen	62
3.5.1	Lineare Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der magnetresonanztomographischen und histopathologischen Nekrosegröße in den Gruppen 1 bis 3	62
3.5.2	Weiterführende Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in der MRT in den Gruppen 1 bis 3	64
3.5.3	Weiterführende Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in den histopathologischen Präparaten in den Gruppen 1 bis 3	66
3.5.4	Vergleichsanalyse zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in der MRT und Histopathologie in den Gruppen 1 bis 4	68
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>71</b>
<hr/>		
4.1	Aktuelle Situation	71
4.2	Die laserinduzierte Thermotheapie – eine Alternative	72
4.3	Die Magnetresonanztomographie zur Prozessbeobachtung	75
4.4	Zielsetzung	78
4.5	Besprechung der vorliegenden Ergebnisse	79
4.5.1	Durchführbarkeit	79
4.5.2	Die Magnetresonanztomographie als Monitoringverfahren	82
4.5.3	Ergebnisse in der pathologischen Untersuchung	86
4.5.4	Ergebnisse im zeitlichen Verlauf	87
4.5.5	Korrelation der magnetresonanztomographischen Ergebnisse und der histopathologischen Ergebnisse	88

4.6 Perspektiven für die Zukunft	89
4.7 Schlussfolgerung	92
<b>5 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>93</b>
<hr/>	
<b>6 LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>97</b>
<hr/>	
<b>DANKSAGUNG</b>	<b>105</b>
<hr/>	
<b>LEBENS LAUF</b>	<b>106</b>
<hr/>	
<b>EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG</b>	<b>107</b>
<hr/>	



# **1 Einleitung**

## **1.1 Derzeitiger Wissensstand**

### **1.1.1 Das Pankreaskarzinom**

Das Pankreaskarzinom ist eines der bösartigsten Tumorvarianten unter den bekannten Karzinomen. Es ist mit einer steigenden Inzidenz von 10 Fällen pro 100000 Einwohner pro Jahr die vierthäufigste Ursache der krebsbedingten Todesfälle in Mitteleuropa und macht somit 5 - 10% aller Krebstodesfälle aus. Das Pankreaskarzinom ist das fünfhäufigste Karzinom beim Mann und das sechsthäufigste Malignom der Frau. Das Besondere dieser Karzinomart ist, dass bei circa 85% der betroffenen Patienten das Karzinom zum Diagnosezeitpunkt bereits nicht mehr kurativ operabel ist, obwohl das Karzinom selbst auf den Bereich des Pankreas begrenzt ist. Bei Diagnosestellung beträgt die mittlere Überlebensrate 8 - 12 Monate. Die 5-Jahres-Überlebensrate dieses aggressiven gastrointestinalen Tumors liegt nur bei 5 - 25% [1, 2].

Ursache dafür ist, dass die Symptome der Krankheit erst im fortgeschrittenen Stadium und dann noch unspezifisch auftreten und somit die Diagnosemöglichkeiten stark einschränken. Die Spätsymptome können diffuse Oberbauchbeschwerden, Appetitlosigkeit, Völlegefühl, Gewichtsverlust, Übelkeit und Erbrechen sein. In diesem Stadium hat der Tumor bereits die Organgrenzen überschritten. In mehr als 70% der Fälle entspricht das einer Tumorgröße von nur 20 mm. Deutliche diagnostische Hinweise auf eine Pankreasinsuffizienz wie Diabetes mellitus und /oder Steatorrhoe treten nur bei wenigen Patienten auf. Liegt der Tumor in unmittelbarer Nähe zum intrapankreatischen Ductus choledochus oder ist bereits größer als 1,5 – 2 cm, komprimiert er häufig die Gallengänge und kann so einen Ikterus auslösen und erkennbar werden.

Auch die Labordiagnostik im Rahmen einer Früherkennung ist bei Patienten mit Pankreaskarzinom wenig spezifisch. Ursache dafür ist, dass aufgrund der langen Aufrechterhaltung der Funktionsfähigkeit des Organs bei mehr als 70% der Patienten Änderungen der laboranalytischen Blutparameter nicht feststellbar sind.  $\alpha$ -Amylase und Lipaseaktivitäten sind meist nur gering erhöht. Normale Werte schließen umgekehrt ein Pankreaskarzinom keineswegs aus. Tumormarker wie das karzinoembryonale Antigen (CEA), das onkofetale Antigen oder CA 19-9 haben wegen fehlender Spezifität für die Erstdiagnostik keine klinische Bedeutung. Die Sensitivität für das Vorliegen von CA 19-9 bei Pankreaskarzinomen wird in der Literatur mit 79% und für CEA mit 39,4%

angegeben. Die Höhe der Tumormarker korreliert nicht mit der Größe des Tumors oder der Anwesenheit von Fernmetastasen. Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass diese beiden Tumormarker auch bei Patienten mit chronischer Pankreatitis und Ikterus erhöht sein können und so eine Differentialdiagnose zwischen benignen und malignen Entitäten nicht getroffen werden kann [2].

Die Ursache des Pankreaskarzinoms ist immer noch unklar. Umfangreiche epidemiologische Studien haben keine eindeutigen Risikofaktoren erbracht. Lediglich Nikotinabusus, fettreiche Ernährung und Diabetes mellitus scheinen prädisponierend zu sein. Familiäre Häufungen von Pankreaskarzinomen kommen selten vor. Bei der hereditären Pankreatitis ist die Häufigkeit eines Pankreaskarzinoms um 15 - 20% erhöht. Ob auch bei sonstigen chronischen Pankreatitiden das Risiko für ein Pankreaskarzinom erhöht ist, wird zurzeit noch kontrovers diskutiert [3]. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass sich Pankreaskarzinome durch Nitrosaminverbindungen und Nitrite induzieren lassen. Molekularpathologisch scheint vornehmlich in den duktalem Stammzellen des exokrinen Pankreas eine mutationsbedingte Aktivierung des ras-Onkogens und eine Inaktivierung der Suppressorgene p53, p16<sup>1</sup> und DPC4<sup>12</sup> vorzuliegen. Diese Besonderheit könnte in der Zukunft die diagnostische Sicherheit nach zytologischer Materialgewinnung erhöhen.

Makroskopisch sind diese weißlich Tumoren von derber Konsistenz und weisen sowohl im Primärtumor als auch in den Metastasen neben zentralen Nekrosen auch perifokale Bindegewebsneubildungen auf. Des Weiteren sind die Tumorränder unscharf begrenzt. Die Gangabschnitte distal des Tumors sind durch die Obstruktion stark ausgeweitet, es setzt eine Azinusdegeneration und Fibrosierung des distal gelegenen Gewebes ein.

Das maligne duktalem Pankreaskarzinom, welches vom Gängepithel ausgeht, ist mit 90 - 95% der häufigste aller Pankreastumoren. Neben dieser Karzinomart gibt es noch seltenere maligne und benigne Tumore, die in Tabelle 1 aufgeführt sind.

Tab. 1: Klassifikation der Tumoren des Pankreas

Benigne		
Seröses Zystadenom		~ 1%
Muzinöses Zystadenom		~ 1%
IPMT		~ 1%
Maligne		
<b>Duktales Adenokarzinom</b>		<b>90%</b>
Muzinöses Zystadenokarzinom		1 - 2%
IPMT		~ 1%
Azinuszell-Karzinom		< 1%
Solid- papilläres Karzinom		< 1%

IPMT: intraduktaler papillärer muzinöser Tumor

Histologisch weisen die duktales Adenokarzinome des Pankreas verschiedene Differenzierungsgrade auf. [4]. 70% der Tumoren befinden sich im Pankreaskopf, 20% im Korpus- und 10% im Schwanzbereich. Ca. 10% der Tumore betreffen das gesamte Pankreas [5]. Die Karzinome der Bauchspeicheldrüse führen aufgrund ihrer komplexen lymphatischen Vaskularisierung und des Fehlens einer Kapsel frühzeitig zur Infiltration des peripankreatischen Gewebes, vor allem der Adventitia der großen Gefäße, wie der V. mesenterica superior und der Pfortader sowie der Nerven und Lymphgefäße.

Insbesondere wegen ihrer sehr frühen Metastasierung, die in keinem Zusammenhang zu der Größe des Tumors steht, ist ihre Prognose ausgesprochen schlecht. Zum Operationszeitpunkt bestehen bei 50% der Tumore bereits Lymphknotenmetastasen, die wie viele Studien gezeigt haben, die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten deutlich verringern [1, 6]. Die ersten Fernmetastasen lassen sich zu 66% in der Leber finden, zu ca. 20% in Lymphknoten und erst später in der Lunge [5]. Auch nach radikaler operativer Sanierung des Primärtumors wird das Überleben der Patienten durch das gehäufte Vorkommen eines lokalen Tumorrezidivs, Lymphknoten- und Lebermetastasen sowie durch das Entstehen einer Peritonealkarzinose gemindert. Gelegentlich werden Pankreaskarzinome als Teil eines paraneoplastischen Syndroms von Venenthrombosen der unteren Körperhälfte begleitet. Dabei kann eine Thrombophlebitis migrans der klinischen Karzinommanifestation vorausgehen [4].

### 1.1.2 Diagnosemöglichkeiten

Die derzeitig praktizierten Diagnosemöglichkeiten sind wenig effektiv. So fehlt eine nichtinvasive Screeningmethode mit hinreichender Genauigkeit für nichtsymptomatische Patienten. Die wichtigsten Fragen, die an die bildgebende Diagnostik bezüglich der Resektabilität gestellt werden, sind die lokale Tumorausbreitung, die Infiltration von benachbarten Gefäßen sowie der Nachweis von Lymphknoten- und Fernmetastasen.

Meist ist die perkutane Sonographie die erste diagnostische Maßnahme. Ab einer Größe von 1,5 cm, bei adipösen Patienten sogar erst ab 2 cm Größe, kann ein Pankreaskarzinom erkannt werden. Die Sensitivität (88%) und Spezifität sind stark von den Fähigkeiten des Untersuchers und von der Größe des Tumors abhängig und somit nicht zur Ausschlussdiagnostik eines Pankreaskarzinoms geeignet. Die Tumorerinfiltration der Portalvene lässt sich durch die Sonographie mit einer Sensitivität von 33% und einer Spezifität von 94% darstellen. Lebermetastasen und Peritonealkarzinose werden mit einer Sensitivität von 36% und einer Spezifität von 91% erkannt. Die Resektabilität kann mittels Sonographie mit einer Sensitivität von 94% angegeben werden, jedoch kann man Aussagen zur fehlenden Resektabilität nur mit einer Spezifität von 54% treffen [2].

Die endoskopische retrograde Cholangiopankreatographie (ERCP) ist eine der sensitivsten Methoden zum Nachweis von duktalem Karzinomen. Mit Hilfe von Kontrastmittel, welches retrograd im Rahmen einer Duodenoskopie in das Gangsystem des Pankreas eingebracht wird, wird das Pankreasgangsystem unter Röntgenkontrolle dargestellt. Typische Zeichen eines Pankreaskarzinoms bei diesem Verfahren sind Stenosen oder Gangabbrüche. Angesichts der hohen Sensitivität und Spezifität zur Diagnostik des Pankreaskarzinoms in der Computertomographie sollte die ERCP nur bei weiterhin unklaren Befunden angewandt werden, da sie eine invasive Methode mit möglichen Komplikationen darstellt. Leider ist eine Abgrenzung eines Pankreaskarzinoms zur chronischen Pankreatitis nicht immer möglich, da das Muster der Kontrastmittelanreicherung bei der chronischen Pankreatitis und bei malignen Tumoren sehr ähnlich ist. Besonders schwierig ist die Diagnose eines Karzinoms auf dem Boden einer chronischen Pankreatitis. Um in diesem Fall eine chronische

Pankreatitis von einem Pankreaskarzinom differenzieren zu können, kann eine Endosonographie durchgeführt werden. Sie erkennt intrapankreatische, kleine Tumoren mit einer Sensitivität von 94 - 98% [2, 7]. Mit der Endosonographie lässt sich zwar präzise eine Infiltration des portalvenösen Systems beurteilen, doch erlaubt sie arteriell nur eine Beurteilung des Truncus coeliacus und kann damit eine Gefäßinfiltration nicht komplett ausschließen. Aussagen über die Resektabilität des Tumors können mit der Endosonographie mit einer Genauigkeit von 77 – 92% angegeben werden, obwohl es durch die peritumoröse Entzündung häufig zu falsch positiven Ergebnissen kommt.

Gegenwärtig geht der Trend weg von den invasiven Methoden hin zu Schnittbildverfahren, die in der Lage sind, in einem Untersuchungsgang Aussagen über die Parenchymbeschaffenheit, Gangstrukturen und benachbarte Gefäßen zu treffen. Die Goldstandardmethode zum Nachweis und auch zum Staging des Pankreaskarzinoms ist derzeit die intravenös und oral kontrastmittelverstärkte Spiral-Computertomographie (CT), die ein nahtloses Erfassen topographischer Zusammenhänge erlaubt. Durch die Spiral-CT ist es möglich nahezu lückenlose volumetrische Blöcke zu gewinnen und auch die angiographieähnliche Rekonstruktion von arteriellen und venösen Gefäßen ist möglich. Aber auch hier ist die erreichbare Sensitivität und Spezifität von der Größe des Tumors abhängig. Bei Tumoren unter 2 cm beträgt die Sensitivität der Spiral-CT ebenso wie bei der Magnetresonanztomographie (MRT) zwischen 88% und 95% und ist so der Sonographie überlegen, die bei einer Tumorgröße von 1 cm nur mit einer Sensitivität von 50% arbeitet [2, 7, 8, 14]. Mit dieser Methode wird ein positiver Vorhersagewert von mehr als 90% erzielt. Im Unterschied zur Sonographie ist die CT bei adipösen Patienten treffsicherer. Adenokarzinome des Pankreas zeigen dabei sowohl in der parenchymatösen als auch in der portalvenösen Phase eine verminderte Kontrastierung und heben sich so vom umliegenden Parenchym ab. Da die meisten Pankreaskarzinome im Kopfbereich wachsen und duktales Ursprungs sind, wird in der Regel eine Erweiterung des Pankreasganges und häufig auch des Gallenganges, das so genannte double duct sign gesehen. Problematisch ist bei der Computertomographie, dass sie in ca. 10 - 15% zu falsch positiven Ergebnissen führt. Die entscheidende Frage nach der Resektabilität kann mit der CT mit einer Sensitivität von 96% beantwortet werden, die Nichtresektabilität hingegen nur mit einer Spezifität von 51% [2, 9, 10].

Die MRT gewinnt durch den schnellen technischen Fortschritt zunehmend an Bedeutung. Durch ihre extrem hohe Weichteilauflösung kann sie peripankreatische Veränderungen und Vaskularisierungsunterschiede zum normalen Pankreasgewebe am besten nachweisen. Mit diesem Schnittbildverfahren ist eine dreidimensionale Darstellung und somit eine topographische Zuordnung der Strukturen möglich. Die unterschiedlichen Dichteigenschaften der Gewebe erlauben eine genaue Differenzierung der Organe, Nerven, Gefäße und pathologischer Veränderungen, welche im Bereich des Pankreas besondere Bedeutung erlangt haben. Außerdem können durch den Einsatz von Kontrastmitteln Gefäße und deren Perfusion mit hoher Präzision dargestellt werden. Große randomisierte Studien zum Vergleich von Computertomographie und Magnetresonanztomographie fehlen noch, jedoch gibt es erste kleine Vergleichsstudien, die eine Überlegenheit der MRT mit einer Sensitivität von 88% gegenüber der CT mit 63% betonen [5, 11, 12, 13].

Mit der Einführung schneller Sequenzen hat sich die Qualität durch Verringerung von Atem- und Pulsationsartefakten deutlich verbessert. Mit der MRT können Malignome des Pankreas mit einer Sensitivität von 95% erkannt werden [14, 15]. Hierbei stellen sich die Malignome in den T2-gewichteten Sequenzen wenig hyperintens, einige von ihnen auch isointens oder hypointens dar. In den T1-gewichteten Sequenzen stellen sich die Karzinome zumeist hypointens dar. Für die MRT werden Sensitivitäten bzw. Spezifitäten für das Erkennen von Gefäßinfiltrationen durch das Pankreaskarzinom zwischen 89% und 96% angegeben, die durch den Einsatz von speziellen Sequenzen und die MR-Angiographie sogar auf bis zu 100% steigen [14, 16, 17]. Für die Entscheidung der Resektabilität werden positive und negative prädiktive Werte von 90% bzw. 83%, für die Nichtresektabilität wird eine Sensitivität von 69% angegeben. Auch bei den Schnittbildverfahren besteht die Schwierigkeit der Differenzierung zwischen chronisch entzündlichen Umbauvorgängen und malignen Veränderungen. Für die Differenzierung von benignen Pankreaserkrankungen werden Sensitivitäten zwischen 82 - 95% und ein positiver Vorhersagewert von 91% sowie ein negativer Vorhersagewert von 90% angegeben.

In letzter Zeit hat sich zunehmend die Verwendung eisenhaltiger Kontrastmittel bzw. eine Kombination eisenhaltiger Kontrastmittel mit üblichen Gadoliniumverbindungen bei magnetresonanztomographischen Untersuchungen durchgesetzt, da sie die diagnostische Genauigkeit erhöhen.

Mit der konventionellen Angiographie allein ist eine Aussage zur Resektabilität mit einer Sensitivität von 77% und einer Spezifität von 90% möglich. Diese Methode lässt es zu, die Infiltration der Portalvene mit einer Sensitivität von 76% und einer Spezifität von 65% zu bestimmen und ist damit von den oben vorgestellten Methoden zu dieser Fragestellung die sicherste Vorgehensweise.

Durch die Kombination von MRT, MRCP (Magnetresonanzcholangio-pancreaticographie) und MR-Angiographie als all-in-one-Untersuchung ist die Diagnose oder ein Staging von Pankreastumoren exzellent möglich ohne den Patienten wie bei der ERCP durch das invasive Verfahren möglichen Komplikationen auszusetzen. Da durch die Kombination dieser drei Untersuchungsverfahren eine mindestens ebenso präzise Aussage zur Identifikation, Ausdehnung, Gefäßinvasion und Resektabilität des Tumors sowie zur extra- und intrahepatische Gangdilatation getroffen werden kann, sollte die ERCP nur noch in den Fällen durchgeführt werden, bei denen die Implantation einer biliären Drainage erforderlich ist [14, 15].

Führt eine dieser Methoden zum Verdacht eines Pankreaskarzinoms, der sich aber allein durch die Bildgebung nicht erhärten lässt, so kann man mittels der Feinnadelpunktion unter CT-Kontrolle und anschließender zytologischer Aufarbeitung des suspekten Gewebes die Diagnose mit einer Sensitivität von 71% sichern [2]. Dies birgt allerdings die Gefahr der Tumorzellverschleppung entlang des Punktionskanals und der peritonealen Aussaat von Tumorzellen [5].

Als jüngste Methode zur Diagnostik von Pankreastumoren gewinnt die Positronenemissionstomographie zunehmend an Bedeutung. Bei dieser Methode wird radioaktiv markierter Traubenzucker  $^{18}\text{F}$ -Fluor-Desoxyglukose (FDG) intravenös injiziert und reichert sich bei erhöhter Aktivität des Gewebes an. Mit einem ringförmigen Detektor, dem so genannten PET-Scanner werden dann Schnittbilder des Körpers angefertigt. Dabei können Tumoren bis unter 1 cm Durchmesser erkannt werden [18, 84, 85].

Häufig werden zur Diagnostik von Pankreastumoren zwei oder mehrere Verfahren gleichzeitig angewandt und die Ergebnisse der einzelnen Verfahren miteinander in Kontext gebracht. So ist es möglich, die Vorteile der einzelnen Verfahren optimal zu

nutzen und die Sicherheit in der Diagnosefindung, Ausdehnung und der weiteren Therapieentscheidung zu erhöhen. Durch Kombination von Sonographie und Computertomographie kann die Sensitivität der Diagnostik von Pankreastumoren auf 94% gesteigert werden. Insgesamt sollte man, auch aus ökonomischer Sicht, nur die Verfahren anwenden, die zur Sicherung der Diagnose führen, ohne ein erhöhtes Risiko für den Patienten darzustellen [2].

Tab. 2: Diagnosemöglichkeiten für das Pankreaskarzinom

Verfahren	Sensitivität	Spezifität
Abdomensonographie	69 - 88% bei Tumoren < 3 cm 40%	40%
Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatiko- graphie	91 - 96%	72%
Endosonographie	94 - 98%	100%
Computertomographie	88 - 94%	53%
(Lebermetastasen, Peritonealkarzinose)	36 - 42%	91%
Gefäßinvasion	84 - 100%	84-100%
Magnetresonanztomographie	85 - 95%	82%
(Lymphknotenmetastasen)	63%	93%
(Lebermetastasen)	82%	100%
(Gefäßinfiltration)	83%	96%
Positronenemissions- tomographie	94%	66%



### 1.1.3 Therapiemöglichkeiten

Die bisher einzige kurative Therapie ist die chirurgische Intervention. Die Ausdehnung des Tumors in den Magen, das Duodenum und das Mesokolon stellen keine Kontraindikation für eine Operation dar, da hier eine Resektion en bloc möglich ist. Letztlich wird die lokale Operabilität intraoperativ bestimmt, denn erst dann kann die Mobilisierbarkeit des Primärtumors bzw. die Beziehung des Tumors zu den Gefäßen geklärt werden. Dabei wird bei einem Drittel der Tumoren, die präoperativ resektabel erscheinen, intraoperativ eine peritoneale Aussaat gefunden [19]. Klassische Kontraindikationen für eine Resektion stellt die Invasion in große Gefäße dar, aber hier gibt es in der jüngsten Zeit auch die Möglichkeit der Gefäßrekonstruktion.

Vor einer radikalen chirurgischen Therapie muss erst die allgemeine Belastbarkeit des Patienten geklärt werden. Dazu gehören die kardiale, pulmonale, renale und hepatische Funktionsprüfung. Deutliche Einschränkungen dieser Organsysteme stellen eine Kontraindikation für die Operation dar. Das klassische und standardmäßige Resektionsverfahren für das Pankreaskopf- bzw. Papillenkarzinoms ist die partielle Duodenopankreatektomie (Whipple-Operation). Bei dieser Operation werden der Pankreaskopf, das Duodenum, der distale Ductus choledochus, die Gallenblase, der distale Magen sowie die Lymphknoten systematisch reseziert. Dieses Verfahren ist eine der größten Bauchoperationen und für den Patienten sehr belastend. Auch wenn dieser chirurgische Eingriff kurativ verläuft, liegt die 5-Jahresüberlebensrate nur bei 10 - 30% [5, 20]. Beim Pankreaskorpus- und -schwanzkarzinom wird eine Pankreaslinksresektion mit Splenektomie durchgeführt. Bei 90% der Pankreaskorpus- und -schwanzkarzinome sowie bei Auftreten von Fernmetastasen sind bisher nur Palliativeingriffe möglich. Die perioperative Letalität bei der Whipple-Operation liegt auch in erfahrenen Zentren bei ca. 5% [5].

Weitere Therapiemethoden sind die Radio- und die Chemotherapie, die sowohl prä-, intra- und postoperativ als auch kombiniert angewandt werden. Präoperativ sollen sie vor allem die Resektabilität verbessern, indem sie die Oxygenierung des Tumors reduzieren und die Tumormassen verkleinern. So konnte die Resektabilität und die 5-Jahresüberlebensrate verbessert werden. Durch die intraoperative Bestrahlung wurde die Häufigkeit lokaler Rezidive gesenkt. Die Langzeitprognose konnte allerdings nicht

signifikant gebessert werden. Studien zur postoperativen Radiochemotherapie zeigen zwar einen günstigen Einfluss auf die lokale Tumorkontrolle, doch konnte keine signifikante Verbesserung für das Überleben erzielt werden. In 80% der Fälle kam es schon wenige Monate nach Therapieabschluss zu einer Lebermetastasierung [5].

Derzeit gibt es verschiedene palliative Therapiemethoden, die vor allem der Wiederherstellung des Gallenabflusses bei Ikterus und der Schmerzreduktion dienen. Zu ihnen zählen die chirurgische Therapie, die endoskopische Therapie mit Einlage eines Plastikstents und die perkutan transhepatische Cholangiographie bei fehlendem endoskopischem Zugang. Durch die regionale Chemotherapie beim inoperablen Pankreaskarzinom und Tumorrezidiven konnte die Schmerzpalliation und die Überlebenszeit gegenüber der systemischen Chemotherapie verbessert werden. Die systemische Chemotherapie zeigt nur eine eingeschränkte Effektivität, besonders was das Überleben anbelangt. Somit besteht derzeit keine regelhafte Indikation für die systemische Chemotherapie. Die Hormontherapie hat zurzeit keinen etablierten Stellenwert in der Behandlung des Pankreaskarzinoms. In mehreren Studien konnte für die palliative Radiochemotherapie nachgewiesen werden, dass sie zu einer geringen Verbesserung des Überlebens führt und dass in einigen Fällen eine langandauernde Remission erreicht werden konnte. Ebenso ist sie sehr effektiv bei der Schmerzlinderung. Eine kurative Therapie zur Behandlung eines Rezidivs gibt es bislang nicht [5].

Tab. 3: Therapieverfahren für das Pankreaskarzinom mit wichtigen Merkmalen

Verfahren	Bewertung/Anwendung
Operation	selten kurativ, eingeschränkte Anwendbarkeit bei organischen Vorerkrankungen, Op-Letalität 5% 5-Jahresüberlebensrate 10 - 30% bei hoher Rezidivhäufigkeit
Radiotherapie	prä-, intra- und postoperativ anwendbar Verbesserung der 5-Jahresüberlebensrate
Chemotherapie	gering bessere Überlebensraten in einigen Fällen langdauernde Remission erreicht zur Schmerzlinderung sehr effektiv
Stentimplantation	keine Beeinflussung der Grundkrankheit Verbesserung des Sekretabflusses

Zusammenfassend ist festzustellen, dass trotz aller Weiterentwicklungen die bisherigen Therapien für inoperable Pankreastumoren und Rezidive die Prognose für betroffene Patienten nicht entscheidend verbessern konnten. Somit ist eine neue Therapiemethode dringend geboten. Die nachfolgend vorgestellte laserinduzierte Thermotherapie könnte deshalb für diese Patienten eine attraktive Behandlungsalternative sein.

## 1.2 Prinzip der laserinduzierten Thermotherapie

Nachdem 1960 der erste funktionstüchtige Laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) von Maiman [21] erbaut worden war, fand diese Technik auch in der Medizin bald vielfältigen Einsatz. Vor allem in der Chirurgie wurden Laser immer häufiger eingesetzt. Zunächst wurden hauptsächlich Kohlendioxid, Rubin- und Argon-Laser verwendet, bis dann in den 70er Jahren zunehmend der Neodymium-Yttrium-Aluminium-Granat-Laser (Nd:YAG-Laser) Verbreitung fand, der vor allem zur Gewebekoagulation eingesetzt wird. Nachdem Bown 1983 erstmals die laserinduzierte interstitielle Thermotherapie (LITT) als neue Behandlung von benignen und malignen Tumoren als Alternative zur chirurgischen Intervention vorstellte, hat sie gerade wegen ihrer geringen Invasivität und patientenschonenden Art in vielen Bereichen Einzug gehalten [22]. Vor allem für Patienten mit kardialen, pulmonalen, hepatischen oder renalen Begleiterkrankungen, für die nur eingeschränkte Behandlungsalternativen

existieren, ist die LITT eine interessante Erweiterung der Behandlungsmöglichkeiten. Besonders hat sich der Einsatz des Nd:YAG-Laser bei der Exstirpation von stark vaskularisierten Tumoren und Metastasen bewährt. Auch bei angio-venösen Fehlbildungen, die oftmals Ursache spontaner intrazerebraler Blutungen sind, erwies sich der Nd:YAG-Laser durch bevorzugte Kopplung des Laserlichts an Hämoglobin mit lokaler Koagulation der Gefäße als sehr vorteilhaft [23, 24].

Als laserinduzierte interstitielle Thermotherapie bezeichnet man ein Verfahren, bei dem Laserstrahlung mit Hilfe eines Lichtwellenleiters direkt in das zu therapierende Gewebavolumen eingebracht wird. Unter dem Begriff „Laser“ versteht man ein Lichtverstärkersystem mit interner Rückkopplung. Einem bestimmten Lasermedium (Verstärker) wird Energie zugeführt und diese dann durch eine spezielle Anordnung von Spiegeln um das Medium (Resonatorconfiguration) wiederholt rückgekoppelt, bis eine spontane Emission von Licht auftritt. Die Strahlung muss dabei drei wichtige Merkmale aufweisen. Sie muss:

- I. kohärent sein, d.h. die Wellenzüge stehen in zeitlich und räumlich exakter Phase zueinander,
- II. kollimiert sein, d.h. die Strahlenbündel sind parallel zueinander und
- III. monochromatisch sein, d.h. die Wellenzüge sind identisch in Wellenlänge, Frequenz und Energie.

Grundlage des Laserlichts ist die induzierte Emission. Dabei werden Elektronen im Lasermedium kurzfristig auf höhere Energieebenen angehoben. Diese angeregten Elektronen kehren in das ursprünglich niedrigere Energieniveau zurück und emittieren dabei Licht.

Es werden Laser des nahen Infrarotbereiches verwendet, da durch Lichtleiter eine hohe Eindringtiefe der Photonen und eine problemlose Strahlungsübertragung möglich ist. Grundlage der LITT ist die klassische Hyperthermie, die durch den koagulativen Effekt ergänzt wird, der zur irreversiblen Schädigung des Gewebes führt [25, 26, 27]. Wie van Beuningen [28] in seinen Studien zeigte, ist die Hyperthermie in der Lage, Zellen abzutöten. Dazu sind Temperaturen von mindestens 42°C nötig um eine Wachstumsverzögerung der Zellen zu erreichen und damit einen zytotoxischen Effekt auszulösen. Der koagulative Effekt ist eine Eiweißdenaturierung infolge der Hitzeeinwirkung, die durch die Gewebeübersäuerung im Nekrosegebiet in Gang

gebracht wird. Durch das Aufbrechen von Disulfidbrücken kommt es zu irreversiblen chemischen Veränderungen der räumlichen Molekülketten. Der Verlust von energiereichen Phosphaten hat zur Folge, dass intra- und transzelluläre Transportprozesse erlöschen, so dass große Mengen ionisierten Calciums in die Zelle einströmen und eine Zellmembranschädigung hervorrufen. Daraufhin kommt es zur Auflösung der Zellkontakte (Nexus) im Nekrosegebiet. Das Auslaufen intrazellulärer Enzyme zusammen mit der Zerstörung des Zytoskeletts führen zum Verlust der Bewegungsabläufe im Bereich der Zellmembran und im Zytoplasma. Die Zellen kugeln sich ab, fallen in eine Totenstarre und bilden so eine Nekrose.

Ziel der LITT ist es, durch homogene Zufuhr von thermischer Energie (temporärer Hyperthermie) eine letale Zellschädigung in einem bestimmten Gewebesvolumen durch Induktion uniformer, reproduzierbarer Koagulationsnekrosen zu erreichen [22]. Mittels eines speziellen Laserapplikators wird das Laserlicht im Gewebe verteilt und dort durch Absorption in Wärme umgewandelt, welche die Verödung von malignen Gewebereichen bewirkt. Neben der Absorption ist die Verteilung des Laserlichtes im Gewebe abhängig von den optischen Eigenschaften des Gewebes wie Reflexion und Streuung und von den physikalischen Eigenschaften des Lasersystems wie Dichte, Energie und Fasercharakteristik [30]. Dabei ist der zeitliche Verlauf der Temperaturverteilung in biologischem Gewebe bei der lokalen Erwärmung mittels Laserlicht durch die örtliche Entstehung von Wärme und die simultane Ausbreitung und Ableitung der Wärme bestimmt.

Das Ausmaß der Läsion wird durch die Fasergeometrie selbst bestimmt sowie durch die Wärmeeigenschaften des Gewebes wie zum Beispiel Abkühlung über die Oberfläche, Wärmespeicherung, Konduktion und Blutperfusion. Gerade die Perfusion spielt bei der Entstehung einer Läsion eine entscheidende Rolle. Ist die Dauer der Energieeinwirkung durch den Laser nur kurz, vergrößert sich das Läsionsvolumen durch Perfusion. Besteht jedoch eine längere Energieeinwirkung und es wird ein steady state erreicht, verkleinert und limitiert damit die Perfusion das Läsionsvolumen [30].

Problematisch bei der LITT ist die geringe Vorhersagemöglichkeit der Wärmeleitung aufgrund der unterschiedlichen Gewebepfusion. Sie unterliegt extremen inter- und intraindividuellen Schwankungen. Schon allein durch die Temperaturerhöhung infolge der Lasertherapie ist eine Änderung der Perfusion infolge körpereigener

Regelmechanismen durch vasomotorische Einstellungen zu erwarten. So kommt es durch therapiebedingte Schrumpfungprozesse der Gefäße zu einer Verminderung der Perfusionsrate. Besonders problematisch erscheint die Beschreibung der Perfusion in pathologisch veränderten Geweben, insbesondere bei Tumoren, die aufgrund ihrer zentralen Nekrotisierung oder pathologisch veränderten Gefäßen erhebliche Abweichungen von der umliegenden Perfusion des gesunden Gewebes aufweisen.

Die optimale Tiefenwirkung des Lasers im Gewebe wird durch die Absorptionseigenschaften von Wasser und Hämoglobin bestimmt. Anfangs wurden „nackte Lichtleiter für die interstitielle Laserkoagulation verwendet, doch wegen der hohen Energiedichte am Ende des Lichtleiters kam es leicht zur Selbstzerstörung der Faser. Da eine verkohlte Faserspitze die weitere Lichttransmission verhindert und so eine weitere Bestrahlung uneffektiv macht, musste in bisherigen Studien die Laserleistung niedrig gehalten werden und die erzielten Koagulationszonen waren begrenzt auf einen Durchmesser von 1,5 - 2 cm [31].

Mit der Entwicklung diffus abstrahlender, wassergekühlter Applikatoren erhöhte sich die Effektivität der Laserkoagulation. Zur Anwendung kam der Nd:YAG-Laser mit einer Wellenlänge von 1064 nm, welche nahe dem Infrarotlicht ist. Nahes Infrarotlicht besitzt eine vergleichsweise hohe Eindringtiefe in Gewebe und ermöglicht somit eine tiefe thermale Koagulation [32]. Der Nd:YAG-Laser ist der am häufigsten verwendete Festkörperlaser. Er kann gepulst oder kontinuierlich verwendet werden und liefert dabei Ausgangsleistungen bis zu 1000 Watt. Die daraus resultierende Temperaturerhöhung bleibt aber nicht auf den Bereich der optischen Eindringtiefe beschränkt, sondern wird durch Wärmeleitungsprozesse wesentlich vergrößert. Schon Roggan und Müller haben in ihren Versuchen gezeigt, dass das Volumen der Koagulationsnekrose erheblich gesteigert werden kann, wenn man einen gespülten Laser verwendet, der das umliegende Gewebe um den Applikator abkühlt [33].

Durch die Verwendung von gekühlten Applikatorsystemen kann die Laserleistung von 3 - 10 Watt bei einem ungekühlten Applikatorsystem auf 25 - 30 Watt bei einem gekühlten System gesteigert werden, ohne den kritischen Wert zu überschreiten, bei dem eine Karbonisierung eintreten würde. Dadurch können mit gekühlten Applikatorsystemen größere Läsionen erzeugt werden. Mit den herkömmlichen Applikatoren können annähernd kugelförmige Koagulationsnekrosen erzielt werden, wobei höhere Energien eine höhere Asymmetrie der Läsionskonfiguration zur Folge haben [30]. Die gekühlten

Applikatoren ermöglichen eine möglichst gleichmäßige zirkumferente Abstrahlung des Laserlichtes mit dem Resultat einer ellipsoiden Koagulationsnekrose.

Für das Ausmaß der Läsion sind neben der Applikatorgeometrie die Parameter Strahlungsleistung und Bestrahlungszeit, sowie spezifische Gewebeeigenschaften und die Perfusionsrate entscheidend. Die Interaktion dieser Faktoren ist ein außerordentlich komplizierter Prozess, der von Gewebe zu Gewebe unterschiedlich ist. Aufgrund der speziellen Tumorphysiologie und des veränderten Stoffwechselstatus in malignen Geweben geht man jedoch von einer höheren Thermosensibilität aus. Der Zelltod in hyperthermisch erwärmten Bereichen kann auch erst mit einer Verzögerung von einigen Tagen bis Wochen auftreten.

Im Temperaturbereich von 40 bis 45°C resultieren aus einer Bestrahlung Effekte wie reversible Enzyminduktion, Ödembildung und Membranauflockerung. Ab 60°C kommt es zur vollständigen Proteindenaturierung und ab 80°C zur Kollagen-denaturierung bis hin zur Trocknung und Karbonisierung über 150°C [34]. Nach begonnener Nekrotisierung verhindert eine Karbonisierung, durch gesteigerte innere Streuung des Laserlichtes, die Penetration der weiteren Bestrahlung. Damit kann sich das Läsionsvolumen nicht mehr ausdehnen. Daher hält man die Temperatur unter 100°C. Die Dauer der Behandlung und die Wahl der Leistung des Lasers richten sich nach der Größe des zu therapierenden Gewebavolumens. Bei mehreren Tumorkläsionen und bei großen Tumoren besteht die Möglichkeit mehrere Applikatoren simultan oder nacheinander einzusetzen, um das Läsionsvolumen zu erhöhen.

Die Laserenergie wird hierbei über eine Quarzfaser direkt in das Parenchym des Pankreas eingebracht [29]. Insbesondere wegen der ungünstigen Zugänglichkeit des Pankreas, welche die Operation besonders schwierig macht, scheint die LITT des Pankreaskarzinoms eine schonende Alternative zu sein, eine präzise Zerstörung des Tumors zu erzielen, ohne das umliegende benigne Gewebe wesentlich zu schädigen. Als vorteilhaft erweist sich hierbei der minimalinvasive Charakter der Therapie.

Aufgrund der Komplexität des Koagulationsvorganges und der engen topografischen Beziehung des Pankreas zu den benachbarten Strukturen ist eine Online-Kontrolle der Wärmezufuhr und der zielgenauen Positionierung des Applikators zwingend erforderlich.

### 1.3 Herleitung der Aufgabenstellung

Seit der Entwicklung der LITT hat dieses Verfahren schon in vielen Fachbereichen und in vielen Indikationsgebieten Einzug erhalten [34, 35, 36, 37]. Nach vorliegender Kenntnis gibt es jedoch keine Studien zur Anwendung der LITT an der Bauchspeicheldrüse, die als Organ in schwieriger topographischer Lage fast allen diagnostischen und therapeutischen Verfahren nur schwer zugänglich ist. Zusätzlich ist das Pankreas ein sehr empfindliches Organ, das bei jeder Manipulation mit einer generalisierten Pankreatitis reagieren kann und somit alle therapeutischen Maßnahmen erschwert.

Bei der LITT handelt es sich um ein in situ Verfahren, das sich im Vergleich zum chirurgischen Eingriff der direkten visuellen Kontrolle durch Resektion und histologische Auswertung entzieht. Zu beachten ist auch, dass die Gewebewirkung des Lasers zwar grundsätzlich temperaturabhängig ist, aber außerdem noch von den oben genannten weiteren Faktoren abhängig ist, die im Einzelnen nur schwer kontrollierbar und vorhersagbar sind. Das Ausmaß der Gewebeschädigung könnte ohne ein geeignetes Monitoringverfahren nur geschätzt werden. Daher ist es für den Erfolg der Behandlung von besonderer Bedeutung den thermischen Effekt im behandelten Gewebe mit einem geeigneten Echtzeit-Monitoring-Verfahren sichtbar zu machen. Entscheidend ist es, die Positionierung des Lasers und den akuten Therapieeffekt zu überwachen. Insbesondere für das Pankreas, als empfindliche Drüse, die in enger Nachbarschaft zu Gefäß- und Nervenstraßen liegt, ist eine extrem genaue Überwachung der Therapieeffekte besonders wichtig. Durch das Monitoringverfahren sollte die induzierte Läsion sicher detektierbar sein und sich gegebenenfalls bei insuffizienter Behandlung ein Tumorrezidiv frühzeitig erkennen lassen.

In der Vergangenheit wurden bereits viele nichtinvasive Temperaturmessungen vorgestellt, die größtenteils auf Infrarot- und Mikrowellen basieren, aber keine erfüllt die Anforderungen der ausreichenden Genauigkeit [30]. Da die Magnetresonanztomographie als ein Monitoringverfahren mit hoher Präzision bei anderen Organen erfolgreich eingesetzt wurde, scheint sie auch für die Bauchspeicheldrüse geeignet zu sein. Mit diesem Verfahren ist eine dreidimensionale Darstellung des zu therapierenden Bereiches und benachbarter Strukturen in Echtzeit



möglich. Die Überlegenheit der MRT gegenüber der Computertomographie resultiert vor allem aus dem höheren Kontrast zwischen der Läsion und umgebenden gesunden Gewebe mit einer hervorragenden Weichteilauflösung.

Mit der MRT ist bereits eine Früherkennung der laserinduzierten Effekte möglich, da verschiedene bildcharakteristische Magnetresonanzparameter temperaturabhängig sind. So können thermische Effekte entweder durch den veränderten Diffusionskoeffizienten des Wassers, durch chemische Verschiebung oder eine veränderte T1-Relaxationszeit dargestellt werden. Dies führt zu einer Abnahme der Pixelintensität während der Applikation und einer Zunahme der Pixelintensität bei Abkühlung des Gewebes. Je größer die Laserleistung und damit die Hitzeentwicklung im Gewebe ist, desto größer ist der Signalitätsverlust [40]. Damit ist auch eine Darstellung der Temperaturverteilung im Gewebe unter der Thermotheapie möglich [25, 26, 35, 38, 39, 40, 41].

Die Magnetresonanztomographie stellt die Temperatur durch die Molekulardiffusion dar, welche auf der direkten Beziehung zwischen Temperatur und Diffusionskoeffizient nach der Brown'schen Bewegungstheorie basiert. Dabei bewirkt 1°C Temperaturänderung die Änderung des Diffusionskoeffizienten um 2,4%. Die Korrelation zwischen invasiver Temperaturmessung mittels Thermosensoren und nichtinvasiver Temperaturdarstellung mittels Magnetresonanztomographie beträgt 0,2°C [30]. Die MRT hat das Potential die Perfusion im Gewebe bis in die Kapillaren hinein sichtbar zu machen, welcher ein Schlüsselparameter für die Effektivität der klinisch eingesetzten Hyperthermie ist. Durch die Entwicklung neuer schneller Sequenzen gelingt auch eine Überwachung der LITT an bewegten Organen. Mittels Atemanhaltetechnik während der Anfertigung von zweidimensionalen (2D) turbo fast low angle shot (FLASH)-Sequenzen wurde eine Echtzeitüberwachung der laserinduzierte Thermotheapie erreicht. Gegenüber den typischerweise verwendeten T1-gewichteten Sequenzen ergibt sich aus den Turbo-Flash-Sequenzen der Vorteil, dass sie mit einer Messzeit von 2s pro Messdurchgang eine erheblich kürzere Messzeit erzielen und so die höchste Genauigkeit in der Wiedergabe der thermischen Effekte erreichen. Damit ist die Bildzeit nicht länger zeitlimitierender Faktor für ein Experiment unter Magnetresonanztomographie [42]. Bei geeigneter Parameterauswahl ergeben sich im Temperaturbereich zwischen 20°C und 60°C eine hohe lineare Korrelation zwischen Temperaturanstieg und Signalabnahme im Gewebe [43].

Bisher wurde die Resektion von Tumoren meist unterlassen, wenn diese die Grenzen

des Pankreas überschritten hatten oder wichtige angrenzende Strukturen wie Nerven und Gefäße infiltrierten. Bei einer Verringerung des Operationsrisikos und gleichzeitiger Reduzierung der Morbidität als Folge neuer Behandlungstechniken erscheint die laserinduzierte Thermotherapie von Pankreastumoren aussichtsreich. Die bisherigen experimentellen Ergebnisse über den Nd:YAG-Laser weisen einen erfolgversprechenden Weg hin zum klinischen Einsatz.

Die im Rahmen dieses Forschungsthemas ermittelten Ergebnisse sollen zeigen, dass die laserinduzierte interstitielle Thermotherapie im Bereich des Pankreas eine interessante Alternative zu chirurgischen sowie radio- und chemotherapeutischen Therapien darstellt.

## 1.4 Detaillierte Fragestellung

Erstes Ziel dieser Studie war es, die Durchführbarkeit der laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie mit verschiedenen Applikationstechniken am Pankreas zu erproben und den Zusammenhang zwischen Laserleistung und Läsionsgröße zu ermitteln. Darüber hinaus sollte mit der histopathologischen Vergleichsanalyse die besondere Eignung der MRT als Online-Monitoringverfahren für die LITT des Pankreas nachgewiesen werden.

Im Detail wurden folgende Zusammenhänge untersucht:

1. Wie reagiert das normale Pankreasgewebe auf die LITT?
2. Ist das Pankreas als weit dorsal gelegenes Organ der LITT zugänglich?
3. Wie stellt sich die laserinduzierte Läsion im gesunden Pankreasgewebe im Monitoring der Magnetresonanztomographie dar?
4. Wie stellen sich die Läsionen in der makroskopischen Beobachtung und der histologischen Untersuchung der Präparate dar?
5. Wie stellt sich die induzierte Läsion im zeitlichen Verlauf dar?
6. Ist die Magnetresonanztomographie eine geeignete Methode zur Online-Überwachung der LITT?
7. Gibt es mögliche Nebeneffekte/ Komplikationen der LITT?
8. Besteht eine Korrelation zwischen Laserleistung und Läsionsgröße und wenn ja, wie lautet eine erste Näherungsgleichung (Approximationsfunktion)?
9. Wie korreliert die Läsionsgröße gemessen in der Magnetresonanztomographie mit der Läsionsgröße gemessen in der Histopathologie und lässt sich eine hinreichend zuverlässige Vorhersage treffen?

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Versuchstiere**

Initial wurden 20 weibliche Läufer Schweine (Sommerfeld, Berlin, Deutschland) mit einem Gewicht zwischen 28,4 kg und 34,2 kg verwendet. Das Protokoll wurde genehmigt von der zuständigen Behörde für Tierschutz (Bearbeitungsnummer G 0068/99). 5 Tiere wurden für Vorversuche verwendet, in denen die Praktikabilität der Versuche geprüft wurde. Anschließend wurden 15 Versuchstiere kontinuierlich beobachtet und die Ergebnisse systematisch erfasst und ausgewertet.

Das Schwein wird in speziellen Fragestellungen als Versuchstier zur Erforschung von Erkrankungen des Menschen häufig eingesetzt, da es in Physiologie und Anatomie der des Menschen sehr ähnlich ist.

Nach einer 12-stündigen Nahrungskarenz wurde die Narkose durch den Tierarzt in der tierexperimentellen Einrichtung eingeleitet. Dazu wurde Atropin und Azaperon in eine Ohrvene injiziert und anschließend mittels Perfusor Etomidat und Fentanyl sowie Pancuronium mit je 5ml/h intravenös appliziert. Während der gesamten Prozedur befanden sich die beatmeten Tiere in Vollnarkose. Den narkotisierten Tieren wurde der gesamte Ober- und Unterbauch rasiert und desinfiziert. Anschließend erfolgte der Transport der Tiere zum Computertomographen (Somatom Plus, Siemens, Erlangen, Deutschland). Die Tiere wurden in Rückenlage (n = 5) für die Darstellung des Pankreaskörpers, in Linksseitenlage (n = 5) für die Darstellung des Pankreaskopfes bzw. in Rechtsseitenlage (n = 5) für die Darstellung des Pankreasschwanzes, an den Vorder- und Hinterläufen mit Haltegurten auf der CT- bzw. MRT-Liege fixiert. Sämtliche operativen Eingriffe erfolgten unter aseptischen Bedingungen. Nach korrekter Lagerung der Tiere erfolgte die perkutane Einbringung der Applikatoren unter CT-Kontrolle. Die Tiere wurden nach der LITT täglich klinisch auf Krankheitsanzeichen durch einen Tierarzt untersucht. Über den gesamten Zeitraum wurden die Tiere mit einem Fentanylhautpflaster behandelt.

## 2.2 Versuchsgruppen

Die Tiere wurden je nach Laserleistung in 4 Gruppen eingeteilt. In der Gruppe 1 (n = 5) wurde die Laserkoagulation mit einem 5F-Applikator mit 5 Watt durchgeführt. In der Gruppe 2 (n = 3) erfolgte die Behandlung mit einem gekühlten 9F-Applikator mit 10 Watt. Die 3. Gruppe (n = 2) wurde mit einem 9F-Applikator bei einer Laserleistung von 20 Watt koaguliert und bei der Gruppe 4 (n = 5) wurden zwei 5F-Applikatoren simultan mit 5 Watt betrieben.

Um im zeitlichen Verlauf sowohl die magnetresonanztomographischen als auch die histologischen Unterschiede eruieren zu können, erfolgte eine weitere Unterteilung der Versuchsgruppen. Dabei fand die Kontrolluntersuchung und die Entnahme des Pankreas bei sechs Tieren unmittelbar nach LITT und bei 9 Tieren nach 7 Tagen statt.

Tab. 4: Versuchsgruppen

Gruppen	Applikationsart	Laserleistung	Anzahl der Tiere (n)
1	5F	5W	5
2	9F	10W	3
3	9F	20W	2
4	2x 5F	je 5W	5
insgesamt			15

### 2.3 Lasersystem und Applikatorset

Das Punktionsset besteht aus einer Chiba-Punktionsnadel (Somatex, Berlin, Germany), die nach der Inzision der Haut in die Zielregion eingebracht wurde (Abb. 1), dem steifen 0,035 inch Führungsdraht (Meditech/ Boston Scientific, Watertown, MA), der danach in den Punktionskanal eingeführt wurde und anschließend mit den 4-French, 6-French und 8-French-Dilatatoren aufbougiert wurde um das lichtdurchlässige Schleusensystem direkt der Zielregion anzupassen. Nachdem der Führungsdraht entfernt wurde, konnte ein spezieller, lichtdurchlässiger Hüllkatheter mit Führungsmandrin (Somatex®) in die gewünschte Region eingebracht werden. Der Hüllkatheter ist bis 400°C thermostabil. Mittels Seldingertechnik kann die Schleuse über den Führungsdraht eingeführt werden. Es wurden sowohl 5F-Katheter als auch gespülte 9F-Katheter (LITT-Sets; Somatex, Berlin, Deutschland) zur Thermoablation benutzt.



Abb. 1: Inzision der Haut nach Desinfektion und steriler Abdeckung

Die Thermoablation erfolgte mit dem Nd:YAG-Laser (Medilas Fibertom 5100, Dornier Med Tech, Wessling, Deutschland) über einen streuenden Lichtleiter, der das Licht gleichmäßig in alle Raumrichtungen verteilt. Der Laser mit einer Wellenlänge von 1064nm wurde mittels einer 400-µm-Siliciumfaser in das Gewebe eingebracht und emittierte kontinuierliches Laserlicht bei einer Leistung von 5 - 25 Watt (Abb. 2).

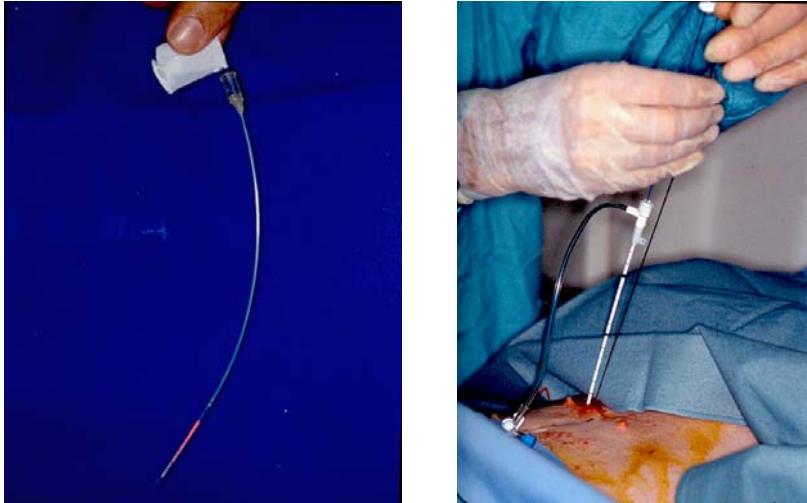


Abb. 2: Nd:YAG-Laser (medilas fibertom 5100, Dornier Med Tech, Wessling, Deutschland) in Betrieb, mit rot leuchtender Faserspitze (Pfeil)

Abb. 3: Perkutanes Einführen des Schleusensystems über einen ventralen Zugang unter aseptischen Bedingungen

Durch Weiterentwicklung des gespülten diffusen Applikationssystems wurde es möglich, laserinduzierte Nekrosen von größerem Durchmesser zu erzielen ohne eine Karbonisierung des Gewebes herbeizuführen. Der Aufbau des Lasers ist in folgendem Schema dargestellt.

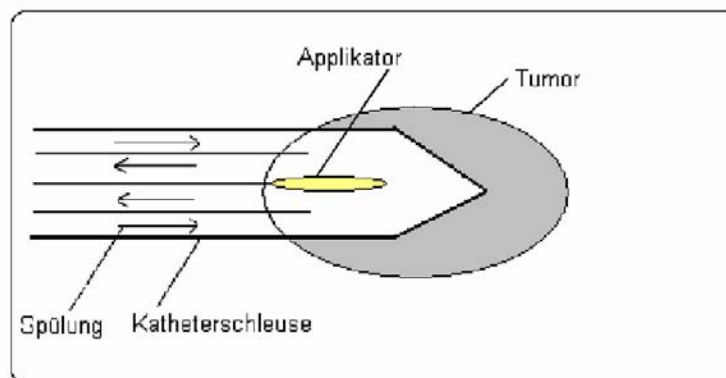


Abb. 4: Schematische Darstellung des Laserapplikators mit interner Wasserspülung

Der Applikator besitzt eine 28 mm lange gefrostete Oberfläche am distalen Faserende mit einem schützenden Glasdom. Die Steuereinheit und das Lasergerät befanden sich im MRT-Kontrollraum. Der Laserapplikator ist über einen 10 m langen Lichtleiter (Faserkerndurchmesser 400  $\mu\text{m}$ ) durch eine spezielle Kabelschleuse mit dem Lasergerät im MRT-Kontrollraum verbunden.

Zur Quantifizierung der faserbedingten Energieverluste bei der Applikation wurde durch eine externe Messung vor jeder Laserapplikation die distale Applikationsleistung an der Faserspitze mittels eines Leistungsmessgerätes ermittelt. Um die Dislokation des Applikators während der LITT zu verhindern, wurde eine eigens zu diesem Zweck konstruierte Applikatorhalterung verwendet, um den Applikator an der Haut im korrekten Winkel zu fixieren.

## 2.4 Punktionstechnik unter CT-Kontrolle

Das perkutane Einbringen der Applikatoren erfolgte unter CT-Kontrolle (Somatom plus; Siemens, Erlangen, Germany). Der Pankreaskörper stellt sich in Höhe des 13./ 14. Brustwirbels zwischen der kleinen Magenkurvatur, Pars cranialis duodeni und ventral der V. portae als schmaler, bogenförmiger, hyperdenser Streifen dar. Der kurze rechte Pankreaslappen ist dem Anfangsabschnitt der Pars descendens duodeni medial angelagert. Der größere linke Pankreaslappen stellt sich in Höhe des 14. Brustwirbels/ 1. Lendenwirbels keulenförmig dar. Er hat lateral Kontakt mit der Facies visceralis der Milz und lagert sich ventral der linken Niere an. Aus dem rechten und linken Lappen gehen Äste des gabelförmigen Verbindungsstückes hervor und vereinigen sich median in Höhe des 1./2. Lendenwirbelkörpers. Ab diesem Bereich stellt sich der Pankreasanschnitt zunächst annähernd dreieckig, weiter kaudal queroval dar und endet in Höhe der Nierenhili. Daher ist es nötig den Pankreaskörper in ausreichender Schichtung über mindestens vier Wirbelkörper darzustellen [44, 45].



Abb. 5: CT in transversaler Schnitfführung nach Applikation von Ultravist mit deutlich sichtbarem Pankreaskopf, -korpus und jetzt auch Pankreasschwanz (Pfeile)



Nachdem die Haut ca. 1 cm inzidiert wurde, konnte die Chiba Nadel perkutan in die Zielregion eingebracht werden, wobei darauf geachtet wurde, nicht die Leber oder das Colon transversum zu verletzen. Es erfolgte ein Kontrollscan zur Lagekontrolle der Punktionsnadel und gegebenenfalls eine Lagekorrektur mit erneuter Lagekontrolle.

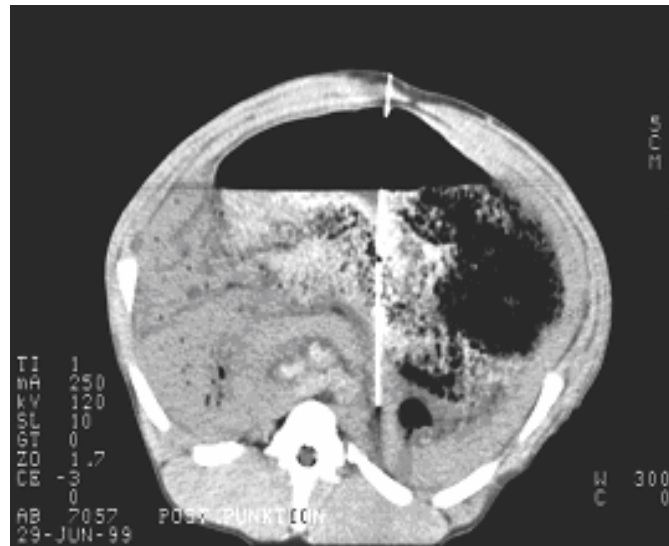


Abb. 6: CT-Kontrollscan in transversaler Schnittführung zur Lagekontrolle der Punktionsnadel im Pankreasschwanz nach transgastraler Punktion

Danach wurde an der Schleuse und am Hüllkatheter die geplante Eindringtiefe markiert. Der Führungsdraht wurde eingeführt und die Punktionsnadel entfernt. Der Punktionskanal wurde mittels der 4F, 6F und 8F-Dilatatoren bougiert um das Hüllsystem einführen zu können. Anschließend wurde die Schleuse eingelegt und der Führungsdraht wieder entfernt. Es folgte eine erneute Lagekontrolle der Schleuse und gegebenenfalls eine Lagekorrektur mit erneuter Lagekontrolle. Nun wurde der Hüllkatheter in das Pankreas eingebracht, über den der Laser in das Zielgebiet vorgeschoben werden konnte. Abschließend folgte die Fixierung des Führungsdrahtes und des Hüllkatheters. Außer dem Monoapplikator kamen auch Multiapplikatoren mit multifokalem Zugang zum Einsatz. Dabei wurden 2 Applikatoren aus verschiedenen Richtungen in das Pankreas eingebracht und später simultan betrieben. Danach wurde das Tier in den MRT-Raum umgelagert und dort eine erneute Lagekontrolle vorgenommen um eine Fehllage des Schleusensystems nach Umlagerung des Tieres auszuschließen.

## 2.5 Laserinduzierte Thermotherapie unter MRT-Kontrolle

Für die Online-Überwachung der laserinduzierten Thermotherapie stand für die Versuche ein 1,5 Tesla Magnetresonanztomograph (Magnetom SP 63, Siemens, Erlangen, Deutschland) zur Verfügung. Nach Neuplatzierung des Versuchstieres auf den MRT-Tisch wurde die Position von Schleuse und Hüllkatheter mit dem paramagnetischen Positionskontroller (Somatex®) überprüft und wenn notwendig neu platziert. Die Positionskontrolle erfolgte mittels Gradientenechosequenzen in zwei Ausdehnungen (FLASH, TR/TE 154/6, flip angle 75°, eine Aquisition, 5 mm Schichtdicke, FOV: 200 – 250 mm<sup>2</sup>, Matrix 128 x 256).

Während des gesamten Prozesses wurden temperatursensitive T1-gewichtete fast low angle shot Gradientenechosequenzen (thermo-FLASH, TR/TE 102/8, flip angle 70°, 5 mm Schichtdicke, Aufnahmezeit 17s, FOV 200 x 250 mm, Matrix 128 x 256) angefertigt. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Sequenzparameter.

Tab. 5: Bildparameter für T1-gewichtete Gradientenechosequenz (FLASH) zur Positionskontrolle und T1-gewichtete thermo-FLASH-Sequenz (FLASH: fast low angle shot) zur Prozesskontrolle

	T1-gewichtete Gradientenechosequenz FLASH	T1-gewichtete thermo-FLASH-Sequenz
Repetitionszeit	154 msec	102 msec
Echozeit	6 msec	8 msec
Focus of view	200 – 250 mm <sup>2</sup>	200 x 250 mm <sup>2</sup>
Matrix (read x phase)	128 x 256	128 x 256
Akquisition	1	1
Schichtdicke	5 mm	5 mm
Akquisitionszeit		17 s
Flipwinkel $\alpha$	75°	70°

Während der Messungen wurde der Respirator abgeschaltet, um eine Atemanhaltetechnik zu simulieren. Bei allen Tieren betrug die Applikationsdauer 15 min

mit einer Laserleistung von 5 - 20 Watt. Bei den Versuchstieren wurde während der LITT über eine fluorooptische Temperatursonde (Luxtron MPM, Mountain View, CA), die über einen eigenen Katheter eingebracht wurde, die erzielte Temperatur sowie der folgende Temperaturabfall unmittelbar am Applikationsort mit einem maximalen Abstand von 10 mm gemessen.

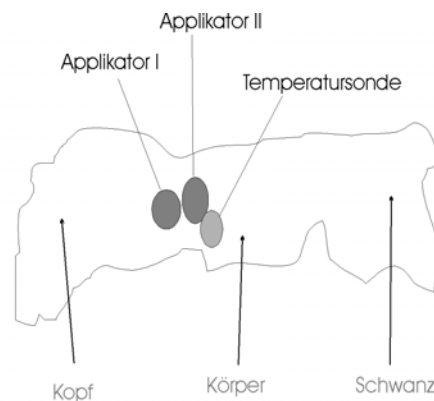


Abb. 7: Applikatorenanordnung im Pankreas bei der Multiapplikation mit multifokalem Zugang und Temperatursonde mit separatem Zugang

## 2.6 Magnetresonanztomographie unmittelbar nach Thermotherapie und im Follow-up

Unmittelbar nach der LITT wurden wiederum magnetresonanztomographische Aufnahmen in transversaler Schnitfführung angefertigt. Diese umfassten konventionelle T1-gewichtete Spinechosequenzen (TR/TE 600/15, 5 mm Schichtdicke, Akquisitionen: 2, FOV 200 - 300 mm<sup>2</sup>, Matrix 256 x 256) sowie T2-gewichtete SE-Sequenzen (TR/TE 2000/90, Akquisitionen 1, FOV 200 - 300 mm<sup>2</sup>, Matrix 128 x 256). Die FLASH-Aufnahmen wurden mit den gleichen Parametern wiederholt.

Nach der intravenösen Injektion von 0,2 mmol/ kg Gadopentetat Dimeglumin (Magnevist®, Schering, Berlin, Deutschland) wurden die T1-gewichteten Spinechosequenzen und die FLASH-Aufnahmen wiederholt.

Nach Beendigung der LITT wurde die Faser zurückgezogen und nach erneuter Wunddesinfektion die Hautinzision mit Einzelknopfnähten bzw. einem Klammerpflaster verschlossen.

Die Kontrollaufnahmen unmittelbar nach LITT (n = 15) und 7 Tage (n = 9) nach LITT

wurden im gleichen Tomographen durchgeführt. Nachdem die Tiere erneut in Vollnarkose versetzt und auf dem MRT-Tisch gelagert wurden, konnten die Sequenzen wiederholt werden, die unmittelbar nach der Thermoablation erstellt wurden. Alle Tiere erhielten zur Kontrolluntersuchung 200 ml Ferumoxil (Lumirem®, Guerbet, Aulnay-Sous-Bois, Frankreich) oral über eine Magensonde. Die folgende Tabelle gibt die genauen Messparameter der durchgeführten Sequenzen in einer Übersicht wieder.

Tab. 6: Bildparameter für T1-gewichtete Spinechosequenz und T2-gewichtete SE-Sequenz zur Kontrolle nach Thermoablation

	T1-gewichtete Spinechosequenz	T2-gewichtete Spinechosequenz
Repetitionszeit	600 msec	2000 msec
Echozeit	15 msec	90 msec
Focus of view	200 x 300 mm <sup>2</sup>	200 - 300 mm <sup>2</sup>
Matrix (read x phase)	256 x 256	128 x 256

## 2.7 Tötung der Tiere und Entnahme des Pankreas

Nach der jeweils definierten Überlebenszeit der Tiere: unmittelbar nach den Kontrollaufnahmen und 7 Tage nach Laserapplikation, wurden die Tiere in Vollnarkose mittels intravenöser Überdosis Phenobarbital und Kaliumchlorid getötet.

Über eine Medianlaparotomie wurde die Abdominalhöhle eröffnet. Das Abdomen wurde hinsichtlich Blutungen, Perforationen, Ulzerationen des Darmes und des Magens und anderer pathologischer Auffälligkeiten untersucht. Zur Entnahme des Pankreas wurden der Magen und die Leber ausgelagert sowie alle versorgenden Gefäße und bindegewebigen Strukturen durchtrennt. Es wurde überprüft, ob es zu einer Schädigung von Milz, Nebennieren oder Nieren gekommen war. Wenn der makroskopische Eindruck dies nicht ausschließen konnte, wurden diese Organe mitentnommen und histologisch untersucht. Unmittelbar nach Entnahme des Pankreas wurde dies im frischen, unfixierten Zustand vermessen und fotografisch dokumentiert. Bei 5 Präparaten wurde ein Schnitt durch das frische Pankreas vorgenommen, um den Schrumpfungsgradienten des Gewebes durch die Formalinfixation zu ermitteln. Dazu wurde die makroskopisch sichtbare Läsion vor und nach Fixation in 10%igem Formalin

ausgemessen.

## 2.8 Histologische Aufarbeitung

Für die histologische Aufarbeitung wurde das gesamte Pankreas in einer 10%igen Formalinlösung für mindestens eine Woche fixiert.

Vor der histologischen Aufarbeitung wurde jedes Organ mittels eines Flächenschnittmessers in ca. 5 mm dicke Längsschnitte geteilt und makroskopisch die Nekrosen ausgemessen sowie das gesamte Organ in allen Schichten fotografiert. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Schnittführung möglichst der transversalen Bildgebung der Magnetresonanztomographie entspricht, um später eine Korrelation vornehmen zu können.

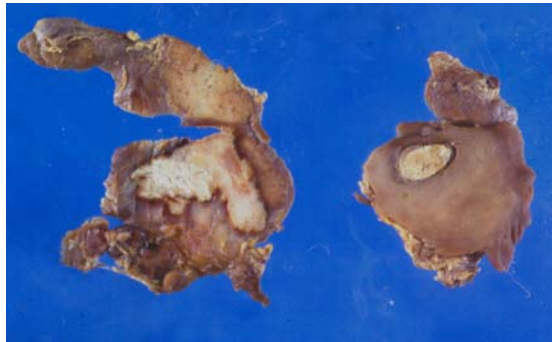


Abb. 8: Auszug der makroskopischen Längsschnitte durch das Pankreasgewebe mit deutlich abzugrenzender Nekrosezone

Um später alle Schichten zuordnen zu können, wurden von allen Gewebeschnitten Skizzen angefertigt und die makroskopisch sichtbare Nekrosezone eingezeichnet. Außerdem wurden auf den Skizzen die einzelnen Gewebelöcke eingezeichnet, um bei der mikroskopischen Auswertung die Zugehörigkeit der einzelnen Abschnitte gewährleisten zu können.

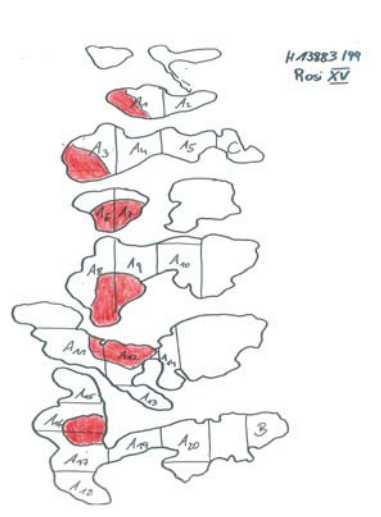


Abb. 9: Skizze der pathologischen Schnittpräparate in 5 mm Schichtdicke mit roter Markierung der makroskopisch sichtbaren Nekrosezone (rote Flächen). A<sub>1</sub>-A<sub>20</sub> kennzeichnen die einzelnen Gewebelöcke mit relevanter Nähe zur Nekrose. Die Blöcke B und C wurden als Referenzzone untersucht.

### 2.8.1 Herstellung der Gewebelöcke

Bei der Herstellung der Gewebelöcke zur Paraffineinbettung wurde darauf geachtet, dass die gesamte Nekrose eingebettet wurde, sowie Anteile des Übergangs von Nekrose zu nicht geschädigtem Gewebe enthalten waren. Weiterhin wurden Anteile aus applikatorfernen Gewebeanteilen eingebettet, um das Organ auf eine mögliche generalisierte Gewebereaktion zu untersuchen.

Die Gewebelöcke von 15 mm x 15 mm x 4 mm (Länge x Breite x Höhe) wurden einzeln mit der jeweiligen Identitätsnummer versehen, in Plastigittertäschchen platziert und Skizzen für deren Lagezugehörigkeit zueinander angefertigt.

Für die Paraffineinbettung erfolgte die Entwässerung und Einbettung mittels einer automatischen Einbettvorrichtung (Hypercentre, Firma Shandon). Folgende Medien wurden dabei durchlaufen:

4%iges Formalin (gepuffert) bei 45°C	5 Stunden
70%iger Alkohol bei 35°C	1 Stunde
75%iger Alkohol bei 35°C	1 Stunde
96%iger Alkohol bei 35°C	1 Stunde
100%iger Alkohol bei 35°C	1 Stunde
100%iger Alkohol bei 35°C	1 Stunde

Aceton bei 35°C	30 Minuten
Aceton bei 35°C	35 Minuten

Die so entwässerten Gewebelöcke wurden dann in einer Paraffinausgießstation (Hypercentre 2, Firma Shandon) in die erste Paraffinlösung für 1,5 Stunden und danach in die zweite Paraffinlösung für 3 Stunden gegeben. Die Blöcke wurden auf Eis gekühlt.

### 2.8.2 Herstellung der histologischen Schnittpräparate

Die Gewebelöcke wurden an einem Schlittenbahnmikrotom (Hn 40, Firma Reichert-Jung) bzw. an einem Rotationsmikrotom (Leica; 2035) geschnitten. Die so entstandenen 1 - 2 µm dicken Schnitte wurden vom Mikrotom abgestreift und zum Glätten der Schnitte in ein Wasserbad getaucht, um sie dann blasenfrei auf den Objektträger aufzuziehen. Über Nacht wurden die Objektträger in einem Brutschrank bei 60°C getrocknet.

Zur Entparaffinierung wurden die Schnittpräparate für jeweils 10 Minuten in eine Xylol-Lösung gebracht. Die Schnittpräparate wurden mit einer absteigenden Alkoholreihe wie folgt hydriert:

100%iger Alkohol	10x eintauchen
96%iger Alkohol	10x eintauchen
70%iger Alkohol	10x eintauchen
Aqua destillata	10x eintauchen

Die entparaffinierten und hydrierten Schnittpräparate wurden zur Hämatoxylin-Eosin-Färbung wie folgt behandelt:

Färben in Hämalaun Mayer, sauer (Firma Dr. K. Hollborn & Söhne, Leipzig)	7 Minuten
Bläuen unter fließendem warmen Leitungswasser	5 Minuten

Sichtkontrolle unter dem Mikroskop mit den Kriterien Kerne blau und Bindegewebe rot.

Aqua destillata	5 Sekunden
Färben in 1 - 2%igem wässrigen Eosin	5 Minuten
Spülen mit Aqua destillata	2 Minuten

Alle so gefärbten Präparate wurden für die Dehydrierung und Entalkoholisierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe wie folgt dehydriert

70%iger Alkohol	10 Sekunden
96%iger Alkohol	10 Sekunden
100%iger Alkohol (4 Portionen)	10 Sekunden

Die Entalkoholisierung erfolgte durch zwei verschiedene Xylol-Lösungen für jeweils 10 Sekunden.

Jedes Präparat wurde mit einem Einschlussmittel (Vitro-Clud®, Firma R. Langenbrinck, Emmendingen) beträufelt und mit einem Deckgläschen bedeckt.

Danach wurde die Färbung erneut unter dem Mikroskop kontrolliert, wobei auf die Blaufärbung der Kerne, Rot- bzw. Rosafärbung des Bindegewebes und die leuchtend rote Färbung der Erythrozyten geachtet wurde.

## **2.9 Auswertekriterien**

### **2.9.1 Auswertung der magnetresonanztomographischen Bilder**

Die Auswertung der Bilder und das Ausmessen der Nekrosen erfolgten am Monitorarbeitsplatz mit Hilfe elektronischer Messverfahren.

Dabei wurden folgende Kriterien beurteilt:

- Lage der induzierten Läsion innerhalb des Pankreas
- Größe der induzierten Läsion mit mittlerem Durchmesser
- Intensitätsverhalten der Läsion
- Veränderung der Größe und Intensität der Läsion im zeitlichen Verlauf
- weitere mögliche intraabdominelle Läsionen oder Auffälligkeiten

### **2.9.2 Beurteilung der makroskopischen Gewebeproben**

Zur Beurteilung des Schrumpfungkoeffizienten durch die Fixierung wurden 5 Präparate und deren Nekrosen noch vor der Fixierung in allen Ausdehnungen vermessen und mit den Nekrosen nach der Formalinfixierung verglichen.

Nach der Fixierung erfolgte die Aufarbeitung aller Präparate in Schichten von ca. 5 mm und die Vermessung der makroskopisch sichtbaren Nekrosen in ihren maximalen Längs- und Querdurchmessern. Daraus wurde später die Fläche der Nekrosen errechnet. Es wurden alle einzelnen Schichten der Präparate fotografisch dokumentiert.



### 2.9.3 Auswertung der histologischen Schnittpräparate

Die histologischen Schnittpräparate wurden mit Hilfe eines Binokularmikroskops (Zeiss, Jena) untersucht und an einem Leitz DMR Mikroskop (Leica) fotografisch dokumentiert. Als Fotomaterial diente der Kodak® Ektachrome 64T, 5 EPY 135 - 36, 24 x 36 mm.

Bei der Auswertung der histologischen Präparate wurde wie folgt vorgegangen:

- Alle Nekrosen wurden mikroskopisch in Länge und Breite ausgemessen
- Auswertung der Zellveränderungen bei unterschiedlicher Laserleistung und –dauer und Überlebensdauer der Tiere:
  - innerhalb der Nekrose
  - Beurteilung der Randzone der Nekrose und des Überganges in nicht geschädigtes Gewebe
  - Beurteilung der Gewebereaktion von pankreatischem Referenzgewebe außerhalb der Applikationszone
  - Beurteilung des Ductus pancreaticus sowie umliegender Lymphknoten

### 2.9.4 Grundlagen zur statistischen Analyse

Zur Feststellung ob und in welchem quantitativen Grad Zusammenhänge zwischen den experimentellen Werten bestehen, wurden folgende Korrelationsanalysen durchgeführt:

1. Zusammenhang zwischen der Laserleistung und dem Läsionsdurchmesser in der T1-gewichteten Sequenz.
2. Zusammenhang zwischen der Laserleistung und dem Läsionsdurchmesser in der turbo-FLASH-Sequenz.
3. Zusammenhang zwischen der Laserleistung und dem Läsionsdurchmesser in den histopathologischen Schnittpräparaten.
4. Zusammenhang der Läsionsdurchmesser in der T1-gewichteten Sequenz und in den histopathologischen Schnittpräparaten.
5. Zusammenhang der Läsionsdurchmesser in der turbo-FLASH-Sequenz und in den histopathologischen Schnittpräparaten.

Diese Zusammenhänge wurden für jede Läsion einer Versuchsgruppe (siehe Absatz 2.2.) einzeln und für jede Versuchsgruppe im Mittel bestimmt.

Als mittlerer Durchmesser der Einzelnekrose wurde definiert:

$d = (d_{\max} + d_{\min})/2$  (Mittelwert aus maximalem und minimalem Durchmesser)  
und als mittlerer Durchmesser der Gruppe:

$\bar{d} = \sum d(n)$  (arithmetisches Mittel der mittleren Durchmesser der Einzelnekrosen).

Für jede Versuchsgruppe wurde neben dem Mittelwert ( $\bar{d}$ ) auch der Median ( $m$ ), die Standardabweichung ( $s$ ) und der Standardfehler des Mittelwertes ( $se$ ) bestimmt.

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

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

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

Die Korrelationsanalysen wurden für jede Einzelläsion einer Versuchsgruppe und für jede Versuchsgruppe durchgeführt. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) erfolgte mit dem linearen Ansatz nach Pearson:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{(n-1)s(x)s(y)}$$

Dabei bedeuten:

$x$  = verwendete Laserleistung (Watt)

$y$  = mittlere Durchmesser ( $\bar{d}$ ) (mm) histopathologisch oder magnetresonanztomographisch

$n$  = Umfang der Stichproben

$\bar{x}, \bar{y}$  = arithmetische Mittelwerte der Variablen X, Y

$s(x), s(y)$  = Standardabweichungen der Variablen X, Y

$\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})$  = Stichprobenkovarianz der Variablen X, Y

Je weiter sich der Korrelationskoeffizient  $r \pm 1$  annähert, desto stärker ist der Zusammenhang zwischen X und Y, d.h. um so wahrscheinlicher existiert eine funktionelle Abhängigkeit zwischen X und Y, die sich in einer geeigneten mathematischen Regressionsgleichung darstellen lässt.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Allgemein**

Die laserinduzierte interstitielle Thermotherapie wurde von allen Tieren gut vertragen. Bei einem Tier kam es zu einer Peritonitis mit Temperaturentwicklung (+2°C) für 3 Tage. Zwei Tiere litten unter Diarrhöe für 2 Tage. Bei einem Tier wurde bei der Kontrolluntersuchung wenig Aszites (< 200ml) und bei einem Tier eine leichte Splenomegalie gefunden. Bei 8 von 15 Tieren konnte eine reaktive Vergrößerung der regionären Lymphknoten festgestellt werden. Kein Tier zeigte klinische Anzeichen einer akuten Pankreatitis. Bei allen Tieren, bei denen die Kontrolluntersuchung nach 7 Tagen durchgeführt wurde, war die äußere Wundheilung primär. Sie zeigten im Gehege eine normale Vitalität und nahmen regelmäßig Futter zu sich.

#### **3.2 Magnetresonanztomographische Ergebnisse**

Die Applikatoren konnten bei allen Tieren erfolgreich in die Zielregion des Pankreas eingebracht werden. Dabei wurden als Zielregion der Pankreaskopf (n = 4), der Pankreaskorpus (n = 6) und der Pankreasschwanz (n = 5) gewählt. Die Applikatoren wurden transenteral (n = 13), transgastral (n = 4), transhepatisch (n = 1) oder interaortocaval (n = 2) positioniert. Bei der Positionierung kam es in keinem Fall zu Blutungen an der Punktionsstelle.

Die Qualität der Bilder wurde durch Artefakte beeinflusst, bedingt durch die Atemanhaltetechnik und Pulsationen in der Aorta, der V. cava inferior und der Portalvene.

Der Thermoefekt während der LITT wurde mittels der thermo-FLASH-Sequenzen dokumentiert. Während der LITT nahm die Signalintensität in der Zielregion kontinuierlich ab. Die maximale Ausdehnung des Thermoefekts konnte 6 bis 13 Minuten (Mittelwert 9 Minuten) nach Beginn der LITT in den thermo-FLASH-Bildern und in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Bildern unmittelbar nach der Intervention sichtbar gemacht werden.

### 3.2.1 Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der 1. Gruppe (5F-Applikator, 5 Watt)

In der ersten Versuchsgruppe, bei der ein 5F-Laser über eine Dauer von 15 min eingesetzt wurde, konnten in den thermo-FLASH-Sequenzen in der mittleren Ausdehnung Läsionsgrößen von 11 - 15 mm ( $\varnothing = 12,5$  mm,  $m = 12$  mm,  $s = 1,5$  mm,  $se = 0,75$  mm) und in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen Läsionsgrößen von 12 - 20 mm ( $\varnothing = 14,6$  mm,  $m = 13$  mm,  $s = 3,77$  mm,  $se = 1,69$  mm) am Monitor ausgemessen werden.

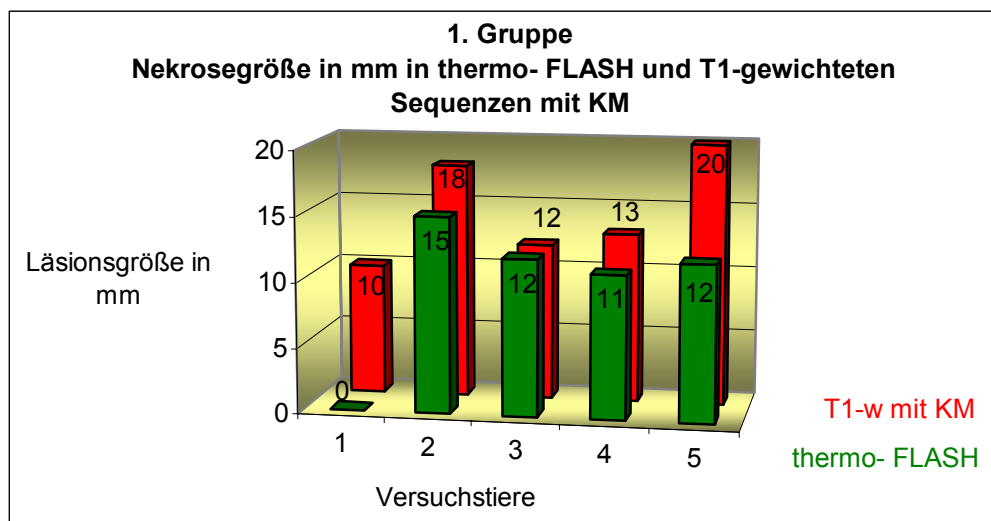


Abb.10: Magnetresonanztomographisch ermittelte mittlere Nekrosegröße in mm in thermo-FLASH-Sequenz während Thermoablation und kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen nach LITT in der 1. Gruppe

In den thermo-FLASH-Aufnahmen ist die Standardabweichung der Läsionsgrößen bei gleicher Laserleistung kleiner als in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Aufnahmen. Im Durchschnitt stellt sich die Läsion in den kontrastmittelgestützten T1-gewichteten Aufnahmen, die nach Thermoablation gefertigt wurden, 2 mm größer dar als in den thermo-FLASH-Aufnahmen, die während der LITT erstellt wurden. Im ersten Fall war die Läsion in der thermo-FLASH-Aufnahme nicht sichtbar. Ursache dafür könnte die unzureichende Bildqualität bei recht kleiner Nekrose sein. In den kontrastmittelverstärkten Aufnahmen hingegen war diese Nekrose mit einer Größe von 10 mm erkennbar.

### 3.2.2 Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der 2. Gruppe (9F-Applikator, 10 Watt)

In der Gruppe 2 kam ein 9F-Powerlaser zum Einsatz, der mit 10 Watt über 15 min betrieben wurde. Hierbei wurden in den thermo-FLASH-Sequenzen während Thermoablation Läsionsgrößen von 23 bis 29 mm ( $\varnothing = 25,7$  mm,  $m = 25$  mm,  $s = 2,49$  mm,  $se = 1,44$  mm) in der mittleren Ausdehnung sichtbar. In den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Bildern nach LITT waren Läsionsgrößen von 26 bis 32 mm ( $\varnothing = 28,3$  mm,  $m = 27$  mm,  $s = 2,62$  mm,  $se = 1,51$  mm) erkennbar. Bei einem Versuchstier war sowohl in den thermo-FLASH-Sequenzen als auch in den T1-gewichteten kontrastmittelgestützten Aufnahmen die Schädigung der linken Niere erkennbar. Bei einem anderen Versuchstier reichte die Nekrose bis ins extrapankreatische Fettgewebe. Die einzelnen Werte sind in der folgenden Graphik aufgeführt.

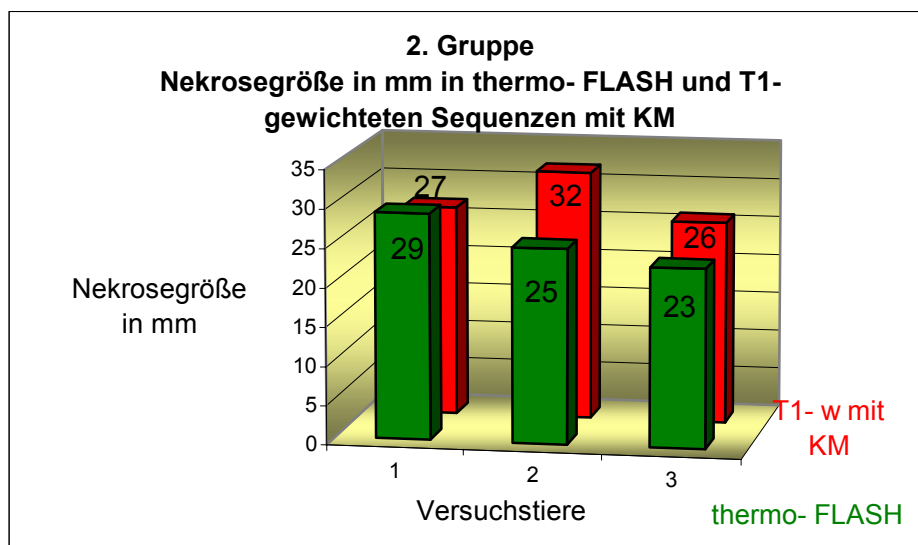


Abb. 11: Magnetresonanztomographisch ermittelte mittlere Nekrosegrößen in mm in thermo-FLASH-Sequenz während der LITT und kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen nach LITT in der Gruppe 2

Die Nekrosegrößen stellen sich auch in dieser kleinen Versuchsgruppe in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen, die nach der LITT erstellt wurden, im Durchschnitt 2 mm größer dar, als in den thermo-FLASH-Sequenzen während LITT. Standardabweichung und Standardfehler sind in den T1-gewichteten Aufnahmen minimal größer als in den thermo-FLASH-Sequenzen.

### 3.2.3 Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der 3. Gruppe (9F-Applikator, 20 Watt)

In der Gruppe 3 wurde wiederum mit einem 9-French-Powerlaser gearbeitet. Diesmal wurde mit einer Laserleistung von 20 Watt über 15 min interveniert. In den thermo-FLASH-Sequenzen waren mittlere Nekrosegrößen von 26 und 29 mm ( $\emptyset = 27,5$  mm,  $m = 27,5$  mm,  $s = 1,50$  mm,  $se = 1,06$  mm) und in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Bildern Läsionsgrößen von 27 und 32 mm ( $\emptyset = 29,5$  mm,  $m = 29,5$  mm,  $s = 2,50$  mm,  $se = 1,77$  mm) erkennbar. In beiden Sequenzen war feststellbar, dass die Nekrosen bei beiden Tieren bis ins extrapankreatische Fettgewebe reichten.

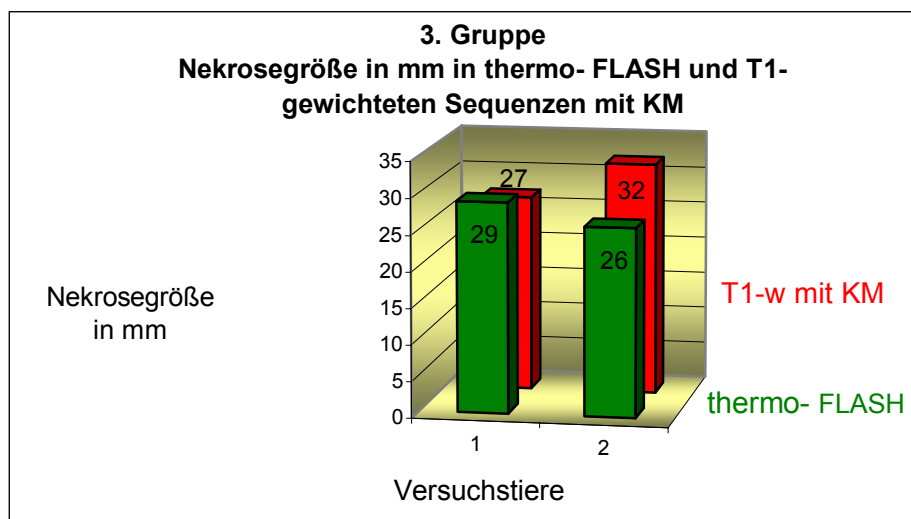


Abb. 12: Magnetresonanztomographisch ermittelte mittlere Nekrosegröße in mm in den thermo-FLASH-Sequenzen während der LITT und den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen nach LITT in der Gruppe 3

In der Gruppe 3 mit 2 Versuchstieren war beim ersten Tier die Nekrosegröße in der thermo-FLASH-Sequenz größer als in der T1-gewichteten Sequenz nach LITT. Beim zweiten Tier verhielt sich der Sachverhalt umgekehrt. Wiederum zeigt sich in beiden Fällen, dass Standardabweichung und Standardfehler in den T1-gewichteten Aufnahmen größer sind.

### **3.2.4 Magnetresonanztomographische Größe der Läsionen in der 4. Gruppe (zwei 5F-Applikatoren, je 5 Watt)**

In der Gruppe 4 kamen zwei 5 French-Applikatoren nebeneinander platziert simultan für 15 min zum Einsatz. In den thermo-FLASH-Sequenzen waren mittlere Nekrosegrößen von 16 bis 31 mm ( $\varnothing = 21,86$  mm,  $m = 20$  mm,  $s = 4,88$  mm,  $se = 1,84$  mm) und in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Bildern Läsionsgrößen von 16 bis 36 mm ( $\varnothing = 22,86$  mm,  $m = 21$  mm,  $s = 7,59$  mm,  $se = 2,87$ ) erkennbar. In einem Fall zeigten beide Sequenzen die Ausdehnung der Nekrose über das peripankreatische Fettgewebe hinaus bis zur anteiligen Schädigung der Milz.

Bei den Versuchstieren 3 bis 5 waren die induzierten Nekrosen verschmolzen. Davon lagen in zwei Fällen (Untergruppe 4c) die Applikatoren so dicht beieinander, dass die Einzelnekrosen zu einer größeren Gesamtnekrose verschmelzen konnten. So war es möglich eine Nekrosegröße von 36 mm Durchmesser zu erzeugen. Im dritten Versuchstier (Untergruppe 4b) erreicht die Nekrosegröße trotz Verschmelzung der Einzelnekrosen nur einen Durchmesser von 21 mm. Hier ist davon auszugehen, dass durch eine weitere Verringerung des Applikatorenabstandes die Nekrosen aufeinander projiziert wurden, so dass keine Vergrößerung des Nekrosedurchmessers erzielt werden konnte.

Bei den Versuchstieren 1 und 2 (Untergruppe 4a) waren die Nekrosen separat voneinander sichtbar. Hier waren die Applikatoren zu weit voneinander entfernt, so dass keine Verschmelzung der Einzelnekrosen erzielt werden konnte. Hier ist zwar von einer Einzelleistung der beiden eingesetzten Laser auszugehen, doch sind die erreichten Einzelläsionen größer als in der Gruppe 1 (5-French-Laser, 5 Watt) mit durchschnittlich 18,4 mm versus 13,5 mm. Mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass zwar die Applikatoren separat voneinander eine Nekrose gesetzt haben, doch durch die enge Nachbarschaft der Thermoquellen eine Verstärkung des jeweils anderen Applikators eingetreten ist. Ein schnelles Abfließen der Temperatur durch Perfusion könnte verhindert worden sein.

Die Ermittlung der Mittelwerte, Mediane, Standardabweichung und Standardfehler hat in dieser inhomogenen Gruppe nur untergeordnete Bedeutung, wurde aber zur Vollständigkeit aufgeführt. Das nachfolgende Diagramm zeigt die detaillierten Versuchsergebnisse.

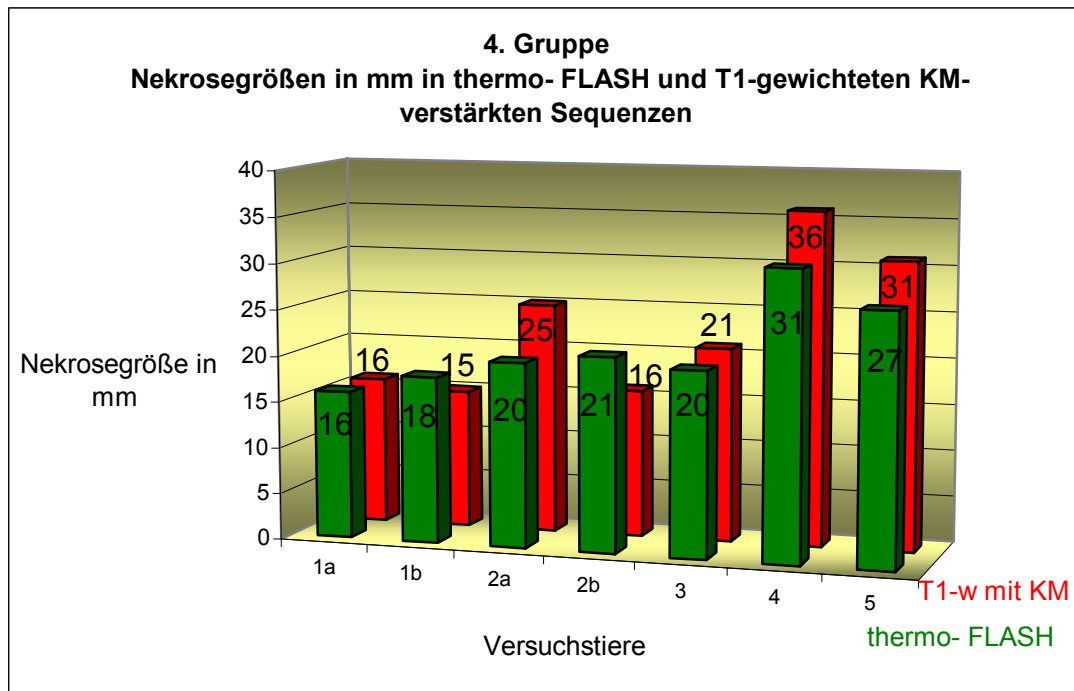


Abb. 13: Magnetresonanztomographisch ermittelte mittlere Nekrosegröße in mm in thermo-FLASH-Sequenzen während der LITT und in kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen nach der LITT in der Gruppe 4, Darstellung der einzelnen Läsionen unterteilt in a/ b für unabhängig entstandene Läsionen in den Versuchstieren 1 - 5

### 3.2.5 Magnetresonanztomographische Intensität der Läsion unmittelbar nach LITT

Im Folgenden sollen die Nekrosen in den magnetresonanztomographischen Aufnahmen hinsichtlich der Pixelintensität (Graustufung) und damit die Möglichkeit ihrer Identifizierung untersucht werden.

Während der LITT wurden thermo-Flash-Bilder angefertigt. Diese Aufnahmen zeigen die entstandene Nekrose als hypointense Zone mit kontinuierlich weiter abnehmender Signalintensität während des Prozesses.



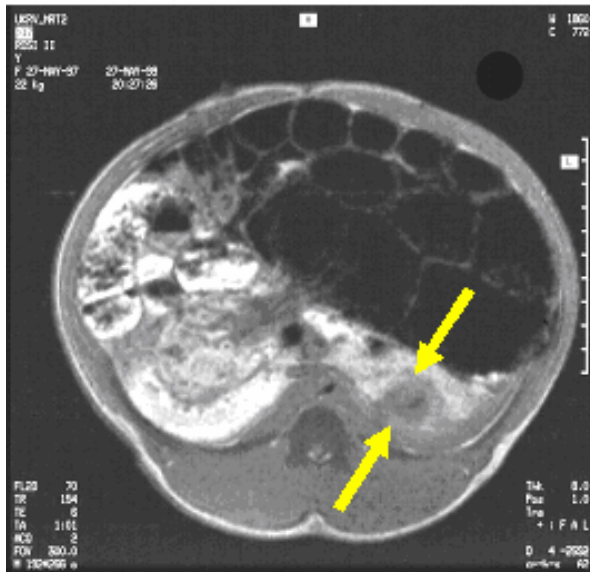


Abb. 14: T1-gewichtete FLASH-Aufnahme nativ in transversaler Schnittführung 8 min nach Beginn der LITT. Die Pfeile kennzeichnen die deutlich abzugrenzende hypodense Zentralnekrose mit weniger hypodensem Randsaum im Pankreasschwanzbereich.

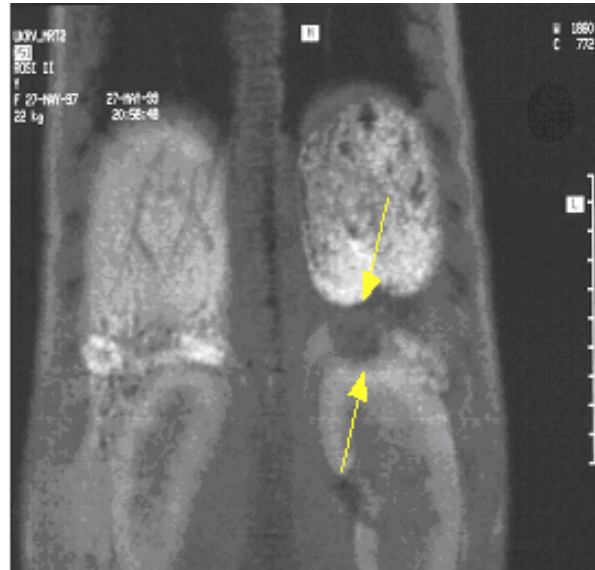


Abb. 15: T1-gewichtete FLASH-Aufnahme nativ in koronarer Schnittführung 8 min nach Beginn der Intervention. Die Pfeile kennzeichnen die gleiche Nekrose wie oben.

Auf den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen, die direkt nach LITT angefertigt wurden, waren die induzierten Nekrosen durch eine hypointense Zone ohne Enhancement sichtbar.

An den postinterventionellen T2-gewichteten Aufnahmen konnten 3 Zonen an der Nekrose unterschieden werden:

1. Die Zentralnekrose: Diese Zone lag im Zentrum der Applikation und zeigte sich in unterschiedlichen Pixelintensitäten.
2. Der Randsaum: Diese Zone begrenzte die Zentralnekrose zum umliegenden nicht geschädigten Gewebe und war in allen Fällen als hyperintenser Randsaum erkennbar (contrast-to-noise ratio  $1,9 \pm 2,5$ ).
3. Das nicht geschädigte Pankreasgewebe, welches als Referenzgewebe betrachtet werden kann, war im Vergleich zum Randsaum hypointens, im Vergleich zur Zentralnekrose jedoch hyperintens.

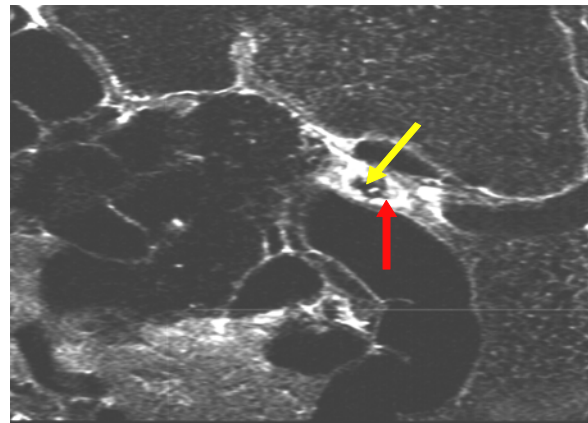
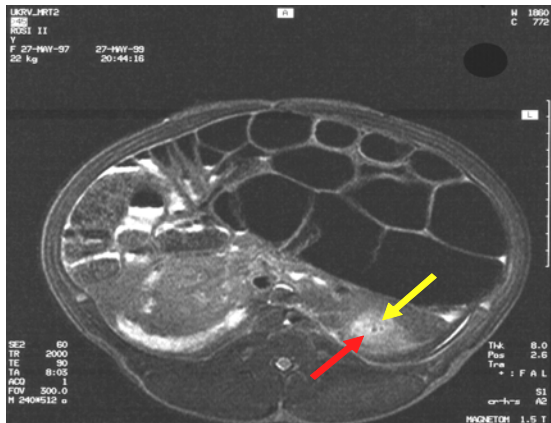


Abb. 16: T2-gewichtete Sequenz in transversaler Schnitfführung. Der gelbe Pfeil zeigt die Zentralnekrose mit noch sichtbarem Einstichkanal, roter Pfeil den Randsaum. Das umgebende Pankreas ist vergleichsweise hypointens.

Abb. 17: T2-gewichtete Sequenz, Ausschnitt aus koronarer Schnitfführung, Zentralnekrose (gelber Pfeil), hyperintenser Randsaum (roter Pfeil)

Auf den nativen T1-gewichteten Aufnahmen waren die Nekrosen nur schwach erkennbar. Die Ergebnisse des Kontrast- zu- Rausch- Verhältnisses (contrast-to-noise ratio, CNR) für die Läsionen waren in den kontrastmittelverstärkten, SE T1-gewichteten Bildern am größten. Verglichen mit den nativen T1-gewichteten SE und T2-gewichteten SE Aufnahmen war der Unterschied signifikant ( $P > 0,05$ ). Es gab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Bildern in den thermo-FLASH-Sequenzen und den T1-gewichteten Bildern.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Messwerte im Einzelnen.

Tab.7: Kontrast- zu- Rausch- Verhältnis (CNR) der Läsionen in den MRT-Aufnahmen unmittelbar nach und 7 Tage nach LITT (CNR: contrast-to-noise ratio; FLASH: fast low angle shot; w: weighted (gewichtet); SE: spin echo), dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Sequenz	CNR (contrast-to-noise ratio)	
MRT während LITT: thermo-Flash	3,0 ± 1,1	
MRT sofort nach LITT	nativ	kontrastmittelverstärkt
FLASH	1,1 ± 1,5	3,1 ± 1,5
T1-w SE	1,6 ± 1,7	4,2 ± 2,5
T2-w SE	1,9 ± 2,5	-
MRT 7 Tage nach LITT		
FLASH	2,0 ± 1,1	3,6 ± 2,2
T1-w SE	2,7 ± 1,5	4,6 ± 2,0
T2-w SE	-0,8 ± 1,9	-

Die Ergebnisse zeigen, dass die Bildqualität durch den Einsatz von Kontrastmitteln wesentlich verbessert werden kann. Sowohl unmittelbar postinterventionell (CNR: 4,2) als auch 7 Tage nach der Intervention (CNR: 4,6) lassen sich die Nekrosen in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten SE-Aufnahmen am besten abgrenzen. Die FLASH-Aufnahmen ergeben die zweithöchste CNR sowohl während der LITT als auch unmittelbar und 7 Tage postinterventionell. Somit sind die kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen und die FLASH-Sequenzen die günstigsten Einstellungen für das Monitoring und die Erfolgskontrolle der Intervention.

### 3.2.6 Magnetresonanztomographische Intensität der Läsion 7 Tage nach LITT

Auch bei den Kontrolluntersuchungen, die 7 Tage nach Thermotherapie erfolgten, waren die Läsionen am besten in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Aufnahmen erkennbar. Die Signalintensität der Zentralnekrose zeigte keine signifikanten Veränderungen. Jedoch kam es 7 Tage nach der Intervention zu einem Verlust der Homogenität der Nekrose, was auf den beginnenden Organisationseffekt mit Fibrosierung des nekrotischen Gewebes zurückgeführt werden kann. Es konnte

eine Zunahme der Intensität des Randsaumes festgestellt werden, so dass sich die Nekrose noch besser vom umliegenden Pankreasgewebe abhob.

In keinem Fall war eine Dilatation des Ductus pancreaticus oder des Ductus choledochus erkennbar. Es waren weder Anzeichen einer generalisierten oder nekrotisierenden Pankreatitis noch einer Peritonitis sichtbar. In keinem Fall waren auf den MRT-Bildern Veränderungen des Pankreasgewebes außerhalb der behandelten Region zu erkennen. In fünf Fällen war eine extrapancreatische Beteiligung feststellbar (Fettgewebe  $n = 3$ , Niere links  $n = 1$ , Milz  $n = 1$ ), die in der makroskopischen Auswertung bestätigt werden konnte. In zwei Fällen kam es zur Schädigung des anliegenden Duodenums mit umschriebener Entzündung, die in der MRT nicht dargestellt wurden. Es ist jedoch davon auszugehen, dass diese Läsionen dadurch entstanden sind, dass die Applikatoren nicht optimal in das Pankreasgewebe eingebracht wurden, da sich die Nekrosen in diesen Fällen in nächster Umgebung zur gewünschten Region befanden.

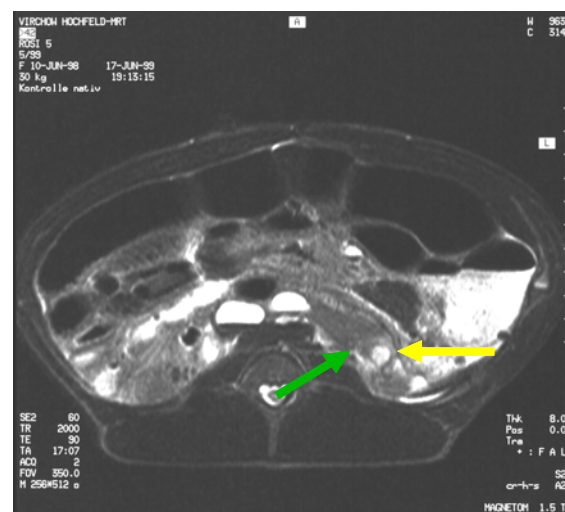
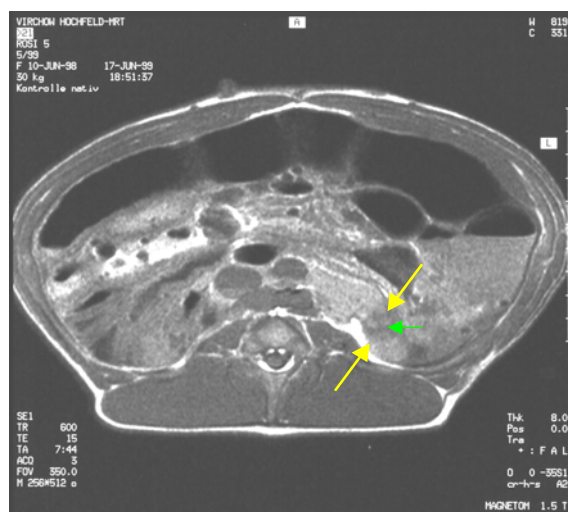


Abb. 18: T1-gewichtete Aufnahme 7 Tage postinterventionem mit gut sichtbarer Nekrose (gelbe Pfeile) und beginnender Organisation der Nekrose erkennbar an der Inhomogenität der Nekrose (grüner Pfeil)

Abb. 19: T2-gewichtete Aufnahme 7 Tage postinterventionem mit deutlich sichtbarer hyperdenser Zentralnekrose (gelber Pfeil) und hyperdensem Randsaum (grüner Pfeil) im Pankreasschwanzbereich

### 3.3 Makroskopische Ergebnisse

#### 3.3.1 Allgemein

Nach Entnahme der Präparate waren die Läsionen von außen nur dann sichtbar, wenn sie sich im Randbezirk des Pankreas befanden. Lagen die Nekrosen zentral, waren nur die Einstichstellen der Sonden zu sehen. Palpatorisch waren die Läsionen gut an einer Verhärtung in dieser Region zu lokalisieren. In Fällen bei denen es zur Schädigung von extrapancreatischem Gewebe kam, waren diese Gewebeanteile mit der Nekrose des Pankreas verschmolzen. Die Läsionen demarkierten sich in den meisten Fällen durch eine Aufhellung im umliegenden Gewebe.

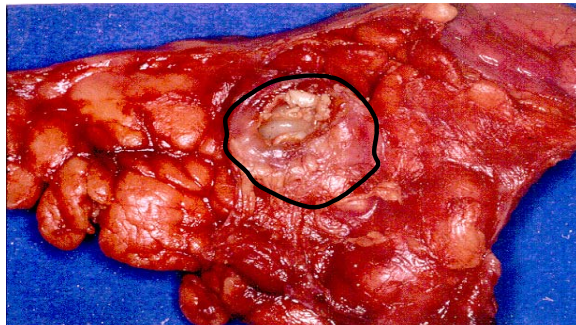


Abb. 20: Frisches Pankreaspräparat mit deutlich sichtbarer Nekrosezone im Zentrum gekennzeichnet durch den schwarzen Kreis

Nach Aufarbeitung der in Formalin fixierten Präparate in Schichten von 5 mm, waren die meist elliptischen bis runden Nekrosen gut an ihrer hellen Farbe zu erkennen. Sie waren umgeben von einem helleren bzw. dunkleren Randsaum. Im Vergleich zur Nekrose war das normale, nicht geschädigte Pankreasgewebe in der Formalinfixierung dunkel.

Somit ließ sich die Nekrose makroskopisch in drei Zonen einteilen:

1. Die Zentralnekrose: Gewebzone unmittelbar um den Applikator, teilweise noch mit sichtbarem Stichkanal des Applikators.
2. Den Randsaum: er schließt sich an die Zentralnekrose an und trennt sie vom makroskopisch nicht geschädigten Gewebe.
3. Das Umgebungsgewebe, welches sich an den Randsaum anschließt.

Diese Nekroseanteile zeigten in den Präparaten unterschiedliche Ausdehnungen, was

in den einzelnen Abschnitten näher gezeigt wird.

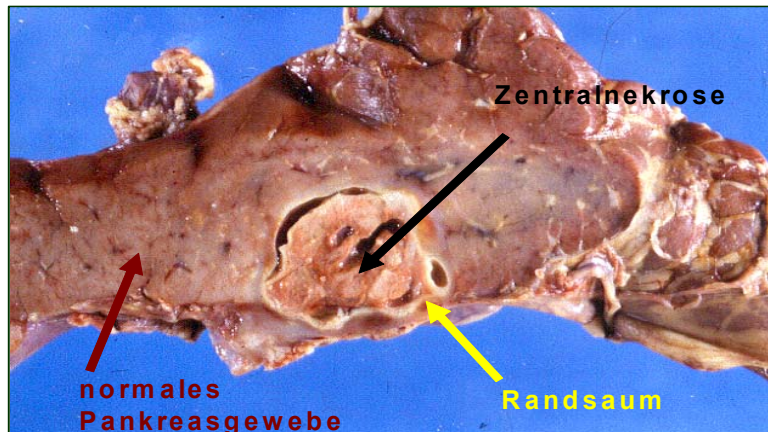


Abb. 21: Schnitt durch ein formalinfixiertes Präparat mit Aufsicht auf die Nekrose

Schon bei der makroskopischen Betrachtung der Präparate wurde deutlich, dass in den Gruppen 1 bis 3 mit steigender Laserleistung eine Vergrößerung der Läsionsgröße erzielt wurde.

In der 4. Gruppe scheint es, als würden mit zwei Applikatoren je 5 Watt ähnliche Nekrosegrößen erreicht wie in der 2. Gruppe, die mit 10 Watt Laserleistung behandelt wurden. Wie schon unter Abschnitt 3.2.4 erläutert, wurde die 4. Gruppe in die Untergruppen 4a (Einzelnekrose), 4b (suboptimale Verschmelzungsnekrose) und 4c (optimale Verschmelzungsnekrose) gesplittet. Nun wurde erkennbar, dass bei Verwendung von zwei 5F-Lasern mit einer Laserleistung von 5 Watt Nekrosegrößen erreicht werden können, wie bei der Anwendung eines 20 Watt Powerlasers.

In der folgenden Graphik sind die Mittelwerte der makroskopisch gemessenen Nekrosegrößen für jede Gruppe und für die Untergruppen 4a bis 4c dargestellt.

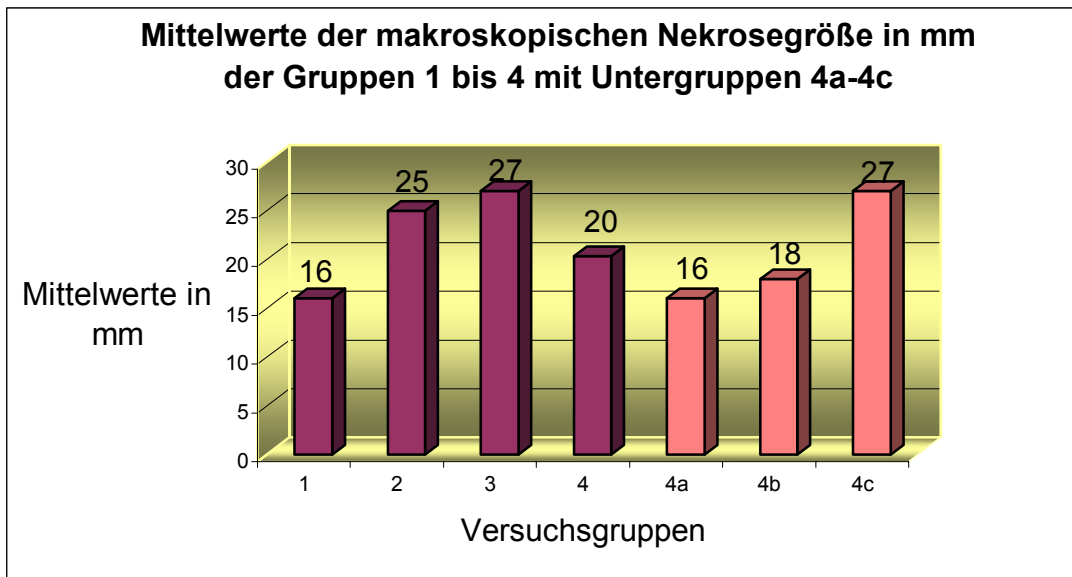


Abb. 22: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Nekrosegrößen in mm der einzelnen Gruppen, mit Unterteilung in 4a (Einzelnekrosen), 4b (suboptimale Verschmelzung) und 4c (optimale Verschmelzungsnekrosen)

Die Nekrosen zeigten eine runde bis ellipsoide Form mit längster Ausdehnung in Richtung des Lasereintritts. Die Nekrosen waren durch ihre helle Farbe gut abgrenzbar. Der dunkle Randsaum, der sich teilweise gezackt darstellte, demarkierte die Nekrose gut vom umliegenden, nicht geschädigten Pankreasgewebe.



Abb. 23: Makroskopischer Schnitt durch das Pankreaspräparat mit deutlich sichtbarer Nekrose mit dunklem Randsaum (gelbe Pfeile) nach Therapie mit einem 5F-Applikator bei 5 Watt über 15 min (Nebenniere, schwarzer Pfeil)

Nach Formalinfixierung demarkierte sich die Nekrose deutlich vom umliegenden

Gewebe durch ihre weiße Farbe und den dunklen Randsaum, der die Nekrose gezahnt umgab.

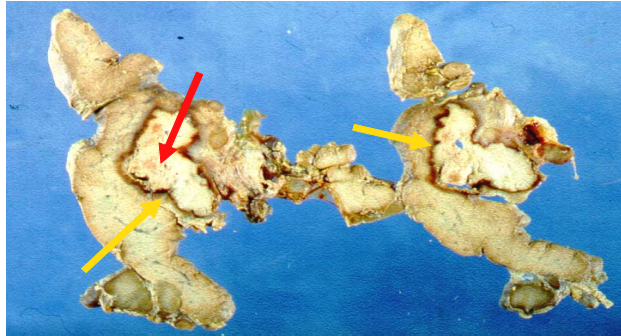


Abb. 24: Makroskopische Schnitte von 5 mm Dicke durch ein formalinfixiertes Pankreaspräparat mit deutlich erkennbarer heller Nekrosezone (roter Pfeil) und dunklem Randsaum (gelbe Pfeile)

Bei Präparaten, die mit dem Powerlaser behandelt wurden, war der Randsaum dunkler und der Einstichkanal des Applikators im Zentrum der Nekrose war deutlich erkennbar. Das umliegende Gewebe zeigte makroskopisch keine Auffälligkeiten.

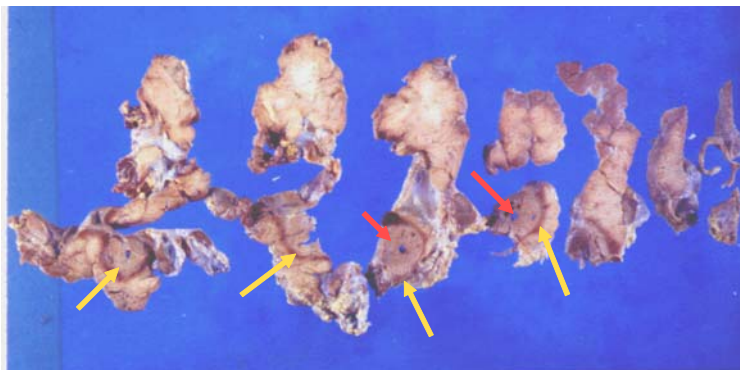


Abb. 25: Makroskopische Schnitte von 5 mm Dicke durch das gesamte Pankreaspräparat mit deutlich erkennbarer Nekrose mit Randsaum (gelbe Pfeile) sowie Einstichkanal im Zentrum (roter Pfeil)

In der 4. Gruppe, die mit zwei 5 French Lasern mit je 5 Watt über eine Dauer von 15 min behandelt wurden, lagen die Nekrosen entweder in verschiedenen Regionen des Pankreas ( $n = 2$ ), lagen teilweise übereinander ( $n = 2$ ) oder lagen so nebeneinander, dass eine große Verschmelzungsnekrose entstand. Die folgende Abbildung zeigt 5 mm starke Schnitte durch das gesamte Pankreaspräparat, wobei die zwei dicht nebeneinander liegenden Nekrosen in zwei aufeinander folgenden Schnitten mit Nekrosezentrum und Randsaum deutlich erkennbar sind und in diesem Fall teilweise ineinander übergehen.



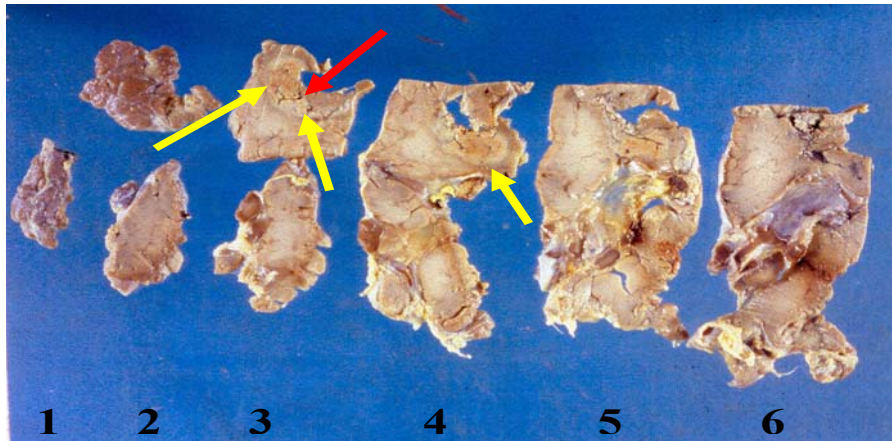


Abb. 26: Makroskopische Schnitte von kranial (links) nach kaudal (rechts) durch ein Präparat: Schnitt 3 zeigt die 1. Nekrose mit Zentrum (roter Pfeil) und Randsaum (gelbe Pfeile), Schnitt 4 zeigt die angrenzende Nekrose ca. 5 mm weiter kaudal.

### 3.3.2 Makroskopische Ergebnisse im zeitlichen Verlauf

Unmittelbar nach Laserapplikation waren die Nekrosen gut abgrenzbar. In den einzelnen Schnitten waren runde, ovoide bis gezackte Läsionen mit noch relativ schwach ausgeprägtem Randsaum und damit schwacher Demarkierung der Nekrose zum umliegenden Gewebe zu erkennen. Dabei war die Läsion weitgehend homogen mit guter Darstellbarkeit des Zentrums. Auch am frischen Präparat war die Nekrose gut sichtbar. Nach Fixierung in Formalin war die Nekrose an ihrer weißen Farbe wahrnehmbar. Mit zunehmender Überlebenszeit der Tiere färbte sich der Randsaum dunkler. Bei den Präparaten, die 7 Tage nach Laserapplikation entnommen wurden, waren die Nekrosen besonders gut durch ihre weiße Farbe abgrenzbar. Nach 7 Tagen hob sich die Nekrose vom umliegenden Gewebe ab, was durch einen schmalen Hohlraum deutlich wird, der durch die Schrumpfung der Nekrose entsteht.

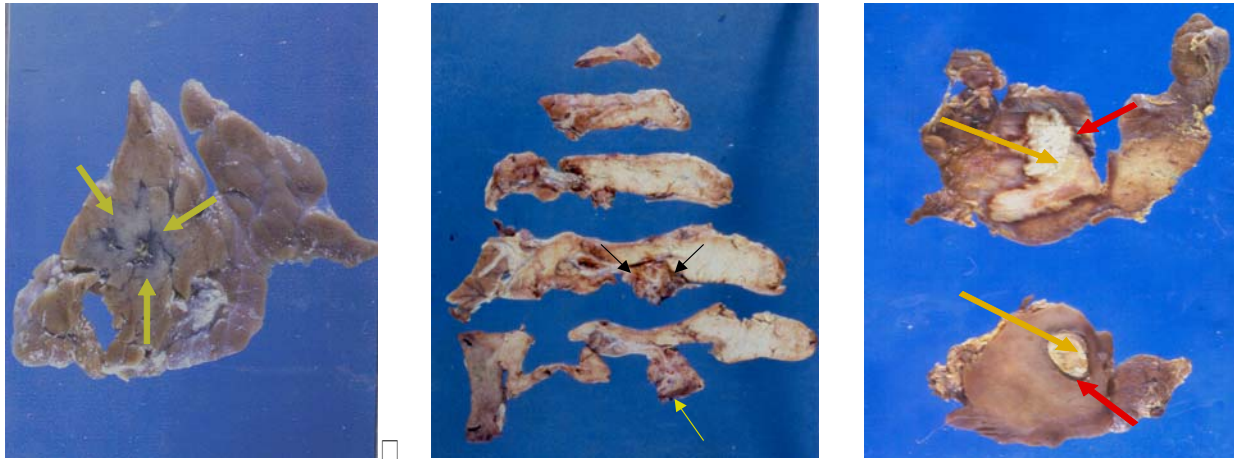


Abb.27: Makroskopischer Schnitt durch ein formalinfixiertes Pankreaspräparat mit Nekrose (Pfeile), entnommen unmittelbar nach LITT

Abb.28: Makroskopische Schnitte von 5 mm Dicke, Entnahme 7 Tage nach LITT mit Nekrose im Korpusbereich (schwarze Pfeile) und deutlichem Randsaum (gelber Pfeil)

Abb.29: Makroskopische Schnitte 7 Tage nach Laserapplikation mit deutlicher Abgrenzbarkeit der Nekrose (gelbe Pfeile) und des dunklen Randsaumes (rote Pfeile)

Bei einigen Präparaten wurde ein Schnitt durch das frische Pankreas vorgenommen um den Schrumpfungsgradienten des Gewebes durch die Formalinfixation zu ermitteln. Dazu wurde die makroskopisch sichtbare Läsion vor und nach Fixierung ausgemessen. Es wurde ein Schrumpfungsgradient von durchschnittlich 8 mm ( $\pm$  2 mm) ermittelt.

### **3.4 Mikroskopische Ergebnisse der histologisch aufgearbeiteten Präparate**

#### **3.4.1 Allgemein**

Bei den entnommenen Präparaten, die in Hämatoxylin-Eosin gefärbt wurden, fanden sich abhängig von der Überlebensdauer der Tiere deutlich abgrenzbare oder weniger umschriebene Nekrosen. Bei zwei Präparaten war der Nekroseherd nicht auffindbar bzw. einer von zwei Herden nach Multiapplikation nicht auffindbar. Bei drei Präparaten waren 2 Nekroseherde miteinander verschmolzen, so dass sich eine Gesamtnekrosegröße von bis zu 40 x 30 mm ergab. Der Koagulationsgrad der Nekrosen war abhängig von der Laserleistung von unterschiedlicher Ausprägung. In allen Präparaten konnte man 3 Zonen unterscheiden:

- 1. Die Zentralnekrose: Die Gewebezone, die unmittelbar um den Hüllkatheter des Lasers lag.
- 2. Den Granulationssaum: Die Gewebezone, die die Zentralnekrose umschließt.
- 3. Die Übergangszone: Diese Zone bildete den Übergang vom Granulationssaum zu nicht geschädigtem Gewebe.

Diese drei Zonen zeigen im zeitlichen Verlauf deutliche morphologische Veränderungen, die in den einzelnen Abschnitten beschrieben werden.

#### **3.4.2 Mikroskopische Ergebnisse in der 1. Gruppe (5F-Applikator, 5 Watt)**

In den histologischen Präparaten waren in der 1. Gruppe die Nekrosen gut abgrenzbar. Bei Präparaten, die mit dem 5F-Applikator mit einer Laserleistung von 5 Watt behandelt wurden, kam es zu Zytoplasmaverschmelzungen, so dass sich nicht mehr alle Zellen voneinander abgrenzen ließen. Der Zellkern war dabei erhalten.

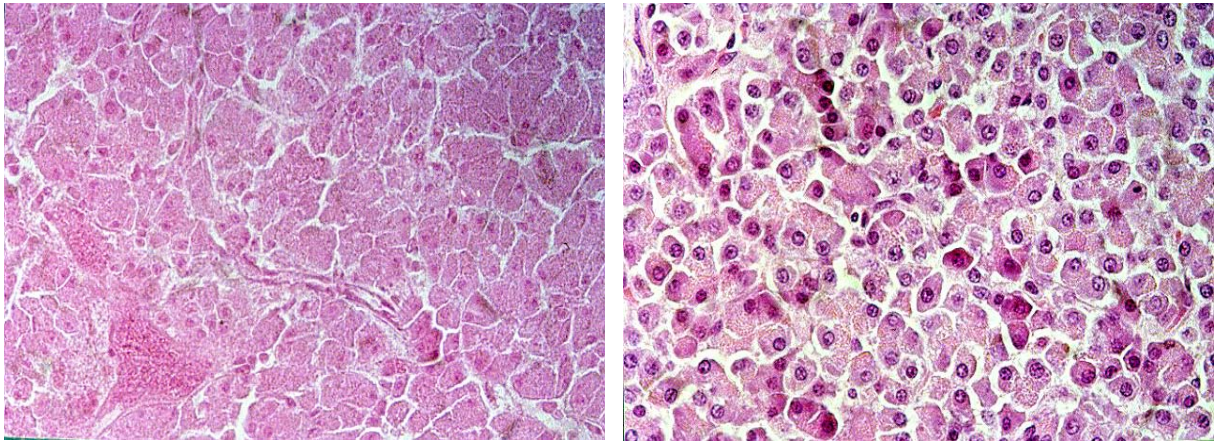


Abb. 30: Zentralnekrose mit Zytoplasmaverschmelzung der Zellen bei einer Laserleistung von 5 Watt, 400fache Vergrößerung

Abb. 310: Ungeschädigtes Pankreasparenchym mit vollständig erhaltenen Zellen, 400fache Vergrößerung

Teilweise kam es auch zu Kernpyknoten, dem beginnenden Kernzerfall. Dabei verdichtet sich der Zellkern und die Chromatinkörnchen werden bei stärkerer Anfärbbarkeit deutlicher sichtbar. Das Volumen des Zellkerns nimmt bei diesem Vorgang ab. Mit zunehmender Regenerierungszeit, das heißt Überlebenszeit der Versuchstiere, kommt es zur Homogenisierung der Zentralnekrose.

Die Nekrosen wurden mit Hilfe eines Binokularmikroskops (Zeiss, Jena) mit Millimetermaßstab ausgemessen. Dabei ergaben sich in dieser Gruppe Nekrosen mit einer Ausdehnung von 9,5 bis 18,25 mm ( $\varnothing = 13,5$  mm,  $m = 11,75$  mm,  $s = 3,65$  mm,  $se = 1,63$  mm). Eine Läsion konnte in dieser Gruppe durch die Lage im extrapankreatischen Fettgewebe nicht vermessen werden. Der mittlere Radius wurde hierbei aus der Länge und Breite mittels der Formel  $r = l \cdot b / 2$  für Kreise ermittelt.

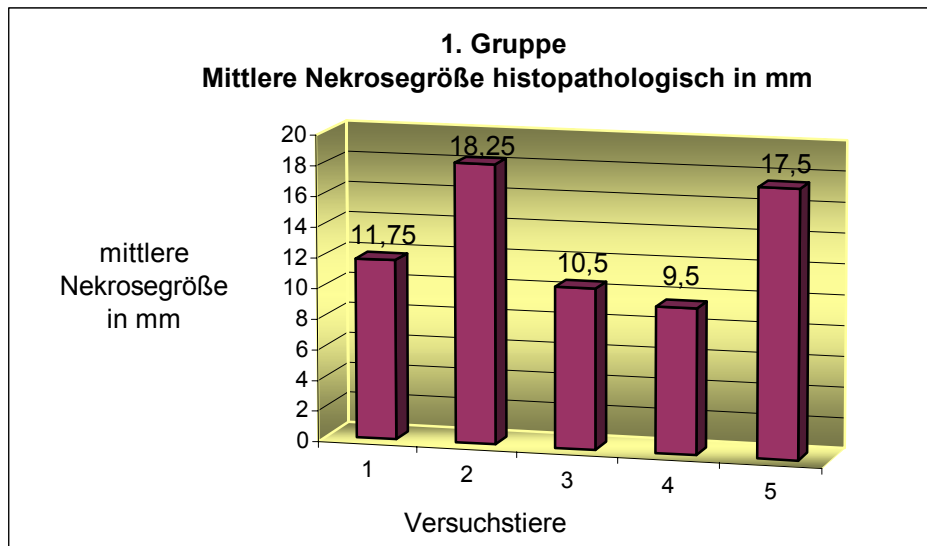


Abb. 32: Graphische Darstellung der histopathologisch ermittelten mittleren Nekrosegrößen in der 1. Gruppe

### 3.4.3 Mikroskopische Ergebnisse in der 2. Gruppe (9F-Applikator, 10 Watt)

Bei Präparaten, die mit dem 9F-Applikator bei einer Laserleistung von 10 Watt behandelt wurden, wurde die Zellstruktur fast vollständig zerstört. Innerhalb der Zentralnekrose waren keine zellulären Strukturen mehr erkennbar. Es waren viele großlumige Vakuolen sichtbar. Dieser Bereich war von einem dünnen Saum von kernhaltigen Parenchymzellen mit einzelnen Vakuolen umgeben. Eine Differenzierung der einzelnen Zellen oder Zellkerne war nicht möglich. In einem Fall kam es auch zu einer Mikroeinblutung ins Gewebe.

In dieser Versuchsgruppe wurden histopathologisch Nekroseausdehnungen von 16 bis 29,5 mm ( $\emptyset = 21$  mm,  $m = 17,5$  mm,  $s = 6,04$  mm,  $se = 3,49$  mm) ermittelt.

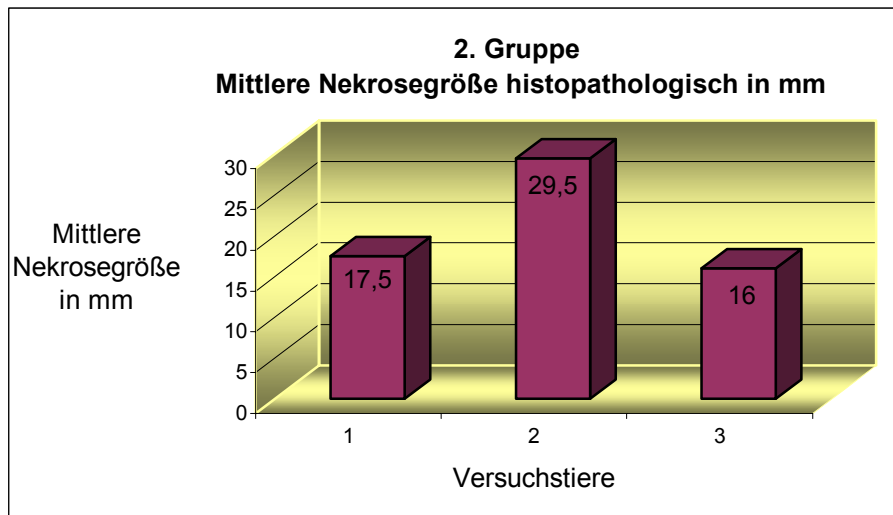


Abb. 33: Graphische Darstellung der histopathologisch ermittelten mittleren Nekrosegrößen in der 2. Gruppe

#### 3.4.4 Mikroskopische Ergebnisse in der 3. Gruppe (9F-Applikator, 20 Watt)

Bei Präparaten, die mit dem 9F-Applikator bei einer Laserleistung von 20 Watt behandelt wurden, kam es zur vollständigen Zerstörung der Zellstruktur. Die zentrale innere Zone der Läsion war charakterisiert durch azelluläres Gewebe, umgeben von entkernten Parenchymzellen und vakuolisiertem Interstitium. Daran schloss sich eine dünne Zone von kernhaltigen Parenchymzellen mit wenigen Vakuolen an. Eine Differenzierung der einzelnen Zellen oder Zellkerne war nicht mehr möglich. Bei zwei Versuchstieren kam es zu Mikroeinblutungen ins Gewebe. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Granulationssaumes, der Übergangszone oder der Gefäßproliferation in Abhängigkeit von der Laserleistung festgestellt werden. In keinem Fall konnte eine Karbonisierung bestimmt werden.



Abb. 34: Mikroskopisches Präparat einer Nekrose nach Laserapplikation mit 20 Watt. Die Pfeile kennzeichnen den Übergang von Nekrosezone zu nicht geschädigtem Gewebe.

In der 3. Gruppe, die mit einem 9 French Laser mit 20 Watt über 15 min behandelt wurde, ergaben sich histopathologisch Nekrosegrößen von 24 und 26 mm ( $\varnothing = 25$  mm,  $s = 1,0$  mm,  $se = 0,71$  mm).

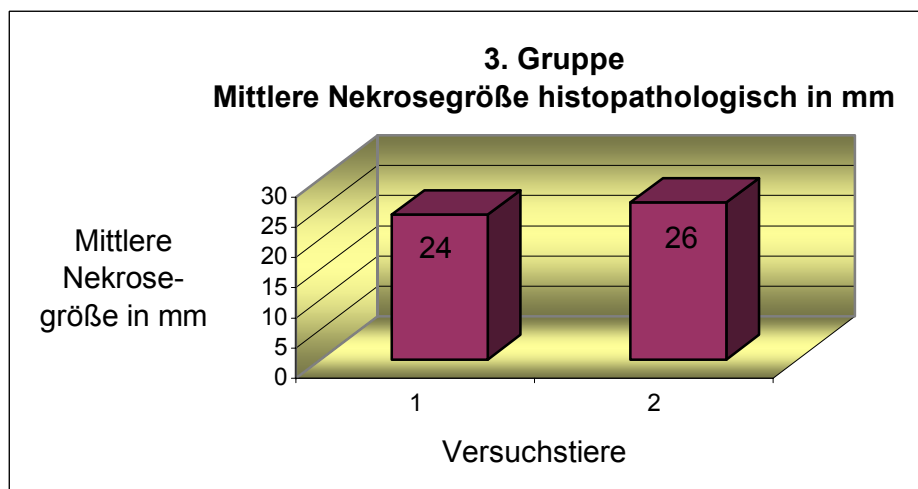


Abb. 35: Graphische Darstellung der histopathologisch ermittelten mittleren Nekrosegrößen in der 3. Gruppe

Im Vergleich zu den ersten beiden Gruppen wird deutlich, dass die Verwendung einer Laserleistung von 20 Watt (doppelte Leistung wie in der 2. Gruppe und 4fache Leistung wie in der 1. Gruppe) nur knapp zu einer Verdopplung der Nekrosegröße im Vergleich zur ersten Gruppe führt ( $\varnothing = 13,5$  mm versus 25 mm). Die Verdopplung der Laserleistung im Vergleich zur 2. Gruppe erzielt jedoch nur weniger als 1/5 Größenzuwachs ( $\varnothing = 21$  mm versus 25 mm). So ist davon auszugehen, dass trotz

steigender Laserleistung nicht eine unbegrenzte Vergrößerung der Nekrosegröße erreichbar ist. Bei kleinen Leistungen scheint das Verhältnis zwischen Leistung und Nekrosegröße noch proportional zu sein, jedoch bei größer werdender Leistung ist der Anstieg der Nekrosegröße zur Leistung dann abnehmend.

### 3.4.5 Mikroskopische Ergebnisse in der 4. Gruppe (zwei 5F-Applikatoren, je 5 Watt)

In der 4. Gruppe wurden zwei 5 French Applikatoren simultan betrieben mit einer Laserleistung von jeweils 5 Watt. Dabei entstanden bei zwei Versuchstieren je zwei Nekrosen, die unabhängig voneinander zu bewerten waren. Bei 3 Versuchstieren entstanden Verschmelzungsnekrosen mit einem mittleren Durchmesser von maximal 35 mm. Morphologisch zeigte sich kein Unterschied zu den bereits beschriebenen Nekrosen.

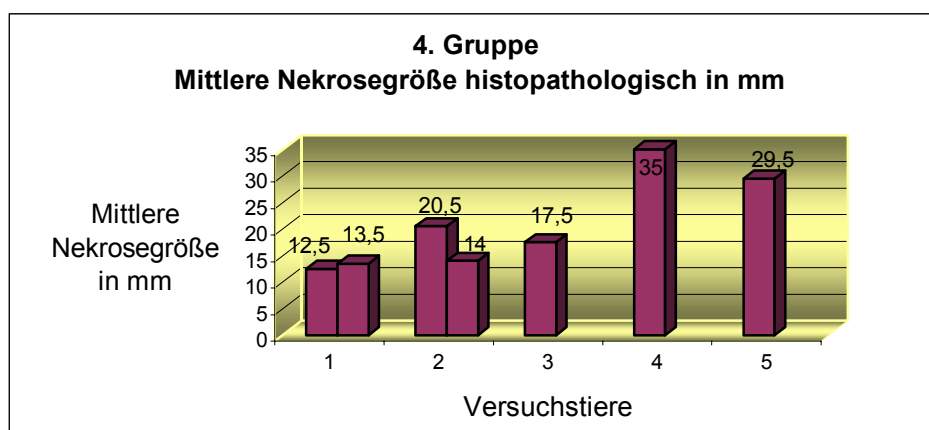


Abb. 36: Graphische Darstellung der histopathologisch bestimmten mittleren Nekrosegrößen in der 4. Gruppe

In dieser Versuchsgruppe wird auch bei den histopathologisch ermittelten Nekrosegrößen deutlich, dass die Einzelnekrosen der 4. Gruppe minimal größer waren als die Nekrosen der 1. Gruppe ( $\varnothing = 13,5$  mm versus  $15,1$  mm). Möglicherweise kommt dieser Effekt durch die gegenseitige Beeinflussung der beiden Thermoquellen aufeinander zustande. Bei den verschmolzenen Nekrosen, die aus zwei Einzelnekrosen entstanden, konnten in der 4. Gruppe Nekrosegrößen erzielt werden, die mit durchschnittlich  $27,3$  mm versus  $25$  mm größer waren als in der 3. Gruppe (20 Watt).



Die Ermittlung der Mittelwerte, Mediane, Standardabweichung und Standardfehler hat in dieser inhomogenen Gruppe nur untergeordnete Bedeutung, wurde aber der Vollständigkeit halber aufgeführt.

### **3.4.6 Mikroskopische Ergebnisse im zeitlichen Verlauf**

Bei Präparaten, die unmittelbar nach LITT entnommen wurden (n = 6), bestand die Zentralnekrose aus teilweise stark zerstörten Zellen mit Zellkernpyknosen und Zytoplasmaeinschmelzung und Zellen, die den Zellkontakt zueinander verloren hatten und so aus ihrem Zellverband herausgelöst waren. Die Gewebezeichnung war verwischt und das Zytoplasma der betroffenen Zellen war gegenüber dem gesunden Pankreasgewebe stärker eosinophil. Das Bindegewebe im Bereich der Zentralnekrose war als Zeichen der Kollagendenaturierung stärker basophil gefärbt als im nicht geschädigten Pankreasgewebe.

An die Zentralnekrose schließt sich die Übergangszone an, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass die Zellen ödematös aufgetrieben wirken und sich das Zytoplasma heller darstellt. Diese ödematöse Schwellung um die Zentralnekrose war bereits einige Stunden nach LITT gut zu differenzieren. Es zeigte sich keine exakte Abgrenzung zwischen Übergangszone und nicht geschädigtem Gewebe. Bei diesen Präparaten war um die Zentralnekrose schon nach wenigen Stunden eine beginnende Granulozyteneinwanderung zu erkennen ohne Ausbildung eines echten Granulationssaumes. Ebenfalls kam es zur Einwanderung von Erythrozyten und somit zur Bildung eines gemischten hämorrhagisch-granulozytären Randsaumes. In keinem Fall war eine ausgeprägte generalisierte Pankreatitis erkennbar. Abzugrenzen war lediglich eine leichte entzündliche Reaktion im Sinne einer Granulozyteneinwanderung in der direkten Umgebung der Läsion oder gar keine Beeinträchtigung des angrenzenden Parenchyms.

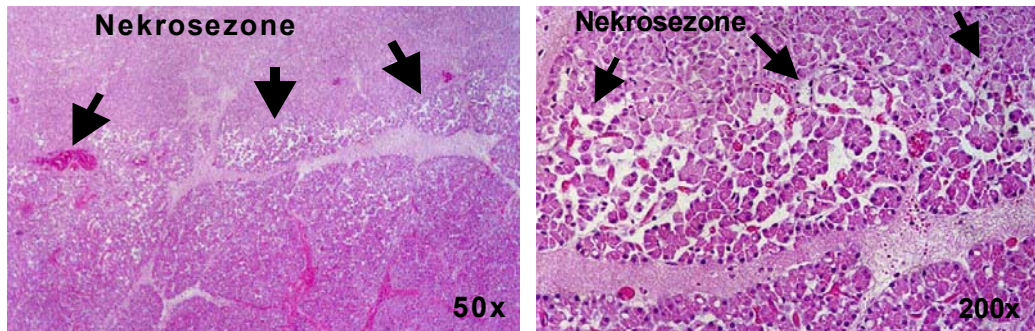


Abb. 37/ 38: Mikroskopisches Präparat einer Nekrose unmittelbar nach LITT, der Nekroserand ist deutlich erkennbar (schwarze Pfeile) in 50facher und 200facher Vergrößerung

Bei den Präparaten der Tiere bei denen die Kontrolluntersuchung nach 7 Tagen stattfand ( $n = 9$ ), war auffallend, dass ein deutlicher, durchgehender Wall aus Granulozyten um die Nekrose ausgebildet war. Dieser Granulozytenwall hatte eine Breite zwischen 0,5 - 4 mm und war zudem hyperämisch mit einer deutlichen kapillären Gefäßproliferation und Einwanderung von Erythrozyten. Diese scheinen der Diapedese von Entzündungszellen für den Abbau der Nekrose zu dienen. Somit war die Nekrose jetzt gut vom umliegenden gesunden Gewebe abgrenzbar. In einigen Präparaten konnten fibroblastische Zellen nachgewiesen werden. Bei zwei Präparaten waren die Nekrosen schon fast vollständig bindegewebig ersetzt worden. In diesen Fällen war der Granulationssaum, bedingt durch eine Vermehrung des Faseranteils bei gleichzeitiger Verringerung der Zellzahl, nicht mehr zu erkennen. Die Zentralnekrosen stellten sich, bedingt durch die Abnahme der Anfärbarkeit der Zellkerne, zunehmend homogen dar.

Bei diesen Präparaten war mikroskopisch erkennbar, dass sich die Nekrose vom umliegenden Gewebe abhob, das heißt sich ein Riss im Gewebe bildete. Dieses Phänomen kann als Rückgang des postinterventionellen Ödems und als Folge der beginnenden Organisation der Nekrose gewertet werden. Thrombosierte Gefäße waren im umgebenden Pankreasparenchym nicht zu finden.

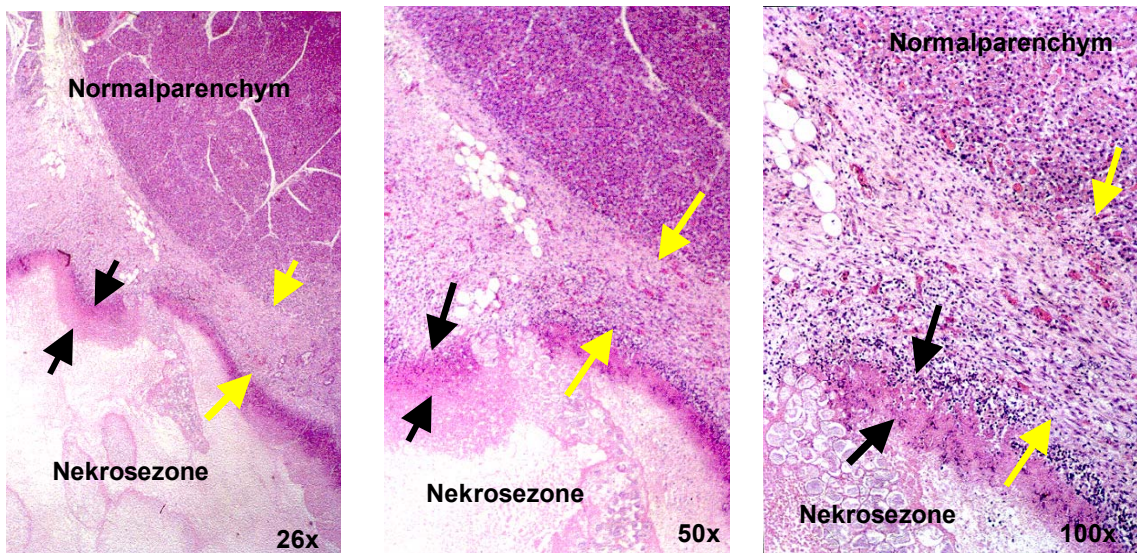


Abb. 39/ 40/ 41: Nekrose 7 Tage nach LITT mit Granulozytenwall (schwarze Pfeile), Übergangszone (gelbe Pfeile) in 26facher, 50facher und 100facher Vergrößerung

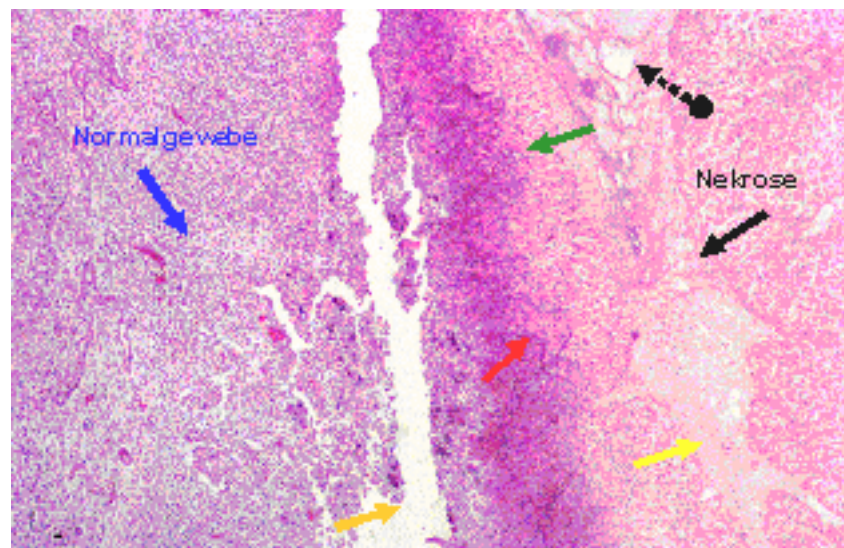


Abb. 42: Nekroseübergang mit Abhebung der Nekrose vom umliegenden Gewebe (oranger Pfeil), Normalgewebe (blauer Pfeil), Nekrosezone (schwarzer Pfeil). Ebenfalls gut erkennbar sind die hypervaskularisierte Granulationszone (grüner Pfeil) mit einsprossenden Kapillaren (roter Pfeil) sowie die Vakuolen innerhalb der Nekrose (schwarzer Pfeil mit Punkt) und die beginnende bindegewebige Durchsetzung der Nekrosezone (gelber Pfeil) bei 50facher Vergrößerung.

### 3.4.7 Beurteilung des Ductus pancreaticus

Unsere besondere Aufmerksamkeit galt den Pankreasgängen, da ihre Strukturerhaltung wesentlich für die weitere Funktionstüchtigkeit des Organs ist. Die Pankreasgänge, insbesondere der Ductus pancreaticus, zeigten in Abhängigkeit von der Entfernung zur Nekrose unterschiedliche Reaktionen. Bei einem Abstand der Ducti von der Zentralnekrose von 2 cm waren die Zylinderepithelien nicht destruiert.

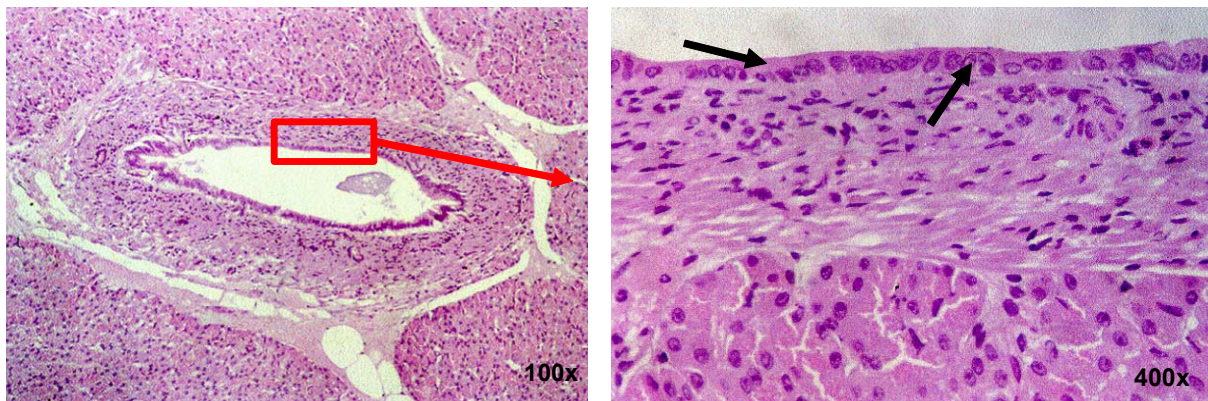


Abb. 43: Nicht geschädigter Pankreasgang in einem Abstand von 2 cm zur Zentralnekrose mit intaktem Gangepithel und vollständig erhaltener Ganglichtung, 100fache Vergrößerung

Abb. 44: Vergrößerungsausschnitt mit vollständig intaktem Gangepithel (schwarze Pfeile) und nicht geschädigtem umliegendem Pankreasparenchym, 400fache Vergrößerung

Wenn sich die Pankreasgänge nahe der Nekrose befanden, war das Epithel leicht von der darunterliegenden Gewebeschicht abgehoben oder abgeschilfert und es fanden sich sowohl in der Wand des Ganges, als auch in dessen Lichtung wenige Entzündungszellen vor allem segmentkernige Granulozyten und Lymphozyten, sowie Becherzellen.

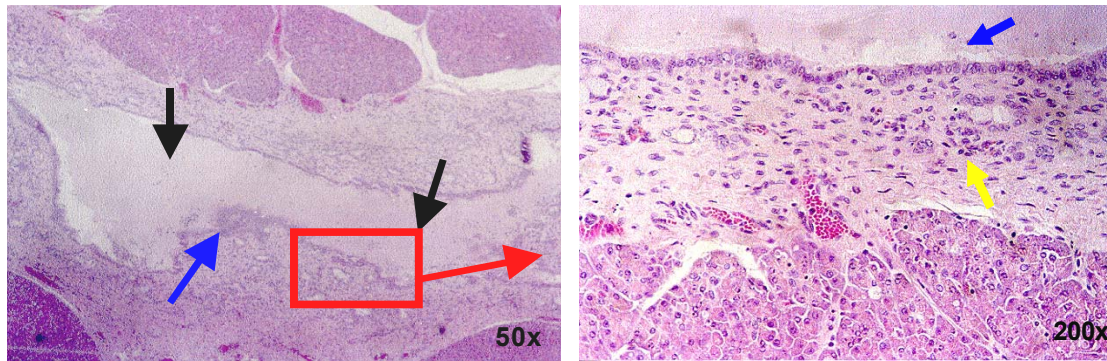


Abb. 45: Leicht alterierter Pankreasgang in einem Abstand von 10 mm zur Zentralnekrose (schwarze Pfeile) mit leichter Epithelabschilferung (blauer Pfeil), 50fache Vergrößerung

Abb. 46: Vergrößerungsausschnitt mit leichter Epithelabschilferung (blauer Pfeil) und Granulozyten (gelber Pfeil) in unmittelbarer Umgebung des Ganges, 200fache Vergrößerung

Am stärksten geschädigt waren Gänge, die sich direkt in der Nekrosezone befanden. Hier war das Gangepithel wellenförmig vom umliegenden Parenchym abgehoben und es war Sekret in der Ganglichtung zu finden. Insgesamt waren die Gänge jedoch nicht gestaut und es waren nur gering- bis mäßiggradig entzündliche Infiltrate zu finden. Der Ductus pancreaticus war bedingt durch die Schnittführung nicht in allen Präparaten darstellbar.

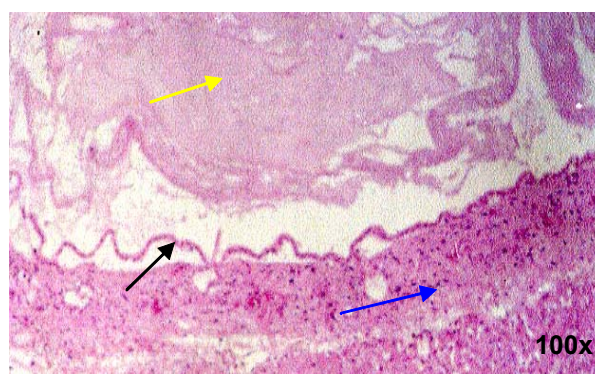


Abb. 47: Destruierter Pankreasgang im Zentrum der Nekrose, abgehobenes Gangepithel (schwarzer Pfeil), Sekret in der Ganglichtung (gelber Pfeil), umgebende Nekrose (blauer Pfeil)

### 3.4.8 Beurteilung weiterer Gewebestrukturen

In einzelnen Präparaten fanden sich aktivierte Lymphknoten mit Sekundärfollikeln als Ausdruck einer lokalen Entzündungsreaktion und Aktivierung des Umgebungsgewebes.

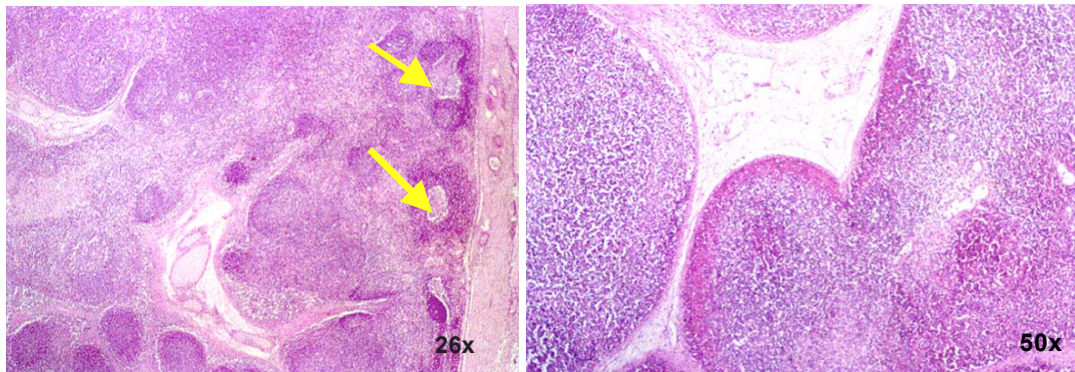


Abb. 48/ 49: Aktivierter Lymphknoten mit Sekundärfollikeln (gelbe Pfeile) bei 26facher und 50facher Vergrößerung

In 5 Präparaten wurden kleine lokale Einblutungen in das Parenchym gefunden, wobei nicht vollständig geklärt werden konnte, ob diese Einblutungen durch das Einbringen der Applikation, die Lasertherapie oder erst post mortem durch die Entnahme des Pankreas entstanden sind. Bei einem Präparat war die linke Niere mit der Nekrose verschmolzen und bei einem anderen Versuchstier war die Milz geschädigt worden. Bei zwei Präparaten lag das Duodenum innerhalb der Koagulationszone.

### **3.5 Vergleichsbetrachtungen**

#### **3.5.1 Lineare Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der magnetresonanztomographischen und histopathologischen Nekrosegröße in den Gruppen 1 bis 3**

Zur Feststellung möglicher Zusammenhänge zwischen den Untersuchungsgrößen Laserleistung und Nekrosegröße wurden erste Signifikanz- und Korrelationsanalysen mit den Einzelwerten der Nekrosegrößen und den Nekrosemittelwerten der Gruppen 1 bis 3 durchgeführt. Die Ergebnisse der 4. Gruppe, die mit zwei Lasern behandelt wurde, wurden aufgrund ihrer inhomogenen Zusammensetzung getrennt untersucht.

Es erfolgte zunächst eine lineare Korrelationsanalyse nach Pearson mittels SPSS-Verfahren, das neben den linearen Korrelationskoeffizienten auch die entsprechenden Signifikanzen ausweist.

Die statistische Signifikanz gibt an, wie groß die Wahrscheinlichkeit ( $p$ ) ist, dass der Unterschied zwischen Messgrößen einer Messreihe unter gleichen Versuchsbedingungen nicht zufällig, das heißt unwahrscheinlich ist. Der Grad der zu prüfenden Unwahrscheinlichkeit wird vorher festgelegt und mit  $\alpha$  bezeichnet. Für  $\alpha = 0,05$  ist die Irrtumswahrscheinlichkeit 5%. Aus den Berechnungsergebnissen unserer Untersuchungen ergibt sich, dass der Größenunterschied der gemessenen Nekrosen innerhalb der jeweiligen Versuchsreihe (5 Watt, 10 Watt, 20 Watt) nicht zufällig ist, d.h. die Nullhypothese (es liegen zufällige Ergebnisse vor) abzulehnen ist. Die Alternativhypothese: die Unterschiede der Nekrosegrößen sind nicht zufällig, kann zweifelsfrei angenommen werden.

Dabei ergaben sich für die lineare Korrelationsanalyse der Gruppen 1 - 3 folgende Korrelationskoeffizienten (r) und Signifikanzen (p), (NG- Nekrosegröße):

Tab. 8: Korrelationseffizienten und entsprechende Signifikanzen bei linearer Korrelation zweier Variablen.

Variable 1	Variable 2	Korrelationskoeffizient ( r )	Signifikanz (p)
Einzel-NG MRT thermo-Flash	Laserleistung	0,75	0,00585
Mittelwert NG MRT thermo-Flash	Laserleistung	0,82	
Einzel-NG MRT T1 mit KM	Laserleistung	0,75	0,00605
Mittelwert NG MRT T1 mit KM	Laserleistung	0,80	
Einzel-NG Histologie	Laserleistung	0,69	0,0121
Mittelwert NG Histologie	Laserleistung	0,93	
Einzel-NG MRT thermo-Flash	Einzel-NG Histologie	0,71	0,01025
Mittelwert NG MRT thermo-Flash	Mittelwert NG Histologie	0,97	
Einzelwert NG MRT T1 mit KM	Einzel-NG Histologie	0,89	0,0003
Mittelwert NG MRT T1 mit KM	Mittelwert NG Histologie	0,96	

Die Signifikanzen der einzelnen Versuchsreihen zeigen Werte  $p \ll 0,05$ . Die Korrelationskoeffizienten sowohl für die Einzelwerte als auch die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zeigen, dass zwischen den verwendeten Laserleistungen und der Nekrosegröße bei allen drei Auswertungsverfahren ein deutlicher Zusammenhang besteht. Die zugehörigen Korrelationskoeffizienten  $r = 0,69$  bis  $0,75$  der linearen Regression eröffnen die Möglichkeit einer näherungsweisen Berechnung von Nekrosegrößen in Abhängigkeit von der Laserleistung in der Form:  $\emptyset$  Nekrosegröße = f (Laserleistung).

Die Korrelationskoeffizienten aus den Verfahrensvergleichen:

1. MRT thermo-Flash - Histologie
2. MRT T1 mit KM - Histologie

zeigen die grundsätzliche Eignung beider Magnetresonanztomographieverfahren als mögliche Ersatz- oder Kombinationsverfahren für die Histologie. Die beste



Übereinstimmung wird dabei mit den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen ( $r = 0,89$ ,  $p = 0,0003$ ) erreicht. Ermittelt man die Korrelationskoeffizienten aus den Mittelwerten, so ergibt sich eine noch höhere Übereinstimmung ( $r = 0,96 - 0,97$ ). Im Vergleich zur Histologie werden die Nekrosegrößen in der MRT mit hinreichender Genauigkeit dargestellt. Inwieweit die Genauigkeit aus den Mittelwerten scheinbar oder tatsächlich ist, kann nur durch weitere, gut geplante Versuchsreihen nachgewiesen werden. Zu vermuten ist, dass die Genauigkeit mit steigender Zahl der Versuchswerte steigt.

### **3.5.2 Weiterführende Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in der MRT in den Gruppen 1 bis 3**

Bereits durch die lineare Regressionsanalyse wurde bestätigt, dass mit steigender Laserleistung eine Zunahme der Nekrosegröße sowohl in den thermo-Flash-Sequenzen als auch in den T1-gewichteten kontrastmittelverstärkten Sequenzen eintritt. Um zu untersuchen, ob noch eine bessere Korrelation zwischen Nekrosegröße und Laserleistung erreichbar ist, wurden zusätzlich zu der linearen Regression auch folgende Approximationen untersucht:

1. polynomisch
2. logarithmisch
3. exponentiell

Im Ergebnis dieser Untersuchungen zeigte sich, dass die logarithmische Regression die besten Korrelationskoeffizienten ergab. Dies entspricht auch am ehesten dem physikalischen Verständnis der thermodynamischen Wärmeableitung im Zellgewebe. Wie die nachfolgende Grafik zeigt, ist durch die Erhöhung der Laserleistung nicht unbegrenzt eine proportionale Vergrößerung der Nekrosegröße zu erreichen.

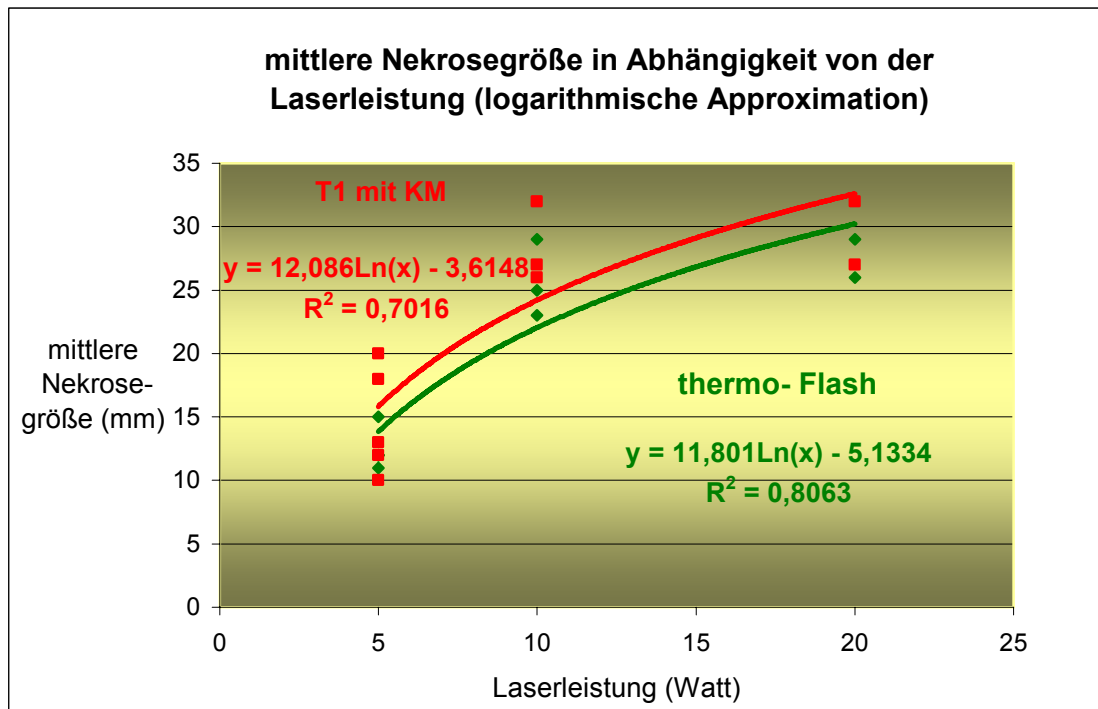


Abb. 50: Graphische Darstellung der mittleren Nekrosegröße in thermo-Flash und T1-gewichteten kontrastmittelverstärkten MRT Sequenzen in Abhängigkeit von der Laserleistung

In der Grafik ist deutlich erkennbar, dass mit steigender Laserleistung eine signifikante Vergrößerung der induzierten Läsion erreicht wurde. Dies gilt sowohl in den thermo-Flash-Sequenzen als auch in den T1-gewichteten kontrastmittelverstärkten Sequenzen. Durch die Anwendung der logarithmischen Regressionsgleichung ist der Korrelationskoeffizient zwischen Laserleistung und Nekrosegröße größer als bei der linearen Regression. Für kontrastmittelverstärkte T1-gewichtete Sequenzen ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,83$  ( $\sqrt{0,7016}$ ) im Gegensatz zur linearen Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,75$ .

Für die thermo-Flash-Sequenzen ergibt sich bei logarithmischer Regression ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,90$  ( $\sqrt{0,8063}$ ) im Gegensatz zu linearen Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,75$ . Beide logarithmischen Korrelationskoeffizienten gestatten somit eine genauere Berechnung der zu erwartenden Nekrosegröße bei Verwendung einer bestimmten Laserleistung als die entsprechenden linearen Koeffizienten. Aufgrund der geringen Anzahl vorhandener Versuchspunkte kann das Ergebnis noch nicht als statistisch gesichert angesehen werden. Wie bereits in Absatz 3.5.1. vermerkt, dürfte sich die Korrelationsgenauigkeit

bei Erhöhung der Fallzahl >10 weiter erhöhen und somit die Berechnungsgenauigkeit Nekrosegröße= f (Laserleistung) weiter verbessern.

### 3.5.3 Weiterführende Vergleichsbetrachtungen zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in den histopathologischen Präparaten in den Gruppen 1 bis 3

Die gleichen Untersuchungen wie oben gezeigt, wurden zwischen der Laserleistung und der histopathologisch ermittelten Nekrosegröße vorgenommen. Auch hier ergab sich für die logarithmische Regression der größte Korrelationskoeffizient.

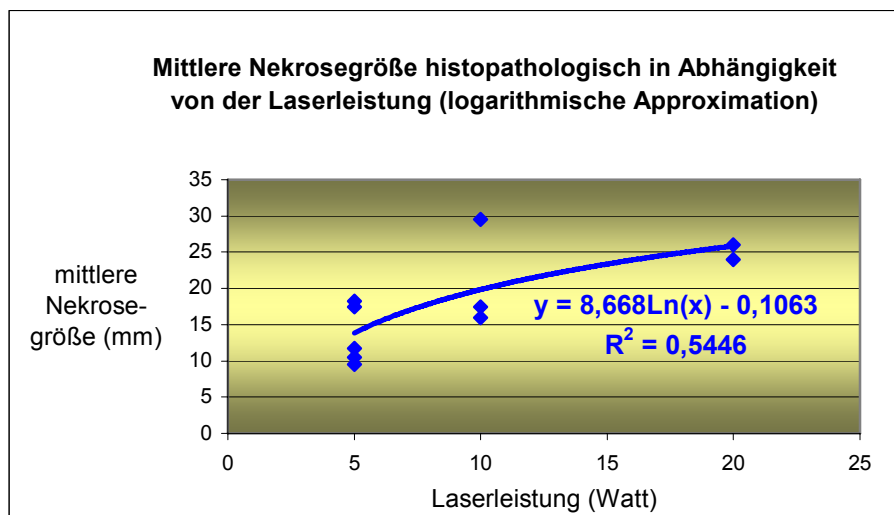


Abb. 51: Graphische Darstellung der histopathologisch ermittelten mittleren Nekrosegröße in Abhängigkeit von der Laserleistung der Gruppen 1 – 3

In der Grafik ist wieder deutlich erkennbar, dass mit steigender Laserleistung die Größe der Nekrose zunimmt. Die dargestellte Regressionsgleichung zeigt den logarithmischen Zusammenhang zwischen der Laserleistung und der histopathologisch ermittelten Nekrosegröße. Auch hier spiegelt die logarithmische Approximation am besten die Beziehung zwischen den beiden Messgrößen wider. Der Korrelationskoeffizient beträgt  $r = 0,74$  ( $\sqrt{0,5446}$ ) und ist damit größer als in der linearen Korrelation mit  $r = 0,69$ .

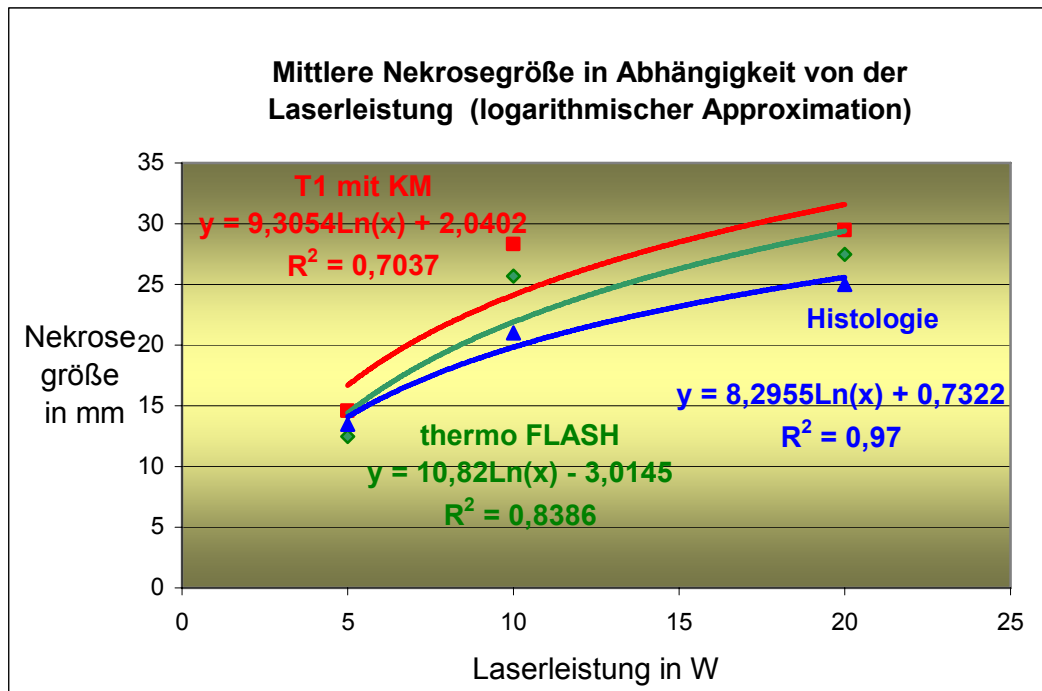


Abb. 52: Graphische Darstellung der magnetresonanztomographisch und histopathologisch ermittelten mittleren Nekrosegröße in Abhängigkeit von der Laserleistung der Gruppen 1 - 3

Vergleicht man, wie in der oben dargestellten Grafik erkennbar, die Mittelwerte der Nekrosegrößen aus magnetresonanztomographischer und histopathologischer Auswertung, erkennt man, dass sich die drei logarithmischen Kurven fast parallel zueinander verhalten. Die histopathologischen Nekrosen sind auf gleich bleibendem Niveau in den meisten Fällen kleiner als die der Magnetresonanztomographie.

So wurde gezeigt, dass mit den bildgebenden Verfahren eine ähnliche Genauigkeit erreicht wird, wie mit dem bisher herkömmlichen optischen Kontrollverfahren der histopathologischen Auswertung von operativen Resektaten.

Für die praktische Anwendung bedeutet das, dass man mit dem Monitoringverfahren der Magnetresonanztomographie mindestens mit der Sicherheit die Nekrosegröße darstellen kann, wie sie mit der Histopathologie bestätigt wird.

Vergleicht man nun die ermittelten Korrelationskoeffizienten der beiden auswertenden Methoden (Magnetresonanztomographie und Histopathologie), erkennt man, dass die T1-gewichtete Sequenzen mit  $r = 0,84$  ( $\sqrt{0,7037}$ ) und die thermo-FLASH-Sequenzen mit  $r = 0,92$  ( $\sqrt{0,8386}$ ) die Ergebnisse der Histopathologie mit  $r = 0,98$  ( $\sqrt{0,97}$ ) widerspiegeln. Die Nekrosegrößen der thermo-FLASH-Sequenzen liegen dabei näher

an denen der Histopathologie. Das die Magnetresonanztomographie auch tatsächlich die Nekrosegröße wiedergibt, konnte bereits in den linearen Korrelationen zwischen beiden Messverfahren gezeigt werden.

#### **3.5.4 Vergleichsanalyse zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße in der MRT und Histopathologie in den Gruppen 1 bis 4**

Wie schon in den oberen Abschnitten demonstriert, kann man die Ergebnisse der 4. Gruppe, die mit zwei Applikatoren mit je 5 Watt behandelt wurden, nicht direkt mit den Ergebnissen der Gruppen 1 bis 3 vergleichen.

Bei 2 Versuchstieren (Untergruppe 4a) war der Abstand der Applikatoren zu weit voneinander entfernt, so dass die Nekrosen keine Verbindung zueinander hatten. Die Nekrosen müssen deshalb als einzelne Läsionen betrachtet werden, die durch die Laserleistung von 5 Watt entstanden sind. Die Durchmesser der Mehrzahl dieser Einzelläsionen sind jedoch größer, als die Nekrosedurchmesser, die mit dem Einzelapplikator bei 5 Watt erzielt wurden, aber liegen unter den Werten der Läsionen, die mit dem 10-Watt-Applikator erzeugt wurden. Deshalb kann man davon ausgehen, dass eine Vergrößerung der Nekrosegröße durch die gegenseitige Beeinflussung der Thermoquellen erfolgt.

Das 3. Versuchstier (Untergruppe 4b) muss gesondert bewertet werden. Hier lagen die beiden Applikatoren nahezu aufeinander, so dass sich noch kein wesentlicher additiver Effekt durch die beiden Energiequellen ergab und auch nur eine Nekrosegröße von 17,5 mm Durchmesser erzielt wurde. Diese Nekrosegröße liegt ebenfalls zwischen den Nekrosegrößen der Einzelapplikatoren mit 5 Watt und 10 Watt.

Bei den beiden letzten Versuchstieren (Untergruppe 4c) lagen die Applikatoren optimal beieinander. Die Nekrosen konnten zu einer gemeinsamen Nekrose verschmelzen und eine maximale Ausdehnung von 36 mm im Durchmesser erreichen. Dieser Nekrosedurchmesser lag sogar über dem des Einzelapplikators mit 20 Watt.

Damit konnte gezeigt werden, dass bei einer optimalen Positionierung von Zweifachapplikatoren größere Nekrosedurchmesser mit kleinerer Gesamtlaserleistung erzielt werden können. Leider ist die optimale Platzierung der Applikatoren nicht in allen Versuchen der 4. Gruppe gelungen.

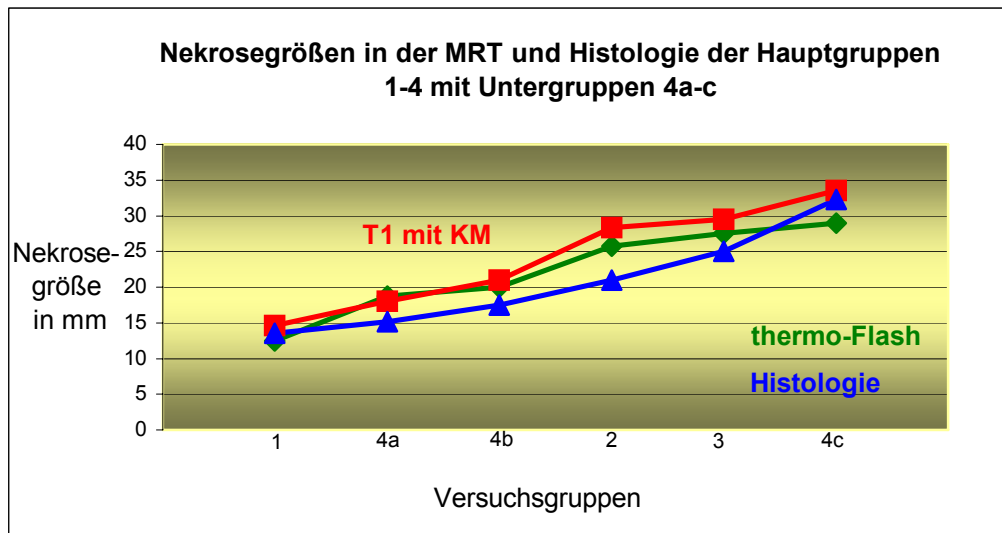


Abb. 53: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Nekrosegrößen in den Gruppen 1 bis 4 mit Untergruppen 4a - 4c in der MRT (T1 mit KM und thermo-Flash) sowie Histologie

In der Abbildung wird die oben beschriebene Einordnung der Untergruppen a bis c der 4. Gruppe deutlich. Auch bei dieser inhomogenen Gruppe bleiben die oben genannten Gesetzmäßigkeiten nahezu vollständig erhalten.

## 4 Diskussion

### 4.1 Aktuelle Situation

Das Pankreaskarzinom ist in Mitteleuropa mit einer steigenden Inzidenz von 2 - 10/100.000 Einwohner/ Jahr die vierthäufigste Ursache der krebsbedingten Todesfälle. Somit sind 5 - 10% aller Krebstodesfälle durch das Pankreaskarzinom bedingt [5, 20, 46]. Da sich erst spät Symptome manifestieren, sind bei Diagnosestellung bereits 85% der Patienten inoperabel. Das Schicksal der betroffenen Patienten wird durch die Ausdehnung des Karzinoms auf das Pankreas bestimmt. Nur 20% der Tumoren sind bei Erstdiagnose auf das Pankreas begrenzt, denn Pankreaskarzinome neigen dazu, frühzeitig benachbarte Gefäßstrukturen und Organe zu infiltrieren und somit die Operabilität weiter herabzusetzen. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind bereits bei 50% der Patienten synchron Lymphknotenmetastasen vorhanden. Die häufigsten Fernmetastasen lassen sich in der Leber finden.

Die Prognose des Pankreaskarzinoms ist äußerst schlecht. Die mittlere Überlebenszeit beträgt 8 - 12 Monate [1]. Die 5-Jahres-Überlebensrate bei Pankreaskarzinomen beträgt nur 4% und auch bei komplett resezierten Pankreaskarzinomen beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate lediglich 5 - 20% und die mediane Überlebenszeit 13 - 25 Monate abhängig vom Tumorstadium, Lymphknotenstatus und eventuellen adjuvanten Therapiemaßnahmen [47, 48]. Patienten mit Pankreaskarzinom sind häufig älter als 60 Jahre und so kommen neben der Diagnose des Pankreaskarzinoms noch weitere Begleiterkrankungen, hohe Morbidität und postoperative Mortalität hinzu.

Das einzige Therapieverfahren mit primär kurativer Zielsetzung bei Pankreaskarzinomen ist derzeit die chirurgische Resektion. Doch bedingt durch die frühe peripankreatische Ausbreitung des Tumors, durch die frühe Fernmetastasierung sowie den allgemeinen klinischen Zustand der betroffenen meist älteren Patienten kommen nur 15% der Patienten für die chirurgische Resektion in Frage. Die Operationsletalität bei einer partiellen Duodenopankreatektomie (Operation nach Whipple) beträgt auch in erfahrenen Zentren noch 5 - 10%. Entscheidend für den rezidivfreien Verlauf nach chirurgischer Resektion ist die Sicherstellung eines tumorfreien Resektionsrandes (R0-Resektion) sowie der Ausschluss von Metastasen. Auch andere minimalinvasive Verfahren wie die perkutane Alkoholinjektion, die Chemoembolisation und Verfahren mittels Cryotherapie und Mikrowellen sowie die Radiofrequenzablation stehen zur Behandlung von Tumoren mit geringer Ausdehnung

zur Verfügung. So wurde zum Beispiel die Mikrowellenkoagulation zur Behandlung von Lebertumoren vorgestellt. Doch scheint diese Therapieoption für Pankreaskarzinome nicht geeignet, da es schwierig ist eine homogene Temperatur zu erreichen und den Temperatureffekt auf den zu therapierenden Bereich zu beschränken, was am Pankreas mit enger Beziehung zum Gallengang- und Pankreasgang sowie zu großen Gefäßen von besonderer Bedeutung ist [49].

Nach unserem Kenntnisstand gibt es derzeit keine Ergebnisse zur laserinduzierten Thermotherapie des Pankreas [50, 51, 52, 53].

Eine Verlängerung der Überlebenszeit der Patienten durch diese minimalinvasiven Verfahren scheint kaum möglich wie Untersuchung von Matsui et al zeigen. Die Anwendung der Radiofrequenzablation bei nichtresektablen Pankreaskarzinomen bewirkte im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Verlängerung der Überlebenszeit. Ursächlich hierfür kann auch die Anwesenheit von Lebermetastasen sein, die nicht therapiert wurden [54]. Ziel dieser minimalinvasiven Verfahren ist es daher die Lebensqualität der betroffenen Patienten durch Reduktion der tumorbedingten Komplikationen zu verbessern.

Aufgrund dieser epidemiologischen Daten wird deutlich, wie dringend eine neue palliative, minimalinvasive Methode zur Behandlung des Pankreaskarzinoms notwendig ist, um Symptome wie Ikterus, Obstruktion, Tumorkachexie und Schmerz zu behandeln.

#### **4.2 Die laserinduzierte Thermotherapie – eine Alternative**

Die erstmals von Bown 1983 [22] beschriebene laserinduzierte Thermotherapie ist ein solches Verfahren, welches zur Behandlung von Pankreaskarzinomen eingesetzt werden kann. Im Gegensatz zur chirurgischen Resektion, welche meist mit dem Ziel einer möglichst vollständigen Entfernung aller tumortragenden Gewebeanteile durchgeführt wird, stellt die laserinduzierte Thermotherapie eine in situ Ablation dar. Hierbei wird die laserinduzierte Energie ausschließlich zur Tumorerstörung, nicht aber zur Tumorentfernung eingesetzt. Ziel ist in den meisten Fällen die Symptomreduktion wie Ikterus und Schmerzen. Durch die homogene Zufuhr von thermischer Energie in ein bestimmtes Gewebavolumen (Tumor) kommt es zur Induktion uniformer, reproduzierbarer Koagulationsnekrosen im Sinne einer letalen Zellschädigung durch



temporäre Hyperthermie [22].

Der Erfolg der hyperthermen Behandlung maligner Tumoren beruht auf der Tatsache, dass Tumorzellen aufgrund ihrer relativen Hypoxie und ihres aziden pH-Wertes gegenüber Hitzeexposition empfindlicher reagieren als nicht maligne Zellen. Experimentell konnte gezeigt werden, dass eine Hyperthermie in einem Temperaturbereich von 42 - 60°C auf biochemischer Ebene Effekte induziert, die zu einer irreversiblen Zellschädigung führen. Eine Denaturierung von Enzymen und Inhibition der Aminosäure- und Proteinsynthese führt hierbei zu Membrandefekten mit nachfolgender Ödembildung und konsekutivem Zelltod [28, 30, 34]. Die Koagulation ist definiert als irreversible Schädigung von Gewebeproteinen bei einer Temperatur zwischen 55 - 95°C [55, 56].

Heiserkamp et al [57] zeigte in seiner Studie, dass Temperaturen zwischen 40 und 49°C nicht zu einer kompletten Gewebekoagulation mit Zelluntergang führen müssen. Erst bei Temperaturen ab 50°C konnte eine komplette Koagulation erzielt werden. Er zeigte auch, dass der Koagulationsgrad nicht nur von der Temperatur sondern auch von der Dauer der Hitzeexposition abhängig ist.

Bei der laserinduzierten Thermotheapie werden in Applikatornähe Temperaturen deutlich über 60°C erreicht, die dann zur Peripherie hin abfallen. Dies führt unmittelbar zu einer Koagulationsnekrose des Gewebes. Damit unterscheidet sich die laserinduzierte Thermotheapie grundlegend von konventionellen Hyperthermieverfahren, die eine kontinuierliche Temperaturerhöhung von 40 - 45°C zur Voraussetzung haben und somit keine Koagulationsnekrosen erzeugen.

Die laserinduzierte Thermotheapie hat bereits in vielen Gebieten der Medizin breite Anwendung gefunden. So werden Tumoren und Metastasen der Leber [29, 31, 34, 58, 59], Kopf- und Halstumoren [35, 36, 60, 61, 62], Tumoren der Brust [37, 63] und Tumoren im urologischen Bereich [64] und anderer Organe erfolgreich behandelt. Es gibt derzeit viele Studien zur Optimierung der klinischen Anwendung des Verfahrens. So ist auch heute noch ein limitierender Faktor der Methode ausreichend große Läsionsvolumina zu erzeugen, obwohl es schon gelungen ist, die Größe der Läsionen durch den gekühlten Laser, die Weiterentwicklung der Applikatoren bis hin zum 9F-Applikator und die Verwendung der Multiapplikatorotechnik zu steigern [34, 59, 65]. In früheren Studien wurde die Größe der Läsionsvolumina durch den Einsatz einer blanken Quarzfaser limitiert [25, 62, 66]. Dadurch wurde eine sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch sichtbare Karbonisationszone der umgebenden Zellen in

unmittelbarer Nähe des distalen Endes der Quarzfaser erzeugt. Die Karbonisation des Gewebes resultiert aus einer relativ kleinen Laserlichtaustrittsfläche am distalen Ende der blanken Quarzfaser und der damit verbundenen hohen Leistungsdichte von bis zu  $350 \text{ W/cm}^3$  [67]. Das karbonisierte Gewebe direkt an der Laserlichtaustrittsfläche führt aufgrund der Wellenlänge von 1064 nm des Nd:YAG-Lasers zu einer vermehrten Photonenabsorption, wodurch die Transmission der Photonen in tiefer gelegene Gewebeschichten und somit eine Vergrößerung der Nekrosegröße verhindert wird. Hierbei wird deutlich, dass neben der Laserleistung und der Applikationszeit, der Wellenlänge des Lasers und der daraus resultierenden optischen Eindringtiefe sowie den optischen Gewebeeigenschaften wie Reflexion, Streuung und Absorption eine wesentliche Rolle bei der Induktion größerer Läsionsvolumina zukommt [67].

Aus diesem Grunde wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedliche Laserapplikationssysteme entwickelt, welche sich hinsichtlich ihrer Photonenabstrahlcharakteristik, Leistungsdichte am Faser-Gewebe-Übergang, maximal übertragbarer Laserleistungen und Gewebehaftung unterschieden [67, 68, 69, 70]. Der erste Vertreter spezieller Laserapplikatoren für die interstitielle Anwendung war der so genannte Ring-Mode Applikator (MBB-Dornier, München) [67]. Durch die nicht-axiale Einkopplung der Strahlung in die Faser unter einem angegebenen Winkel resultiert eine kegelförmige Abstrahlungscharakteristik mit reduzierter Leistungsdichte am Applikator im Vergleich zur blanken Quarzfaser [67].

Eine weitere Entwicklung stellen diffus abstrahlende Applikatorsysteme dar. Das Prinzip dieser Applikatoren beruht darauf, dass durch geeignete Präparation des distalen Faserendes eine vielfältige Lichtbrechung und damit diffuse Abstrahlung der Photonen erreicht wird. Im Vergleich zur blanken Quarzfaser wird damit die Strahlenaustrittsfläche auf bis zu  $45 \text{ mm}^2$  vergrößert und gleichzeitig die Leistungsdichte am Faser-Gewebe-Übergang auf  $1 - 3 \text{ Watt/cm}^3$  erniedrigt [67, 70].

Ein wesentliches Problem der diffus streuenden Applikatorsysteme stellt deren maximale thermische Belastbarkeit dar. Diese geringe thermische Belastbarkeit limitierte bisher die Einsatzmöglichkeiten der genannten Applikationssysteme. Mit der Entwicklung des Diffusen-tip-Applikators und gespülter Applikatorsysteme kam es zu keinen Überlastungseffekten mehr.

### 4.3 Die Magnetresonanztomographie zur Prozessbeobachtung

Ein weiteres Problem dieser in situ Ablationsverfahren stellt die Überwachung des Therapieeffektes dar. Eine direkte visuelle Kontrolle des Therapieeffektes ist nur dann gegeben, wenn es im späteren Verlauf der Behandlung zur Resektion des betroffenen Gewebes kommt. Ein geeignetes Monitoringverfahren sollte sowohl online die Intervention mit möglichen Komplikationen überwachen, als auch im späteren Verlauf den Therapieeffekt überprüfen können.

Mit Hilfe der Magnetresonanztomographie wurde eine Online-Überwachung der Prozedur sowohl hinsichtlich der Überwachung der induzierten Läsionen schon während der Ablation, als auch direkt im Anschluss an die Intervention möglich. Mit der Entwicklung von standardisierten Applikatorensystemen mit Hüllkatheter und Schleuse ist die Voraussetzung für den klinischen Einsatz geschaffen worden. Durch die multiplanare Darstellung in der MRT ist eine präzise Positionskontrolle der Hüllkatheter und Applikatoren möglich.

Prinzipiell steht auch die Sonographie als Monitoringverfahren zur Verfügung jedoch hat sich gezeigt, dass sie hinsichtlich der Genauigkeit der Magnetresonanztomographie unterlegen ist. Das liegt einerseits an der tiefen abdominellen Lage des Pankreas mit Überlagerung durch Darmluft. Andererseits kommt es zu Artefaktbildungen bedingt durch die thermischen Veränderungen während der Intervention sowie das interventionsbedingte Einbringen von Luft. Brandt et al konnte nachweisen, dass die korrekte Darstellung der Punktion des Pankreas in der Sonographie mit 95% geringfügig besser ist, als in der Computertomographie mit 86%, wobei sich in einigen Fällen das Pankreas nur computertomographisch darstellen ließ und auch bei adipösen Patienten die Sonographie nur begrenzt einsetzbar ist [71]. Insbesondere bei größeren Läsionen ist die korrekte sonographische Darstellung des kompletten Areals technisch schwierig, ebenso wie die lückenlose Abbildung des Verlaufs der Applikatoren. Komplikationen wie intraabdominelle Hämatoeme können unter Umständen durch Überlagerung, durch den Thermoefekt sowie durch Gasbildung im und um den Tumor nicht zeitnah dargestellt werden [72].

Schon Malone et al zeigte, dass der sonographisch abgebildete Thermoefekt größer ist als die tatsächliche induzierte Läsion und somit falsch positive Ergebnisse für die

komplette Tumorablation suggeriert werden [73, 74]. Begünstigend für die Sonographie als Monitoringverfahren ist zu erwähnen, dass sie kostengünstig ist und keine Anwendung von Kontrastmitteln erforderlich ist und somit nicht limitiert zum Einsatz kommen kann.

Auch die Endosonographie wäre ein mögliches Verfahren zur Online-Überwachung des Prozesses. Aber auch hier ist die Fähigkeit eines besonders erfahrenen Untersuchers von Nöten. Auch bei Radiofrequenzexperimenten am Pankreas des Schweins von Goldberg et al, die neben der CT die Endosonographie zum Monitoring verwendeten, war die genaue Detektion des Organs und die Abgrenzbarkeit von der Milz nicht immer möglich, so dass man sich auf die Therapie der dicksten Anteile des Pankreas beschränken musste [75].

Die Magnetresonanztomographie ist durch neue temperatursensitive Sequenzen wie der thermo-turbo-FLASH- oder FLASH-2D-Sequenzen ein geeignetes Verfahren zum Online-Temperaturmonitoring. Durch charakteristische Signalintensitätsänderungen im Bereich der Koagulationsnekrose und im umliegenden Gewebe wird die genaue Temperaturverteilung im Weichteilgewebe erkennbar. Schon in früheren Studien wurde gezeigt, dass durch den Anstieg der Temperatur im Gewebe die T1-Relaxationszeit zunimmt [38, 39, 40]. Dieses Phänomen ist mit der Veränderung der Makromolekül-Wasser-Interaktion zu erklären. Um die reversiblen und irreversiblen Gewebeveränderungen und deren magnetresonanztomographische Darstellung bei der laserinduzierten interstitiellen Thermotheapie zu untersuchen, wurden schon frühzeitig in vitro und in vivo Studien durchgeführt [21, 26, 39]. Hierbei wurde deutlich, dass die Magnetresonanztomographie ein sensitives Verfahren zur Visualisierung der Laser-Gewebe-Interaktionen ist und somit auch für die laserinduzierte interstitielle Thermotheapie ein geeignetes Verfahren zum Online-Monitoring darstellt.

Mit der Magnetresonanztomographie können drei Anwendungen gleichzeitig zum Einsatz kommen: 1. die Sichtbarmachung von thermosensitiven Effekten wie Diffusion, T1-Relaxationszeit und chemische Veränderungen; 2. die Tumor- bzw. Läsionsgröße können in Abhängigkeit vom Kontrast-Enhancement dargestellt werden und 3. die dielektrische Verteilung während der LITT in Abhängigkeit vom Wassergehalt des Gewebes können in T1-Sequenzen registriert werden [76]. Außerdem erlaubt die MRT auch im weiteren Verlauf eine Kontrolle des erzielten Therapieeffektes.

Im Vergleich zur Computertomographie und Sonographie ist die

Magnetresonanztomographie ein optimales Verfahren zur Darstellung von Weichteilgewebe und bietet eine optimale räumlich Auflösung mit der höchsten topographischen Genauigkeit [40, 61, 63, 69].

Der Einsatz von gewebespezifischen Kontrastmitteln verbessert die Abgrenzung von gesundem Gewebe zu Tumorgewebe oder zu abladiertem Gewebe [63]. Bei der nativen Magnetresonanztomographie werden die Kontraste durch die unterschiedlichen Relaxationszeiten (T1-Relaxation, T2-Relaxation) und die Protonendichte erzeugt. Magnetresonanztomographische Kontrastmittel verstärken die Kontraste indem sie die Relaxationszeiten verkürzen oder die Protonendichte ändern [77].

Das in unserer Studie verwendete Gadolinium-DTPA (Magnevist®, Schering, Berlin) ist ein extrazelluläres Kontrastmittel, welches über den kontrastgebenden Anteil der Gd-Verbindungen seine paramagnetische Wirkung im perfundierten Gewebe entfaltet. Perfundierte bzw. das Kontrastmittel aufnehmende Gewebe besitzen im Vergleich zu nicht perfundierten Geweben der gleichen Art eine kürzere T1-Relaxationszeit. Daher kommen Gd-perfundierte Gewebestrukturen auf T1-gewichteten magnetresonanztomographischen Bildern deutlich hyperintens zur Darstellung [77]. Da die Koagulationsnekrosen nicht mehr perfundiert werden, werden sie in den T1-gewichteten Bildern auch deutlich hypointens dargestellt.

Einschränkend zur Magnetresonanztomographie ist allerdings zu bemerken, dass morphologische Veränderungen in der MRT zwar sichtbar gemacht werden können, diese aber in vivo nicht immer eindeutig einer bestimmten Temperatur oder Schädigungszone zugeordnet werden können. So kam es in einem Fall zu einer Koagulation des angrenzenden Duodenums, die nicht visualisiert wurde.

Da es in verschiedenen Studien zu Komplikationen wie intraabdominellen Blutungen, lokale Entzündungen, Sepsis und Abszessen noch bis zu 4 Tagen nach der Intervention kam, wurde für unsere Studie ein Beobachtungszeitraum von 7 Tagen festgelegt [78]. Während dieser Zeit wurden die Versuchstiere klinisch überwacht und nach 7 Tagen wurde eine Kontrolluntersuchung mittels MRT durchgeführt, um Therapieerfolg und mögliche Spätkomplikationen visuell erfassen zu können. Danach erfolgte regelmäßig die Sektion. Von Kontrolluntersuchungen im kürzeren Intervall wurde bei unauffälligem klinischen Befund abgesehen, da dieses eine höhere Belastung für das Versuchstier durch erneute Narkose und Intubation und erhöhten logistischen Aufwand bedeutet hätte.

Die Qualität der Bilder ist durch Bewegungsartefakte bedingt durch die Atembewegungen und Pulsationsartefakte der umliegenden Gefäße wie Aorta, V. cava inferior, V. portae, Truncus coeliacus eingeschränkt. Besonders erschwerend in dieser Region kommen die ungerichteten peristaltischen Bewegungen des Darmes durch die enge topographische Beziehung des Pankreas zum Verdauungstrakt hinzu. Beim klinischen Einsatz wäre außerdem noch die Bewegung des Patienten als möglicher Artefakt zu berücksichtigen, die jedoch in unseren Versuchen durch die Narkose des Tieres und die simulierte Atemanhaltetechnik mittels kurzfristigem Abschalten des Respirators minimiert wurde. Während der Untersuchungen am Menschen kann man zwar den Patienten dazu anhalten, die Luft kurzfristig anzuhalten, doch die Untersuchung in Vollnarkose durchzuführen wäre aufwändiger und nicht für diesen minimal invasiven Eingriff indiziert. Begünstigend für die Qualität der Aufnahmen beim Monitoring durch die Magnetresonanztomographie ist der Tatbestand, dass die verwendeten Materialien für Hüllkatheter und Applikatoren keine relevanten Artefakte erzeugen, da die Katheter aus Teflon und die Lichtleiter aus Silizium gefertigt sind.

Wichtig für den Erfolg der Thermotherapie bei Pankreaskarzinomen ist aber nicht nur das Monitoring während der Laserapplikation und unmittelbar post interventionem sondern auch, ob die Magnetresonanztomographie ein geeignetes sensitives Verfahren darstellt, um ein entstehendes Tumorrezidiv von der laserinduzierten Läsion zu unterscheiden. Um dies zu untersuchen sind noch weiterführende Studien nötig.

#### **4.4 Zielsetzung**

Ziel der vorliegenden Studie war es, unter experimentellen Bedingungen das Verfahren der laserinduzierten Thermotherapie hinsichtlich der Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit am Pankreas zu untersuchen. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob die Magnetresonanztomographie auch für dieses Organ ein geeignetes Verfahren zum Online-Monitoring der Intervention ist und ob die Ergebnisse der Magnetresonanztomographie mit denen der pathohistologischen Untersuchung übereinstimmen.

Da diese Fragestellungen nicht nur am menschlichen Pankreas untersucht werden können, wurde ein geeignetes in vivo Tiermodell ausgewählt. Das Schwein zeigte sich besonders durch die dem Menschen ähnliche Topographie der Organe im Abdomen

geeignet. Außerdem ist der histomorphologische Aufbau des Pankreas des Schweins dem des Menschen sehr ähnlich.

Ziel unserer Versuche war zu zeigen, dass das Pankreas als sehr empfindliches Organ für die laserinduzierte Thermotherapie geeignet ist und es durch die Behandlung zu keiner generalisierten Pankreatitis kommt oder andere Komplikationen das Pankreas für diese Intervention ungeeignet erscheinen lassen. Es gibt schon viele Studien, die zeigen das die laserinduzierte Thermotherapie für Tumoren der Leber [31, 41, 59, 70], der Kopf-Hals-Region [36, 60, 61, 62], für Brusttumoren [37, 63] und in anderen Regionen geeignet ist, doch nach unserem Wissen gibt es noch keine Studien über die laserinduzierte Thermotherapie am Pankreas. Ebenso fehlen bisher systematische Untersuchungen zur Prozessbeobachtung der laserinduzierten Thermotherapie mittels Magnetresonanztomographie, die insbesondere durch die enge topographische Beziehung des Pankreas zu benachbarten Organen des Gastrointestinaltraktes als auch zur Gefäß-Nervenstraße im Retroperitoneum von entscheidender Bedeutung ist. Es gibt Studien, die mittels Radiofrequenzablation thermische Läsionen am Pankreas produziert haben, doch sind diese Läsionen mit einer maximalen Größe von 15 mm wesentlich kleiner, als diejenigen, die wir mit der laserinduzierten Thermoablation erzielen konnten [50].

## **4.5 Besprechung der vorliegenden Ergebnisse**

### **4.5.1 Durchführbarkeit**

In unserer Studie ist es uns gelungen durch verschiedene Punktionswege (interenterisch, transgastrisch, transhepatisch) das Pankreas erfolgreich zu punktieren, ohne dass es zu schwerwiegenden Komplikationen kam. Wie Brandt et al zeigte, kommt es bei Punktionen des Pankreas auch bei transgastrischen und transkolischen Zugängen sehr selten (3 - 6,7%) zu punktionsbedingten Komplikationen [71]. In keinem Fall kam es zu einer interventionsbedingten Pankreatitis, die sich aus der Manipulation an diesem sehr empfindlichen Organ erklären würde oder durch den Verschluss oder Obstruktion des Pankreasganges mit distaler Dilatation und Sekretstau im Pankreasparenchym. Der Ductus pancreaticus (Pankreashauptgang), durch welchen das Pankreassekret direkt ins Duodenum abfließt, war magnetresonanztomographisch nicht dilatiert nachweisbar.

Auch 7 Tage nach der Intervention war in keinem Fall eine Dilatation des Ganges

belegbar. Dies scheint der Hauptgrund zu sein, warum es nicht zu postinterventionellen Pankreatitiden kam, wobei bei der klinischen Anwendung prinzipiell mit dieser Komplikation gerechnet werden muss. Insbesondere die Therapie am Pankreaskopf oder im proximalen Pankreaskorpusbereich birgt das Risiko der Verletzung des proximalen Pankreasganges und damit der Ausbildung einer Pankreatitis. Wenn man hierzu die Häufigkeit der Entwicklung von Pankreatitiden bei der endoskopischen retrograden Cholangiopankreatikographie (ERCP) mit 5 - 10% vergleicht, scheint die direkte Manipulation des Pankreasganges ausschlaggebend für die Ausbildung dieser Komplikation. Für den klinischen Einsatz ist jedoch ohnehin davon auszugehen, dass bei 56% der Patienten mit Pankreaskarzinom eine Obstruktion des Pankreasganges durch den Tumor vorliegt.

Eine weitere mögliche Komplikation während des klinischen Einsatzes ist eine interventionsbedingte Leckage des Pankreasganges, die chirurgisch oder durch Stentimplantation versorgt werden müsste. Mögliche Komplikationen, die durch die laserinduzierte Thermotherapie hervorgerufen werden können, sollen nicht negiert werden. Auch wenn es in unseren Versuchen zu keinen schwerwiegenden Komplikationen kam, sollte jederzeit mit einer intraabdominellen Blutung gerechnet werden, die punktionsbedingt oder durch Schädigung eines großen Gefäßes ausgelöst werden kann. Wie bei Matsui et al ist auch mit der Ausbildung von großen zystischen Formationen zu rechnen, die möglicherweise einer perkutanen Drainage bedürfen oder sich superinfizieren können und somit in einer Abszessbildung resultieren [54]. Bei betroffenen Patienten mit schon zuvor bestehender eingeschränkter Immunabwehr können diese Komplikationen tödlich enden.

In keinem Fall kam es zu Blutungen oder Thrombosebildung in den großen peripankreatischen Gefäßen. Dies ist vermutlich Folge der schnellen Abkühlung der Gefäßwand durch den Blutfluss im Gefäßlumen, welche das Gefäß vor thermischer Schädigung schützt. Dieser Effekt kann aber auch bewirken, dass Tumorzellen perivaskulär nicht zerstört werden, da die erforderliche Temperatur nicht erreicht wird.

Mit unseren Versuchen konnten wir zeigen, dass das Pankreas, obwohl es schwer zugänglich und ein gegenüber Manipulationen sehr empfindliches Organ ist, der Option der laserinduzierten Thermotherapie zur Verfügung steht. Bei genauer Betrachtung der Befunde auf unerwünschte Nebeneffekte der laserinduzierten Thermotherapie konnte keine Beeinträchtigungen des Befindens der Versuchstiere nachgewiesen werden. Es



zeigten sich lediglich eine geringe, jedoch lokal begrenzte, destruierende Wirkungen auf benachbarte Lymphknoten und Nachbarorgane, die auf die dezentrale Positionierung der Applikatoren im Pankreas zurückzuführen sind [86].

Bei keinem der Versuchstiere kam es weder bei der Verwendung der 5 French- noch bei der Anwendung der 9 French-Katheter zu einer punktionsbedingten intraabdominellen oder subkutanen Blutung. Hierbei muss erwähnt werden, dass der Einsatz von 9F-Kathetern prinzipiell ein höheres Risiko einer Punktionsblutung birgt als ein 5F-Katheter. Die Anwendung der Seldingertechnik ist dabei prinzipiell ein schonendes Verfahren.

In unseren Versuchen ließen sich für die Anwendung von 20 Watt Applikationsleistung mit dem 9F-Katheter ähnliche Läsionsvolumina wie durch den Einsatz der Multiapplikatortechnik durch simultanen Einsatz von zwei 5F-Kathetern mit einer Leistung von je 5 Watt erreichen. Bei optimaler Positionierung der Applikatoren zueinander lässt sich sogar eine größere Nekrose erzielen als mit einem Einzellaser mit einer Leistung von 20 Watt. Daher ist abzuwägen, ob das Blutungsrisiko bei der Verwendung der Multiapplikatortechnik mit zwei kleinen Stichkanälen von je 5 French (1,5 mm) oder die Anwendung eines großen 9F-Katheters mit einem großen Stichkanal mit 9 French (2,7 mm) geringer und somit für den klinischen Einsatz vorzuziehen ist. Weiterhin ist es auch denkbar, dass mögliche entstandene Blutungen durch den Einsatz der LITT und die damit verbundene Koagulation der Gefäße im Punktionsbereich eine relevante Blutung verhinderten.

Bei 4 Versuchstieren kam es zur Schädigung des peripankreatischen Fettgewebes. Hierfür kann sowohl die suboptimale Platzierung des Katheters als auch die Entwicklung hoher thermischer Energie verantwortlich sein. Allerdings ist davon auszugehen, dass noch größere Energiemengen notwendig werden können, da bei unseren Versuchen bei einer maximalen Laserleistung von 20 Watt Läsionsgrößen von maximal 36 mm entstanden sind, jedoch Tumorgrößen von weit größerem Durchmesser möglich sind. Durch die Anwendung der Multiapplikatortechnik ist es möglich, Läsionsgrößen von fast unbegrenzter Ausdehnung zu produzieren, jedoch mit dem Risiko steigender Komplikationsraten wie Blutung, Pankreatitis, Mitbeteiligung benachbarter Organe und Funktionsverlust des Organs. Weiterhin besteht auch die Möglichkeit durch Vorschieben oder Zurückziehen des Lasers die Nekrose zu vergrößern. Bei dieser Methode verringert sich die Komplikationsrate durch die Vermeidung des zusätzlichen Setzens eines erneuten Punktionskanals allerdings mit

dem erhöhten Risiko einer Tumorzellverschleppung [35].

Für die klinische Anwendung ist es entscheidend, ob das Tumorgewebe ähnlich oder genauso auf die Thermoablation reagiert, wie das gesunde Pankreasparenchym.

Die Struktur von Pankreastumoren ist bedingt durch die zentrale Nekrosenbildung häufig sehr inhomogen. Daher wird die Anwendung der LITT durch die diskontinuierliche Energieausbreitung eher schwierig sein.

#### **4.5.2 Die Magnetresonanztomographie als Monitoringverfahren**

Als weitere Fragestellung sollte geklärt werden, ob die Magnetresonanztomographie ein geeignetes Monitoringverfahren der laserinduzierten Thermoablation ist, da sich diese in situ Ablationstechnik der direkten visuellen Kontrolle entzieht. Grundsätzlich sollte es möglich sein, den Therapieeffekt zu überwachen und mögliche Komplikationen erfassen zu können. Weiterhin sollte das Monitoringverfahren reproduzierbar, non-invasiv und kostengünstig sein. Prinzipiell stehen dafür neben der Magnetresonanztomographie noch andere Verfahren wie die Sonographie und die Computertomographie zur Verfügung. Doch durch die hohe Sensitivität der MRT für Veränderungen der Mobilität und Verteilung von Gewebewasser ist sie besonders geeignet, thermische und morphologische Veränderung zu visualisieren und damit die Überwachung der thermischen Laseranwendung in Geweben zu gewährleisten [39, 66, 69, 79].

Als Gerät für die bildgestützte Intervention stand unserer Gruppe ein 1,5 Tesla Magnetresonanztomograph zur Verfügung. Durch die rasante technische Entwicklung auf dem Gerätesektor stehen einigen Kliniken bereits 3 Tesla Geräte zur Verfügung und sogar 7 Tesla Geräte sind bereits in Erprobung, mit denen eine noch exaktere Bildauflösung möglich wird. Die Anwendung neuer spezieller Sequenzen gestattet eine präzise Überwachung der Thermoablation.

Die Umlagerung der Versuchstiere vom Computertomographietisch auf den Untersuchungstisch des Magnetresonanztomographen war praktikabel, obwohl sich diese Prozedur als zeitaufwendig erwies. Darüber hinaus ist bei dieser Art der Anwendung zu beachten, dass immer beide Geräte zur Verfügung stehen müssen. Die direkte MR-gestützte Punktion am geschlossenen Hochfeldtomographen erwies sich bei anderen Arbeitsgruppen in der Vergangenheit jedoch als problematisch, so dass unsere Gruppe sich für die Umlagerung der Versuchstiere vom Computertomographen zum Magnetresonanztomographen entschied.

In 14 von 15 Fällen konnte die thermisch induzierte Läsion einwandfrei dargestellt werden. Dabei lag die Läsion in einem Fall im extrapankreatischen Fettgewebe und einmal im Bereich des Duodenums. Die Läsion wurde durch einen zunehmenden Signalitätsverlust sichtbar, der bei einer Behandlungsdauer von insgesamt 15 min nach 6 - 13 min erkennbar war. Besonders deutlich waren die Läsionen in den temperatursensitiven T1-gewichteten Gradientenechosequenzen sichtbar. Bei den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen beträgt die contrast-to-noise-ratio 4,2 und ist damit signifikant größer als bei den T2-gewichteten Aufnahmen (CNR 1,9) und den kontrastmittelgestützten FLASH-Sequenzen (CNR 3,1) ( $p < 0,05$ ). Die Abnahme der Signalintensität in den T1-gewichteten Aufnahmen war nach Ende der laserinduzierten Thermotheapie reversibel, so dass die angenommene temperaturbedingte Änderung der Relaxationszeit als Änderung der Signalintensität erfasst werden konnte. Diese Änderung der Relaxationszeit entsteht durch die Molekülveränderung, Denaturierung und die Änderung von gebundenem und ungebundenem Molekülzustand. Der Temperatureffekt wird durch die Verlängerung der T1-Relaxationszeit in den T1-gewichteten Sequenzen sichtbar, was jedoch auch die Gefahr birgt, dass durch ein Verschwimmen der Läsionsgrenze die genaue Läsionsgröße nicht dargestellt werden kann.

Bei turbo-FLASH-Sequenzen besteht eine lineare Abhängigkeit der T1-Relaxationszeit und damit der Pixelintensitätsänderung zur Temperaturveränderung von 1 - 2 °C bei einer räumlichen Auflösung von weniger als 4 mm. Es ist jedoch für jedes MR-Experiment zu beachten, dass die Variabilität der T1-Relaxationszeit größer für unterschiedliche Gewebe ist, als für Temperaturänderungen und dass Temperaturänderungen besser dargestellt werden können, als absolute Temperaturen [40].

Für T2-gewichtete Sequenzen lässt sich die Sensitivität für die Darstellung des Temperatureffekts durch die Verwendung von gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln verstärken. Damit stellt die Abnahme der Pixelintensität während der Laserung und die postinterventionelle Wiedergewinnung der Pixelintensität direkt die Temperaturentbreitung im Gewebe dar. Bereits Bleier et al zeigte in seinen Versuchen, dass der Bildkontrast eine diffusionssensitive Abbildung der Temperaturänderungen darstellt. Dabei war ein steigender Signalitätsverlust bei höheren Laserenergien der Beweis für die Temperaturabhängigkeit des Signalitätsverhaltens von Geweben. Schon in den Modellversuchen wurde deutlich, wie schwierig die induzierte Läsion

vorherzusagen ist. Durch die Intervention ändern sich die verschiedenen Faktoren wie Perfusion und Gewebeeigenschaften wie Absorption, Wassergehalt, Streuungskoeffizienten und die Konduktion von Wärme [38, 39].

Mit zunehmender Überlebenszeit der Versuchstiere zeigte sich ein charakteristischer hyperintenser Randsaum um die Nekrose, der in der späteren histologischen Aufarbeitung der Präparate als schmaler Granulationssaum identifiziert werden konnte. Mit der hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung ist die Magnetresonanztomographie ein Online-Monitoringverfahren, mit dem sich der Prozess der laserinduzierten Thermotheapie detailliert überwachen lässt.

Mit Ausnahme eines Falles konnten alle magnetresonanztomographischen Befunde den histomorphologischen Befunden zugeordnet werden. Diese Ausnahme ist dadurch zu erklären, dass die Läsion in diesem Fall im Fettgewebe lag, welches nicht histologisch aufgearbeitet wurde. Die periphere Zone ist durch das perifokale Ödem, welches sich bereits während der Intervention bildet bzw. unmittelbar danach besonders deutlich wird, erkennbar.

Bei den Kontrolluntersuchungen, die 7 Tage nach Intervention durchgeführt wurden, konnte festgestellt werden, dass in den kontrastmittelverstärkten Aufnahmen die Übergangszone an Signalintensität zunimmt. Wie auch schon in anderen Versuchen gezeigt, entspricht dieser Signalitätsverlust histologisch einer lokalen inflammatorischen Reaktion mit folgendem fibrotischem Umbau des Gewebes [80]. Die Magnetresonanztomographie macht es möglich die Organisation des Gewebes nachzuweisen. Die Proliferation des Gewebes, das heißt das Einsprossen von Granulozyten, Fibroblasten und Endothelien wird durch ein zunehmendes Enhancement in den kontrastmittelverstärkten Aufnahmen nach 7 Tagen sichtbar. Mit zunehmender Fibrosierung und Kollagenfaserbildung ist mit einer Abnahme der Signalintensität zu rechnen. Wie auch schon in früheren Experimenten angedeutet, konnten wir zeigen, dass das Nekrosevolumen bereits 7 Tage nach der Intervention vermutlich durch Gewebeorganisation kleiner wird [35, 75].

Diese Ergebnisse widersprechen denen von Merkle et al, die mittels Radiofrequenzablation Läsionen am Pankreas produzierten und nach einer Woche Beobachtungszeit eine Größenzunahme der Nekrose beobachteten. Dieser Unterschied könnte durch die Verwendung von Titaniumsonden bei der Radiofrequenzablation liegen, die die Läsionen in Gradientenechosequenzen

artefaktbedingt überlappen und so die Läsionen während der Ablation kleiner erscheinen lassen [50].

Die Läsionen konnten auf den magnetresonanztomographischen Aufnahmen genau vermessen werden. Hierfür kann auch ein spezielles Computerprogramm zur Berechnung der Läsionsvolumina zur Hilfe gezogen werden. Unsere Vergleichsanalysen zwischen der verwendeten Laserleistung und der resultierenden Läsionsgröße zeigen, dass bei Verwendung einer bestimmten Laserleistung eine angemessene Läsion zu erwarten ist. Schon Castro et al haben bei der Anwendung der Laserphototherapie der Haut am Tiermodell mittels Magnetresonanztomographie und histologischer Auswertung gezeigt, dass eine lineare Korrelation zwischen der verwendeten Energiemenge und den Temperaturveränderungen besteht. Allerdings sind bei Untersuchungen an der Haut die störenden Einflussfaktoren wie die Perfusion nur von untergeordneter Bedeutung als bei intraabdominellen Versuchen [39].

Bei unseren Untersuchungen ergab sich zwischen der Laserleistung und der induzierten Läsionsgröße in der Magnetresonanztomographie ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,75$  für die lineare Regressionen. Bei Verwendung der logarithmischen Regression konnten Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,84$  für kontrastmittelverstärkte T1-gewichtete Sequenzen und  $r = 0,92$  für thermo-Flash-Sequenzen eruiert werden. Somit ist für beide Sequenzen eine hervorragend gute Vorhersage der Nekrosegröße bei Verwendung einer bestimmten Laserleistung möglich. Die logarithmische Regression ergab die besten Korrelationskoeffizienten und zeigt in einer mathematischen Formel den logischen Sachverhalt, dass bei weiter steigender Laserleistung nicht unbegrenzt eine Vergrößerung der Nekrosegröße erreicht wird. Um genauere Vorhersagen zu erbringen, ist es jedoch notwendig größere Versuchsreihen zu untersuchen, da sich durch viele Einflussfaktoren wie Perfusion, Lagebeziehung zu Gefäßen und interindividuelle Unterschiede eine große Schwankungsbreite ergibt, die durch weitere Untersuchungen minimiert werden könnte.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Magnetresonanztomographie die Detektion der Läsionen im Gesamtausmaß in diesem experimentellen Modell gewährleisten konnte. Wenn sich die Ergebnisse in Tumormodellen bzw. am menschlichen Pankreas bestätigen lassen, ist die Magnetresonanztomographie eine hervorragende Methode, um die Größe des Tumors präinterventionell zu bestimmen,

die laserinduzierte Thermotherapie online zu überwachen und die Erfolgskontrolle postinterventionell durchzuführen auch um ein eventuelles Rezidiv frühzeitig zu erkennen.

#### **4.5.3 Ergebnisse in der pathologischen Untersuchung**

Alle Pankreaspräparate wurden pathologisch untersucht und histologisch aufgearbeitet. Sowohl bei der makroskopischen als auch bei der histologischen Untersuchung konnte in keinem Fall eine Pankreatitis nachgewiesen werden.

Durch die laserinduzierte Thermotherapie konnte eine homogene zentrale Koagulation des bestrahlten Gewebes erzielt werden, ohne hämorrhagische Infarzierungen oder Karbonisierungen herbeizuführen. Die Pankreasgänge waren nur innerhalb der Nekrose destruiert, außerhalb aber weder geschädigt noch gestaut. Die Gefäße innerhalb der Läsion waren größtenteils thrombosiert. An der Läsionsperipherie kamen wenige Mikroeinblutungen zur Darstellung.

Die lichtmikroskopische Beurteilung der histologischen Schnittpräparate zeigte eine Aufteilung der Läsion in drei Zonen. Dabei sind die Zentralnekrose, der Granulationssaum und die Übergangszone voneinander abzugrenzen. Die Nekrose ist durch einen scharf markierten Randsaum, der initial hämorrhagisch später granulozytär imponiert, abgegrenzt. Möglicherweise schützt diese scharfe Demarkierung der Nekrose vom umliegenden nicht behandelten Pankreasparenchym vor einer Begleitreaktion des gesunden Parenchyms oder gar vor der Ausbildung einer Pankreatitis. Bei einigen Versuchstieren war dieser Randsaum nach 7 Tagen bereits von Fibroblasten durchsetzt, die die beginnende Organisation der Nekrose andeuten. Die Nekrosen wurden in allen Präparaten vermessen. Dabei ergaben sich Läsionsgrößen von 9,5 mm bei Präparaten, die mit 5 Watt durch einen 5F-Applikator behandelt wurden und bis zu 36 mm bei Präparaten, die mit zwei Applikatoren behandelt wurden. Bei der Korrelation zwischen Laserleistung und histopathologisch ermittelter Nekrosegröße konnte ein logarithmischer Korrelationskoeffizient von  $r = 0,98$  ermittelt werden. Damit konnten wir mit unseren Versuchen zeigen, dass die Größe der Läsion sowohl von der Leistung des Lasers als auch von der Anzahl der verwendeten Laser abhängig ist und dass sich die genaue Läsionsgröße durch die logarithmische Regressionsgleichung in Abhängigkeit von der Laserleistung berechnen lässt. Von diesen Parametern sind auch die Schädigung der Pankreasgänge und des

umliegenden Gewebes abhängig.

Bei Präparaten, die unmittelbar nach der Intervention untersucht wurden, stellte sich statt dem Granulationssaum ein eher hämorrhagischer Randsaum dar, der durch den Austritt von Erythrozyten in das umliegende Gewebe gekennzeichnet war. Durch unsere makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die laserinduzierte Läsion im gesunden Pankreas des Schweins bei Verwendung Diffuser-Tip-Applikatoren bereits im Verlauf von 7 Tagen einer bindegewebigen Umorganisation unterliegt.

#### **4.5.4 Ergebnisse im zeitlichen Verlauf**

Als weiterer Aspekt sollten frühe und spätere Reaktionen und Effekte der laserinduzierten Thermotherapie auf das Pankreasgewebe untersucht werden. Dazu wurden die Versuchstiere in zwei Gruppen eingeteilt, die sofort nach Laserapplikation und eine Woche nach Intervention mittels MRT und anschließender Sektion untersucht wurden.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, dass sowohl unmittelbar nach der Intervention als auch 7 Tage post interventionem die Nekrosen in den kontrastmittelverstärkten T1-gewichteten Sequenzen durch Signalitätsverlust deutlich erkennbar waren. Im Unterschied zu den Aufnahmen, die unmittelbar nach der Intervention angefertigt wurden, war bei den Sequenzen, die nach 7 Tagen erstellt wurden die Nekrosen 2 – 4 mm kleiner. Wie schon andere Studien gezeigt haben, ist anzunehmen, dass sich dieser Trend mit zunehmender Überlebensdauer fortsetzt [75].

Weiterhin war nach 7 Tagen ein hyperdenser Randsaum, der unmittelbar post interventionem nur unregelmäßig sichtbar wurde, deutlicher erkennbar. Da sich dieser hyperdense Randsaum in der histologischen Untersuchung als hämorrhagischer Randsaum mit Gefäßeinprossung darstellte, der im zeitlichen Verlauf durch Granulozyten und wieder später bindegewebig ersetzt wurde, ist es nicht verwunderlich, dass diese hyperdense Zone nach 7 Tagen intensiver zur Ausprägung kam.

Bei der magnetresonanztomographischen Auswertung war auffällig, dass sich die homogene Nekrose nun wesentlich inhomogener mit hyperdensen und hypodensen Anteilen darstellte. Dies führen wir auf die zunehmende Organisation der Nekrose mit zunehmendem bindegewebigem Umbau zurück, die wir histologisch nachweisen

konnten. Mit zunehmender Überlebenszeit der Versuchstiere zeigte sich eine Organisation der Koagulationsnekrose mit Gefäßproliferation und Einwanderung von Granulozyten von der Peripherie her, sowie eine Einwanderung von Fibroblasten und Bildung von Bindegewebssträngen. Somit lassen sich sogar die histologischen Umbauvorgänge im zeitlichen Verlauf mit der Magnetresonanztomographie darstellen.

#### **4.5.5 Korrelation der magnetresonanztomographischen Ergebnisse und der histopathologischen Ergebnisse**

Die Untersuchungsergebnisse wurden zueinander in Beziehung gestellt. So wurden die magnetresonanztomographischen Ergebnisse der T1-gewichteten sowie der thermo-Flash-Sequenzen mit denen der histologischen Untersuchungen für alle Läsionen im Einzelnen verglichen. Hierbei ergab sich für die verschiedenen MR-Aufnahmen eine geringe Abweichung. Für den Vergleich der thermo-Flash-Sequenzen mit den histologischen Präparaten konnte ein linearer Korrelationskoeffizient von  $r = 0,71$  nachgewiesen werden. Für den Vergleich zwischen T1-gewichteten Sequenzen mit den histologischen Präparaten wurde sogar ein linearer Korrelationskoeffizient von  $r = 0,89$  ermittelt. Damit wurde nachgewiesen, dass das T1-gewichtete Verfahren statistisch eine fast 20% höhere Genauigkeit besitzt und die Darstellung der Läsionen hier dem tatsächlichen morphologischen Substrat am nächsten kommt. Die verbleibenden Abweichungen lassen sich dadurch erklären, dass es sowohl bei der Vermessung der magnetresonanztomographischen Läsionen als auch der histologischen Läsionen zu Ungenauigkeiten durch den Untersucher kommt. Außerdem entstehen bei der Vermessung der magnetresonanztomographischen Läsionen Abweichungen, da die willkürlich festgelegten magnetresonanztomographisch Bildschichten naturgemäß nicht mit dem größten Durchmesser der tatsächlichen Läsion übereinstimmen müssen. Obwohl versucht wurde, die transversale Schnittführung der Magnetresonanztomographie am pathologischen Präparat zu imitieren, verhindern die eingeschränkte Reproduzierbarkeit der Organlagekoordinaten als auch die Organkonsistenz bei der Präparation eine eindeutige Übertragung der Schnittführung. Dies ist ein unvermeidbarer Fehler, der nicht der Magnetresonanztomographie anzulasten ist.

Es konnte festgestellt werden, dass sich die Nekrosegröße in den magnetresonanztomographischen



tomographischen Sequenzen in der Regel größer darstellt als in der pathologischen Untersuchung. Falls hier eine systematische technische Ungenauigkeit vorliegt, kann diese für eine klinischen Anwendung ermittelt und berücksichtigt werden. Auch kommt es durch die Fixation der Gewebe in Formalin zu einer Schrumpfung um durchschnittlich 8 mm, die die Nekrosen kleiner erscheinen lassen. Um die genannten Ursachen innerhalb der verbliebenen statistischen Ungenauigkeit von ca. 10% (T1-Sequenz) bzw. 30% (thermo-Flash-Sequenz) weiter quantifizieren zu können, sind weiterführende Untersuchungen zu empfehlen.

#### **4.6 Perspektiven für die Zukunft**

Für den klinischen Einsatz der laserinduzierten Thermotherapie bei Patienten mit einem Pankreaskarzinom ist von entscheidender Bedeutung, ob diese Methode in der Lage ist, durch Reduktion der Tumormasse Symptome wie Ikterus durch Gangobstruktion, abdominelle Schmerzen und Tumorkachexie zu minimieren oder gar eine vollständige Zerstörung des Tumors zu bewirken. Es kann mit Sicherheit davon ausgegangen werden, dass diese Methode für Tumoren, die inoperabel sind, das heißt die Organgrenzen überschreiten oder infiltrativ in Nachbarstrukturen gewachsen sind oder bei schwerwiegenden Begleiterkrankungen, die das Operationsrisiko überdurchschnittlich erhöhen, als attraktive Methode gegenüber den anderen minimal invasiven Verfahren sofort einsetzbar ist.

Darüber hinaus bietet bereits zum gegenwärtigen Zeitpunkt die laserinduzierte Thermotherapie mit magnetresonanztomographischem Monitoring und einer nachgewiesenen statistischen Erfolgsgenauigkeit von ca. 90% eine Alternative zur heute üblichen operativen Resektion mit unmittelbarer histologischer Aufarbeitung der Schnittländer.

Die Verbesserung der Lebensqualität der betroffenen Patienten ist nicht zu unterschätzen, da gerade die oben genannten Symptome häufig zur Hospitalisierung der Patienten führen und die Lebenserwartung weiter reduzieren. Auch die anderen bekannten palliativen Therapieansätze, wie die endoskopische Stentimplantation zur Beseitigung der Gangobstruktion oder die Chemotherapie zur Reduktion der Tumormasse dienen der Verbesserung der Lebensqualität der Patienten. Gerade die Chemotherapie jedoch erfordert häufig regelmäßige stationäre Aufenthalte und ist durch die systemische Wirkung auf den Organismus häufig mit einer hohen

Nebenwirkungsrate mit Übelkeit, Erbrechen, Dehydratation und hämatologischen Veränderungen wie Leukopenie verbunden.

Nicht zuletzt ist zu berücksichtigen, dass auch bei einer onkologischen R0-Resektion, das heißt tumorfreie Schnittränder, in 90% der Fälle mit einem Tumorrezidiv zu rechnen ist, da zu diesem Zeitpunkt bereits Mikrometastasen in der Leber und im Peritoneum vorhanden sind, so dass diese ausgedehnte Operation keinen Einfluss auf die 5-Jahres-Überlebensrate hat [81]. Die laserinduzierte Thermotherapie ist eine minimalinvasive Methode, die wie analoge Anwendungen an der Leber und anderen Organen zeigen, für die betroffenen Patienten nur einen kurzen stationären Aufenthalt von zumeist 1 bis 3 Tagen erfordert und nur eine geringe Belastung bedeutet.

Da unsere Untersuchungen am gesunden Pankreasgewebe durchgeführt wurden, sind nun weiterführende Versuche am tatsächlichen Pankreaskarzinom von besonderem Interesse.

Es ist bekannt, dass maligne Zellen bei niedrigeren Temperaturen abgetötet werden als normale Zellen. Möglicherweise ist das sensiblere Verhalten von malignen Zellen gegenüber Temperaturerhöhung durch den geringeren Blutfluss in diesen Tumoren bedingt, so dass ein dadurch schnelles Abkühlen des abladierten Gewebes durch umgebene Gefäße nicht möglich ist [54]. Da auch das Pankreaskarzinom zu den wenig vaskularisierten Tumoren zählt, bietet es damit ideale Voraussetzungen für die laserinduzierte Thermotherapie. Es ist zu erwarten, dass sich die Regressionsgleichung in der Art verändert, dass geringere Laserenergien erforderlich wären, um ähnlich Nekrosegrößen zu produzieren.

In der jüngsten Vergangenheit wurden neue Entwicklungen vorgestellt, die die Punktion des Tumors vereinfachen sollen. So steht jetzt die Cool-Tip™ MRT Sonde (Tyco Healthcare, Neustadt, Germany) für die Radiofrequenzablation zur Verfügung. Diese Sonde ist intern wassergekühlt und durch die Verarbeitung von Spezialmaterialien besonders gut für magnetresonanztomographische Bildverfahren zur Minimierung von Bildartefakten geeignet. Da mit dem Einbringen dieser Sonden bis zu drei Einzelsonden, die starr miteinander verbunden sind, auf einmal platziert werden können, lässt sich das Läsionsvolumen erhöhen, ohne jeden Applikator einzeln platzieren zu müssen. Bei Entwicklung dieses Multiapplikators für die laserinduzierte Thermotherapie ließe sich die Behandlung komplikationsarmer und schneller und somit

weniger belastend für den Patienten durchführen.

Der Einsatz spezieller Kontrastmittel, die die Läsionen besser vom umliegenden Gewebe demarkieren, würde das Monitoring der laserinduzierten Thermotherapie weiter optimieren und damit die Prozedur sicherer machen. Da sich die laserinduzierte Thermotherapie der direkten visuellen Kontrolle entzieht, ist die Präzision des Monitorings von entscheidender Bedeutung. Jüngste Studien haben die Anwendung von eisenhaltigen Kontrastmitteln in Verbindung mit gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln im Doppelkontrastverfahren bei der laserinduzierten Thermotherapie von Lebermetastasen gezeigt. Bei dieser Kombination ließen sich die hyperintensiven Nekrosen noch deutlicher vom umliegenden hypointensen Lebergewebe abgrenzen [82].

Die exakte Abbildung der vorherrschenden Temperatur während des Prozesses ist nach wie vor ein Problem bei der Thermotherapie, da die Einflussfaktoren auf das thermische Verhalten nicht kontrolliert werden können. Neue Ergebnisse geben einen Ausblick auf zukünftige Möglichkeiten durch den Einsatz der Magnetresonanztomometrie (MRTI). McNichols et al konnten zeigen, dass die mittels laserinduzierter Thermotherapie produzierten Nekrosen, dargestellt in der MRTI, mit hoher Korrelation denen der histopathologischen Auswertung entsprachen [83]. Durch dieses neue Verfahren könnte die Temperaturentwicklung während der laserinduzierten Thermometrie besser kontrolliert und die Komplikationsrate verringert werden.

Durch die rasante Entwicklung der Hochfeldtomographen kommen derzeit immer häufiger 3 Tesla Geräte in der klinischen Anwendung zum Einsatz, die sich vor allem durch eine höhere örtliche Auflösung sowie durch ein besseres Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) auszeichnen. Durch ihren Einsatz wird in Zukunft das Online-Monitoring der laserinduzierten Thermotherapie noch präziser durchführbar sein.

#### 4.7 Schlussfolgerung

1. Die laserinduzierte Thermotherapie ist eine Therapieoption, die auf das Pankreas anwendbar ist, da es trotz seiner schwierigen topographischen Lage gut zu punktieren ist, keine generalisierten Reaktionen durch die Intervention hervorgerufen werden und die Ergebnisse sicher zu reproduzieren sind.
2. Die Korrelationsanalysen zwischen der Laserleistung und der Nekrosegröße ergaben eine hohe Übereinstimmung, so dass bei Verwendung einer definierten Laserleistung eine bestimmte Nekrosegröße zu erwarten ist.
3. Die durchgeführten Korrelationsanalysen zeigen eine hohe Übereinstimmung zwischen magnetresonanztomographischer und histopathologischer Nekrosegröße. Damit wurde gezeigt, dass die Magnetresonanztomographie in der Lage ist die Läsionen sicher zu detektieren und so ein hervorragendes Monitoringverfahren für die laserinduzierte Thermotherapie ist.
4. Im zeitlichen Verlauf zeigten sich Umbauvorgänge der Nekrose, die sogar teilweise in der Magnetresonanztomographie abgebildet wurden. Die Nekrose wurde im zeitlichen Verlauf kleiner.
5. Die Verwendung von Multiapplikatoren Systemen erzeugt größere Läsionen als die Anwendung von Einzelapplikatoren mit hoher Laserleistung bei gleichzeitig sinkendem Risiko für Komplikationen.
6. Es ergaben sich keine gravierenden Nebenwirkungen, die das Pankreas von der Option der laserinduzierten Thermotherapie ausschließen würden.
7. Um die vorliegenden Ergebnisse statistisch signifikant zu bestätigen, sind Untersuchungen von größeren Versuchsreihen erforderlich.

Damit ist die vorliegende Studie ein Grundbaustein, die laserinduzierte Thermotherapie an einem geeigneten in vivo Tumormodell zu präzisieren und in größeren Versuchsgruppen die gewonnenen Erkenntnisse zu bestätigen und die Einsatzfähigkeit als alternatives Verfahren zur Therapie der Pankreastumoren einzusetzen.

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Einsatzmöglichkeit der laserinduzierten interstitiellen Thermotheapie mit Hilfe eines Nd:YAG-Lasers (1064 nm) mit diffuser Lichtstreuung am Pankreas erprobt. Es konnte belegt werden, dass die laserinduzierte Thermotheapie ein geeignetes Verfahren zur perkutanen Ablation von Pankreasgewebe darstellt, ohne schwerwiegende Komplikationen auszulösen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass sich in vivo am Pankreas reproduzierbare Läsionsvolumina induzieren lassen, ohne eine generalisierte Pankreatitis auszulösen. Hierzu wurde in einem in vivo Versuchsansatz der Effekt der LITT auf das gesunde Pankreas des Schweins unter magnetresonanztomographischer Kontrolle während, unmittelbar nach Laserapplikation und im zeitlichen Verlauf untersucht. Bei allen Versuchstieren wurde das Pankreas makroskopisch und histologisch untersucht und mit den magnetresonanztomographischen Befunden statistisch korreliert.

Es wurden 15 gesunde Läufer Schweine in Allgemeinnarkose mit einem Nd:YAG-Laser einer LITT des Pankreas unterzogen, wobei der Pankreasschwanz, -korpus und -kopf auf verschiedenen Wegen (transhepatisch, transgastrisch, transenteral, interaortocaval) unter CT-Kontrolle punktiert wurde. Während der Intervention wurden keine intraabdominelle Hämatome oder Darmperforationen beobachtet. Die Tiere wurden dann jeweils über 15 min mit einer Energieleistung von 5 Watt (5 French), 10 Watt (9 French), 20 Watt (9 French) bzw. parallel mit zwei mal 5 Watt (2 x 5 French) mittels zwei Applikatoren behandelt. Dies erfolgte unter magnetresonanztomographischer Kontrolle.

Mit den durchgeführten Korrelationsanalysen konnte gezeigt werden, dass die Magnetresonanztomographie ein hervorragendes Online-Monitoringverfahren darstellt, um die Applikatoren sicher zu positionieren, den Prozess zu überwachen sowie postinterventionell den Erfolg mit einer statistischen Genauigkeit von bis zu 90% zu kontrollieren und gegebenenfalls Komplikationen frühzeitig zu erkennen. Hierfür wurden mit dem Magnetom SP63 (Siemens, Erlangen, Deutschland) verschiedene Sequenzen aufgenommen. Es erfolgten sowohl native T1-gewichtete Spinechosequenzen (TR/TE 600/15) und T2-gewichtete Spinechosequenzen (TR/TE 2000/90) als auch spezielle thermosensitive thermo-FLASH-Sequenzen (TR/TE 102/8), die den Thermoeffekt besonders gut darstellen. Die T1-gewichteten Aufnahmen wurden nach

Kontrastmittelapplikation von 0,2 mmol/ kg Körpergewicht Gadopentetat Dimeglumin (Schering, Berlin) wiederholt angefertigt. Die Aufnahmen wurden in 5 mm Schichtdicke gefertigt.

In keinem Versuch wurden Komplikationen wie Pankreatitis, Peritonitis oder Stauung des Ductus pancreaticus beobachtet. Die Intervention wurde von allen Tieren gut vertragen. Lediglich in einem Fall kam es postinterventionell zu subfebrilen Temperaturen.

Der durchschnittliche maximale Durchmesser der induzierten Läsion betrug in der magnetresonanztomographischen Auswertung in der 1. Gruppe, die mit einer Laserleistung von 5 Watt behandelt wurde,  $12,5 \text{ mm} \pm 1,5 \text{ mm}$ . In der zweiten Gruppe (10 Watt) betrug dieser  $25,7 \text{ mm} \pm 2,5 \text{ mm}$ . In der 3. Gruppe (20 Watt) betrug der Durchmesser der Nekrosen  $27,5 \text{ mm} \pm 1,50 \text{ mm}$  und in der 4. Gruppe, die mit zwei Applikatoren je 5 Watt behandelt wurden, betrug der maximal gefundene Durchmesser  $36 \text{ mm} \pm 4,88 \text{ mm}$ .

Die Läsionen waren in der Magnetresonanztomographie deutlich am Signalitätsverlust sowohl in den T1-gewichteten Spinechosequenzen als auch in den thermosensitiven thermo-FLASH-Sequenzen zu erkennen. Nach Kontrastmittelapplikation war ein deutliches Enhancement in der Übergangszone erkennbar. Die verwendeten Laserleistungen wurden mit der Größe der induzierten Läsion korreliert. Dabei ergaben sich hohe Korrelationskoeffizienten, so dass belegt werden konnte, dass bei Verwendung einer bestimmten Laserleistung eine definierte Nekrosegröße induziert wird. Hierfür wurde die Laserleistung den gemessenen Nekrosegröße in der T1-gewichteten Spinechosequenz und in der thermosensitiven thermo-FLASH-Sequenz gegenübergestellt. Es konnte für beide Sequenzen ein hoher linearer Korrelationskoeffizient von  $r = 0,75$  ermittelt werden, der durch die logarithmische Regression auf  $r = 0,84$  bzw.  $0,92$  gesteigert wurde.

Weiterhin sollte mit makroskopischen und mikroskopischen Analysen die Größe der Läsion überprüft werden und die Gesamtauswirkung der Intervention auf das Pankreas untersucht werden. Hierfür wurden alle Präparate makroskopisch untersucht und fotografiert. Die histologische Beurteilung erfolgte in HE-Färbung. Die histologischen Präparate wurden fotografiert. Hierbei zeigte sich in keinem Fall eine generalisierte Pankreatitis, eine Abszessbildung oder ein intraabdominelles Hämatom. Die induzierten

Nekrosen waren gut vom umliegenden Gewebe abgrenzbar. Die Nekrosegröße war abhängig von der verwendeten Laserenergie und betrug maximal 36 mm im mittleren Radius. Mit zunehmender Überlebenszeit der Versuchstiere bildete sich ein Granulationssaum von maximal 3 mm Breite, der den Übergang zu nicht geschädigtem Pankreasgewebe bildete und so die Nekrose vom umliegenden nicht geschädigten Gewebe gut demarkierte.

Durch die Anwendung der Multiapplikatortechnik wurden im Vergleich zur Benutzung einer Laserleistung von 20 Watt mit dem Einzellaser ähnliche Nekrosegrößen und sogar größere Nekrosegrößen erreicht (36 mm vs. 32 mm). Hier fiel jedoch auf, dass häufiger peripankreatisches Fettgewebe mitkoagulierte. In zwei Fällen wurden während der pathologischen Aufarbeitung Duodenalulzera gefunden, die in der magnetresonanztomographischen Untersuchung nicht sichtbar waren, so dass deutlich wird, dass eine präzise Prozessdurchführung und -kontrolle unerlässlich ist.

Um magnetresonanztomographische und histologische Veränderungen im zeitlichen Verlauf sowie verspätete Komplikationen erfassen zu können, wurden die Kontrollen in 9 Fällen nach 7 Tagen durchgeführt. In den magnetresonanztomographischen Kontrolluntersuchungen 7 Tage nach der Intervention wurde die Organisation der Nekrose durch Schrumpfung um ca. 3 mm und zunehmende Inhomogenität deutlich. Der zuvor hyperdense Randsaum stellte sich mit weiter verstärkter Intensität dar. Histologisch zeigte die Nekrose einen Aufbau in 3 Zonen, die sich im zeitlichen Verlauf veränderten. Unmittelbar nach Intervention konnte ein hämorrhagischer Randsaum nachgewiesen werden, der nach 7 Tagen durch Invasion von Granulozyten ersetzt wurde. Bei 3 Präparaten war nach 7 Tagen bereits eine Fibroblasteneinsprossung zu erkennen.

Um die Echtheit der Darstellung der Nekrosen in der Magnetresonanztomographie zu überprüfen, wurden die magnetresonanztomographisch ermittelten Durchmesser der Läsionen mit den histopathologisch ermittelten Durchmessern korreliert. Dabei ergab sich für turbo-Flash-Sequenzen ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,71$  und für T1-gewichtete Sequenzen ein Korrelationskoeffizient von sogar  $r = 0,89$ . Damit gibt die T1-gewichtete Aufnahme die Läsion mit größter Genauigkeit wieder und ist so ein geeignetes Ersatzkontrollverfahren zur histologischen Aufarbeitung der Präparate.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die laserinduzierte Thermotherapie eine sinnvolle alternative Therapiemethode für maligne Erkrankungen des Pankreas darstellen kann. Die LITT könnte als palliative Therapieoption zur Reduktion tumorbedingter Symptome eingesetzt werden, um die Lebensqualität der Patienten zu verbessern. Es ergeben sich deutliche Hinweise darauf, dass die LITT des Pankreas aufgrund ihrer geringen Rate an unerwünschten Nebenwirkungen im Tierversuch eine sinnvolle Option für die palliative Therapie des Pankreaskarzinoms oder auch anderer Tumoren darstellen könnte, die in klinischen Phase-I-Studien geprüft werden sollte.

Mit der rasanten Weiterentwicklung der Applikatorsysteme und Applikationstechnik sowie der Magnetresonanztomographen könnte die Therapie des Pankreaskarzinoms eine Indikation für die LITT sein, die auch wegen ihrer Minimalinvasivität und damit geringen Komplikationsrate eine Alternative zu bestehenden Therapieoptionen darstellen kann.



## 6 Literaturverzeichnis

1. Spatz H, Jauch KW: Tumorzelldissemination beim Pankreaskarzinom-Besonderheiten und prognostische Wertigkeit. 10.02.2003, [www.intertivity.com](http://www.intertivity.com)
2. Böttger T, Engelmann R, Seifert JK, Löw R, Junginger T: Preoperative diagnostics in pancreatic carcinoma: would less be better? *Langenbeck's Arch Surg* 383: 243-248, 1998
3. Bansal P, Sonnenberg A: Pancreatitis is a risk factor for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 109: 247-251, 1995.
4. Riede UN, Stolte M: Pankreaskarzinome, Riede UN, Schaefer HE: Allgemeine und spezielle Pathologie, 4. Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag 795, 1999, 3-13-683304-X.
5. Warshaw AL, del Fernandez CC: Pancreatic carcinoma. *N Engl J Med* 326: 455-465, 1992.
6. Nitecki SS, Sarr MG, Colby TV, van Heerden JA: Long-term survival after resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas: is it really improving? *Ann Surg* 221: 59-66, 1995.
7. Müller MF, Meyenberger C, Bertschinger P et al: Pancreatic tumors: evaluation with endoscopic US, CT and MRI imaging. *Radiology* 190: 745-751, 1994.
8. Ichikawa T, Haradome H, Hachiya J et al: Pancreatic ductal adenocarcinoma: preoperative assessment with helical CT versus dynamic MR imaging. *Radiology* 202: 655-662, 1997.
9. Gmeinwieser J, Feuerbach S, Hohenberger W et al: Spiral-CT in diagnosis of vascular involvement in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 42: 418-422, 1995.
10. Lentschig MG, Reimer P, Rummeny E et al: Die Wertigkeit der 3-Phasen-Spiral-CT und der Magnetresonanztomographie in der präoperativen Diagnostik des Pankreaskarzinoms. *Radiologe* 36: 406-412, 1996.
11. Semelka RC, Arscher SM: MR imaging of the pancreas. *Radiology* (3) 188: 593-602, 1993.
12. Brown ED, Semelka RC: Magnetic resonance imaging of the spleen and pancreas. *Top Magn Reson Imaging* 7 (2): 82-89, 1995.
13. Irie H, Honda H, Kaneko K, Kuroiwa T, Yoshimitsu K, Masuda K: Comparison of

helical CT and MR imaging in detecting and staging small pancreatic adenocarcinoma. *Abdominal Imaging* 22: 429-433, 1997.

14. Lopez Hänninen E, Amthauer H, Hosten N, Ricke J et al: Prospective evaluation of pancreatic tumors: accuracy of MR imaging with MR cholangiography and MR angiography. *Radiology* 224: 34-41, 2002.

15. Catalano C, Pavone P, Laghi A et al: Pancreatic adenocarcinoma: combination of MR imaging, MR angiography, MR cholangiopancreatography for the diagnosis and assessment of respectability. *Eur Radiology* 8: 428-434, 1998.

16. Gaa J, Laub G, Edelmann RR et al: Erste klinische Ergebnisse mit der ultraschnellen, kontrastverstärkten 2-Phasen 3-D-MR-Angiographie im Abdomen. *Fortschr Röntgenstr* 169: 1-5, 1998.

17. Stehling MK, Holzknacht N, Laub G: Gadolinium-verstärkte Magnetresonanztomographie der Abdominalgefäße. *Radiologe* 37: 539-546, 1997.

18. Delbeke D, Rose DM, Chapman WC, Pinson W, Wright JK, Beauchamp RD, Shyr Y, Leach SD: Optimal Interpretation of FDG PET in the Diagnosis, Staging and Management of Pancreatic Carcinoma. *J Nucl Med* (11) 40: 1784-1791, 1999.

19. Fernandez-del Castillo C, Rattner DW, Warshaw AL: Further experience with laparoscopy and peritoneal cytology in staging for pancreatic cancer. *Br J Surg* 82: 1127-1129, 1995

20. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 4: 86-29, 1998.

21. Maiman TH: Biomedical lasers evolve toward clinical applications. *Hosp Manage* 101: 39-41, 1996.

22. Bown SG: Phototherapy of tumors. *World J Surg* 7: 700-709, 1983.

23. Ascher PW, Justich E, Schrottner O: Interstitial thermotherapy of central brain tumors with Nd:YAG laser under real-time monitoring by MRI. *J Clin Laser Med Surg* (1) 9: 79-83, 1991.

24. Auer LM, Ascher PW, Heppner F, Ladurner G, Bone G, Lechner H, Tolly E: Does acute endoscopic evacuation improve the outcome of patients with spontaneous intracerebral hemorrhage? *Eur Neurol* (4) 24: 254-261, 1985.

25. Higuchi N, Bleier AR, Jolesz FA, Colucci VM, Morris JH: MRI of the acute effects of

- interstitial Nd:YAG laser irradiation on tissues. *Invest Radiol* 27: 814-821, 1992.
26. Anzai Y, Lufkin RB, Castro DJ, Farahani K, Jabour BA, Layfield LJ, Udkoff R, Hanafee WN: MR imaging-guided interstitial Nd:YAG laser phototherapy: Dosimetry study of acute tissue damage in an in-vivo model. *J Magnet Res Imaging* 1: 553-559, 1991.
27. Masters A, Bown SG: Interstitial laser hyperthermia. *Semin Surg Oncol* 8: 242-249, 1992.
28. Van Beuningen D: Hyperthermie als zytotoxisches und strahlensensibilisierendes Agens: zelluläre Effekte. *Strahlentherapie* 159: 60-66, 1983.
29. Hiele M, Penninckx F, Gevers AM, Van Eyken P et al: Interstitial thermotherapy for liver tumors: Studie of different fibers and radiation characteristics. *Laser Med Science* 8: 121-126, 1993.
30. Dalannoy J, Ching-Nien Chen, Turner R, Levin RL, Le Bihan D: Noninvasive temperature imaging using diffusion MRI. *Magn Reson Med* 19: 333-339, 1991.
31. Huang GT, Wang TH, Sheu JC, Daikuzono N et al: Low-power laserthermia for treatment of small hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 27: 1622- 1627, 1991.
32. Svaasand LO, Boerlid T, Oeveraasen M: Thermal and optical properties of living tissue: application laser-induced hyperthermia. *Lasers Surg Med* 5: 589-602, 1985.
33. Roggan A, Müller G: Dosimetry and computer based irradiation planning for laser-induced interstitial thermotherapy (LITT) SPIE- The International Society for Optical Engineering Press Laser-induced Interstitial Thermotherapy. Bellingham, Washington Spie 114-156, 1995.
34. Vogl TJ, Mack M, Straub R, Eichler K, Engelmann K, Roggan A, Zangos S: Perkutane interstitielle Thermotherapie maligner Lebertumoren. *Forschr Röntgenstr* 172: 12-22, 2000.
35. Anzai Y, Lufkin R, De Salles A et al: Preliminary experience with MR-guided thermal ablation of brain tumors. *AJNR* 16: 39-48, 1995.
36. Jäger L, Müller-Lisse GU, Gutmann R, Feyh J, Thoma M, Reiser M: Erste Ergebnisse der MRT-gesteuerten laserinduzierten interstitiellen Thermotherapie von Kopf- und Halstumoren. *Radiologe* 36: 236-244, 1996.
37. Akimov AB, Seregin VE, Rusanov KV, Tyurina EG, Glushko TA, Nevzorov VP,

- Nevzorova OF, Akimova EV: Nd:YAG interstitial laser thermotherapy in the treatment of breast cancer. *Lasers in Surgery and Medicine* 22: 257-267, 1998.
38. Bleier AR, Jolesz FA, Cohen MS, et al: Real-time magnetic resonance imaging of laser heat deposition in tissue. *Magn Reson Med* 21: 132-137, 1991.
39. Castro DJ, Saxton RE, Layfield LJ, et al: Interstitial laser phototherapy assisted by magnetic resonance imaging: a new technique for monitoring laser-tissue interaction. *Laryngoscope* 100: 541-547, 1990.
40. Dickinson AR, Hall AS, Hind AJ, Young IR: Measurement of changes in tissue temperature using MR imaging. *J Comput Assist Tomogr* 10: 486-472, 1986.
41. Matsumoto R, Selig AM, Colucci VM et al: Interstitial Nd:YAG laser ablation in normal rabbit liver; Trial to maximize the size of laser-induced lesions. *Laser Surg Med* 12: 650-658, 1992.
42. Haase A: Snapshot FLASH MRI. Applications to T1, T2 and Chemical-Shift Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 13: 77-89, 1990.
43. Müller-Lisse GU, Heuck A, Stehling MK: MRT-Monitoring vor, während und nach der interstitiellen laserinduzierten Thermotherapie der benignen Prostatahyperplasie Erste klinischer Erfahrungen. *Der Radiologe* 36: 722-731, 1996.
44. Probst A, Henninger W, Willmann M, Bergmeister H, Losert U: CT-Anatomie des Pankreas beim Schwein in der medizinischen Forschung. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 85: 352-358, 1998.
45. Dondelinger RF, Ghysels MP, Brisbois P: Relevant radiological anatomy of the pig as a training model in interventional radiology. *Eur Radiol* 8: 1254-1273, 1998.
46. Georgi M, Gaa J, Lehmann KJ, Diehl S, Jungius KP: Aktuelle Entwicklung in der radiologischen Diagnostik von Pankreaserkrankungen. *Röntgenpraxis* 51: 191-202, 1998.
47. Kelly DM, Benjamin GS: Pancreatic carcinoma. *Ann Oncol* 6: 19-28, 1995.
48. Cascinu S, Silva RR, Barni S et al: A combination of gemcitabine and 5-fluorouracil in advanced pancreatic cancer, a report from the Italian Group for the Study of Digestive Tract Cancer (GISCAD). *Br J Cancer* 80: 1595-1598, 1999.
49. Seki T, Wakabayashi M, Nakagawa T et al: Ultrasonically guided percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 74: 817-825,

1994.

50. Merkle EM, Haaga JR, Duerk JL, Jacobs GH, Brambs H-J, Lewin JS: MR imaging-guided radio-frequency thermal ablation in the pancreas in a porcine model with a modified clinical C-arm system. *Radiology* 213;2: 461-467, 1999.
51. Murakami R, Yoshimatsu S, Yamashita Y, Matsukawa T, Takahashi M, Sagara K: Treatment of hepatocellular carcinoma: value of percutaneous microwave coagulation. *AJR* 164: 1159-1164, 1995.
52. Tacke J, Adam G, Speetzen R et al: MR-guided interstitial cryotherapy of the liver with a novel, nitrogen-cooled cryoprobe. *Magn Reson Med* 39: 354-360, 1998.
53. McDannold NJ, Hynynen K, Wolf D, Wolf G, Jolesz F: MRI evaluation of thermal ablation of tumors with focused ultrasound. *JMRI* 8: 91-100, 1998.
54. Matsui Y, Nakagawa A, Kamiyama Y, Yamamoto K, Kubo N, Nakase Y: Selective Thermocoagulation of unresectable pancreatic cancers by using radiofrequency capacitive heating. *Pancreas (1)* 20: 14-20, 2000.
55. Thomson S: Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interaction. *Photochem Photobiol* 53: 825-835, 1991.
56. Lepock JR, Frey HE, Ritchie KP: Protein denaturation in intact hepatocytes and isolated organelles during heat shock. *J Cell Biol* 122: 1267-1276, 1993.
57. Heiserkamp J, v. Hillegersberg R, Ijzermans JNM: Critical temperature and heating time for coagulation damage: implications for interstitial laser coagulation (ILC) of tumors. *Lasers in Surgery and Medicine* 25: 257-262, 1999.
58. Orth K, Russ D, Steiner R, Beger HG: Dynamische interstitielle Laserapplikation zur Therapie sekundärer Lebertumoren. *Chirurg* 68: 1268-1274, 1997.
59. Vogl TJ, Mack MG, Roggan A, Straub R, Eichler KC, Müller PK, Knappe V, Felix R: Internally colled power laser for MR-guided interstitial laser-induced thermotherapy of liver lesions: initial clinical results. *Radiology* 209: 381-385, 1998.
60. Kahn T, Schwabe B, Bettag M, Harth T, Ulrich F, Rassek M, Schwarzmaier HJ, Mödder U: Mapping of the cortical motor hand area with functional MR imaging and MR imaging-guided laser-induced interstitial thermotherapy of brain tumors. *Radiology* 200: 149-157, 1996.
61. Vogl TJ, Mack MG, Müller P, Philipp C, Juergens M, Knöbber D, Roggan A, Wust P,

- Jahnke V, Felix R: MR-gesteuerte laserinduzierte Thermotherapie bei Tumoren in der Kopf-Hals-Region: Erste klinische Ergebnisse. *Fortschr Röntgenstr* 163: 505-514, 1995.
62. Tracz RA, Wyman DR, Little PB, Towner RA et al: Comparison of magnetic resonance images and the histopathological findings of lesions induced by interstitial laser photocoagulation in the brain. *Lasers in Surgery and Medicine* 13: 45-54, 1993.
63. Mumtaz H, Hall-Craggs MA, Wotherspoon A, Paley M, Buonaccorsi G, Amin Z, Wilkinson I, Kissin MW, Davidson TI, Taylor I, Bown SG: Laser therapy for breast cancer: MR imaging and histopathologic correlation. *Radiology* 200: 651-658, 1996.
64. Mueller-Lisse UG, Thoma M, Faber S et al: Coagulative interstitial laser-induced thermotherapy of benign prostatic hyperplasia: online imaging with a T2-weighted fast spin-echo MR sequence- experience in six patients. *Radiology* 210: 373-379, 1999.
65. Vogl TJ, Mack MG, Straub R et al: Interventionelle MR-gesteuerte laserinduzierte Thermotherapie bei onkologischen Fragestellungen. *Radiologe* 39: 764-771, 1999.
66. Dachmann AH, McGehee JA, Beam TE, Burris JA, Powell DA: US-guided percutaneous laser ablation of liver tissue in a chronic pig model. *Radiology* 176: 129-133, 1990.
67. Frank F, Hessel S: Technical prerequisites for the interstitial thermotherapy with the Nd:YAG laser. *Lasermedizin* 10: 36-40, 1990.
68. Castrén-Persons M, Lipasti J, Poulakkainen P, Schröder T: Laserinduced hyperthermia: Comparison of two different methods. *Laser Surg Med* 12: 665-668, 1992.
69. Gewiese B, Beuthan J, Fobbe F: Magnetic resonance imaging-controlled laserinduced interstitial thermotherapy. *Invest Radiol* (3) 29: 345-351, 1994.
70. Van Hillegersberg R, Van Staveren HJ, Kort WJ: Interstitial Nd:YAG laser coagulation with a cylindrical diffusing fiber tip in experimental liver metastases. *Laser Surg Med* (2) 14: 124-138, 1994.
71. Brandt KR, Charboneau JW, Stephens DH, Welch TJ, Goellner JR: CT- and US-guided biopsy of the pancreas. *Radiology* 187: 99-104, 1993.
72. Wacker FK: Interventionelle MRT. *Fortschr Röntgenstr* 176: 941-943, 2004.
73. Malone DE, Wyman DR, DeNardi FG, McGrath FP, De Gara CJ, Wilson BC: Hepatic interstitial laser photocoagulation. An investigation of the relationship between

- acute thermal lesions and their sonographic images. *Invest Radiol* 29: 915-921, 1994.
74. Malone DE, Wyman DR, Moote DJ, DeNardi FG et al: Sonographic changes during hepatic interstitial laser photocoagulation. An intervestigation of three optical fiber tips. *Invest Radiol* 27: 804-813, 1992.
75. Goldberg SN, Mallery S, Gazelle GS et al: EUS-guided radiofrequency ablation in the pancreas: results in a porcine model. *Gastrointestinal Endoscopy* 503: 392-401, 1999.
76. Vogl TJ, Müller PK, Hammerstingl R et al: Malignant liver tumors treated with MR imaging-guided laser-induced thermotherapy: technique and prospective results. *Radiology* 196: 257-265, 1995.
77. Rummeny EJ, Peters PE: Stand der Entwicklung neuer klinischer Kontrastmittel für die MR-Diagnostik von Lebererkrankungen. *Radiologie* 32: 225-231, 1992.
78. Lees WR, Gilliams AR, Whitelaw D, Bown SG, Hatfield AR: CT guided percutaneous treatment of pancreatic cancer with photodynamic therapy. *Radiology (P)* 209: 449, 1998.
79. Jolesz FA, Bleier AR, Jakab: MR imaging of laser-tissue interactions. *Radiology* 168: 249-253, 1988.
80. Anzai Y, Lufkin RB, Hirschowitz S, Castro DJ: MR imaging-Correlation of thermal injuries induced with interstitial Nd:YAG laser irradiation in the chronic model. *J Magnet Res Imaging* 2: 671-678, 1992.
81. Beger HG, Poch B, Schwarz M, Gansauge F: Pankreaskarzinom: Stellenwert der neoadjuvanten Therapie. *Chirurg* 74: 202-207, 2003.
82. Puls R, Kroncke TJ, Kluner C, Gaffke G, Stroszczyński C, Albrecht T, Speck U, Hamm B: Double contrast MRI of thermally ablated liver metastases. *ROFO Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr (11)* 175: 1467-1470, 2003.
83. McNichls RJ, Gowda A, Kangasniemi M, Bankson JA, Price RE, Hazle JD: MR thermometry-based feedback control of laser interstitial thermal therapy at 980 nm. *Lasers Surg Med (1)* 34: 48-55, 2004.
84. Ruf J, Lopez Hanninen E, Oettle H, Plitkin M, Pelzer U, Stroszczyński C, Felix R, Amthauer H: Detection of recurrent pancreatic cancer: comparison of FDG-PET with CT/MRI. *Pancreatoloy* 5 (2-3): 266-72, 2005.

85. Lemke AJ, Niehues SM, Hosten N, Amthauer H, Boehmig M, Stroszczynski C et al: Retrospective digital image fusion of multidetector CT and <sup>18</sup>F-FDG PET: Clinical value in pancreatic lesions- a prospective study with 104 patients. *J Nucl Med* 15 (8): 1279-1286, 2004.
86. Stroszczynski C, Hosten N, Puls R et al: Histopathological correlation to MRI findings during and after laser-induced thermotherapy in a pig pancreas model. *Invest. Radiol* 36 (7): 413-21, 2001.



## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c.R. Felix, Direktor der Strahlenklinik und Poliklinik der Charité, danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. C. Stroszczyński, Oberarzt der Strahlenklinik und Poliklinik der Charité, für seine motivierende und konstruktive Unterstützung, freundschaftliche Betreuung und abschließende Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. med. vet. S. Nagel von der tierexperimentellen Einrichtung der Charité Campus Virchow gilt mein Dank für die beständige Begleitung der tierexperimentellen Untersuchungen.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. J. Scholman, Oberarzt des Pathologischen Institutes der Charité, für die unermüdliche Unterstützung bei der makroskopischen und histologischen Anfertigung und Untersuchung der Präparate.

Daneben gilt mein verbindlicher Dank Frau Rösel und Frau Krantz, wissenschaftliche Mitarbeiter des Pathologischen Institutes der Charité, für die Anfertigung der Photographien der Präparate. Den Mitarbeitern des Pathologischen Institutes der Charité danke ich für die Anfertigung der histologischen Schnittpräparate.

Mein besonderer Dank gilt meinem Freund, Lars Schirbel für die moralische Unterstützung, die stetige Geduld und das Verständnis, das er bis zur Fertigstellung dieser Arbeit aufbrachte.

Meinen Eltern danke ich für die unermüdliche Unterstützung und das große Interesse, mit dem sie die Arbeit verfolgten und natürlich für die konstruktive Kritik bei der Durchsicht des Manuskripts.

**Lebenslauf**

Name	Anja Grabig
Geburtsdatum	03.07.1976
Geburtsort	Forst/ Lausitz
Eltern	Dr. Jürgen Grabig Barbara Grabig, geb. Heiden
<b>Ausbildung</b>	
1983 – 1991	22. Polytechnische Oberschule Cottbus
1991 – 1996	1. Gymnasium Cottbus
<b>Studium</b>	
1996 – 1998	Vorklinischer Abschnitt
1999 – 2000	1. Klinischer Abschnitt, 03/00 1. Staatsexamen
2000 – 2002	2. Klinischer Abschnitt, 07/02 2. Staatsexamen
2002 – 10/03	3. Klinischer Abschnitt, 10/03 3. Staatsexamen
<b>Berufliche Tätigkeit</b>	
Dez. 2003 - Sep. 2004	Ärztin im Praktikum an der Charité Campus Virchow Klinikum Medizinische Klinik m. S. Hepatologie und Gastroenterologie Leiter: Prof. Dr. B. Wiedenmann
seit Okt. 2004	Assistenzärztin an der Charité Campus Virchow Klinikum Medizinische Klinik m. S. Hepatologie und Gastroenterologie Leiter: Prof. Dr. B. Wiedenmann
Berlin, 20.06.2006	

Anja Grabig

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass

- die Dissertation von mir selbst und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst wurde
- auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt
- die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Berlin, 20.06.2006

Anja Grabig