

Aus der Klinik für Chirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Bruch

**Evaluation der Dissektionseigenschaften eines cw Thulium-
YAG Lasersystems für den Einsatz in der laparoskopischen
Kolonresektion**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Verena Ott
aus Erlangen

Lübeck 2005

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Peter Sterk
2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Alfred Vogel

Tag der mündlichen Prüfung: 03.03.2006

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 03.03.2006

gez. Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	5
1.1	Einleitung	5
1.1.1	Minimal-invasive Chirurgie	5
1.1.2	Gewebedissektion	6
1.1.3	Hochfrequenzchirurgie	6
1.1.4	Ultraschalldissektion	7
1.1.5	Laser	8
1.1.6	Wechselwirkungen von Laserlicht und Gewebe	12
1.1.7	Laser in der Medizin - Überblick	17
1.2	Problemstellung	19
2	Material und Methoden	21
2.1	Lasersystem und Fasern	21
2.2	In-vitro Laserablation	21
2.2.1	In-vitro Ablation von Lebergewebe	21
2.2.2	In-vitro Ablation von Mesenterialgewebe	24
2.3	Tierstudie	25
2.4	In-vivo Gefäßdissektion	33
3	Ergebnisse	36
3.1	In-vitro Laserablation	36
3.1.1	In-vitro Ablation von Lebergewebe	36
3.1.2	In-vitro Ablation von Mesenterialgewebe	40
3.2	Tierstudie	42
3.3	In-vivo Gefäßdissektion	45
4	Diskussion	48
4.1	In-vitro Laserablation	48
4.2	Tierstudie	54
4.3	In-vivo Gefäßdissektion	57
5	Zusammenfassung	61
6	Literaturverzeichnis	63
7	Anhang	67
7.1	Tabellen und Bilder	67
7.2	Genehmigung der Tierversuche	70
8	Danksagungen	71
9	Lebenslauf	72

Abkürzungsverzeichnis

CRP	C-reaktives Protein (Entzündungsmarker)
cw	continuous wave (Laserbetriebsart)
Er	Erbium (chemisches Element der Lanthanoide)
HE	Hämotoxylin-Eosin (histologische Färbung)
HF	Hochfrequenz
Ho	Holmium (chemisches Element der Lanthanoide)
IR	Infrarot
λ	Wellenlänge (physikalische Größe)
LCS	laparoscopic coagulating shears (Dissektionsinstrument)
LITT	Laserinduzierte Thermotherapie
MLL	Medizinisches Laserzentrum Lübeck (jetzt Institut für biomedizinische Optik der Universität zu Lübeck)
μ_{α}	Absorptionskoeffizient (physikalische Größe)
NA	Numerische Apertur
Nd	Neodym (chemisches Element der Lanthanide)
PDT	Photodynamische Therapie
SN	Signifikanzniveau
Tm	Thulium (chemisches Element der Lanthanoide)
UAS	ultrasonically activated scalpel (Dissektionsinstrument)
UCA	ultrasonic cavitation aspirator (Dissektionsinstrument)
UV	Ultraviolett
YAG	Yttrium-Aluminium-Granat, $Y_3Al_5O_{12}$ (Wirtsmaterial für Laserionen)

Einleitung und Problemstellung

1.1 Einleitung

1.1.1 Minimal-invasive Chirurgie

Die minimal-invasive Chirurgie entstand aus der Idee, das Operationstrauma, welches den Zugang zum Körperinneren gewährt, weitestgehend zu reduzieren. Über kurze Inzisionen werden mit Hilfe von Trokaren Arbeitskanäle geschaffen, die ein Einbringen von Instrumenten und einer Kamera ins Körperinnere erlauben. Das Kamerabild wird auf einen Monitor übertragen und ersetzt den direkten Blick auf das Operationsgebiet.

Die Vorteile der minimal-invasiven gegenüber der offenen Chirurgie des Abdomens beruhen im Wesentlichen auf dieser Reduktion des Bauchdeckentraumas. Die intraabdominelle Wundfläche ist bei beiden Verfahren gleich. Die Verringerung des postoperativen Schmerzes und die dadurch bedingte frühere Mobilisation mit Abnahme der Thrombose- und Embolierate, Reduktion pulmonaler Ventilationsstörungen und der Pneumoniegefahr führen zu einer Verkürzung des Krankenhausaufenthalts und schnellerer Rekonvaleszenz. Zusammen mit dem geringeren Infektionsrisiko der Hautwunde und dem günstigeren kosmetischen Ergebnis lassen sich so die längere Operationsdauer und schwierigere Präparation, höhere Kosten und höherer technischer Aufwand in Kauf nehmen [1 - 3].

Die Entwicklung der minimal-invasiven Chirurgie begann Anfang des 20. Jahrhunderts mit den ersten diagnostischen Laparoskopien durch Jakobeus (1901) und Kelling (1902). 1981 schließlich gelang Semm die erste Appendektomie und 1987 Mouret die erste Cholezystektomie. Mittlerweile stellt die laparoskopische Methode den Goldstandard für bestimmte Eingriffe dar, z.B. die Cholezystektomie [4, 5].

Die Grundausstattung für laparoskopische Eingriffe besteht aus einem CO₂-Insufflator, einer Kamera mit Monitor und Videogerät, einer Lichtquelle für die Optik und einer Saug-Spül-Einrichtung. Die Optik und Instrumente werden über Trokare ins Körperinnere gebracht, die Optik fungiert dabei sowohl als Lichtleiter als auch als Kamera. Um den nötigen Platz zu schaffen wird durch Insufflation von CO₂-Gas ein Pneumoperitoneum hergestellt [4, 6].

1.1.2 Gewebedissektion

Die Einführung neuer Energiequellen zur Gewebedurchtrennung und Hämostase hat wesentlich zur Entwicklung der laparoskopischen Chirurgie beigetragen. Da bei der Laparoskopie die Blutstillung und intrakorporale Naht erschwert ist, ist eine besonders sorgfältige und gut kontrollierbare Dissektion mit suffizienter Blutstillung nötig. Jede Blutung führt auch zu einer Einschränkung der Sicht des Operateurs. Jeder Instrumentenwechsel bedeutet auch einen zusätzlichen Zeitaufwand. Deshalb sollten die zum Einsatz kommenden Instrumente möglichst vielseitig sein und z.B. Schneide- und Koagulationsfunktion verbinden [7].

Es stehen heute Geräte mit Hochfrequenz (HF)-, Wasserstrahl-, Ultraschall- und Laserdissektion zur Verfügung. Der Schneid- und Koagulationseffekt wird dabei thermisch oder mechanisch erreicht. Die thermischen Effekte beruhen dabei auf der Produktion von endothermischer Wärme im Gewebe, d.h. Wärme, die nicht direkt zugeführt wird, sondern das Ergebnis einer Energie-Gewebe-Interaktion darstellt [6, 8].

In zahlreichen Studien werden die unterschiedlichen Dissektionsmethoden im Hinblick auf Hämostase, Schneidqualität, Nekrosezone und Wundheilung an verschiedenen Geweben untersucht. Dabei erweist sich die rein thermische Energie im Vergleich zur mechanischen Energie als weniger gewebe selektiv mit ausgeprägteren Gewebeschäden der Nachbarorgane. Die besten Ergebnisse werden meist mit dem Ultraschallskalpell erzielt, wobei für die Gewebedurchtrennung thermische und mechanische Wirkungen postuliert werden [8 - 14]. Die Wahl des Dissektionsprinzips hängt vom Operateur und der Operationsregion ab, wobei der Durchmesser der zu versorgenden Blutgefäße berücksichtigt werden muss. Das Ultraschallskalpell (z.B. Laparasonic coagulating shears (LCS), Ethicon EndoSurgery, Cincinnati, OH, USA) ist für Gefäße bis 3 mm Lumen geeignet [15]. Durch bipolaren Strom können Blutgefäße bis zu einem Durchmesser von 2 – 3.5 mm (z.B. Valleylab electro surgical unit, Valleylab, Boulder, CO, USA; Ethicon EndoSurgery Cincinnati, OH, USA (Handstück)) verschlossen werden [16]. Das LigaSure-System (Valleylab, Boulder, CO, USA), ein mit hohen Stromstärken und niedriger Spannung arbeitendes bipolares System, kann Gefäße bis 7 mm Durchmesser verschließen [17].

1.1.3 Hochfrequenzchirurgie

Bei Applikation von hochfrequentem Wechselstrom (500 kHz – 3.0 MHz) kommt es durch das Oszillieren zellulärer Ionen und durch die Umkehr von Dipolen im Rhythmus des Wechselfeldes zur Umwandlung von elektrischer Energie in

Wärmeenergie. Die Wärmeentwicklung im Gewebe ist dabei abhängig von der Kontaktzeit zwischen Gewebe und Elektrode, der Elektrodenfläche, der Leistung, der Wellenform und dem spezifischen Gewebswiderstand. Eine Schneidwirkung wird bei kontinuierlicher (sinusoidaler) Wellenform, hoher Stromdichte und kurzer Expositionszeit erreicht, wobei es zu einem schnellen Temperaturanstieg auf über 100°C, zur Vaporisation von Zellflüssigkeit und dadurch zum Zerplatzen der Zellen kommt. Zum Koagulieren werden diskontinuierliche Wellenformen mit wechselnder Amplitude bei niedrigerer Stromdichte über eine längere Zeit verwendet, was einen langsameren Temperaturanstieg, Verdampfen der Flüssigkeit und Denaturierung der Proteine bei intakter Zellmembran bedingt. Der so genannte Blend-Modus, eine Kombination beider Formen, erlaubt auf diese Weise „koagulierendes Schneiden“ [6, 18, 19].

Die Hochfrequenzchirurgie schließt mono- und bipolare Techniken ein. Bei monopolaren Verfahren fließt der Strom vom Applikator ins Gewebe und über eine großflächige Neutralelektrode zurück, bei bipolaren Geräten von einer zur anderen Elektrode des Applikators durch das dazwischen liegende Gewebe [5, 20].

Die Anwendung besonders der monopolaren Hochfrequenzchirurgie in der laparoskopischen Chirurgie ist nicht unproblematisch. So kann die unabsichtliche direkte Stromapplikation zu einer Gewebezerstörung führen. Das kann passieren, wenn sich die Instrumentenspitze außerhalb des Sichtfeldes befindet, ein Defekt des Isolierungsmaterials vorliegt, der Kontakt mit einem anderen, nicht isolierten Instrument besteht oder es zur kapazitiven Kopplung kommt. Thermische Schäden an Strukturen außerhalb des Sichtfeldes des Operateurs werden zudem möglicherweise nicht bemerkt. 1995 gaben bei einer Umfrage 18% der amerikanischen Chirurgen an, persönliche Erfahrungen mit durch HF-Chirurgie verursachte Komplikationen zu haben [21]. Eine höhere Sicherheit erreicht man mit bipolaren HF-Geräten. Allerdings ist bei diesen auch die Schneid- und Koagulationsleistung im Vergleich zu den monopolaren HF-Geräten vermindert [6, 13, 16, 19].

1.1.4 Ultraschalldissektion

Ultraschallgeräte beruhen auf dem piezoelektrischen Effekt. Elektrische Energie erzeugt mechanische Verformungen in einem piezoelektrischen oder einem magnetischen Transducer, wechselnde elektrische Felder erzeugen so mechanische Schwingungen gleicher Frequenz. Dabei spricht man ab 20 kHz von Ultraschall. Die zur Gewebedurchtrennung verwendeten Frequenzen liegen bei 23.5 und 55.5 kHz.

Die Zerstörung und damit Durchtrennung des Gewebes erfolgt durch die Vibration und die dadurch entstehende Wärme im Gewebe [7, 22].

Prinzipiell stehen zwei Anwendungssysteme zur Verfügung, der „ultrasonic cavitational aspirator“ (UCA, 23.5 oder 25 kHz), der in der Chirurgie aufgrund der guten Gewebeselektivität hauptsächlich in der offenen Leberchirurgie eingesetzt wird, und das Ultraschallskalpell („ultrasonically activated scalpel“ UAS, 23.5 oder 55.5 kHz) [7, 22].

Das UAS besteht aus einer vibrierenden Scheren- oder Hakenklinge mit einer Auslenkungsamplitude von 80 bis 200 µm. Die Klingen sind nicht scharf und so konstruiert, dass zwischen den Branchen vermehrt Wärmeenergie entsteht. Diese kann dann sowohl zum Schneiden als auch zum Koagulieren genutzt werden [22]. Dadurch ist ein Verschluss von Blutgefäßen bis zu einem Durchmesser von 3 mm möglich [15]. Eine verminderte postoperative Entzündungsreaktion ist wahrscheinlich, ließ sich aber bisher nicht signifikant nachweisen [9].

Die Vorteile des UAS liegen in der geringen Schädigung benachbarten Gewebes bei guter Blutstillung und einer geringeren Rauchentwicklung im Vergleich zur HF-Chirurgie, was zu einer hohen Akzeptanz und vielseitiger Anwendung geführt hat [3, 6, 7, 13, 20, 22]. Nachteilig ist die Sichtbehinderung aufgrund von Aerosolen aus Gewebepartikeln und Flüssigkeit, die sich allerdings schneller auflösen als bei der Hochfrequenzchirurgie entstehender Rauch. Nachteilig erscheint außerdem die teilweise zeitaufwendige Koagulation von Blutgefäßen. Diskutiert wurde eine Aussaat von Tumorzellen über dieses Aerosol in der Bauchhöhle, was jedoch nicht bestätigt wurde [6, 7, 23].

1.1.5 Laser

Das Wort „Laser“ als Akronym für „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“ fasst das zugrunde liegende physikalische Phänomen, die Lichtverstärkung durch stimulierte Emission, wie sie 1917 erstmals von Albert Einstein beschrieben wurde, zusammen. Stimulierte Emission tritt auf, wenn ein sich bereits im angeregten Zustand befindendes Elektron von einem Photon getroffen wird, dessen Energie der Anregungsenergie des Elektrons entspricht. Das Elektron fällt in einen energetisch niedrigeren Zustand zurück und sendet dabei ein weiteres Photon aus, das in Wellenlänge, Frequenz, Phase und Richtung dem einfallenden entspricht. Dadurch kommt es zu einer Verstärkung des Lichts. Laserlicht ist somit weitgehend monochromatisch, kohärent und weist nur eine geringe Divergenz auf. Voraussetzung hierfür ist ein Inversionszustand, d.h. mehr Elektronen befinden sich im angeregten als im Grundzustand. Die Herstellung des Inversionszustands

bezeichnet man als Pumpen. Praktisch realisierte Pumpsysteme benutzen dabei Systeme mit mehreren Energieniveaus (*Bild 1.1*) [24, 25].

Grundlegende Elemente eines Lasersystems sind dabei ein aktives Medium als Ort der stimulierten Emission, eine Anregungseinheit in Form einer Pumpquelle und ein Rückkoppelungselement, welches die stimulierte Emission unterhält. Das aktive Medium kann gasförmig, flüssig, fest oder ein Halbleiter sein.

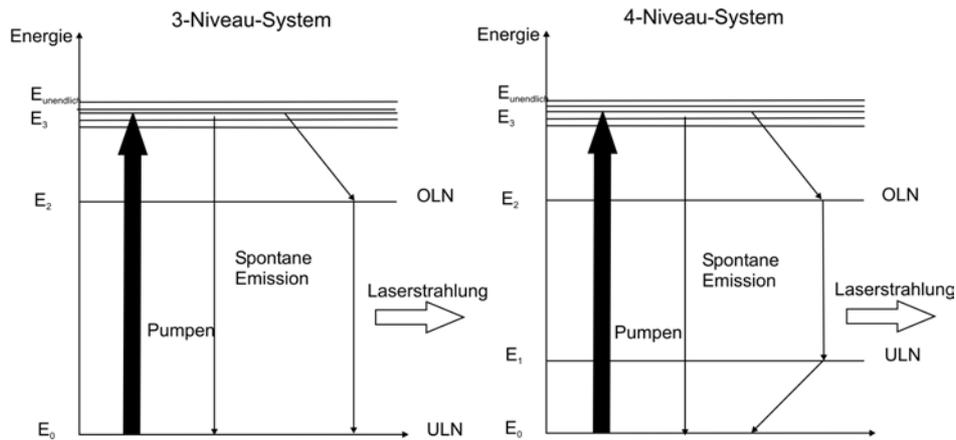


Bild 1.1: Herbeiführung der Inversion durch Pumpen bei einem Drei- und Vierniveausystem. E_0 ist der Grundzustand, E_1 , E_2 und E_3 sind angeregte Zustände. Der Laserübergang vom oberen (OLN) zum unteren (ULN) Laserniveau ist die Quelle der Laserstrahlung (nach [24]).

Bei Festkörperlaser ist das eigentliche aktive Medium oft in geringer Konzentration einem Trägerstoff beigefügt. Der Pumpvorgang kann elektrisch, optisch, chemisch oder thermodynamisch (durch rasches Erhitzen oder Abkühlen von Gassystemen, angewandt im gasdynamischen Laser) erfolgen. Bei Halbleiterlasern kann die Inversion direkt durch den elektrischen Strom erzeugt werden (bester Wirkungsgrad). Das Rückkopplungselement, welches als optischer Resonator bezeichnet wird, besteht aus mindestens zwei parallelen, senkrecht zur optischen Achse stehenden Spiegeln [24, 25] (*Bild 1.2*).

Die Energiezufuhr durch den Pumpvorgang löst dabei zunächst eine ungerichtete spontane Emission aus. Der in Richtung der Laserachse abgestrahlte Anteil wirkt als Eingangssignal für die induzierte Emission. Bei jedem Hin- und Hergang der Lichtwellen im Resonator erfolgt eine Verstärkung; durch Interferenz entsteht eine stehende Welle (Mode). Ab einer bestimmten Pumpleistung wird die spontane Emission durch die induzierte Emission übertroffen. Strahlungsverluste treten dabei auf durch Absorption im aktiven Medium, Absorptions- und Transmissionsverluste an den Spiegeln, Beugungsverluste, und Wanderungs- und Streuverluste durch das

Lasermedium. Um ein Austreten der Laserstrahlung zu ermöglichen, muss ein Spiegel teilweise durchlässig sein (Reflexionsgrad $< 100\%$, s. u.). Bei außerhalb des sichtbaren Teils des Spektrums emittierenden Lasersystemen wird ein zusätzlicher Ziellaser (z.B. rote Laserdiode) verwendet, um den Strahlverlauf sichtbar zu machen [24, 25].

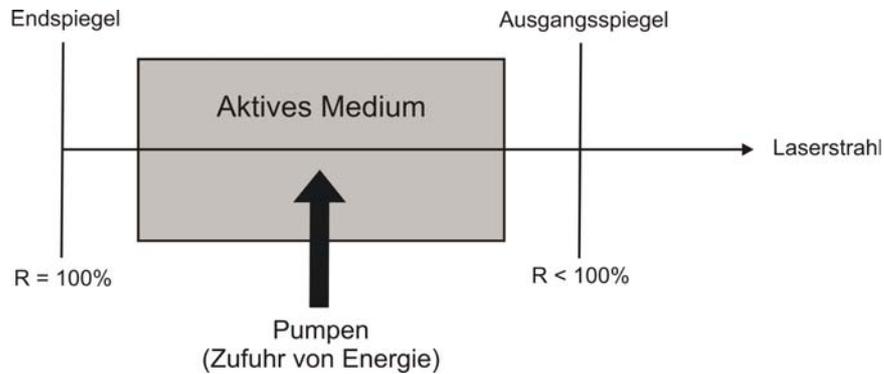


Bild 1.2: Aufbau eines Lasers ($R = \text{Reflexionsgrad}$) (nach [24]).

Die **zeitliche Charakteristik des emittierten Laserlichtes** wird maßgeblich durch den Aufbau des Laserresonators bestimmt. Grundsätzlich werden vier Betriebsarten unterschieden: cw (continuous wave), gepulst, gütegeschaltet (q-switched) und moden-gekoppelt (modelocked). Im cw-Betrieb erzeugt ein kontinuierlicher Pumpvorgang einen kontinuierlichen Laserstrahl, analog wird ein gepulster Laserstrahl durch einen gepulsten Pumpvorgang erzeugt (Dauer der Pulse: $\mu\text{s} - \text{ms}$). Eine Verstärkung des Laserpulses (q-switch) kann durch den Einbau eines optischen Schalters erreicht werden. Zunächst wird dadurch der Lichtfluss im Resonator unterbunden, wodurch eine höhere Besetzungsdichte aufgebaut wird. Durch Beseitigung der Lichtblockade kommt es aufgrund der hohen Inversion zur Ausbildung eines sehr intensiven Lichtimpulses (Dauer: ns). Durch Kopplung der Phasen aller im Resonator schwingenden axialen Moden kommt es zur Ausbildung eines im Resonator laufenden „Lichtpakets“. Hierdurch können extrem kurze Laserpulse im Bereich von fs – ps erzielt werden (modelocked) [24, 25].

Um den Laserstrahl zum Gewebe zu leiten ist der Einsatz **optischer Transmissionssysteme** notwendig. Grundsätzlich können zwei Transmissionsprinzipien voneinander unterschieden werden: Spiegelsysteme (Artikulierarme), welche z.B. für das CO_2 -Lasersystem verwendet werden, und flexible Lichtleiter (Fasern, Hohlleiter).

Spiegelsysteme bestehen aus Artikulierarmen mit 6 - 7 Gelenken, um optimalen Bewegungsumfang zu erreichen. An jedem dieser Gelenke wird der Strahl mittels

eines Spiegels oder Prismas umgelenkt. Für dieses Transmissionsprinzip werden die Strahleigenschaften des emittierten Laserlichts nicht verändert, d.h. eine Fokussierung ist nicht notwendig. Am distalen Ende des Transmissionsystems können optische Systeme oder auch starre Endoskope angeschlossen werden. Diese Systeme sind für extrakorporale Anwendungen stark verbreitet, für die endoskopische oder laparoskopische Anwendung sind der hohe technische Aufwand, die eingeschränkte Flexibilität sowie die Abmessungen der Geräte negativ zu beurteilen [26].

Die Lichtleitung durch Faseroptiken beruht auf dem Prinzip der Totalreflexion, die beim Übergang von Licht von einem optisch dichteren in ein optisch dünneres Medium auftritt. Totalreflexion tritt ein, wenn der Einfallswinkel α (Winkel zwischen einfallendem Lichtstrahl und Einfallslot) so groß ist, dass der Ausfallwinkel β nach dem Brechungsgesetz größer als 90° sein müsste. Das Brechungsgesetz von Snellius ist dabei definiert als das Verhältnis der Sinuswerte von Einfall- und Ausfallwinkel gleich dem Verhältnis der Brechungsindices (n):

$$\sin \alpha / \sin \beta = n_2 / n_1$$

Für den Grenzwinkel α der Totalreflexion gilt: $\beta = 90^\circ$ und somit $\sin \beta = 1$.

Der Brechungsindex des Kernmaterials (n_1) der Glasfaseroptik muss dafür größer sein als der der Umhüllung (n_2). Das Verhältnis der beiden Brechungsindices bestimmt dabei den Grenzwinkel α und dadurch die so genannte numerische Apertur ($NA = \sin (90^\circ - \alpha)$) der Transmissionsfaser. Wird nun das vom Lasersystem emittierte Licht auf eine Endfläche der Faser fokussiert, wobei der Fokussierungswinkel (Einkopplungswinkel) kleiner der NA der Faser sein muss, wird das Licht durch mehrfache Totalreflexion durch den Lichtwellenleiter transmittiert [27] (*Bild 1.3*).

Am distalen Ende wird das Licht unter einem Winkel, welcher im Normalfall in etwa dem Einkopplungswinkel entspricht, emittiert. Die Durchmesser des Kernbereichs können bei so genannten monomodalen Fasern im Bereich von einigen μm liegen. Der Kerndurchmesser für Multimodefasern liegt üblicherweise bei einigen $10 \mu\text{m}$ bis zu 1 mm . Diese Transmissionsfasern sind sehr flexibel und so für minimal-invasive Applikationssysteme gut geeignet. Üblicherweise bestehen diese Transmissionsfasern aus Quarzglas. Durch solche Quarzglasfasern kann Licht mit einer Wellenlänge bis zu $2.5 \mu\text{m}$ ohne große Verluste durch Absorption transmittiert werden. Es werden auch Transmissionsysteme hergestellt, welche längere

Wellenlängen transmittieren können. Diese sind jedoch teuer und zudem meistens nicht biokompatibel, da z.B. Fluor als Zusatz zum Einsatz kommt [26].

Hohlleiter weisen von der geometrischen Optik her ähnliche Eigenschaften auf wie Fasern. Es werden u. a. Teflonschläuche verwendet, die innen mit Silber und Silberiod beschichtet sind [24, 26, 28].

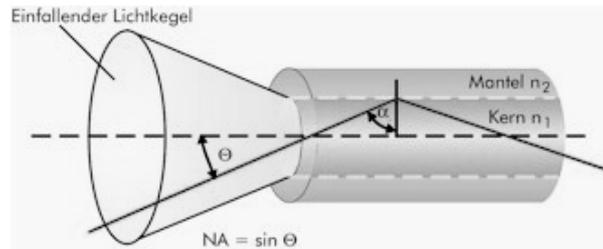


Bild 1.3: Prinzip des Lichtwellenleiters: Einfallendes Licht, das einen Winkel $<$ der NA mit der optischen Achse des Lichtleiters bildet (Θ = Einkopplungswinkel, α = Einfallswinkel) wird durch Totalreflexion durch den Lichtleiter transmittiert.

1.1.6 Wechselwirkungen von Laserlicht und Gewebe

Das Ausmaß der Laserwirkung im Gewebe wird einerseits bestimmt durch Eigenschaften des Lasers, nämlich Wellenlänge (λ), Leistungsdichte und Einwirkzeit und andererseits durch die Gewebeeigenschaften. Hierzu gehören die optischen Parameter Absorption, Streuung und Reflexion und die thermischen Parameter Wärmeleitung und Wärmekapazität, die beeinflusst werden durch die Gewebestruktur, den Wassergehalt und die lokale Durchblutung [29].

Die Schwächung von Licht in Materie erfolgt exponentiell nach dem Gesetz von Lambert-Beer:

$$\Phi = \Phi_0 e^{-\mu d}$$

mit Φ = Intensität und d = Dicke der durchstrahlten Materie. Der Extinktionskoeffizient μ setzt sich aus einer Absorptions- und der Streuungskomponente zusammen ($\mu = \mu_\alpha + \mu_s$) [24].

Die optischen **Absorptionseigenschaften** eines Gewebes werden von den elektronischen, vibratorischen und rotatorischen Strukturen der enthaltenen Moleküle bestimmt. Die Absorption von Licht im Gewebe geschieht in Abhängigkeit von der

Wellenlänge hauptsächlich durch Proteine, DNA, Melanin, Hämoglobin und Wasser und wird ausgedrückt durch den Absorptionskoeffizienten μ_a (Bild 1.4 und Tabelle 1.1).

Neben der Absorption bestimmt die **Streuung** des Lichts im Gewebe dessen Eindringtiefe. Streuung entsteht durch lokale Unterschiede des Brechungsindex, die auf Unterschiede in Zusammensetzung, Größe und Gestalt zellulärer und extrazellulärer Strukturen beruhen. Präzise Gewebeablation ist nur möglich bei einem Überwiegen des Einflusses der Absorption im Vergleich zur Streuung [30].

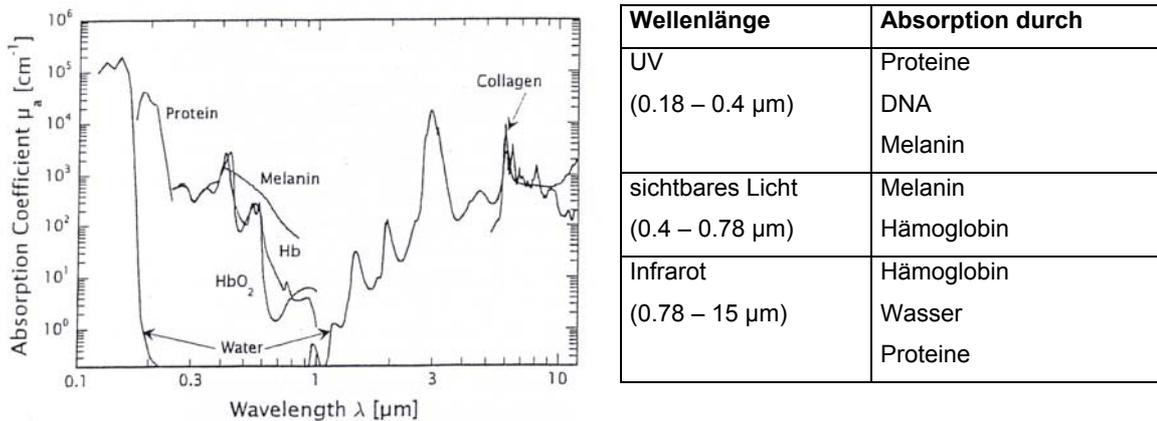


Bild 1.4 und Tabelle 1.1: Chromophore bei verschiedenen Wellenlängen des Lichts (aus [30]).

Die **thermischen Gewebeeigenschaften** werden ausgedrückt durch die Wärmekapazität und die Wärmeleitfähigkeit. Sie bestimmen die Geschwindigkeit der Ausbreitung von Wärme im Gewebe und somit die Temperaturverteilung nach Laserapplikation. Daraus lässt sich die zum Erreichen eines bestimmten temperaturabhängigen Effektes (z.B. Ablation) pro Volumen aufzubringende Energie ableiten. Die thermische Relaxationszeit (τ) gibt dabei die Wärmediffusion im Gewebe an (μ_a = Absorptionskoeffizient, κ = Temperaturleitfähigkeit) [24, 31]:

$$\tau = \frac{1}{4} \mu_a^2 \kappa$$

Viele der in der Chirurgie verwendeten Laser, so auch der in dieser Arbeit vorgestellte, emittieren Strahlung im **Infrarot-Bereich** des Spektrums. Deshalb soll darauf besonders eingegangen werden. Die Absorption im Infrarot-Bereich ($\lambda = 780 \text{ nm} - 15 \mu\text{m}$) wird bis etwa 1000 nm in vaskularisiertem Gewebe durch Hämoglobin mitbestimmt, ab $\sim 900 \text{ nm}$ steigt der Einfluss von Wasser als Hauptchromophor. Die Absorptionsmaxima liegen bei $\lambda = 0.96, 1.44, 1.94, 2.94, 4.68$ und $6.1 \mu\text{m}$ mit einem

absoluten Maximum bei 2.94 μm . Dennoch erreicht die Absorption insgesamt nur ein Drittel der Stärke der Absorption bei $\lambda = 190 \text{ nm}$ (UV-Bereich, Absorption durch Proteine, DNA und Melanin). Ab $\lambda \sim 6 \mu\text{m}$ trägt die Absorption durch die Peptidbindung entscheidend zur Gewebeabsorption bei, sie übertrifft die Absorption durch Wasser bei 6.01 μm um das zweifache und bei 6.45 μm um das 6-fache. Aufgrund des hohen Wasseranteils von Weichgewebe (70 – 80 %) kommt bei der Gewebeablation dabei der Wasserabsorption eine besondere Bedeutung zu [30]. *Bild 1.5* zeigt die Absorption durch Wasser und die Emissionswellenlängen einiger gebräuchlicher Lasersysteme.

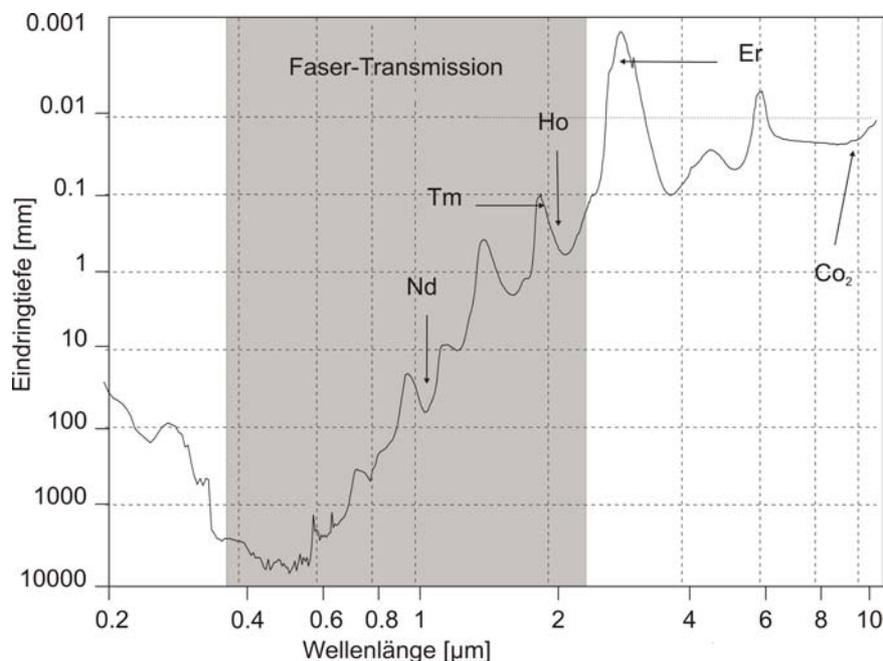


Bild 1.5: Eindringtiefe von Licht in Wasser abhängig von der Wellenlänge. Die Pfeile markieren die Wellenlängen häufig verwendeter Lasersysteme (Ho = Holmium-YAG, Nd = Neodym-YAG, Tm = Thulium-YAG, Er = Erbium-YAG, CO₂ = CO₂-Lasersystem)

Überwiegt die Absorption deutlich gegenüber der Streuung, wie bei 1.94 μm , ist zur Abschätzung der Eindringtiefe der Absorptionskoeffizient μ_a ausreichend [32]. Dabei muss berücksichtigt werden, dass der Absorptionskoeffizient temperaturabhängig ist. Im 2 μm -Bereich nimmt bei Wellenlängen größer 1.94 μm der Absorptionskoeffizient mit steigender Temperatur ab, und damit die Eindringtiefe zu, was zu einer vermehrten Gewebeschädigung führt. Bei Wellenlängen < 1.94 μm tritt ein gegenteiliger Effekt auf, der Absorptionskoeffizient nimmt zu und die Eindringtiefe ab. Das liegt daran, dass sich das Absorptionsmaximum bei höheren Temperaturen zu kürzeren Wellenlängen hin verschiebt. Diese Änderung beruht hauptsächlich auf

einer Änderung der Anordnung der Wassermoleküle, was auch eine Änderung der Absorptionseigenschaften bedingt [32]. Die im Weiteren in dieser Arbeit angegebenen Absorptionskoeffizienten entsprechen der Absorption bei Raumtemperatur (20° C) [48].

Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die Laserwirkung entscheidend die optischen und auch thermischen Eigenschaften des Gewebes verändert. Die Denaturierung von Proteinen führt zu einer starken Zunahme der Streuung (sichtbar in der Weißfärbung des Gewebes) und so zu einer deutlichen Änderung der Lichtausbreitung [32]. Die Dehydratation des Gewebes führt zu einer Abnahme der Wärmeleitung im Gewebe, der Wärmetransport durch strömendes Blut führt ebenfalls zum Wärmeverlust [24, 33].

Die **Interaktionen zwischen Laserlicht und Gewebe** bestehen in photochemischen, photothermischen und photomechanischen Effekten. Bei gegebenem Absorptionskoeffizienten und fester Wellenlänge sind die Wirkungsmechanismen hauptsächlich von der auf das Gewebe applizierten Leistungsdichte und vom zeitlichen Ablauf der Bestrahlung abhängig. Bei langer Bestrahlungsdauer und geringer Leistungsdichte überwiegen die photochemischen ($1 - 10^6$ W, > 1 ms [29]), bei kürzerer Bestrahlungsdauer und höherer Leistungsdichte kommt es zu photothermischen und bei sehr kurzer Bestrahlungsdauer und hoher Leistungsdichte zu photomechanischen Wechselwirkungen [26, 34].

Photochemische Effekte spielen sich bei niedrigen Leistungsdichten und relativ langer und möglichst homogener Exposition ab. Als Photochemie bezeichnet man die Wechselwirkungsprozesse zwischen Materie und elektromagnetischer Strahlung im UV- und sichtbaren Bereich, in deren direkter Folge sich chemische Bindungen ändern. Die Wirkung des Lichts beruht hier nicht nur auf einer Temperaturerhöhung. Anregung der für die chemischen Bindungen verantwortlichen Elektronen der äußersten Schale kann zum Brechen von Bindungen und so zu molekularer Instabilität führen. Anwendungsbeispiele sind die Photodynamische Therapie (PDT) und die Laserablation im UV-Bereich, z.B. durch den Excimer-Laser in der refraktiven Hornhautchirurgie [18, 26, 35].

Bei der Anwendung von Laserlicht in der Chirurgie spielt vor allem die **photothermische Interaktion** eine Rolle, wobei die im Gewebe absorbierte Lichtenergie zu einer Temperaturerhöhung führt. Das Ausmaß und die Geschwindigkeit der Temperaturänderung ist zum Einen abhängig von der primär pro Zeiteinheit applizierten Energie und zum Anderen von den Absorptionseigenschaften des Gewebes, dem bestrahlten Volumen und der Wärmediffusion (thermische Relaxation, s. o.). Ablation wird durch explosionsartige Verdampfung intrazellulären

Wassers erreicht, Koagulation durch irreversible Änderungen der Struktur von Proteinen und anderen Biomolekülen durch langsamere Temperaturerhöhung [7, 34, 36]. Bei einer Einwirkung von einigen Sekunden wird eine Erwärmung auf 37 - 42°C ohne irreversible Schäden toleriert. Bei 43 – 45°C kommt es zu Konformationsänderungen von Proteinen. Zellschrumpfung und Zelltod können auftreten. Bei 45 – 60°C werden Hyperämie, Ödem mit Membranlockerung und Schwellung der Zellen beobachtet. Ab 60°C treten Proteindenaturierung, Koagulation und Nekrose mit weiß-grauer Diskolorierung und Schrumpfung des Gewebes auf. Ab 100°C kommt es schließlich zu Vaporisation und dadurch zum Schneideffekt, ab 300°C zur Karbonisation [5].

Photomechanische Wechselwirkungen treten bei sehr hohen Energien auf, die durch sehr kurze Pulsdauern (μs bis ns) erreicht werden. Zu den mechanischen Effekten zählt die Bildung von Dampfblasen und von mechanischen Wellen. Bei sehr hohen Leistungsdichten entstehen laserinduzierte Plasmen (Photodisruption). Das schnelle Auftreten und Verschwinden des Plasmas (wenige ns) führt zur Ausbildung einer Stoßwelle, die die mechanische Wirkung bis zum Zerreißen des Gewebes praktisch ohne thermische Schädigung bedingt. Bei Leistungsdichten unterhalb der Plasmabildungsschwelle treten photoakustische Effekte auf. Der thermoelastische Effekt beruht auf einer Ausdehnung des Gewebes bei Hitzeeinwirkung. Ist die Laserpulsdauer kürzer als die Zeit, die der entstehende Druckgradient braucht, um sich über die Eindringtiefe des Lasers hinaus auszubreiten, kommt es zur Begrenzung des entstehenden Drucks zunächst auf den Ort der Laserapplikation (stress confinement). Die anschließende Ausbreitung der Druckwellen im Gewebe hängt von der Schallgeschwindigkeit im Material, der Pulsdauer und der Pulsenergie ab und kann zur mechanischen Schädigung des Gewebes führen [34, 37].

Schon bei noch geringeren Leistungsdichten kommt es in Wasser und wasserhaltigem Gewebe zur Bildung und Expansion von Dampfblasen. Bei Laserpulsdauern von unter einigen μs wird die gesamte Laserenergie in einem Volumen absorbiert, bevor es zum mechanischen Aufschwingen der Blase kommt. Es entstehen sphärische Blasen. Bei längeren Pulsdauern ist die Energieaufnahme verzögert, und die Blasen sind birnenförmig verzerrt. Beim Kollaps der Blasen entstehen Druck- und Stoßwellen, die zur Gewebeerstörung führen können. Sphärische Blasen kollabieren symmetrisch und erzeugen so die größten Druckwellen. Die sind somit umso größer, je kürzer die Pulsdauer ist. Dies erklärt die Entstehung von Stoßwellen bei Pulsdauern, bei denen noch kein stress confinement auftritt [34, 37, 38].

1.1.7 Laser in der Medizin - Überblick

Entsprechend ihren unterschiedlichen Fähigkeiten Gewebe zu abladieren, zu schneiden und zu koagulieren haben sich verschiedene Anwendungsschwerpunkte für einzelne Laser in der Medizin herausgebildet. Weite Verbreitung haben dabei Excimer-, Argon-, Neodym-YAG-, Erbium-YAG-, Holmium-YAG- und CO₂-Laser gefunden. Die Laserdissektion zeichnet sich im Idealfall durch eine präzise Schnittführung bei gleichzeitiger Hämostase und geringer Schädigung des umliegenden Gewebes aus.

Zu den Anwendungsgebieten gehören u. a. mikrochirurgische Eingriffe z.B. an den Stimmbändern und am Auge (Keratotomie) wo hohe Präzision erforderlich ist. Des Weiteren ist die Therapie von Feuermalen, Teleangiektasien und die Abtragung von Endometrioseherden dank der Selektivität der Laserstrahlung für bestimmte Chromophore möglich. Ein weiteres Anwendungsgebiet der Laserchirurgie ist die Endoskopie z.B. die Abtragung intrabronchialer oder intraösophagealer Tumoren, wobei man sich die Transmission der Laserstrahlung durch flexible Fasern zu Nutze macht [39]. Eine Übersicht über Charakteristika und Anwendung verschiedener heute gebräuchlicher Lasersysteme gibt *Tabelle 1.2*.

Lasertyp	Wellenlänge	Excimer	Argon	Neodym-YAG	Holmium-YAG	Erbium-YAG	CO ₂
		verschiedene Gase, z.B. XeCl: 308 nm (UV) ArF: 193 nm (UV)	5 Hauptlaserslinien, darunter 488.0 nm (blau) 514.5 nm (grün)	1.064 µm (infrarot)	2.1 µm (infrarot)	2.94 µm (infrarot)	10.6 µm (infrarot)
Aktives Medium		Gas (Edelgasatom und Halogenatom)	Argon-Ionen-Gas	Nd ³⁺ Ionen in YAG-Kristall	Ho-Ionen in YAG-Kristall	Er-Ionen in YAG-Kristall	CO ₂ -N ₂ -He ₂ -Gas
Betriebsart		gepulst	meist cw	cw, gepulst, gütegeschaltet	cw, gepulst, gütegeschaltet	gepulst, gütegeschaltet	cw, gepulst
Fasergängigkeit (Quarzfasern)		teilweise	ja	ja	ja	gering	nein
Absorption im Gewebe		Proteine (308 nm) Wasser (193 nm)	hauptsächlich Hämoglobin	Wasser	Wasser	Wasser	Wasser
Nekrosezone (Beispiele)		Kornea: < 1 µm	1 – 2 mm (< 15 W)	non-Kontakt: 3 – 8 mm (> 100 W möglich) Kontakt: Leber, Muskel: 0.1 – 0.3 mm (< 35 W)	gepulst: Leber: 0.5 – 1.5 mm (Pulsdauer: 250µs, 1 J, 1-5 Hz; ~ 5 W) cw: Leber: 0.5 (20 W)	Kornea: 20 µm Haut: < 50 µm	0.04 – 0.5 mm (< 60 W)
Gewebeablation		höchst präzise Ablation, durch photochemische Prozesse	besonders gute Wirkung auf gut durchblutetes Gewebe, geringe Schneidwirkung	geringe Schneidwirkung, hauptsächlich Koagulation im non-Kontakt Modus	gute Schneid- und Koagulations-eigenschaften	präzise Ablation durch sehr starke Absorption in Wasser, kaum hämostatische Wirkung	präzise Ablation durch sehr starke Absorption in Wasser, kaum hämostatische Wirkung
Anwendung (Beispiele)		Ophthalmologie (Refraktionschirurgie) Zahnmedizin, Kardiologie (Koronarsangioplastie)	Photokoagulation der Retina; Abtragung von Endometrioseherden, Hämangiomen, Feuermalen etc.	endoskopische Tumorabtragung im Ösophagus, Koagulation von Lungenmetastasen, LITT bei Lebertumoren, HNO	Laserangioplastie, orthopäd. OPs, Prostataresektion, Abtragung von Blasen-CAs	Zahnmedizin, Ophthalmologie, Dermatologie	Mikrochirurgie in der HNO, skinresurfacing, Abtragung intra-epithelialer Schleimhautveränderungen (Gynäkologie)
Besonderheiten		Ablation photochemischer Prozess durch Brechen von Molekülbindungen	Betrieb nur bei sehr hohen Stromdichten möglich, deshalb leistungsfähige Kühlung erforderlich				Transmission durch Spiegelarme notwendig

Tabelle 1.2: Vergleich verschiedener in der Medizin verwendeter Lasersysteme (Quellen: [24 - 29, 34, 40, 41]; Nd-YAG: [42 - 45]; Ho-YAG: [31, 46, 47]).

1.2 Problemstellung

In der Viszeralchirurgie hat sich die minimal-invasive Chirurgie in den letzten 10 Jahren als Alternativ- oder auch Standardtherapie für verschiedene Krankheitsbilder etabliert. Nach wie vor wird eine weitere Verbesserung der Dissektionstechnik angestrebt und die Entwicklung von neuen Dissektionsinstrumenten ist weiterhin Gegenstand der Forschung. Ziel ist es, eine sicherere Hämostase mit einem verringerten intra- und postoperativen Blutverlust zu erreichen. Darüber hinaus wird eine Verkürzung der Operationsdauer angestrebt, einerseits durch die Erhöhung der Dissektionsgeschwindigkeit, andererseits durch den Einsatz vielseitiger Instrumente, womit ein häufiger Instrumentenwechsel vermieden werden kann.

Eine mögliche Erfolg versprechende Alternative zu den zurzeit verwendeten Dissektionsinstrumenten ist das 2 μ m-Laserskalpell. Es basiert auf einem diodengepumpten Thulium-YAG Lasersystem, welches Licht im Infrarot-Bereich des Spektrums ($\lambda = 2.01 \mu\text{m}$) emittiert und im continuous-wave Modus betrieben wird. Die Wellenlänge liegt nahe einem Absorptionsmaximum des Wassers bei 1.94 μm , was zu guten Absorptionseigenschaften im Gewebe mit hohem Wasseranteil führt. Durch den hohen Absorptionskoeffizienten von $\mu_a = 6.19 \text{ mm}^{-1}$ [48] ist präzises Schneiden mit geringer Gewebeschädigung möglich (s. a. Bild 1.5).

Die thermische Einwirkung auf das Kollateralgewebe führt zur Koagulation kleinerer Blutgefäße und ermöglicht so eine Dissektion ohne größere Blutungen [38]. Der cw-Betrieb geht verglichen mit dem Pulsbetrieb mit glatteren Schnitträndern einher, da es weniger zu Gewebeeinrisen durch explosionsartige Vaporation von Gewebe kommt (s. o.) [38]. Licht des Thulium-YAG Lasers kann über Quarzfasern geleitet werden, was den Einsatz in der minimal-invasiven Chirurgie erheblich erleichtert. Es müssen damit keine Spiegelarme wie beim CO₂-Laser verwendet werden, die in der Instandhaltung und Handhabung sehr aufwendig sind. Die Strahlengeometrie am distalen Ende der Faser kann durch den Aufsatz von Applikationsoptiken verbessert werden. Durch einen stärkeren Divergenzwinkel wird der Strahl vom Fokus entfernt abgeschwächt und so können Laserschäden an Geweben außerhalb des Dissektionsgebiets vermieden werden.

Ziel des Projekts ist die Evaluation der Gewebedissektion mit dem 2 μ m-Laserskalpell im Hinblick auf einen möglichen Einsatz bei minimal-invasiven Operationen in der Abdominalhöhle. Dabei steht zunächst der Einsatz bei der laparoskopischen Resektion des Colon sigmoideum im Vordergrund. Dieser Eingriff wird bei der Divertikulose, der Divertikulitis und bei Malignomen des Colon sigmoideum durchgeführt. Dabei wird das Colon sigmoideum und Colon descendens teilweise bis

zur linken Flexur aus embryonalen Verwachsungen mit der Bauchwand gelöst [4]. Mit dem 2 μ m-Laserskalpell soll die Durchtrennung des Mesosigmas und der darin verlaufenden Gefäße durchgeführt werden. Dabei soll eine hohe Dissektionsgeschwindigkeit bei suffizienter Hämosatse erreicht werden.

Um die Anwendbarkeit und Effizienz des 2 μ m-Laserskalpells systematisch beurteilen zu können, werden zunächst die Schädigungszonen an Leberinzisionen *in vitro* untersucht. In einer zweiten Phase werden im Tierversuch Dünndarmresektionen mit dem 2 μ m-Laserskalpell (Laserchirurgie) im Vergleich zur bipolaren Schere (HF-Chirurgie) durchgeführt. In der dritten Phase wird schließlich *in-vivo* die Koagulationsfähigkeit des Laserskalpells an Blutgefäßen überprüft.

Das Ziel der Arbeit ist eine umfassende Beurteilung der Anwendungsmöglichkeit des 2 μ m-Laserskalpells in der Viszeralchirurgie vor dem Einsatz am Menschen.

2 Material und Methoden

2.1 Lasersystem und Fasern

Bei dem verwendeten Laser handelt es sich um einen diodengepumpten continuous-wave Thulium-YAG Laser (Lisa laser products OHG, Katlenburg-Lindau, Deutschland), der bisher nur industriell eingesetzt worden war. Das aktive Medium dieses Festkörperlaser ist Thulium (Tm) in einem Yttrium–Aluminium–Granat (YAG) Kristall. Die emittierte Wellenlänge liegt bei 2.013 μm (Halbwertsbreite 2 nm), die erzeugte Laserleistung liegt zwischen 5 und 60 W. Der Laserstrahl wird durch Multimode-Quarzfaser mit einem Kerndurchmesser von 365 μm (NA = 0.22) oder 400 μm (NA = 0.2) transmittiert.

2.2 In-vitro Laserablation

Die ersten Versuchsreihen zur Gewebedisektion in vitro an Schlachthofmaterial (Schweine) dienten der Erprobung des 2 μm -Laserskalpells und der Ermittlung der optimal einzusetzenden Laserleistung, sowie der Eindringtiefe in das Gewebe. Aufgrund der weitgehenden Homogenität des Gewebes ist ein parenchymatöses Organ wie die Leber dazu sehr gut geeignet.

Im Hinblick auf den gewünschten Anwendungsbereich des 2 μm -Laserskalpells bei Darmeingriffen, wobei vor allem Mesenterialgewebe durchtrennt werden muss, schien es sinnvoll, ebenfalls Daten zum Schneidverhalten des Laserskalpells an diesem Gewebetyp zu sammeln. Deshalb wurde in einer zweiten in-vitro Versuchsreihe aus dem Schlachthof stammendes Dünndarmmesenterium vom Schwein verwendet.

Alle Präparate wurden sowohl makroskopisch unter dem Auflichtmikroskop (Stemi SV8, Carl Zeiss AG, Deutschland) als auch histologisch in Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung (lichtmikroskopisch mit Leitz Wetzlar Orthoplan, Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) beurteilt. Die Mesenteriumpräparate waren einer Auswertung unter dem Auflichtmikroskop kaum zugänglich, deshalb wurde hier nur der Grad der Durchtrennung bewertet.

2.2.1 In-vitro Ablation von Lebergewebe

Für die Schneidversuche an Lebergewebe wurde frische Schweineleber aus dem Schlachthof verwendet. Behandlung und Auswertung der Proben erfolgte innerhalb

von ca. 5 Stunden, noch nicht verwendetes Gewebe wurde für diese Zeit in 200 - 300 ml 0.9% NaCl-Lösung unter Eiskühlung aufbewahrt.

Zur Herstellung geeigneter Probenstücke wurde die Leber in ca. 2 cm dicke Rechtecke mit Kantenlängen zwischen 3 und 5 cm zerteilt, wobei besonders auf eine ebene Oberfläche geachtet wurde. Die Laserschnitte wurden stets auf der Kapseloberfläche appliziert, nicht auf Parenchymanschnitten. Die Leberstücke wurden auf einem Träger fixiert und in eine mit NaCl 0.9% gefüllte Schale gelegt, so dass die Oberfläche von Flüssigkeit bedeckt war.

Um bei der Bewegung der Quarzfaser einen gleichbleibenden Winkel zwischen Faser und Gewebeoberfläche, konstanten Andruck und gleich bleibende Geschwindigkeit sicher zu stellen, wurde die Faser in einem Faserhalter (Justiereinheit) fixiert. Die freie Länge zur Spitze hin betrug 3 cm, wodurch die Faser ihre Biegsamkeit behielt. Der Winkel zwischen Faser und Gewebe wurde auf 30°, 45° und 60° eingestellt. Durch weiteres Absenken des Faserhalters nach Kontakt zwischen Faser und Gewebe um 2 bzw. 5 mm wurde ein Druck der Faserspitze auf das Gewebe je nach Winkel zwischen 20 und 90 mN erreicht (*Tabelle 2.1*).

	Winkel 30°		Winkel 45°		Winkel 60°	
Stelltiefe [mm]	2	5	2	5	2	5
Auflagengewicht [g]	2.12	5.09	2.6	6.23	4.05	8.41
Andruckkraft [mN]	20.8	49.9	25.5	61.1	39.7	82.5

Tabelle 2.1: Auflagengewicht der Laserfaser auf dem Lebergewebe bei unterschiedlichem Winkel und Stelltiefe (Faserlänge = 30 mm)

Um eine präzise und gleichmäßige Bewegung der Quarzfaser zu erreichen, wurde die Justiereinheit auf einen computergesteuerten Schrittmotor montiert (Linos, Göttingen, Deutschland). Durch die sowohl horizontale als auch vertikale Bewegbarkeit der Justiereinheit ließ sich die Faserspitze exakt auf dem Gewebe platzieren. Das Gewebe befand sich während des Ablationsvorganges stets in einer 0.9% salinen Lösung. Nach dem Starten des Schrittmotors wurde der Laser über einen Fußschalter aktiviert und mit Ende der Bewegung der Faser wieder deaktiviert (*Bild 2.1*).

Für die verwendete Laserleistung wurden vier verschiedene Abstufungen (10 W, 20 W, 40 W, 60 W) gewählt, für die Schnittgeschwindigkeiten (2 mm/s, 5 mm/s und 10 mm/s) drei. *Tabelle 2.2* zeigt die verwendeten Parameter und ihre Variationen im Überblick. Mit jeder Kombination der verwendeten Parameter wurden zwei

Laserschnitte von ca. 7 cm Länge ausgeführt. Die Schnitte befanden sich im Abstand von ca. 1 cm von einander auf den Probenstücken.

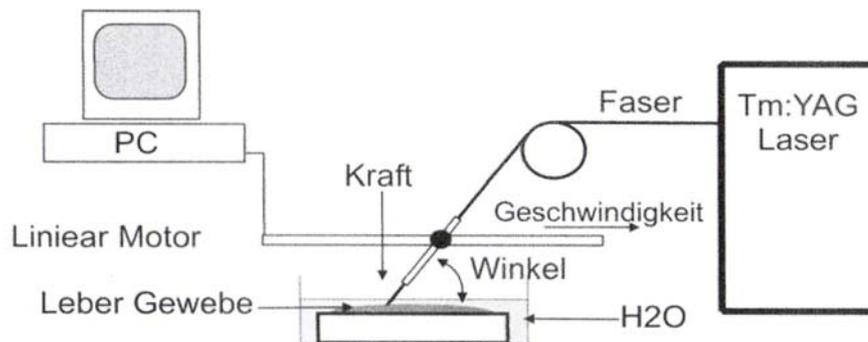


Bild 2.1: Versuchsaufbau zur Durchführung der in-vitro Schneidversuche an Leber.

Parameter	Einstellung
Freie Faserlänge	30 mm
Winkel zwischen Faser und Gewebeoberfläche	30°, 45°, 60°
Stelltiefe	2 mm, 5 mm
Schnittgeschwindigkeit	2 mm/s, 5 mm/s, 10 mm/s
Laserleistung	10 W, 20 W, 40 W, 60 W

Tabelle 2.2: Verwendete Parameter bei in-vitro Versuchen an Lebergewebe.

Die Gewebestücke wurden anschließend mit dem Skalpell quer zu den Laserschnitten in sechs ca. 0.5 cm dicke Scheiben geschnitten. Unter dem Auflichtmikroskop wurden unter zweifacher Vergrößerung und Verwendung einer kalibrierten Skala Schnitttiefe, Schnittweite, Breite der Karbonisations- und Koagulationszone sowohl seitlich als auch unterhalb des Schnittes vermessen, wobei pro Parameterkombination 10 Datensets protokolliert wurden.

Nach der Laserapplikation zeigten sich makroskopisch zwei unterschiedliche Zonen thermischer Schädigung: eine braun bis schwarz gefärbte Karbonisationszone und eine weiße Koagulationszone. Beide wurden – soweit vorhanden – sowohl links als auch rechts auf Höhe der Gewebeoberfläche gemessen. Da eine Seitengleichheit anzunehmen war, wurde der Mittelwert aus den Messwerten beider Seiten gemeinsam berechnet, wodurch hier bis zu 20 Einzelwerte vorlagen. Bild 2.2 zeigt

das verwendete Messschema. Von allen erhaltenen Werten wurden jeweils der Mittelwert und die (einfache) Standardabweichung berechnet, die graphische Darstellung der Daten erfolgte mit Microcal Origin®.

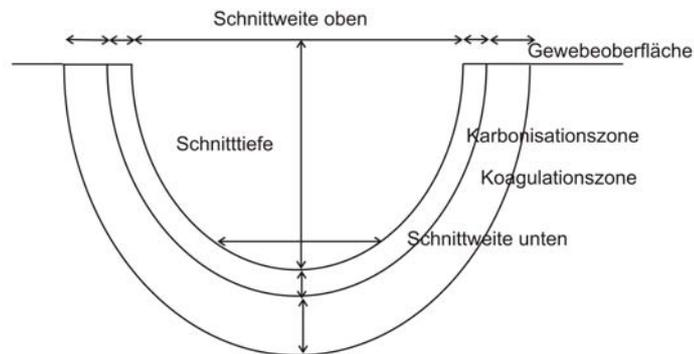


Bild 2.2: Zeichnung einer Laserinzision zur Darstellung des Messschemas.

Bei 12 ausgewählten Parameterkombinationen wurden Gewebeschnitte zur **histologischen Auswertung** durchgeführt. Bei gleichbleibender freier Faserlänge (3 cm) betrug der Faser-Gewebe-Winkel 30° und die Stelltiefe 5 mm. Variiert wurden die Schnittgeschwindigkeit (2 mm/s, 5 mm/s, 10 mm/s) und die Laserleistung (10 W, 20 W, 40 W, 60 W). Pro Parametersatz wurde ein Schnitt angefertigt, aus dem entsprechenden Leberblock wurde anschließend eine 0.5 cm x 1 cm x 1 cm messende Scheibe mit dem Skalpell quer zur Schnitfführung ausgeschnitten und in neutralgepuffertem Formalin 4.5% fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die Anfertigung einer für die statistische Auswertung ausreichend großen Serie von histologischen Schnitten war mit der dafür nötigen hohen Präzision im Rahmen dieser Arbeit nicht zu realisieren.

2.2.2 In-vitro Ablation von Mesenterialgewebe

Zur Untersuchung der Schneidwirkung des Lasers an Mesenterialgewebe wurde ebenfalls Gewebe aus dem Schlachthof verwendet. Das verwendete Dünndarmmesenterium von Schweinen stellt ein im Vergleich zum Lebergewebe wasserärmeres, kollagenreicheres und besser vaskularisiertes Gewebe dar mit einer durchschnittlichen Dicke von 1 – 4 mm. Der Gefäßdurchmesser, der an Stichproben unter dem Auflichtmikroskop vermessen wurde, lag für Venen in etwa bei 0.5 – 1.5 mm, für Arterien bei 0.25 – 0.5 mm. Das Mesenterialgewebe wurde bis zur Weiterverarbeitung in 0.9% NaCl-Lösung aufbewahrt, jedoch nicht gekühlt, da sich dadurch das im Gewebe enthaltene Fett zu sehr verhärtete. Zwischen Entnahme und Ende der Versuche vergingen im Durchschnitt 4 Stunden.

Das Mesenterialgewebe wurde mit dem Skalpell in ca. 5 cm x 2 cm messende Streifen geschnitten und ohne großen Zug in einer Haltevorrichtung über einem Stück Leber fixiert. Das Lebergewebe diente zur Absorption der Laserstrahlung bei Durchtrennung des Mesenteriums. Die Fixierung der Faser in der Justiereinheit und Bewegung durch den Schrittmotor erfolgten wie bei den Versuchen mit Lebergewebe. Die Faser wurde im 30°-Winkel, mit einer freien Länge von 3 cm und einer Stelltiefe von 2 mm (20.8 mN) aufgesetzt und der Schneidvorgang durch Starten des Motors und Auslösen des Lasers begonnen. Geschnitten wurde mit Kontakt an Luft, wobei die Probe kurz vor Laserapplikation mit Saline befeuchtet wurde. Die Schnittlänge betrug ca. 1,5 – 2 cm, es wurden jeweils zwei Schnitte pro Parametersatz unter Variation von Schnittgeschwindigkeit und Laserleistung ausgeführt. Es erfolgte ebenfalls eine photographische Dokumentation der Proben. Dabei wurden in einer ersten Versuchsreihe mit konstanter Geschwindigkeit (3 mm/s bzw. 6 mm/s) Laserleistungen von 10 bis 40 W gewählt. In einer zweiten Versuchsreihe mit konstanter Laserleistung (20 bzw. 40 W) die Geschwindigkeit von 2 mm/s bis 10 bzw. 14 mm/s gesteigert, bis das Gewebe nicht mehr durchtrennt werden konnte. Der Grad der Durchtrennung wurde mit „vollständig durchtrennt“, „teilweise durchtrennt“, und „nicht durchtrennt“ angegeben.

Ausgewählte Parameterkombinationen wurden **histologisch** aufgearbeitet: 6 Probestücke (3 mm/s und 6 mm/s mit 10, 20 und 40 W Laserleistung) wurden nach Laserapplikation (Schnittlänge ca. 2 mm) zur Fixation mit Stecknadeln auf kleine Korkrechtecke gespannt und in neutralgepuffertes Formalin 4.5% gegeben, danach in Paraffin eingebettet und HE-gefärbt. Anschließend folgte die lichtmikroskopische Beurteilung der Karbonisations- und Koagulationszone. Eine quantitative Auswertung erschien aufgrund der starken Inhomogenitäten in der Dicke des Gewebes und den damit extrem unterschiedlichen Schädigungszonen wenig aussagekräftig. Die Präparate in der erforderlichen Quantität und Qualität anzufertigen konnte wegen des damit verbundenen erheblichen Arbeitsaufwandes nicht verwirklicht werden.

2.3 Tierstudie

Die Durchführung der Tierversuche wurde durch das Ministerium für Umwelt, Naturschutz und Landwirtschaft des Landes Schleswig-Holstein genehmigt (Aktenzeichen V 74-72241.122-7). Die Genehmigung erfolgte am 16.05.2003. Die Behandlung der Tiere erfolgte gemäß den Richtlinien der EU zur Haltung von Versuchstieren. Die Studie wurde an weiblichen Hausschweinen mit einem Gewicht von 30 - 40 kg durchgeführt. Die Wahl des Tiermodells ergab sich aus der Notwendigkeit einer Mindestgröße des verwendeten Tieres für die laparoskopische

Operationstechnik mit Anlage eines Pneumoperitoneums und Einbringen von Trokaren, zudem bestand zwischen Mensch und Schwein eine Gewebeähnlichkeit und die Tiere waren einfach verfügbar.

Prä- und postoperativ waren die Tiere in den Ställen der gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck untergebracht. Am Tag vor der Operation erhielten die Tiere kein Futter, konnten jedoch trinken.

Drei verschiedene Dissektionstechniken wurden miteinander verglichen: Laserskalpell mit distal poliertem Faserende (Kerndurchmesser 400 μm , NA = 0.2) (A), Laserskalpell mit Applikationsoptik (NA = 0.5) (B) und eine Kontrollgruppe mit bipolarer Schere (Erbotom ICC 350, Erbe Elektromedizin, Tübingen, Deutschland; Handstück: Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) (C) (*Tabelle 2.3*).

Gruppe	Dissektionstechnik
Gruppe A	2 μm -Laserskalpell mit Quarzfaser mit poliertem Ende
Gruppe B	2 μm -Laserskalpell mit Applikationsoptik
Gruppe C	bipolare Schere

Tabelle 2.3: Behandlungsgruppen der Tierstudie.

Für die minimal-invasiven Eingriffe wurde ein speziell zur Führung der Laserfaser konstruiertes Instrument verwendet (Bauer und Häselbarth, Chirurg.GmbH, Ellerau, Deutschland). Die Laserfaser befand sich dabei in einem Führungskanal im Schaft und trat nur am Übergang vom Schaft zu den Zangenklingen hervor, um wiederum durch ein Führungsröhrchen an der einen Klinge der Zange fixiert zu sein. Dadurch ließ sich die Faser beliebig wechseln und vom Instrument getrennt sterilisieren. Durch das Öffnen und Schließen der Zange konnte die Faser in einer Ebene bewegt werden, durch Rotation des Zangenkopfes mittels einer Stellschraube am Griff des Instruments in allen Raumrichtungen (*Bild 2.3*).

Bei der Applikationsoptik für das Laserskalpell wurde eine Saphirkugel (Durchmesser 1 mm) vor das distale Faserende montiert. Der Fokus des Laserlichts befand sich kurz hinter dem Austritt aus der Saphirkugel und die Strahlung divergierte danach unter einem größeren Winkel verglichen mit der polierten Faser (60° gegenüber 24° Vollwinkel).

Die verwendete Leistung des Thulium-YAG Lasers lag zwischen 15 und 20 W, die der bipolaren Schere bei 60 W. Ausgelöst wurden beide Geräte über einen Fußschalter.



Bild 2.3: Handstück des 2µm-Laserskalpell (Bauer und Häselbarth, Chirurg.GmbH, Ellerau, Germany).

Die statistische Fallzahlplanung ergab eine Gruppengröße von 6 Tieren, so dass insgesamt 18 Tiere für die Studie eingeplant wurden. Die Behandlung der Tiere mit einem der drei Dissektionsinstrumente folgte einem Randomisierungsplan (permutierte Blockrandomisierung mit variabler Blocklänge, s. weiter unten) des Instituts für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck. Dabei wurde intraoperativ nach Platzierung der Trokare und Anlage des Pneumoperitoneums die Randomisierung des Tiers auf einen der drei Behandlungsarme telefonisch von Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Biometrie und Statistik durchgegeben. Die Randomisierung der Tiere nach erfolgreicher Anästhesieeinleitung ermöglichte den Ausschluss von auf Narkosevorbereitung und Narkose zurückzuführenden Todesfällen. Die Randomisierung gewährleistete darüber hinaus eine unvoreingenommene Auswahl der Tiere für die einzelnen Behandlungsverfahren (Übersicht über die in der Studie operierten Tiere (Tab. 7.1) und die Zuordnung der Tiere zu den Randomisierungsgruppen (Tab. 7.2) im Anhang).

Narkosebeginn, OP-Beginn und Beginn der Dissektion und das jeweilige Ende wurden ebenso wie OP-Verlauf, Medikation, Gewicht des Tieres, Resektatlänge und entnommene Proben zur histologischen Auswertung in einem für jedes Tier angefertigtem OP-Protokoll dokumentiert.

Vorbereitung und Anästhesie

Vor der Sedierung wurden die Tiere gewogen. Zur Prämedikation wurde den Tieren intramuskulär 500 – 1200 mg Ketamin (Ursotamin ®), 20 – 40 mg Xylazin (Rompun ® 2%) und 0.5 – 1 mg Atropin injiziert. Nach ausreichender Sedierung und Legen einer Braunüle zur Verabreichung von i.v.-Medikamenten in eine Ohrvene wurde die Narkose mit Etomidat (Hypnomidat ®, 20 - 30 mg) oder Propofol (Disoprivan ®, 100 – 150 mg) intravenös eingeleitet. Die Tiere wurden in Rückenlage mit 7.5-er Tubus intubiert und mit O₂ : N₂O im Verhältnis von 1:1 maschinell beatmet (O₂: 0.5 - 1 L, N₂O: 0.5 - 1 L). Dabei lag das Atemzugvolumen bei 400 ml, die Atemfrequenz bei 12/min. Während der gesamten perioperativen Phase befanden sich die Tiere unter Monitorüberwachung, wobei Puls und expiratorisches CO₂ gemessen wurden und ein Monitor-EKG abgeleitet wurde. Zusätzlich wurde eine rektale kontinuierliche Temperaturmessung durchgeführt. Die Narkose wurde mit Ketamin (Ursotamin ® 60 – 120 mg/h) und Midazolam (Dormicum ®, 10 mg/h) über Perfusoren geführt, bei Bedarf erfolgten zusätzliche Bolusgaben von Ketamin. Zusätzlich wurde Ringer-Lösung (50 ml/h) infundiert. Zur antibiotischen Abdeckung wurde präoperativ Metronidazol (500 mg) und Cefotaxim (500 mg) parenteral verabreicht (Tab. 7.3 im Anhang).

OP Verlauf

Nach sterilem Abwaschen und Abdecken der Bauchdecke erfolgte das offene Einbringen eines 10 mm-Kameratrokars in das Abdomen durch Minilaparotomie und die Anlage des Pneumoperitoneums. Unter Sicht wurden insgesamt drei weitere Trokare (5 mm Durchmesser) im Mittel- und Unterbauch platziert.

Die Durchtrennung des Dünndarmmesenteriums erfolgte je nach Gruppenzugehörigkeit mit Laserskalpell mit Quarzfaser mit poliertem Ende (A) oder Applikationsoptik (B), jeweils im Kontakt-Modus, oder mit der bipolaren Schere (C). Bei unkontrollierbaren Blutungen wurde das blutende Gefäß nach Instrumentenwechsel mit dem bipolaren Overholt koaguliert. Die Zahl der Blutungsepisoden wurde protokolliert, der Blutverlust am Ende der OP durch den Operateur geschätzt. Insgesamt wurde ca. 1 m Dünndarm reseziert. Zum Absetzen und Bergen des Präparates wurde die Trokarinzision im linken Unterbauch erweitert. Die Anastomosierung des Dünndarmes End-zu-End erfolgte anschließend per Handnaht extraabdominell (PDS ® (Polydioxan) 5-0), ebenso der Verschluss des Mesenterialschlitzes. Nach Rückverlagerung des Dünndarmes, Verschluss der Inzision (Faszie und Muskel: Vicryl ® (Polyglaktin) 0) und Kontrolle des Situs auf

Blutungen wurden die Trokare entfernt und die Trokarinzisionen schichtweise verschlossen (Hautnaht Prolene® (Polypropylen) 3-0; alle Nähte Ethicon Products, Norderstedt, Deutschland) und mit Sprühpflaster versorgt. Darauf folgte die Ausleitung der Narkose und Extubation. Nach Sicherstellen der eigenen Atemtätigkeit und Erwachen des Tieres schloss sich die Überführung in den Tierstall an.

Die Länge des Darmresektats wurde anschließend vermessen, Proben zur histologischen Aufarbeitung vom (mesenterialen) Resektionsrand wurden in 4.5% Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und nach HE-Färbung der Schnitte lichtmikroskopisch ausgewertet.

Nach 3 – 4 Wochen Überlebenszeit wurden die Tiere erneut wie oben beschrieben anästhesiert. Nach Inspektion der Trokarinzisionen auf Wundheilungsstörungen wurde nach medianer Laparotomie der Situs auf Verwachsungen hin untersucht. Gewebeproben wurden an der Anastomosenregion und an vernarbten Stellen an der Bauchwand entnommen und histologisch nach Fixation und HE-Färbung untersucht. Die Terminierung erfolgte durch 10 ml T61 (Butyramid 20%, Ammoniumiodid 5%, Pantocain 0.5%) intravenös.

Statistische Auswertung

Primär wurde der intraoperative Blutverlust in ml in den drei Behandlungsarmen verglichen, sekundär die Mortalitätsrate innerhalb 21 Tagen nach OP-Beginn. Zu den Nebenzielkriterien zählten Dissektionszeit (in min), die Anzahl der Blutungsepisoden, die Rate der operativ geschädigten umliegenden Organe, die Rate der Resektate mit Karbonisationsschäden, die Komplikationsrate (Wundinfekte, Nachblutungen, Anastomoseninsuffizienz) und Rate der Wundheilungsstörungen (*Tabelle 2.4*).

Zeitphase	Parameter
intraoperativ	Dissektionszeit (min) Auftreten von Blutungen (Anzahl) Blutverlust (ml) Schädigung umliegender Strukturen (Anzahl) Karbonisation am Resktionsrand (Grad)
postoperativ	Komplikationen (Wundinfektionen, Nachblutungen, Anastomoseninsuffizienz) (Anzahl) Todesfälle innerhalb 21 Tagen (Anzahl)
postmortal	Wundheilungsstörungen (Entzündungsreaktionen, Narbenbildung) (Anzahl)

Tabelle 2.4: Haupt- und Nebenzielkriterien der Tierstudie. Vergleichene Parameter intra- und postoperativ sowie postmortal; Hauptzielkriterien hervorgehoben.

Die Dissektionzeit wurde bestimmt durch Protokollierung der Anfangs- und Endzeit, Blutungsepisoden wurden gezählt und der Blutverlust in ml geschätzt. Ebenso wurden intraoperativ entstandene thermische Schäden an umliegenden Organen gezählt und protokolliert. Der Karbonisationsgrad des Resektats wurde maskroskopisch beurteilt von „nicht vorhanden“ über „gering“ bis „stark“.

Das Auftreten von Wundinfekten und Wundheilungsstörungen wurde im postoperativen Verlauf kontrolliert und entsprechend notiert. Das Vorliegen von Verwachsungen in der Bauchhöhle wurde bei der Inspektion des Situs nach Laparotomie vor der Terminierung überprüft. Bei Todesfällen im postoperativen Verlauf wurden eine Obduktion zur Feststellung der Todesursache durchgeführt.

Formulierung der Hypothesen und statistisches Auswertungskonzept:

(entwickelt vom Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck)

Die Nullhypothese der Studie ist die zusammengesetzte Nullhypothese

$$H_0(\text{global}) = H_0(\mathbf{B}) \cap H_0(\mathbf{T})$$

mit den beiden Teilhypothesen (entsprechen den Hauptzielkriterien)

$$H_0(\mathbf{B}): F_{B_1}(z) = F_{B_2}(z) = F_{B_3}(z) \quad \text{versus} \quad H_1(\mathbf{B}): F_{B_i}(z) = F_{B_i}(z - \theta_i) \quad \text{für alle } z \in \mathbf{R} \quad \text{und}$$

mit $\theta_i \neq \theta_j$ für mindestens ein Paar (i,j) , $1 \leq i, j \leq 3$

und

$$H_0(\mathbf{T}): \pi_{T_1} = \pi_{T_2} = \pi_{T_3} \quad \text{versus} \quad H_1(\mathbf{T}): \pi_{T_i} \neq \pi_{T_j} \quad \text{für mindestens ein Paar } (i,j),$$

$1 \leq i, j \leq 3$.

Dabei bezeichnet F_{\bullet} die Verteilungsfunktion im Behandlungsarm \bullet , z ist der Blutverlust in ml; π_{\bullet} bezeichnet die Mortalitätsrate innerhalb von 21 Tagen nach OP im Behandlungsarm \bullet . Die Laufparameter i und j repräsentieren die drei Behandlungsarme A, B und C.

Die Teilhypothese $H_0(\mathbf{B})$ der Nullhypothese geht somit von einem identischen Blutverlust in allen Behandlungsarmen aus, die Teilhypothese $H_0(\mathbf{T})$ von einer identischen Mortalitätsrate. $H_1(\mathbf{B})$ und $H_1(\mathbf{T})$ beschreibend entsprechend nicht identischen Blutverlust und Mortalitätsrate.

Die nachgeschalteten Hypothesen lauten:

$$H_0(B_{ij}): F_{B_i}(z) = F_{B_j}(z) \quad \text{versus} \quad H_1(B_{ij}): F_{B_i}(z) = F_{B_j}(z - \theta) \quad \text{für alle } z \in \mathbf{R}, i \neq j,$$

$$1 \leq i, j \leq 3 \text{ und ein } \theta \in \mathbf{R}$$

sowie

$$H_0(T_{ij}): \pi_{T_i} = \pi_{T_j} \quad \text{versus} \quad H_1(T_{ij}): \pi_{T_i} \neq \pi_{T_j} \quad \text{für } i \neq j, 1 \leq i, j \leq 3.$$

Die nachgeschalteten Hypothesen vergleichen im Gegensatz zu den übergeordneten Hypothesen, die nur generell einen Unterschied nachweisen wollen, die einzelnen Behandlungsarme direkt miteinander, falls vorher ein Unterschied feststellbar war.

Zum Test dieser Hypothesen wird eine hierarchische Testprozedur angewandt:

Zunächst wird das primäre Hauptzielkriterium der Studie (Blutverlust in ml) getestet, d.h. die Hypothese $H_0(B)$ (Schritt 1). Falls $H_0(B)$ abgelehnt werden kann, folglich ein Unterschied zwischen den drei Behandlungsarmen vorliegt, werden nachgeschaltet die Hypothesen $H_0(B_{ij})$ getestet (Schritt 2).

Falls alle $H_0(B_{ij})$ abgelehnt werden können, d.h. ein unterschiedlicher Blutverlust in allen drei Behandlungsarmen vorliegt, wird das sekundäre Hauptzielkriterium der Studie, die Mortalitätsrate nach 21 Tagen, getestet, d.h. die Hypothese $H_0(T)$ (Schritt 3). Falls $H_0(T)$ abgelehnt werden kann, werden nachgeschaltet die Hypothesen $H_0(T_{ij})$ getestet (Schritt 4).

Im Schritt 1 (Test der Hypothese $H_0(B)$) wird der exakte Kruskal-Wallis-Test zum Signifikanzniveau (SN) 5% verwendet. Im Schritt 2 (Test der Hypothesen $H_0(B_{ij})$) werden paarweise exakte zweiseitige Mann-Whitney-Tests zum SN 5% verwendet. Im Schritt 3 (Test der Hypothese $H_0(T)$) wird der exakte χ^2 -Test zum SN 5% eingesetzt. Im Schritt 4 (Test der Hypothesen $H_0(T_{ij})$) schließlich werden paarweise zweiseitige exakte Tests nach Fisher zum SN 5% benutzt. Die Auswahl der Testverfahren ergibt sich aus der Art der Stichprobe. Kriterien sind die Anzahl der verwendeten Stichproben, das Skalenniveau (nominal, ordinal oder kardinal) der Variablen, die Abhängigkeit bzw. Unabhängigkeit der Stichproben und die Häufigkeitsverteilung in der Grundgesamtheit. Im Schritt 1 wird der exakte Kruskal-Wallis-Test gewählt, da es sich hierbei um nicht normalverteilte, kardinalskalierte, unabhängige Variablen (Blutverlust in ml) handelt, wobei mehr als 2 Stichproben vorliegen (3 Behandlungsgruppen). Im Schritt 2 kann der Mann-Whitney-Test verwendet werden, da hier nur jeweils 2 Stichproben miteinander verglichen werden. Für Schritt 3, der die Unabhängigkeit der Testgrößen „Gruppenzugehörigkeit“ und

„Mortalität“ nachweisen soll, wird der χ^2 -Test verwendet. Dieser erlaubt die Ablehnung der Nullhypothese beim Vorliegen nicht identischer Auftretenswahrscheinlichkeiten für die Testgröße „Mortalität“ in den drei Behandlungsgruppen. Für den direkten Vergleich von jeweils 2 Behandlungsarmen (Schritt 4) wird Fisher's exakter Test (Mediantest) verwendet, der auch die Richtung des Unterschieds ($A > B$ oder $B > A$) bestimmen lässt.

Sollte ein Tier intraoperativ versterben, wird für das primäre Hauptzielkriterium ein Wert verwendet, der höher als alle intraoperativ gemessenen Blutungsmengen der anderen Tiere ist. Sollten mehrere Tiere intraoperativ versterben, werden identische höchste Werte verwendet.

Auswertung der Nebenzielkriterien (alle paarweisen Tests und Konfidenzintervalle verstehen sich zweiseitig):

OP-Dauer (in min): Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Hodges-Lehmann

Rate der operativ geschädigten umliegenden Organe: Exakter χ^2 -Test nach Pearson, Fisher's exakter Test, Odds Ratio

Rate der Wundinfekte: Exakter χ^2 -Test nach Pearson, Fisher's exakter Test, Odds Ratio

Rate der Wundheilungsstörungen: Exakter χ^2 -Test nach Pearson, Fisher's exakter Test, Odds Ratio

Rate der Resektate mit Karbonisationsschäden: Exakter χ^2 -Test nach Pearson, Fisher's exakter Test, Odds Ratio

Fallzahlplanung

Ausgangspunkt ist der Vergleich von 3 Gruppen. Betrachtet wird für die Fallzahlplanung nur das primäre Hauptzielkriterium (Blutverlust in ml). Unter der Annahme, dass die minimale relevante Spannweite der durchschnittlichen OP-Blutverluste 50 ml und die gemeinsame Standardabweichung der Blutverluste 20 ml beträgt, wird eine Zahl von 6 Tieren pro Gruppe benötigt, um mit einer Sicherheit von 90% bei einem SN von 5% einen Unterschied im Blutverlust entdecken zu können (ANOVA). Für die nachgeschalteten Tests wird für den Test pro Gruppe keine höhere Fallzahl bei identischen Annahmen (Unterschied 50 ml, Standardabweichung 20 ml) benötigt.

2.4 In-vivo Gefäßdissektion

Zur gezielten Untersuchung der Koagulationsfähigkeit des 2µm-Laserskalpells in vivo wurden 10 weibliche Hausschweine (3 – 4 Monate, Gewicht 40 – 80 kg) behandelt. Die Tiere waren im Rahmen der Tierstudie zur Prüfung des Laserskalpells operiert worden. 3 – 4 Wochen nach der Operation schrieb das Studienprotokoll zur Untersuchung auf Wundheilungsstörungen und Verwachsungen im Bauchraum die Durchführung einer Laparotomie und die anschließende Terminierung vor, bei 10 Tieren wurde an die Inspektion der Bauchhöhle noch die Gefäßdissektion angeschlossen. Die Terminierung wurde wie bei allen Tieren nach Abschluss der Versuche noch unter Narkose mit 10 ml T61 (Butyramid 20%, Ammoniumiodid 5%, Pantocain 0.5%) vorgenommen.

Operationsvorbereitung, Narkoseeinleitung und Narkose wurden ebenso wie bei den beschriebenen laparoskopischen Eingriffen durchgeführt.

Für die Gefäßdissektion wurden regelmäßig die A. gastroepiploica sinistra mit begleitenden Venen, die A. mesenterica inferior und die A. lienalis freigelegt. Wenn möglich wurden auch Aa. und Vv. ovaricae, Aa. renales und Aa. gastricae breves dargestellt. Die Gefäße wurden unter Schonung anderer Strukturen mit dem Laser durchtrennt, wobei bei 15 bis 20 W Laserleistung eine am distalen Ende polierte Quarzfaser (Durchmesser 365 µm, NA = 0.2) verwendet wurde.

Die Faser wurde in einem Abstand von ca. 0.5 cm vom Gefäß entfernt gehalten und leicht hin – und herbewegt, bis das Gefäß durchtrennt war oder zu bluten begann. Im Falle einer Blutung wurde versucht, diese durch weitere Laserapplikation für max. 5 s zu stillen, gelang dies nicht, wurde das Gefäß abgeklemmt und anschließend ligiert. Diese Gefäße wurden als „offen in vivo“ bezeichnet. War die Dissektion unblutig oder die Blutung schnell gestillt, wurden die Gefäße als „geschlossen in vivo“ bezeichnet. Unmittelbar im Anschluss an die Dissektion wurden die Gefäßstümpfe ca. 1 - 2 cm vom koagulierten Ende entfernt ligiert und mit dem Skalpell durchtrennt. Der Innendurchmesser wurde mit Drahtsonden von 1 mm, 2.3 mm und 3 mm Durchmesser bestimmt.

Die Gefäßstümpfe wurden direkt im Anschluss an die Exzision an einen in-vitro Aufbau zur Druckmessung angeschlossen. Hierfür wurde eine 0.9 mm Kanüle mit stumpfem Ende in das Gefäßlumen eingebracht und mittels Klemmen und eventuell Ligatur fixiert. Die Kanüle war über einen Drei-Wege-Hahn einmal mit einer Spritze zum Druckaufbau verbunden, und zum Anderen einem Druckaufnehmer (V9637, 0 -1 bar; RS; Deutschland), um den intraluminalen Druck zu bestimmen. Das ganze System war mit 0.9% NaCl-Lösung gefüllt und stellte so ein geschlossenes System

dar. Das Signal wurde um den Faktor 10 verstärkt (SR560; Stanford Research Systems, CA, USA) und die Druckkurve auf einem Oszilloskop (TDS 210, Tektronix, USA) aufgezeichnet. *Bild 2.4* zeigt eine Übersicht des Versuchsaufbaus.

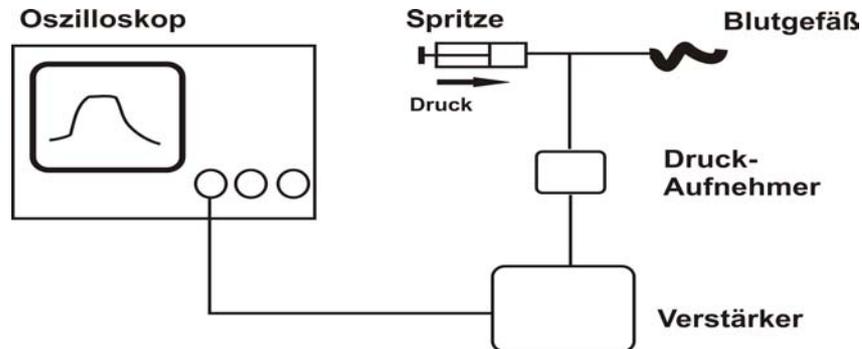


Bild 2.4: Versuchsaufbau zur in-vitro Druckmessung an Gefäßen.

Bei der Darstellung auf dem Oszilloskop-Monitor entsprach 1 mV einem Druck von 0.75 mmHg. Als Obergrenze des ausgeübten Drucks wurden 375 mmHg (entsprechen 500 mV) gewählt, da dieser Wert weit über dem normalerweise in Menschen (und Schweinen) zu erwartenden Blutdruck liegt. Durch Verschieben des Spritzenkolbens wurde nun der Druck im System erhöht, was auf dem Oszilloskop mitzuverfolgen war. Wurde die Obergrenze von 500 mV auf dem Monitor erreicht, wurde der Druckaufbau durch Loslassen des Spritzenkolbens beendet, diese Gefäße wurden als „geschlossen bei 375 mmHg“ klassifiziert. Trat vor Erreichen der 500 mV ein Leck am Gefäß auf, wurde der erreichte Druck notiert und das Gefäß als „offen bei 375 mmHg“ klassifiziert (*Bild 2.5*).

Nicht alle in vivo mit dem Laser durchtrennten Gefäße konnten der in-vitro Druckmessung zugeführt werden, teilweise wegen zu geringen Gefäßdurchmessers oder besonders bei Venen wegen der zu dünnen und leicht verletzlichen Gefäßwände. Diese Gefäße wurden als nicht messbar eingestuft und in der Auswertung der Druckmessung nicht weiter berücksichtigt.

Zusätzlich zu diesen Gefäßen (> 1 mm) wurde auch die Dissektion der kleinen Gefäße der Mesenterialarkaden untersucht, welche bei der Dünndarmteilresektion regelmäßig durchtrennt worden waren. Dabei wurde das komplette Mesenterium durchtrennt und die Zahl hämostatisch dissezierter bzw. blutender Gefäße festgehalten. Der Durchmesser der Venen betrug bei Messung unter dem Auflichtmikroskop 0.5 mm, der der Arterien 0.25 mm. Diese Gefäße wurden aus technischen Gründen nicht der in-vitro Druckmessung unterzogen.

Zur histologischen Auswertung wurden Proben der größeren Gefäße und des Mesenteriums in 4.5 % Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und für die lichtmikroskopische Untersuchung HE-gefärbt.

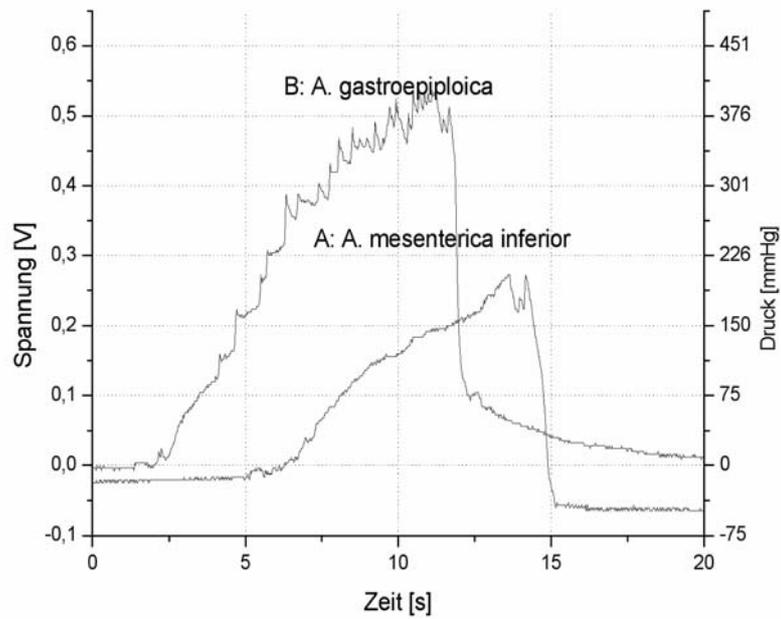


Bild 2.5: Druckkurve am Oszilloskop bei in-vitro Druckmessung an *A. mesenterica inferior* und *A. gastroepiploica*.

3 Ergebnisse

3.1 In-vitro Laserablation

3.1.1 In-vitro Ablation von Lebergewebe

Die **makroskopische Auswertung** wurde mit Hilfe des Auflichtmikroskops bei zweifacher Vergrößerung vorgenommen. Pro Parameterkombination (vgl. *Tab. 2.2*) wurden 10 Datensätze aufgenommen, woraus im Anschluss der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt wurden. Alle gemessenen Ergebnisse wiesen zum Teil sehr große Streubreiten auf, weswegen bei nur 10 Einzelwerten und der Anzahl der Parameterkombinationen keine statistische Signifikanz erreicht wurde.

Generell konnten im geschädigten Lebergewebe drei Zonen unterschieden werden: die eigentliche Inzision durch Gewebeablation, eine meist schmalere braune oder schwarze Karbonisationszone am Inzisionsrand und eine weiße Koagulationszone.

Die durch die Laserapplikation hervorgerufenen Gewebedefekte reichten von nur oberflächlicher Koagulation des Gewebes ohne Inzision und Karbonisation bis zu stark karbonisierten, tiefen und weiten u-förmigen Schnitten. Durch Verkleben der Karbonisationsränder auf Oberflächenniveau ergaben sich oben verschlossene, darunter aber runde, „tunnelartige“ Läsionen. Teilweise wurden erst in der Tiefe „Höhlen“ sichtbar, da die Oberfläche durch koaguliertes oder karbonisiertes Gewebe wieder verschlossen worden war.

Bei niedriger Laserleistung, hoher Geschwindigkeit und steilem Winkel war ein „Hüpfen“ der Faser über das Gewebe zu beobachten, d.h. es kam zu längerer Anhaftung der Faser an einer Stelle, welche dann wieder losgerissen wurde und ein Stück weiter erneut anhaftete. Dadurch entstand eine Kette von punktförmigen Laserläsionen, was zu der Bezeichnung „Nähmaschineneffekt“ führte. Dabei kam es zu höherer Energieeinbringung in das Gewebe an den Anhaftstellen, wodurch hier verhältnismäßig tiefe Krater entstanden. Zwischen den Anhaftstellen wurde kaum Gewebe ablatiert (*Bild 3.1*).

Die **Schnitttiefe** nahm erwartungsgemäß mit steigender Laserleistung und größerer Andruckkraft zu und erreichte ihr Maximum bei niedriger Geschwindigkeit (*Bild 3.2*).

Bei einer Schnittgeschwindigkeit von 10 mm/s waren auch bei 60 W keine durchgängigen Schnitte mehr möglich. Die maximale Schnitttiefe von 3.3 mm wurde mit 60 W, 2 mm/s und 61.1 mN Andruckkraft bei einem Winkel von 45° erreicht.

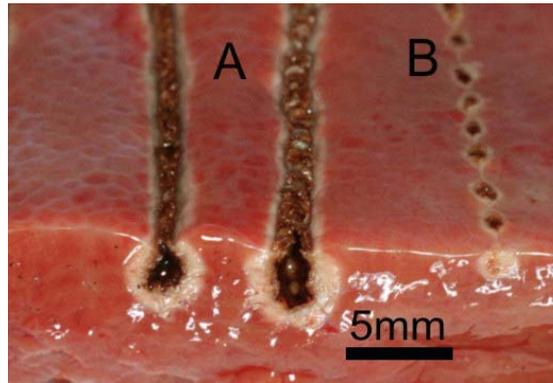


Bild 3.1: Typischer Schnitt auf Lebergewebe mit dem 2µm-Laserskalpell. Die verwendeten Laserparameter links (A) sind ein Faser-Gewebe-Winkel von 45°, Laserleistung von 60 W und eine Schnittgeschwindigkeit von 2 mm/s bei einer Auflagekraft von 61 mN. Der Schnitt rechts (B) ist unter einem 45° Winkel, 10 W, 5 mm/s und 25 mN durchgeführt worden.

Bei einem Winkel von 30° zwischen Faser und Gewebe ließen sich auch bei niedrigeren Leistungen und höherer Geschwindigkeit durchgängige Schnitte erzeugen. Die Schnitttiefe war jedoch geringer als bei 45°, wo höhere Andruckkräfte zwischen Faser und Gewebe erreicht wurden. Bei steilerem Winkel war eine kontinuierliche Schnittführung erst bei höherer Leistung (20 – 40 W) möglich. Wurde die Faser im 60°-Winkel aufgesetzt, kam es durch die kaum noch mögliche gleichmäßige Schnittführung zu keinem Zugewinn an Ablationstiefe. *Bild 3.3* zeigt die Schnitttiefe in Abhängigkeit von dem gewählten Faser-Gewebe-Winkel.

Aufgrund der extremen Unregelmäßigkeit der Schnitte (Nähmaschineneffekt mit weiten Abständen) lagen bei 60°-Winkel nicht immer 10 Einzelwerte vor, die Mittelwerte wurden teilweise nur aus 1 - 8 Einzelwerten berechnet. Das muss bei der Beurteilung berücksichtigt werden.

Die Variation der Andruckkraft von 20 mN bis 90 mN der Faser auf die Leberoberfläche machte sich am deutlichsten beim 45°-Winkel bemerkbar (Unterschied der Schnitttiefe durchschnittlich 0.5 mm), sonst differierten die Werte im Durchschnitt nur um 0.1 mm.

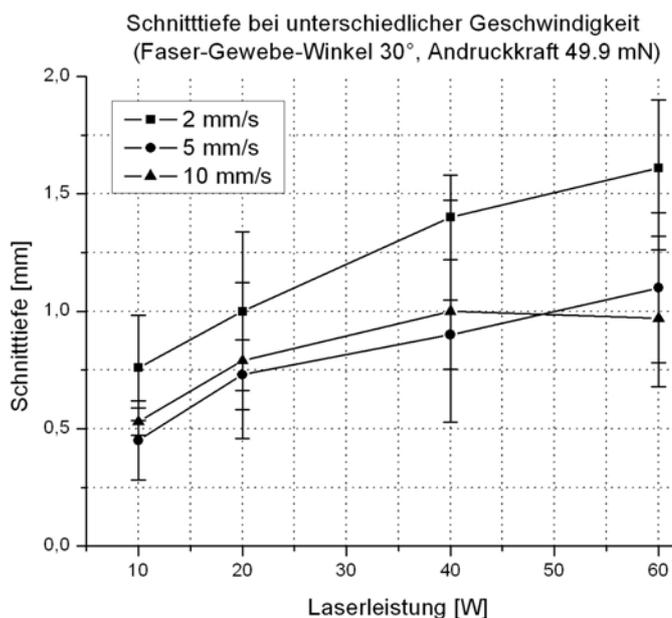


Bild 3.2: Schnitttiefe nach Laserapplikation bei unterschiedlicher Geschwindigkeit, 30° Winkel zwischen Faser und Gewebe und einer Andruckkraft von 49.9 mN.

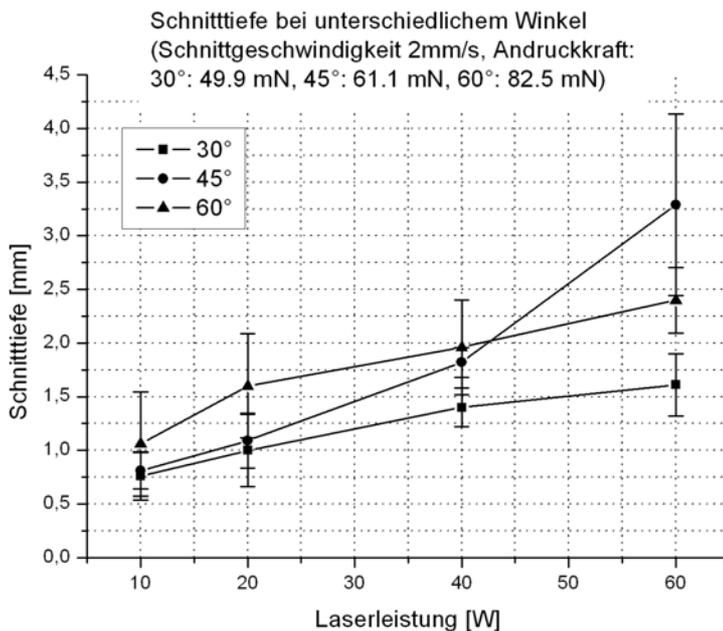


Bild 3.3: Schnitttiefe nach Laserapplikation bei unterschiedlichem Winkel, Geschwindigkeit 2 mm/s, Andruckkraft: 30°: 49.9 mN, 45°: 61.1 mN, 60°: 82.5 mN.

Die **Schnittweite** wurde sowohl auf Höhe der Gewebeoberfläche gemessen als auch in der Tiefe des Hohlraums. War überhaupt keine Öffnung mehr vorhanden (d.h. der Schnitt hatte sich durch „verkleben“ der Ränder wieder verschlossen), aber eine durchgängige Karbonisationszone, so wurde diese als „Öffnung“ gemessen. War auch keine Karbonisationszone zu erkennen, sondern nur Koagulationszone, wurde kein Wert für die Weite notiert.

Die Schnittweite auf Niveau der Gewebeoberfläche übertrifft in der Regel die am unteren Ende der Öffnung gemessene Lumenweite. Generell liegt die Schnittweite oben im Bereich von 0.3 mm bis 2.5 mm, es ist ebenfalls ein Anstieg mit zunehmender Leistung und abnehmender Geschwindigkeit festzustellen (Bild 3.4 und 3.5).

Die **Koagulationszone** unterhalb des Laserschnittes lag im Bereich von 0.77 ± 0.3 mm (10 W) bis 0.92 ± 0.47 mm (60 W), seitlich maß sie 0.50 ± 0.10 mm (10 W) und 0.66 ± 0.10 mm (60 W). Teilweise war bei gleichem Winkel und gleicher Geschwindigkeit ein leichtes Ansteigen mit zunehmender Leistung zu beobachten (besonders bei 60°), ebenso war eine leichte Zunahme mit steilerem Winkel vorhanden. Insgesamt war so eine Zunahme der Werte bei 10 W im Vergleich zu 60 W von etwa 50% festzustellen.

Die **Karbonisationszone** war teils gar nicht vorhanden, der maximale Wert lag bei 0.4 mm. Bei 10 W betrug sie im Durchschnitt 0.11 ± 0.12 mm und bei 60 W 0.22 ± 0.10 mm, verdoppelte sich somit. Auch hier waren nur leichte Tendenzen in Abhängigkeit von Leistung, Winkel oder Geschwindigkeit feststellbar.

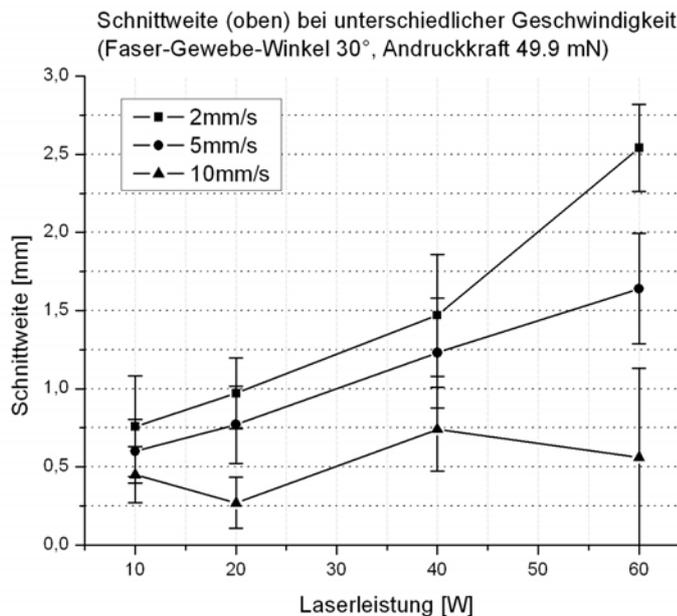


Bild 3.4: Schnittweite am oberen Schnitttrand bei unterschiedlicher Geschwindigkeit, 30°-Winkel, Andruckkraft 49.9 mN

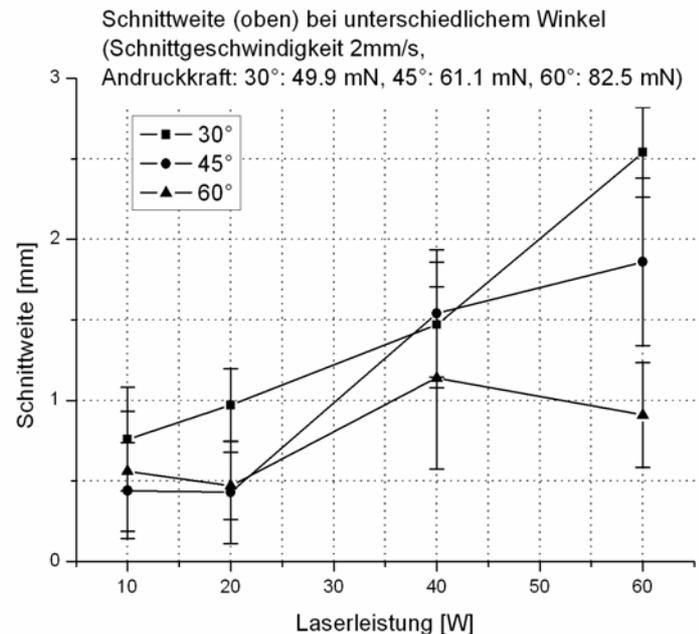


Bild 3.5: Schnittweite am oberen Schnitttrand bei unterschiedlichem Winkel, Schnittgeschwindigkeit 2 mm/s, Andruckkraft: 30°: 49.9 mN, 45°: 61.1 mN, 60°: 82.5 mN.

Für die **histologische Auswertung** wurden Proben von insgesamt 12 Parametersätzen (Winkel (30°) und Zustellung (5 mm) konstant, Geschwindigkeit 2mm/s, 5mm/s und 10mm/s bei jeweils 10 W, 20 W, 40 W, 60 W) an das Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck gegeben, die dort lichtmikroskopisch nach HE-Färbung ausgewertet wurden. Gemessen wurde die Schnitttiefe und -weite von 4 - 6 Schnitten pro Parametersatz.

Dabei ließ sich im HE-Präparat neben dem Ablationskrater (K) die Karbonisationszone (A) von der Koagulationszone (B) unterscheiden. Im Anschluss erkannte man die von Vakuolen und Fissuren durchsetzte Übergangszon (C), wo sich Hepatozyten mit verdichtetem Zytoplasma und pyknotischem Kern fanden (Bild 3.6).

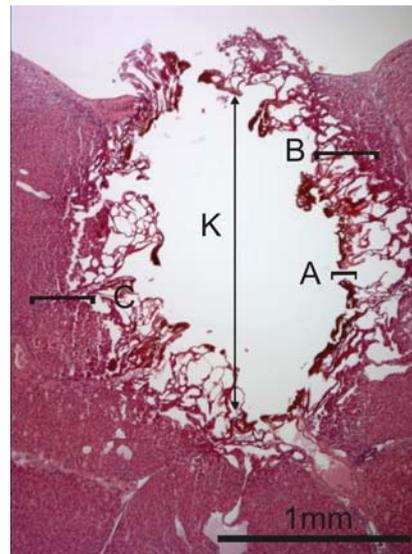


Bild 3.6: Histologie (HE-Färbung) eines Leberschnitts mit dem 2 μ m-Laserskalpell (60 W, 5 mm/s, 45°, Auflagekraft 61 mN). A markiert die Karbonisationszone, B die Koagulationszone und C die Übergangszone. K ist der Ablationskrater).

3.1.2 In-vitro Ablation von Mesenterialgewebe

Im Gegensatz zum recht homogenen Lebergewebe handelt es sich bei Mesenterialgewebe um Bindegewebe umhüllt von einem einschichtigen Serosaepithel, durchsetzt mit Fettzellen und Gefäßen unterschiedlichen Kalibers. Die Dicke variierte je nach Entnahmeort beim Schwein zwischen ca. 0.5 - 3 mm. Das erklärt die Schwierigkeit, hierbei einen ähnlichen Grad an Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erlangen.

Die **makroskopische Bewertung** beschränkt sich auf eine Beurteilung der Gewebedurchtrennung, wobei diese mit „durchtrennt“, „teilweise durchtrennt“ und „nicht durchtrennt“ bezeichnet wurde. Die Koagulationszone war makroskopisch zwar sichtbar (Weißfärbung), ließ sich aber unter dem Auflichtmikroskop nicht mit der nötigen Präzision bestimmen. Bei höherer Leistung war auch eine Karbonisationszone vorhanden.

In zwei Versuchsserien wurden einmal die Variation der Geschwindigkeit (2 - 14 mm/s) bei gleichbleibender Laserleistung (20, 40 W) und einmal verschiedene Leistungen (10 - 40 W) bei gleichbleibender Geschwindigkeit (3 bzw. 6 mm/s) an jeweils 2 Proben untersucht. Es zeigte sich, dass bei 20 W bei Geschwindigkeiten von 2 – 6 mm/s das Gewebe sicher durchtrennt werden konnte, ab 8 mm/s war das nicht mehr möglich. Bei 40 W gelang eine regelmäßige Durchtrennung des Gewebes

bis 10 mm/s (Bild 3.7). Bei 3mm/s konnte bei 15 W das Gewebe teilweise, ab 20 W sicher durchtrennt werden, bei 6mm/s war eine Durchtrennung erst ab 25 W möglich (Bild 3.8). Für die Tierstudie wurde anhand dessen eine Laserleistung zwischen 15 und 20 W gewählt.

Die unter dem Mesenterium liegenden Leberblöcke zeigten deutlich, dass sich die entstehende Wärme im von der Faserspitze entfernten Gewebe wesentlich divergenter verteilt als an fasernahem Gewebe. Durch die gleichzeitig im Fettgewebe auftretende Streuung und Wärmediffusion waren die Koagulationszonen wesentlich (10-fach) breiter als bei den Leberschnitten mit gleicher Leistung und Geschwindigkeit. Die Gewebeschädigung beschränkte sich im Normalfall auf Koagulation und Karbonisation, nur selten kam es zu einer wirklichen Ablation mit Kraterbildung.

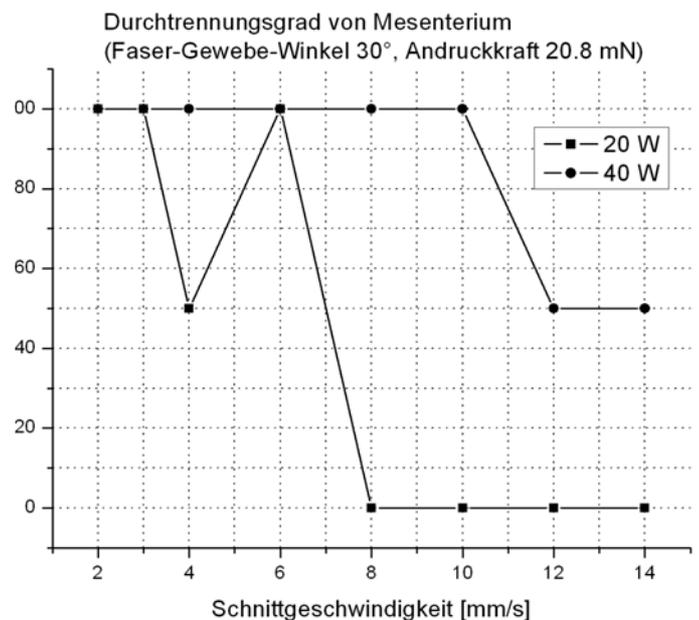
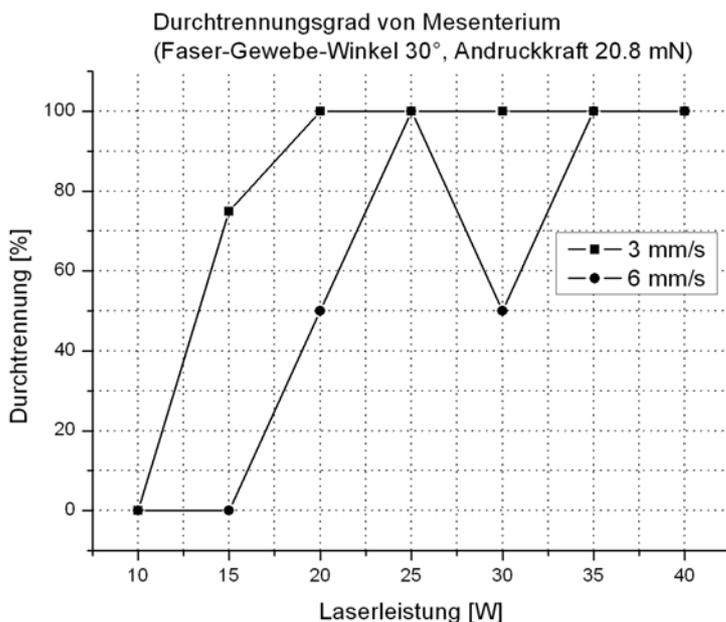


Bild 3.7: Durchtrennung von Mesenterialgewebe in Abhängigkeit von der Schnittgeschwindigkeit bei 20 W und 40 W (Faser-Gewebe-Winkel 30°). 100% Durchtrennung entspricht nach der vorgestellten Einteilung „durchtrennt“, 50% „teilweise durchtrennt“ und 0% „nicht durchtrennt“.

Bild 3.8: Durchtrennung von Mesenterialgewebe in Abhängigkeit von der Laserleistung bei 3 mm/s und 6 mm/s. 100% Durchtrennung entspricht „durchtrennt“, 50% „teilweise durchtrennt“ und 0% „nicht durchtrennt“.

6 Parametersätze (3 mm/s und 6 mm/s bei 10, 20 und 40 W) wurden einer **histologischen Auswertung** unterzogen. In den HE-gefärbten Präparaten stellte sich die koagulierte Zone lila dar im Gegensatz zur unbeschädigten Zone die sich rosa darstellte. Karbonisiertes Material erschien pink; man erkannte karbonisierte und koagulierte Anteile, ebenso koagulierte Gefäßbündel mit verklebten Gefäßwänden und durch koaguliertes Material verschlossenem Lumen. Die Schnittländer erschienen teilweise unregelmäßig ausgefranst. *Bild 3.9* zeigt zwei typische histologische Präparate – links Mesenterialgewebe geringer Dicke, rechts dickeres Gewebe. Die Extreme gingen noch deutlich über die gezeigten Beispiele hinaus, ließen sich aber nicht mehr gut photographisch darstellen. Die Schädigungszonen variierten an ausgewählten Präparaten zwischen 0.5 und 1 mm.

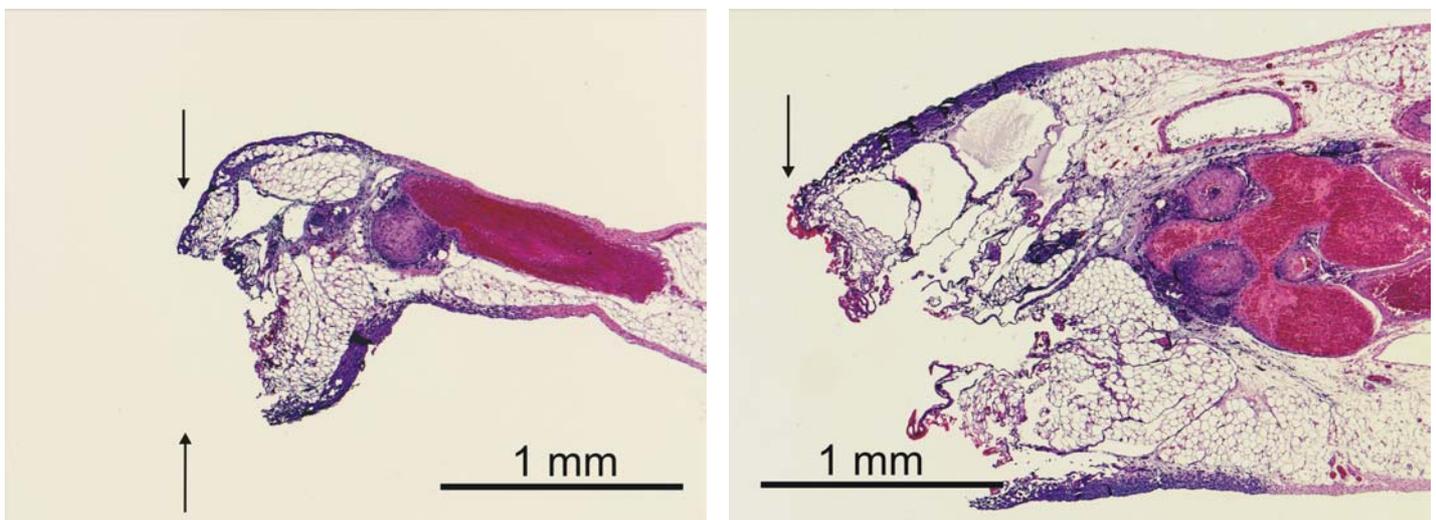


Bild 3.9: Mesenterialer Schnitttrand (HE-Färbung) nach Laserapplikation (20 W, 3 mm/s): links dünnes, rechts dickes Mesenterialgewebe. Die thermisch geschädigte Zone hebt sich deutlich lila vom rosanen ungeschädigten Gewebe ab. Die Pfeile markieren den Schnitttrand.

3.2 Tierstudie

Insgesamt wurden 23 Tiere operiert, davon 6 mit der bipolaren Schere, 6 mit dem Laserskalpell und distal poliertem Faserende und 8 mit dem Laserskalpell mit Applikationsoptik, 3 waren nicht randomisiert worden. Die geplante Fallzahl von 18 erhöhte sich durch Verluste an Tieren, die auf Nebenwirkungen der Narkose und den präoperativen Stress zurückzuführen waren. Das erste Tier verstarb intraoperativ an maligner Hyperthermie bei Halothan-Narkose. Zwei Tiere verstarben vor der

Randomisierung unmittelbar nach Narkoseeinleitung und Intubation mit Herzfrequenzen über 220/min und folgender Arrhythmie, Bradykardie und Asystolie an einer Stressreaktion. Auf gegensteuernde medikamentöse Maßnahmen wurde verzichtet, da die Tiere nach derartiger Medikamentengabe nicht mehr vorbehaltlos in die Studie hätten eingeschlossen werden können. Es bestand so kein zu rechtfertigender Anlass, die Tiere am Leben zu halten und weiteren Belastungen auszusetzen. Ein Tier wies bei Inspektion der Bauchhöhle hochgradige Verwachsungen auf, die eine Operation unmöglich machten. Die Operation wurde abgebrochen und das Tier mit T61 terminiert. Ein weiteres Tier, randomisiert in Gruppe B (Laser mit Applikationsoptik), wurde aufgrund eines Missverständnisses mit den Statistikern zusätzlich operiert. Um eine gleiche Fallzahl pro Gruppe beibehalten zu können, ging dieses Tier jedoch nicht in die Auswertung mit ein.

Als Hauptzielkriterien wurden der intraoperative Blutverlust in ml und die Mortalitätsrate innerhalb 21 Tagen postoperativ verglichen. Als Nebenzielkriterien wurden die Dissektionszeit (in min), die Rate der operativ geschädigten umliegenden Organe, die Rate der Wundinfekte, die Rate der Wundheilungsstörungen und die Rate der Resektate mit Karbonisationsschäden verglichen. Um die Gruppengröße gleich zu halten geht das 7. operierte Tier der Gruppe B nicht in die Auswertung mit ein. *Tabelle 3.1* fasst die Ergebnisse zusammen.

	Laserskalpell (A)	Laserskalpell (B)	Bipolare Schere (C)
Anzahl Tiere [n]	6	6	6
Gewicht [kg]	38 ± 8.4	31.8 ± 4.8	37 ± 4.0
Dissektionszeit [min]	21.5 ± 10.6	23.7 ± 13.6	26.3 ± 9.0
Resektatlänge [cm]	108 ± 25.1	105.2 ± 9.2	102.0 ± 23.5
Blutungen [n]	1.5 ± 2.5	1.3 ± 1.2	5.8 ± 3.4
Blutverlust [ml]	5.0 ± 8.4	6.7 ± 6.1	65.0 ± 68.0
Schäden [n]	0.2 ± 0.4	0.7 ± 1.7	0.8 ± 1.1
Wundheilungsstörungen [n]	0	0	0
Karbonisationsgrad	gering	gering	gering
Dissektionsgeschwindigkeit [cm/min]	6.1 ± 3.3	6.0 ± 3.7	4.3 ± 1.4
Todesfälle	0	1	0

Tabelle 3.1: Übersicht über die Ergebnisse der Tierstudie (Mittelwerte und einfache Standardabweichung).

Die im Folgenden angegebenen Werte sind Mittelwerte, in Klammern steht die einfache Standardabweichung. Der intraoperative Blutverlust betrug bei Gruppe A 5 ml (± 8 ml), bei Gruppe B 7 ml (± 6 ml) und bei Gruppe C 65 ml (± 68 ml), bei im

Durchschnitt 1.5 (\pm 2.5) Blutungsepisoden bei Gruppe A, 1.3 (\pm 1.2) bei Gruppe B und 6 (\pm 3) bei Gruppe C. Die Mortalitätsrate betrug bei Gruppe A und C 0%, bei Gruppe B aufgrund des einen Todesfalls 17%.

Die Dissektionszeit belief sich bei Verwendung des Laserskalpells in Gruppe A auf 22 min (\pm 11 min) und in Gruppe B auf 24 min (\pm 14 min), bei Gebrauch der bipolaren Schere (C) auf 26 min (\pm 9 min). Bezieht man die Resektatlänge ein und berechnet die Dissektionsgeschwindigkeit [cm/min] so ergibt sich für Gruppe A 6.1 cm/min (\pm 3.3), Gruppe B 6.0 cm/min (\pm 3.7) und für die bipolare Schere (Gruppe C) 4.3 cm/min (\pm 1.4).

Eine Schädigung umliegender Organe, wobei es sich immer um Darm oder Bauchwand handelte, trat pro Operation in Gruppe A 0.17 (\pm 0.4)-mal, in Gruppe B 0.67 (\pm 1.6)-mal und in Gruppe C 0.83 (\pm 1.2)-mal auf. Zu Wundheilungsstörungen und Wundinfekten kam es bei keinem der nach 3 Wochen untersuchten Tiere. Der Schweregrad der Karbonisation an den Resektaten wurde makroskopisch durchgehend als gering eingestuft. Histologisch zeigten sich die Schnittländer nach Verwendung der bipolaren Schere weniger ausgefranst (s. *Bild 3.10*).

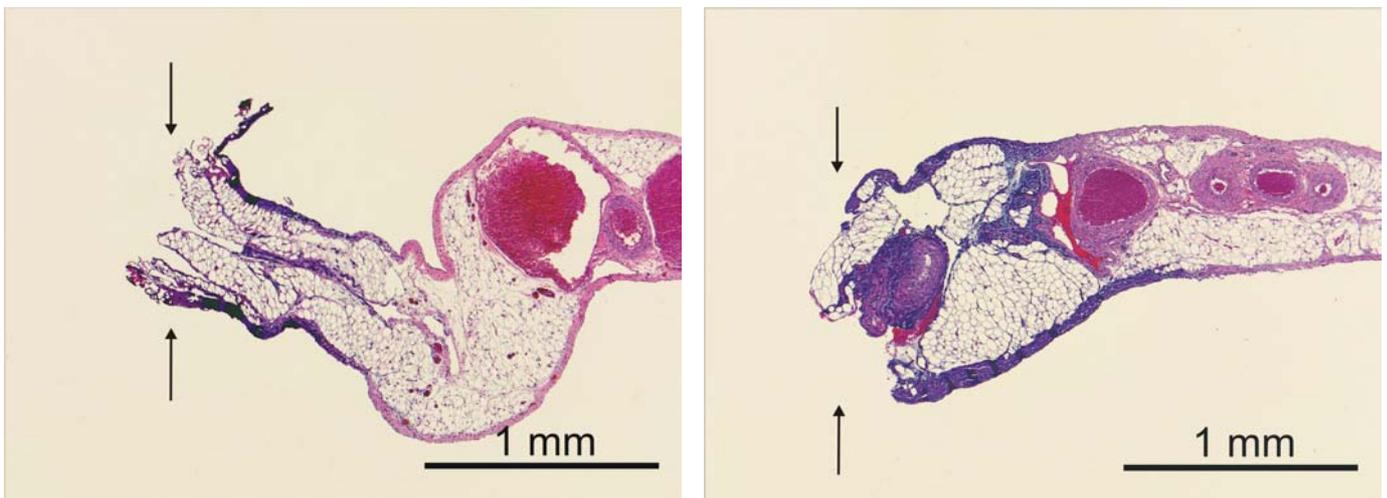


Bild 3.10: Mesenterialer Schnitttrand (HE-Färbung) nach Laserapplikation (links) und nach Schneiden mit der bipolaren Schere (rechts). Geschädigtes Gewebe stellt sich lila dar. Der Rand nach Laserapplikation ist weniger glatt begrenzt. Die Pfeile markieren den Schnitttrand.

Der einzige Todesfall war ein Tier aus Gruppe B (Laser mit Applikationsoptik), das am zweiten postoperativen Tag durch Sepsis bei 4-Quadranten-Peritonitis aufgrund einer durch thermischen Schaden der Darmwand bedingten Dünndarmperforation verstarb. Die Todesursache wurde durch Obduktion bestätigt.

Bei Verwendung der Applikationsoptik (Gruppe B) kam es teilweise zu hitzebedingten Schäden am Material, was ein Weiterarbeiten mit diesen Fasern unmöglich machte. In diesen Fällen wurde mit der am distalen Faserende polierten Faser weiteroperiert. Die Daten zu Gruppe B wurden deshalb auch nicht weiter berücksichtigt, da zu oft nicht mit der Applikationsoptik gearbeitet wurde.

Die **statistische Auswertung** erfolgte durch das Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck, denen Protokolle und Rohdaten übergeben wurden (vgl. Material und Methoden 2.2). Beim Vergleich der Blutverluste in ml von Gruppe A (Laserskalpell mit Faser mit poliertem Ende, 5.0 ± 8.4 ml) und Gruppe C (bipolare Schere, 65.0 ± 68.0 ml) waren die Ergebnisse statistisch signifikant ($p < 0.05$) unterschiedlich (vgl. *Tab. 7.6* im Anhang). Alle anderen Ergebnisse erreichten keine statistische Signifikanz.

3.3 In-vivo Gefäßdissektion

Die isolierten Gefäße wurden je nach Typ (Arterie/Vene) und Durchmesser (< 1 mm, $1 - 2.3$ mm und > 2.3 mm) in 6 Gruppen eingeteilt. Die kleinen Gefäße der Mesenterialarkaden bildeten zwei Extragruppen, für Venen < 0.5 mm und für Arterien < 0.25 mm. Von Letzteren wurden 38 Arterien und Venen untersucht, 9 Arterien und 2 Venen wiesen Durchmesser von 0.5 mm bis 1 mm auf, 23 Arterien und 17 Venen von $1 - 2.3$ mm und 3 Arterien und 2 Venen > 2.3 mm. Wie erwartet sank die Verschlussrate mit steigendem Durchmesser. Bei den Arkadengefäßen wurden 100% der Arterien und 89% der Venen verschlossen, bei Durchmessern von $1 - 2.3$ mm 74% der Arterien und 65% der Venen, während bei den Arterien > 2.3 mm keine und bei den Venen lediglich eine von zwei verschlossen werden konnte, was nicht als repräsentativ erachtet wurde. Insgesamt konnten bei Gefäßen > 0.5 mm 86% der Arterien und 81% der Venen verschlossen werden (*Bild 3.11*).

Wegen der beschriebenen technischen Schwierigkeiten wurde die in-vitro Druckmessung nicht bei allen Gefäßen durchgeführt. Bei den kleinen Gefäßen mit Durchmesser 0.5 mm – 1 mm wurde jeweils eine Vene und eine Arterie gemessen, die beide dem Druck von 375 mmHg standhielten. Bei den Gefäßen mit Durchmesser $1 - 2.3$ mm wurden 16 Arterien und 8 Venen vermessen, bei den Arterien blieben 31% und bei den Venen 25% geschlossen. Eine Vene mit Durchmesser > 2.3 mm wurde ebenfalls der Messung unterzogen, hielt jedoch dem Druck von 375 mmHg nicht stand, so dass insgesamt 35% der Arterien und 30% der Venen bei 375 mmHg geschlossen blieben. *Tabelle 3.2* zeigt den Anteil verschlossener Gefäße bei 200 mmHg und 375 mmHg.

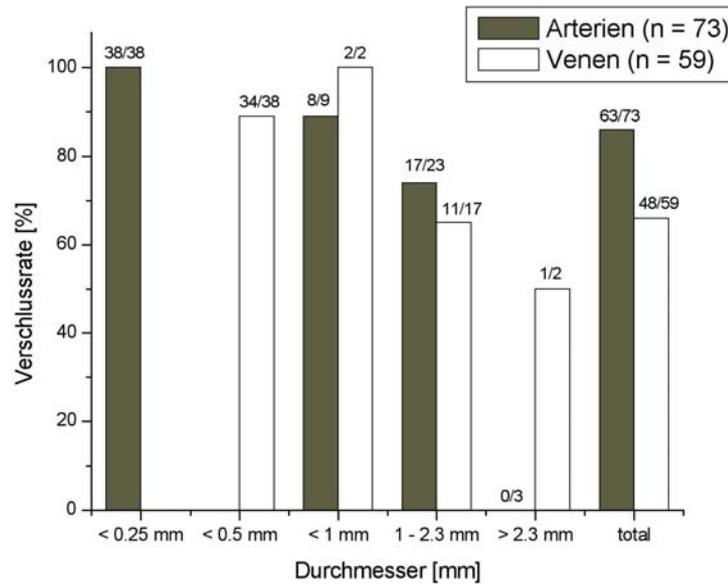


Bild 3.11: Verschlussraten der mit dem 2 μ m-Laserskalpell dissezierten GefäÙe.

GefäÙtyp	Durchmesser (mm)	Anzahl der GefäÙe zu Druckmessung	geschlossen bei 200mmHg	%	geschlossen bei 375mmHg	%
Arterie	< 0.25	0	-	-	-	-
	< 1	1	1	100%	1	100%
	1 - 2.3	16	10	63%	5	31%
	> 2.3	0	-	-	-	-
	total	17	12	71%	6	35%
Vene	< 0.5	0	-	-	-	-
	< 1	1	1	100%	1	100%
	1 - 2.3	8	5	63%	2	25%
	> 2.3	1	0	0%	0	0%
	total	10	6	60%	3	30%

Tabelle 3.2: In-vitro Druckmessung an 17 Arterien und 10 Venen. Verschlussraten für 200 mmHg und 375 mmHg.

Histologisch zeigte sich intraluminal ein Koagel als GefäÙverschluss, die GefäÙwände waren nur direkt am Ort der Laserwirkung koaguliert und verschmolzen, eine längerstreckige Verschmelzung fehlte. 1.5 mm von der Laserapplikation entfernt war das Lumen wieder eröffnet, die GefäÙwand (nahezu) nekrosefrei (Bild 3.12).

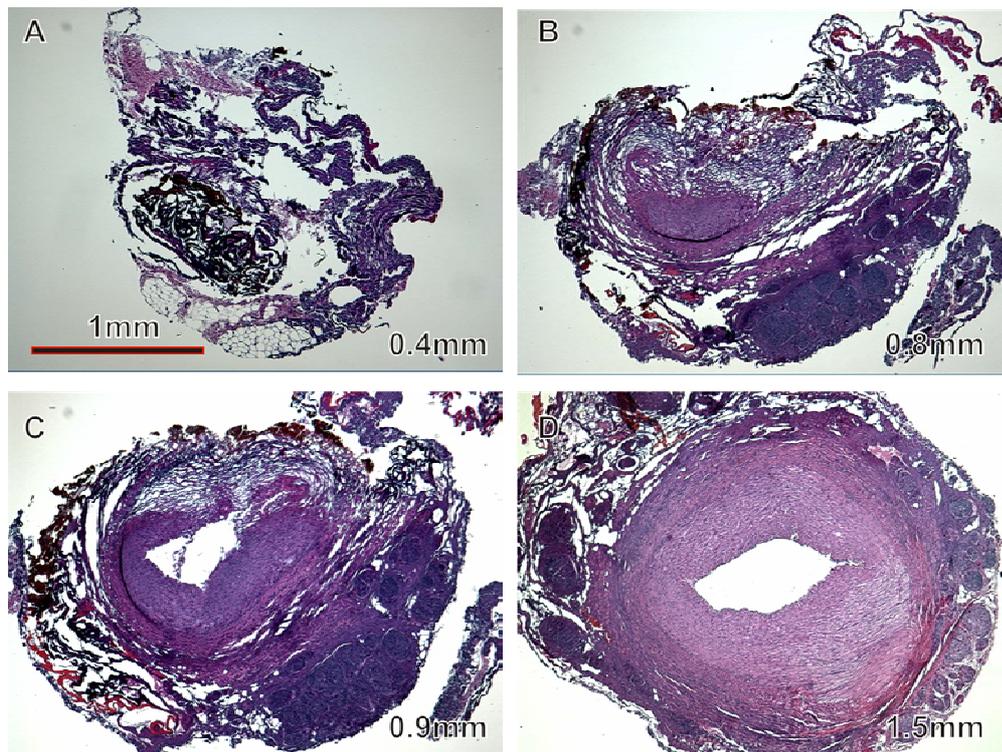


Bild 3.12: Mit dem 2 μ m-Laserskalpell dissezierte A. mesenterica inferior (HE-Färbung). Die Zahlen rechts unten bezeichnen den Abstand von der Gefäßspitze. In Bild A sieht man die komplett koagulierten Gefäßwände ohne Lumen. In Bild D ist die Gefäßwand wieder intakt, lediglich am Rand (rechts oben) sieht man noch koaguliertes Gewebe.

4 Diskussion

4.1 In-vitro Laserablation

Die zugrunde liegenden Prozesse der **cw Laserablation im Infrarot-Bereich** des Spektrums sind vornehmlich in den photothermischen Effekten zu sehen und wurden für den Nd-YAG, Argon- und CO₂-Laser beschrieben [49, 50]. Pierce et al. übertragen das auf den 1.98µm-Faserlaser, der in Bezug auf die Wellenlänge des emittierten Lichts dem Thulium-YAG Laser sehr ähnlich ist (2.01 µm). Der Ablationsprozess findet hier weniger nah an der Gewebeoberfläche statt als bei dem stark absorbierten Licht des CO₂-Lasers und läuft schneller ab als bei dem schlecht absorbierten Licht des Nd-YAG-Lasers. Es wird ein Drei-Phasen-Prozess postuliert, wobei es ab 60° C zur Gewebedehydratation, Proteindenaturation und Koagulation kommt (Phase 1). Ab Temperaturen von 100°C treten Wasser-Vaporisation, Blasenbildung, akustisches „Krachen“ und eine sichtbare Geweberuptur auf. Das „Krachen“ ist dabei Folge der plötzlichen Entstehung von Dampfblasen unter der Gewebeoberfläche. Der Eigendruck des Gewebes wirkt zunächst einer Dampfbildung entgegen, wird dieser überschritten kommt es zum abrupten Aufschwingen der Dampfblasen. Dieser Effekt tritt verstärkt auf, wenn die Temperatur unter der Gewebeoberfläche höher ist als die Oberflächentemperatur, was an der Kühlung der Oberfläche durch das umgebende Medium liegt. Verdeutlicht wird dies durch das ausgeprägtere Auftreten dieses Phänomens bei Laserapplikation unter Wasser. Handelt es sich bei der Probe um ein vielschichtiges Gewebe, tragen auch die verschiedenen optischen und thermischen Eigenschaften der einzelnen Schichten zu diesem Effekt bei. Das Einreißen der Gewebeoberfläche ist schließlich die Folge dieser Blasenbildung. Histologisch manifestiert sich dieses Phänomen in Vakuolen im Gewebe und der Ruptur der Oberfläche (Phase 2). Zuletzt folgt bei ~ 300°C die Braun- und schließlich Schwarzfärbung (Karbonisation) des Gewebes (Phase 3) [33, 36, 49]. Ablation ist bei stark absorbiertem Laserlicht, wie bei 2.01 µm, auch ohne Karbonisation allein durch die Wasserverdampfung möglich, was eine saubere Gewebeentfernung darstellt. Das Fehlen von Karbonisation wirkt sich positiv auf die Wundheilung aus [33]. Dieses Modell dürfte auch für die Gewebeablation mit dem Thulium-YAG Laser zutreffen.

Bei höherer Leistungsdichte stagniert dieser Prozess wieder aufgrund von starker Karbonisation des Gewebes und der Bildung eines Plasmas. Die Ablation ist in der vorausgehenden „Sättigungsphase“ am günstigsten, da weder durch Wärmeleitung viel Wärme abtransportiert, noch das Gewebe übermäßig karbonisiert wird. Das karbonisierte Gewebe wird zum wellenlängen-unabhängigen Absorber von Strahlung

und verhindert die Weiterleitung von Strahlung in die Tiefe und damit auch Gewebeablation [33, 51]. Das zeigt sich auch in unseren Ergebnissen, wo im Durchschnitt der größte Zugewinn an Ablationstiefe zwischen 10 und 20 W erfolgte, wo die Karbonisation noch nicht so ausgeprägt war.

Im Gewebe werden nach Laserapplikation wie bei jeder Art von thermischer Dissektion **drei Schädigungszonen** unterschieden: Nekrosezone (Karbonisation, Koagulation), Übergangszone, Hyperämie- und Ödemzone. Bei parenchymatösen Organen ist diese Abfolge besonders ausgeprägt, sie tritt aber auch in der Wand von Hohlorganen auf [29].

Die Karbonisationszone zeigt sich makroskopisch als braun-schwarzer Saum verkohlten und völlig zerstörten Gewebes. Histologisch sieht man Gewebereste mit Blasen und Vakuolen. Die anschließende Koagulationsnekrose wird makroskopisch sofort nach Hitzeeinwirkung als Zeichen der Proteindenaturierung durch Blasswerden des Gewebes sichtbar. Histologisch zeigen sich Dissoziation und Lyseerscheinungen. Der Verschluss der Kapillaren erfolgt durch Zerstörung der Endothelzellen und Bildung eines Koagulums aus denaturierten Proteinen und Blutbestandteilen. Gewebekoagulation ist somit Voraussetzung für Hämostase durch thermische Dissektionsinstrumente (s. a. 4.3). Die Übergangszone ist eine Zone abnehmender Zellschädigung bei noch deutlicher Veränderung der Farbeigenschaften im lichtmikroskopischen Bild. Vakuolen und Risse demonstrieren die mechanische Schädigung durch Wasservaporisation und Blasenbildung. Hier kommt es ca. 24 h nach Hitzeeinwirkung zur Granulozyteninvasion und Demarkation. Auch die Zellschäden der Übergangszone sind irreversibel. Nach 8 - 10 Tagen erfolgt die Abstoßung des nekrotischen Bereichs, es kommt zur Bildung von Granulationsgewebe und Heilung unter Narbenbildung. Schurr et al. beschreiben in der Übergangszone eine teilweise Regeneration [12]. In der Hyperämie- und Ödemzone kommt es nach Hitzeeinwirkung zur Weitstellung der Gefäße und zum interstitiellen Ödem mit zunächst vitalen Zellen (Entzündungsreaktion), nach 24 h beobachtet man einwandernde Granulozyten, auch diese Zellen degenerieren wohl im Laufe der Wundheilung und werden in die Nekrosezone einbezogen [24, 29]. Godlewski et al. beschreiben nach Nd-YAG-Leberresektion an Schweinen 3 Tage postoperativ die Ausbildung einer Barriere aus neutrophilen Granulozyten und Makrophagen zwischen Nekrosezone und vitalem Gewebe, die sich nach 10 Tagen noch verstärkt. Zusätzlich treten zunehmend Neovaskularisation und Fibrose auf. Nach 30 - 45 Tagen sind die Dissektionsränder von einer festen Fibroseschicht bedeckt. Komplikationen im Heilungsverlauf treten nicht auf [42, 43].

Die histologischen Befunde unserer Präparate zeigen die beschriebenen Zonen, besonders die in-vitro Leberpräparate (vgl. Bild 3.12). Der Heilungsverlauf war ebenfalls bis auf eine Ausnahme (s. a. 4.2) komplikationslos. Die intraoperativ geschädigten Bauchwand-Zonen zeigten 3 – 4 Wochen nach OP (zum Zeitpunkt der Terminierung) sowohl makroskopisch als auch histologisch Narbengewebe.

Ein anderer Ablationsmechanismus wird für den **gepulsten Laserbetrieb** postuliert. Im Gegensatz zum cw-Betrieb wird im gepulsten Betrieb eine wesentlich höhere Leistungsdichte erreicht, so dass die Wärmeleitung eine geringere Rolle spielt und es zu einer explosionsartigen Verdampfung von Gewebe kommt. Die Ausbreitung von Dampfblasen und mechanischer Druck- und Stoßwellen können zur Bildung von Rissen im Gewebe führen (photomechanischer Effekt). Die thermische Schädigung am Applikationsort ist jedoch geringer. Damit wird aber auch die Möglichkeit der Hämostase, für die die Koagulation, und somit die thermische Wirkung Voraussetzung ist, eingeschränkt. Diese Effekte sind umso ausgeprägter, je kürzer die Pulsdauer ist.

Beim gepulsten Laserbetrieb tritt im Vergleich zum cw-Betrieb die thermische Schädigung in den Hintergrund, während die mechanische Gewebeschädigung durch Dampfblasen und Stoßwellen stärker ausgeprägt ist. Wenn erwünscht, sind die geringe thermische Gewebeschädigung zusammen mit der präzisen Ablationskontrolle die Vorteile des gepulsten Laserbetriebes [34, 38, 51].

Im Gegensatz zum Thulium-YAG Laser ($\lambda = 2.01 \mu\text{m}$), der eine neuere Entwicklung ist und bisher in der Medizin kaum eingesetzt worden ist, liegen zu anderen im Infrarot-Bereich emittierenden Lasersystemen eine Vielzahl von Untersuchungen und Studien vor. Ebenfalls fasergängig, was eine *conditio sine qua non* für den Einsatz in der minimal-invasiven Chirurgie darstellt, und schon länger im klinischen Gebrauch und deshalb gut untersucht sind der Neodym-YAG Laser ($\lambda = 1.064 \mu\text{m}$) und der Holmium-YAG Laser ($\lambda = 2.1 \mu\text{m}$).

Da die Wasserabsorption bei einer Wellenlänge von $1 \mu\text{m}$ verglichen mit den Werten bei einer Wellenlänge von $2 \mu\text{m}$ niedrig ist (ca. Faktor 100), erfolgt bei dieser Wellenlänge auch nur eine geringe Absorption des Laserstrahls im Gewebe, was zu einer verminderten Schneidwirkung führt. An Lebergewebe finden sich so für den **Neodym-YAG** im non-Kontakt Modus Koagulationszonen von 3 – 8 mm in vivo (25 – 80 W) [42 – 45]. An anderen Geweben sind die Ergebnisse ähnlich, im non-Kontakt mode in vivo ergibt sich an Lunge eine seitliche Nekrosezone von 5 mm (40 W) [52].

Anders sieht es im Kontakt-Modus aus, hier wird eine Schädigungszone von 0.11 – 0.22 mm an Schafleber in-vitro beschrieben (10 – 35 W) [12]. An Truthahnbrust wird bei einer Schnitttiefe von 0.3 – 0.63 mm eine Koagulationszone von 0.1 – 0.2 mm bei allerdings starker Karbonisation beschrieben (5 – 20 W) [51].

Janda et al. führen diese schmale Koagulationszone auf eine deutlich ausgeprägte Karbonisationszone zurück, die die Strahlung absorbiert und das darunter liegende Gewebe vor Einwirkung schützt. Schurr et al. nennen als Ursache das Auftreten von Totalreflexion durch das Anhaften von Gewebeteilen an der Faser, die ein weiteres Austreten der Strahlung aus der Faser und Eindringen ins Gewebe verhindert [12].

Insgesamt sind die Schneideigenschaften des Nd-YAG Lasers wohl als sehr eingeschränkt zu betrachten, bei höherer Leistung und im non-Kontakt Modus ist Schneiden nur bei In-Kauf-Nahme einer breiten Koagulationszone möglich, bei niedriger Leistung im Kontakt-Modus ist die Ablationstiefe gering. Einsatzmöglichkeiten in der Chirurgie sind die reine Koagulation von Gewebe (z.B. zur Laserinduzierten Thermotherapie (LITT)) oder sehr feine Arbeiten im Kontakt-Modus (z.B. Einsatz in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde), wobei hier die beschriebene Karbonisationszone sicher hinderlich ist [51].

Der **Holmium-YAG** Laser ist dem Thulium-YAG Laser in Bezug auf die Absorptionseigenschaften relativ ähnlich, wobei der Absorptionskoeffizient des Thulium Lasers mit 6.19 mm^{-1} im Vergleich zu 2.86 mm^{-1} [48] noch etwas höher ist. Der Hauptunterschied liegt hier in der Betriebsart, da der Ho-YAG hauptsächlich gepulst betrieben wird, der verwendete Tm-YAG jedoch im cw-Modus. Bei in-vivo Versuchen an Kaninchenleber fanden Nishioka et al. mit dem gepulsten Ho-YAG Schädigungszonen von 0.5 - 1 mm [46], vergleichbar den 1.5 mm an Schweineleber (in vivo) [47]. Bei laparoskopischen Cholezystektomien fand sich eine Schädigungszone von 1.0 mm [53] bzw. 0.14 mm [54]. Diese Werte mit Koagulationszonen von 0.5 mm bis max. 1.5 mm an Leber sind unseren Ergebnissen von 0.8 – 0.9 mm vergleichbar.

Im cw-Betrieb liegt die Schnitttiefe an Schweinehaut (in vitro) bei 1.5 mm (Schädigungszone 0.5 mm) bei 20 W [31], wohingegen mit dem Tm-YAG die Schnitttiefe an Leber bei gleicher Leistung je nach Winkel zwischen 0.8 – 1.8 mm (Mittelwert: 1.2 mm) bei einer Koagulationszone von 0.8 mm lag. In der Literatur findet sich bei direkten Vergleichen von gepulstem Tm-Cr-YAG (auch $2.01 \mu\text{m}$) und Ho-Tm-Cr-YAG ($2.1 \mu\text{m}$) jedoch eine höhere Ablationsrate bzw. Inzisionstiefe bei einer Wellenlänge von $2.01 \mu\text{m}$ [38, 55]. Insgesamt ist mit dem Thulium-YAG wohl ein etwas tieferer Schnitt bei ähnlicher Koagulation zu erzielen. Der Vorteil liegt im

continuous-wave Betrieb, der sicherer Hämostase, gleichmäßigeres Schneiden und gleichmäßigere Schnittländer ermöglicht und nicht die Gefahr der Bildung unkontrollierbarer Risse mit sich bringt.

Die Wahl des Tm-YAG Lasersystems erklärt sich somit einmal durch im Vergleich zu verwandten Lasersystemen (Nd-YAG, Ho-YAG) stärkere Absorption durch Wasser, die eine präzisere Ablation ohne störende Karbonisation verspricht, bei gleichzeitig noch ausreichender Hämostase (gering beim CO₂-Laser). Die Transmissibilität durch Quarzglasfasern ermöglicht den Einsatz in der minimal-invasiven Chirurgie (der CO₂-Laser ist deshalb schlecht einsetzbar). Das Vorhandensein eines Gerätes, das im cw-Modus betrieben wird, lässt die Vorteile des cw-Modus (weniger mechanische Gewebeschädigung, mehr Koagulation und Hämostase) ebenfalls zum Tragen kommen.

In der Literatur findet sich ebenfalls eine ausführliche Darstellung in der Viszeralchirurgie routinemäßig eingesetzter Dissektionsinstrumente, die hier kurz dargestellt werden sollen.

Beim Einsatz monopolarer **Hochfrequenzchirurgie** werden in der Literatur die Schädigungszonen an verschiedenen Geweben mit 0.1 – 8.9 mm angegeben [8, 12, 20, 47]. Wenn auch die einzelnen Werte sehr stark differieren, so wird in allen Studien doch mit monopolarer Elektrochirurgie eine ausgedehntere Gewebeschädigung erzeugt als mit Vergleichsinstrumenten (bipolare Hochfrequenzchirurgie, Ultraschallskalpell) [13, 14]. Eine Reduktion der Koagulationszone kann mit bipolaren Geräten erzielt werden (0.1 – 1.64 mm) [8, 12]. Diese Werte unterscheiden sich meist nur geringfügig von den mit dem **Ultraschallskalpell** erreichten Werten (1.5 – 2.5 mm) [3, 8, 20]. Ohne einen direkten Vergleich erscheinen diese Zahlen aufgrund erheblicher Schwankungen wenig aussagekräftig. Zudem ist ein vorbehaltloser Vergleich aller Gewebetypen kaum möglich. Der histologische Vergleich an unserem Studienmaterial (Mesenterium) zwischen dem 2µm-Laserskalpell und der bipolaren Schere erbrachte ähnlich dimensionierte Schädigungszonen der beiden Instrumente, so dass das Laserskalpell was das Ausmaß der Schädigungszone betrifft, der bipolaren Schere ähnlich ist.

Histologisch sind bei allen thermischen Dissektionsinstrumenten keine großen Unterschiede feststellbar. Im Vergleich zum Laser finden Lantis et al. nach Anwendung von HF-Chirurgie einen weniger scharfen Übergang vom geschädigten zum nichtgeschädigten Gewebe [8]. Durch die mechanische Komponente der UAS-Schneidwirkung treten hier auch Fissuren auf [22, 56]. Die Wundheilung verläuft mit

dem Ultraschalldissektor im Vergleich zu HF-Chirurgie und Laser schneller ab und geht mit der geringsten Entzündungsreaktion einher, wie histologische Untersuchungen nach Leberteilresektionen bei Hunden und Schweinen und an der Mundschleimhaut von Meerschweinchen zeigen [10, 13, 14, 45]. Nach laparoskopischer Cholezystektomie werden jedoch keine Unterschiede im postoperativen Anstieg der Entzündungsparameter (CRP, Leukozyten) zwischen UAS und monopolarer HF-Chirurgie gefunden [9]. Unsere Studie zeigt ähnliche histologische Bilder und kein signifikant unterschiedliches Auftreten von Wundheilungsstörungen oder Verwachsungen beim Vergleich von 2µm-Laserskalpell und bipolarere Schere. Das entspricht in etwa den Ergebnissen an Meerschweinchen-Mundschleimhaut, wo die Unterschiede im Heilungsverlauf zwischen (CO₂-) Laser und bipolarer Schere ebenfalls nur gering ausgeprägt sind (etwas bessere Ergebnisse mit der bipolaren Schere) [13].

Die **in-vitro an Leber- und Mesenterialgewebe durchgeführten Untersuchungen** dienten dazu, die Schneidqualitäten des 2µm-Laserskalpells kennen zu lernen und zu evaluieren. Aufgrund der relativen Homogenität des Gewebes, die eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse versprach, und der leichten Beschaffbarkeit wurde für die umfangreichere Versuchsreihe Lebergewebe vom Schwein gewählt. In vivo muss bei Leberresektionen wegen der zahlreichen teilweise kaliberstarken Gefäße mit starken Blutungen gerechnet werden, welche die laparoskopische Leberteilresektion technisch anspruchsvoll gestaltet und sicherlich im Tiermodell mit einer deutlich erhöhten Letalität belasten. Eine Leberteilresektion scheint deshalb zum derzeitigen Zeitpunkt minimal-invasiv am lebenden Tier ethisch nicht vertretbar. Die in-vitro Versuche mit Dünndarmmesenterium vom Schwein dienen hingegen der Vorbereitung der Tierstudie. Es sollte ein Eindruck des Schneidverhaltens des Laserskalpells an Mesenterialgewebe gewonnen werden, da dieses bei der Tierstudie in vivo auch durchtrennt werden würde. Des Weiteren sollten vorab Informationen über die mögliche zu verwendende Leistung, die thermische Schädigung des umliegenden Gewebes und die mögliche einsetzbare Schnittgeschwindigkeit gewonnen werden.

Die in-vitro Untersuchungen zeigen, dass mit dem cw 2µm-Laserskalpell Lebergewebe problemlos durchtrennt werden kann. Schnitttiefen bis 3 mm können dabei erreicht werden, wobei die angrenzende thermische Schädigung des Gewebes 1 mm nicht überschreitet. Durch die Zunahme der thermischen Schädigung,

besonders der Karbonisation, sind einer Steigerung der Leistung und so Steigerung der Schnitttiefe jedoch Grenzen gesetzt.

Die bei den Versuchen mit Mesenterialgewebe gewonnenen Daten lassen eine orientierende Aussage bezüglich der benötigten Laserleistung für die in-vivo Versuche zu, die gefundene Koagulations- und Karbonisationszone von 0.5 - 1 mm erscheint anderen Dissektionsinstrumenten vergleichbar und widerspricht einem Einsatz im Tiermodell nicht.

4.2 Tierstudie

Die Tierstudie als in-vivo Modell kann Aussagen liefern über die Koagulationsfähigkeit des 2µm-Laserskalpells, die Wundheilung nach Laserapplikation, die Handhabbarkeit unter OP-Bedingungen sowie den direkten Vergleich mit einem Standardinstrument (bipolare Schere). Die technisch einfach durchzuführende laparoskopische Dünndarmteilresektion an Schweinen bot sich an aufgrund des geringen Blutungsrisikos und, bedingt durch die Gewebeähnlichkeit, der direkten Übertragbarkeit der Ergebnisse auf einen späteren Einsatz des 2µm-Laserskalpells für Dickdarmteilresektionen am Menschen. In der Studie wurde das 2µm-Laserskalpell in zwei verschiedenen Versionen (mit poliertem Faserende bzw. Applikationsoptik) mit der bipolaren Schere verglichen. Das primäre Hauptzielkriterium, der intraoperative Blutverlust, gibt Aufschluss über die Koagulation im Rahmen der Dissektion. Die weiteren Zielkriterien, die Mortalitätsrate innerhalb eines Zeitraums von 21 Tagen nach der Operation, Dissektionszeit, Anzahl der Blutungsepisoden, Resektatlänge und thermische Schädigung am Resektionsrand geben Auskunft über Praktikabilität und Sicherheit beim Einsatz des 2 µm-Laserskalpells.

Bei der **Operation eines Schweines in Intubationsnarkose** entstehen perioperativ verschiedene Problemkreise. Neben der Möglichkeit eines Intubationshindernisses sowie einer Aspiration während der Intubation und den allgemeinen Risiken eines operativen Eingriffes wie Blutung, Nachblutung oder Verletzung intraabdomineller Organe besteht bei Schweinen oftmals eine nicht unbeträchtliche Gefährdung durch maligne Hyperthermie bzw. das „porcine stress syndrome“ [57].

Das porcine stress syndrome ist eine durch Stress verursachte Form der malignen Hyperthermie, welche normalerweise durch Triggersubstanzen wie Inhalationsnarkotika und depolarisierende Muskelrelaxantien (Succinylcholin) ausgelöst wird [58]. Symptome sind Anstieg der Temperatur des CO₂-Absorbers,

Tachykardie, Tachyarrhythmie, Azidose, später Anstieg der Körpertemperatur und Muskelkontraktionen bis hin zum Tod [59].

Beim ersten behandelten Tier der Versuchsreihe wurde eine Halothan-Narkose (Halothan 1.5%, O₂ = 2 L, N₂O = 1.5 L, Atemzugvolumen = 400 ml, Frequenz = 12/min) durchgeführt. Zu Beginn der Narkose lag die rektal gemessene Körpertemperatur bei 39.1°C, die Herzfrequenz bei 120/min. Narkoseeinleitung und Intubation verliefen problemlos, nach ca. 1 h Operationszeit (2.5 h Narkosezeit) kam es zu einem Anstieg der Herzfrequenz auf über 200/min, die Temperatur stieg auf 39.9°C. Das Tier starb schließlich bei Kammerflattern an Herzkreislaufversagen. Aufgrund der stark erhöhten Temperatur, der anfänglichen Tachykardie und der bekannten Empfindlichkeit bestimmter Rassen wurde das Vorliegen einer malignen Hyperthermie getriggert durch die Halothannarkose als Todesursache angenommen. Das Tier wurde aus dem Randomisierungsplan nachträglich ausgeschlossen, da ein Einfluss der Dissektionstechnik auf den Tod des Tieres für extrem unwahrscheinlich gehalten wurde. Im Folgenden wurde das Narkoseverfahren auf Ketamin und Midazolam umgestellt, worunter keine weiteren Todesfälle mehr auftraten.

Intraoperativ erwies sich der unkontrollierbare **thermische Schaden** auch noch einige (bis 5) cm hinter dem Fokus als problematisch. Dadurch waren Bauchwand und andere Organe (besonders Darmschlingen aufgrund der Lage im Bauchraum) einer erhöhten Gefährdung durch diese Strahlung ausgesetzt, was große Vorsicht und Achtsamkeit beim Operateur nötig machte. Die entnommenen Gewebeproben aus der Bauchwand zeigten histologisch eine bis zur Muskulatur reichende Schädigung, am Darm bis zur Submukosa.

Um dieses schon im Voraus bekannte Problem zu reduzieren, war die Kugellinse als **Applikationsoptik** verwendet worden. Sie sollte eine stärkere Divergenz der Strahlung erzeugen. Intraoperativ war diese Abschwächung der Strahlung jedoch nur in einer langsameren Dissektion feststellbar, eine verminderte thermische Schädigung von hinter dem Dissektionsort liegenden Strukturen war nicht zu beobachten. Außerdem wies die Applikationsoptik nur eine geringe Haltbarkeit auf. Der verwendete Kleber zwischen Faser und Linse erhitze sich durch Lichtabsorption, was teilweise schon nach 20 – 30 s Einsatz des Lasers bei 15 W zum Glühen der Faser- und Instrumentenspitze und zur Ablösung der Kugel führte. In diesen Fällen musste auf die Verwendung der Faser mit poliertem Ende umgestiegen werden. Einmal kam es zum Verkleben von Instrumentenspitze und Faser, so dass beim Entfernen der Faser das Führungsröhrchen am Instrument mit abgerissen wurde. Das Instrument musste komplett ausgetauscht werden, was die wesentlich längere

Dissektionszeit in diesem Fall erklärt (Tier 10). Eine Auswertung der Gruppe B ist somit nicht vorbehaltlos möglich, da zu oft ohne Applikationsoptik operiert wurde.

Bei der **Auswertung der Haupt- und Nebenzielkriterien** der Studie war die Dissektionszeit bei Verwendung der bipolaren Schere (C) mit durchschnittlich 26.3 ± 9.0 min etwas länger als bei Verwendung des $2\mu\text{m}$ -Laserskalpells mit polierter Faser (A) (21.5 ± 10.7 min), der Unterschied war nicht signifikant. Diese Tendenz stimmt jedoch mit den intraoperativ gemachten Erfahrungen überein, die dem Laserskalpell größere Schnelligkeit zumaßen. Mit dem Laserskalpell konnte, ohne dass das Gewebe zwischen den Scherenbranchen gefasst werden musste, durch einfaches Aufsetzen gearbeitet werden. Die Laserkoagulation und -durchtrennung verlief schneller als mit der bipolaren Schere, des Weiteren traten weniger Blutungen auf, was auch zu einer Verkürzung der Dissektionszeit beitrug. Bei jeder nicht mit der bipolaren Schere zu kontrollierenden Blutung musste diese durch den bipolaren Overholt ersetzt werden, was zu Zeitverzögerungen führte. Die Zahl der Blutungsepisoden war bei Verwendung der bipolaren Schere höher als mit dem Laserskalpell, wenn auch nicht statistisch signifikant. Der Blutverlust, das primäre Hauptzielkriterium der Studie, lag bei der bipolaren Schere bei 65 ± 68.0 ml, bei Verwendung des Laserskalpells bei 5 ± 8.4 ml. Auch wenn es mit der bipolaren Schere bei einem Tier zu einem Blutverlust von 200 ml kam, so lagen auch die übrigen Tiere mit 20 - 60 ml deutlich über dem Blutverlust bei Verwendung des $2\mu\text{m}$ -Laserskalpells. Hier kam es nur bei 2 von 6 Tieren überhaupt zu Blutungen, und dann auch nur minimal (10 - 20 ml). Dieser Unterschied ist mit $p < 0.05$ signifikant.

Die direkte thermische Schädigung am Resektionsrand (Mesenterium) erwies sich als sehr gering. Es konnte makroskopisch und histologisch kein Unterschied zwischen Laser und bipolarer Schere gefunden werden. Leichtere thermische Schäden an benachbarten Organen traten in allen Behandlungsgruppen auf, die Unterschiede in der Häufigkeit zwischen den Behandlungsgruppen waren nicht signifikant. Bei einem Tier (Gruppe B, Laser mit Applikationsoptik) kam es jedoch nach intraoperativer Verletzung des Darms durch Laserstrahlung zur Nekrotisierung und Perforation der Darmwand, worauf das Tier eine 4-Quadranten-Peritonitis entwickelte und am 2. postoperativen Tag verstarb. Dies verdeutlicht die bereits angesprochene Gefahr der Verletzung von sich hinter dem eigentlichen Dissektionsort befindenden Strukturen durch die Laserstrahlung.

Wundheilung und Adhäsionsbildung wiesen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in Häufigkeit des Auftretens und Schwere auf. Bei keinem Tier kam es postoperativ zu Wundheilungsstörungen. Verwachsungen zwischen Darm und

Bauchdecke traten nicht auf. In jeder Gruppe kam es bei 2 Tieren zu interenterischen Verwachsungen unterschiedlichen Grades, meist im Bereich der Darmanastomose. Bei allen anderen Tieren verlief die postoperative Phase (17 – 43 Tage) komplikationslos. Die Gewichtszunahme war in allen Gruppen vergleichbar, was auf einen ähnlich guten Heilungsverlauf bei allen Techniken schließen lässt. Insgesamt konnte mit dem 2 μ m-Laserskalpell die Durchtrennung des Mesenteriums bei Verwendung einer Quarzfaser (Kerndurchmesser 400 μ m) mit poliertem Ende schnell und blutungsarm durchgeführt werden. Die Rauchentwicklung warmäßig. Statistische Feinheiten konnten durch die trotz allem geringe Fallzahl von sechs Tieren pro Gruppe nicht sicher herausgearbeitet werden. Schwankungen der Einzelwerte hatten zu großen Einfluss auf das Gesamtergebnis.

Dies war der erste Einsatz des Tm-YAG Lasers in der laparoskopischen und auch offenen Chirurgie des Abdomens, derartige Eingriffe wurden bislang nur mit anderen Lasersystemen (Nd-YAG, CO₂, Ho-YAG) durchgeführt. Die Anwendung von Lasern in der Chirurgie konnte sich bis heute aufgrund von Schwierigkeiten in der Handhabung, hohen Anschaffungskosten und den nicht durchweg besseren Ergebnisse (z.B. Untersuchungen zur laparoskopischen Cholezystektomie mit dem Nd-YAG-Laser [60, 61]) nicht durchsetzen. Erste positivere Resultate wurden in der Gallenblasenchirurgie mit neuen Lasern wie dem Ho-YAG erzielt [47, 54]. Die Vorteile des Tm-YAG für den Einsatz in der Viszeralchirurgie gegenüber anderen Lasern wurden bereits erläutert. In unserer Studie zeigt sich eine Gleichwertigkeit wenn nicht Überlegenheit gegenüber der bipolaren Schere, was Dissektionsgeschwindigkeit und Blutverlust betrifft, bei jedoch größerer Gefährdung angrenzender Strukturen. Dieses nicht unbedeutende Risiko macht den Einsatz am Menschen in der jetzigen Form unverträglich. Der Kostenfaktor bleibt außerdem bestehen, und bei dem Handstück handelt es sich um einen Prototyp.

4.3 In-vivo Gefäßdissektion

In der Tierstudie ließ sich eine überlegene Gefäßkoagulation mit dem 2 μ m-Laserskalpell anhand von Blutverlust und Zahl der Blutungen im Vergleich zur bipolaren Schere nachweisen. Die gezielte Untersuchung der Effektivität der Blutstillung mit dem 2 μ m-Laserskalpell erschien uns jedoch als eine wichtige Zusatzinformation. Blutungen während laparoskopischer Operationen führen neben dem Blutverlust des Patienten zu Verlust der visuellen Kontrolle über das Operationsgebiet. Der Situs muss nach Wechsel des Instrumentariums vom

Dissektionsgerät zu Sauger und Spülung erneut exploriert werden. Nach sicherer anatomischer Zuordnung der einzelnen Strukturen kann dann die Blutungsquelle verschlossen werden [16, 62, 63].

Der Schwerpunkt der Beobachtung lag dabei auf kleinen bis mittelgroßen Gefäßen (0.25 - 2.3 mm Durchmesser), die bei der durchgeführten Dünndarmresektion und bei verschiedenen häufig laparoskopisch durchgeführten Eingriffen durchtrennt werden müssen (z.B. Fundoplikatio [8, 16]). Die anschließende Messung der Widerstandsfähigkeit des Gefäßverschlusses gegen intraluminalen Druck diente der Bestätigung der in vivo gewonnenen Ergebnisse. Das gewählte Drucklimit von 375 mmHg lässt einen ausreichenden Spielraum zum tatsächlich im Menschen zu erwartenden Blutdruck zu.

Blutungskomplikationen, die normalerweise durch die Verletzung kleiner Gefäße der Bauchwand und verschiedener intraabdomineller Organe entstehen, werden zu den Hauptkomplikationen in der laparoskopischen Chirurgie gezählt, und treten in der Literatur in 0.25% bis 1.77% auf [64]. In einer prospektiven Studie in der Schweiz an 14243 Patienten traten insgesamt bei 4.1% der durchgeführten laparoskopischen OPs Blutungskomplikationen auf, davon 2.1% intraoperativ, 1.8% postoperativ und 0.08% durch Verletzungen größerer Gefäße. Von den intraoperativ aufgetretenen Blutungskomplikationen waren 44 von 331 Fällen Blutungen der Bauchwand, 287 rührten von Verletzungen innerer Organe oder Gefäße her. Diese waren zu 91% durch chirurgische Instrumente verursacht worden, 90.6% wurden chirurgisch behandelt. In 63.7% ließ sich die Blutung laparoskopisch stillen, in 36.5% musste konvertiert werden. Die Rate von 4.1% an Blutungskomplikationen ist fast doppelt so hoch wie in der Literatur angegeben. Die Autoren führen das, bedingt durch das Fehlen allgemeingültiger Definitionskriterien, auf Unterschiede in den verschiedenen Erhebungen in der Literatur zurück. Intraoperative Blutungen sind meist durch unachtsamen Instrumentengebrauch bedingt, durch Zerreißen vaskulärer Strukturen während der Dissektion und durch Retraktionsverletzungen an parenchymatösen Organen. Die hohe Inzidenz dieser Komplikationen macht einen Weiterentwicklungsbedarf von Koagulationsinstrumenten deutlich, um die Häufigkeit des Auftretens einer Blutung zu reduzieren und gegebenenfalls auch ein wirksames Instrument zur Blutstillung zur Verfügung zu haben [64].

Gefäßkoagulation allgemein wird erreicht durch Kontraktion der Gefäßwand, Schrumpfung des umgebenden Gewebes und der Bildung eines intravasalen Koagulums aus denaturierten Proteinen, wobei Kollagen den Hauptanteil ausmacht [5]. Auf molekularer Ebene wird durch die Hitzeeinwirkung die dreidimensionale

Tertiär- und Quartärstruktur der Gewebeproteine aufgelöst und während des Abkühlungsprozesses gelöste Wasserstoffbrückenbindungen neu aufgebaut [65]. Bei der Versiegelung von Blutgefäßen erleichtert gleichzeitig ausgeübter Druck das Verkleben der denaturierten Proteine der Gefäßwände. Niedrigere Temperaturen und langsames Aufheizen des Gewebes begünstigen diesen Prozess, da Temperaturen über 100°C schnell zu einer Evaporation des Gewebes führen und die Bildung eines gefäßverschließenden Koagulums erschweren. Bei verschiedenen Koagulationsinstrumenten (Ligasure, LCS etc.), wird das Prinzip der gleichzeitigen Druck- und Wärmeapplikation mit Denaturierung und Neuverkleben von Kollagenfasern mit großem Erfolg angewandt [17, 66].

Ohne Druck auf die Gefäßwände auszuüben bildet sich lediglich intraluminal ein Thrombus aus denaturierten Blut- und Wandbestandteilen, der an den Gefäßwänden haftet. Die Wände werden durch Evaporation, Karbonisierung und Koagulation so weit zerstört, dass das Gefäß verschlossen wird. Dieser Mechanismus wird auch für die Laserkoagulation angenommen und wird in den histologischen Präparaten der okkludierten Gefäße erkennbar (s. a. *Bild 3.12*).

Unsere Untersuchungen zeigen, dass sich Arterien gleichen Durchmessers besser und ohne zu bluten durchtrennen lassen als Venen. Das mag daran liegen, dass für die Bildung des intraluminalen Koagulums die dickere Arterienwand mehr Material zur Verfügung stellt. Der höhere Blutdruck, der eine schnellere Flussgeschwindigkeit und damit einen schnelleren Wärmeabtransport zur Folge hat, schien wenig Einfluss zu haben, ebenso wie die größere Wandspannung, die einem direkten Verkleben der Gefäßwände entgegen wirkt.

Mit dem 2µm-Laserskalpell konnten die kleinen Gefäße der Mesenterialarkaden höchst erfolgreich mit Verschlussraten von 100% für Arterien und 89% für Venen hämostatisch disseziert werden. Die aufgetretenen venösen Blutungen ließen sich problemlos durch erneute oder verlängerte Laserapplikation stillen. Der signifikant niedrigere Blutverlust in unserer Tierstudie bei Verwendung des 2µm-Laserskalpells im Vergleich zur bipolaren Schere an diesen kleinen Gefäßen bestätigt dieses Ergebnis. Größere Gefäße wurden in der Tierstudie nicht koaguliert, da sie sich nicht im Operationsfeld befanden. Bei den Gefäßen von 1 – 2.3 mm Durchmesser ergaben sich Verschlussraten von 74% für Arterien und 65% für Venen, was mit den Werten für die bipolare Schere vergleichbar ist, den mit Ultraschall-Dissektoren erzielten Ergebnissen jedoch unterlegen ist [8]. Die in-vitro Druckmessung ergab, dass 35% der Arterien und 30% der Venen bis zur Grenze von 375 mmHg verschlossen blieben. 71% der Arterien und 60% der Venen hielten einem Druck von 200 mmHg

stand. Verglichen mit anderen Studien sind das recht niedrige Prozentwerte. Bei Untersuchungen an Gefäßen mit ähnlichem Durchmesser (2 – 3.5 mm, meist ist jedoch der Außendurchmesser der Gefäße gemeint, und nicht der Innendurchmesser wie in dieser Untersuchung) und ähnlichem Drucklimit (ca. 300 mmHg) wurden für bipolare Geräte Verschlussraten von 75 – 84% und für Ultraschall-Dissektoren 50 – 90% ermittelt [16, 67, 68]. Ein Grund könnte wie erwähnt im Koagulationsmechanismus des Lasers liegen, bei dem die Gefäßwände nicht direkt miteinander in Kontakt kommen und so verkleben können. Bei der Platzierung der Kanüle im Gefäßlumen zum Anschluss an den Versuchsaufbau kam es zu unvermeidbarer Manipulation an den Gefäßwänden, was zu einer zusätzlichen Schwächung des gefäßverschließenden Koagels geführt haben könnte. Der sehr kurz gehaltene Kontakt mit der NaCl-Lösung und die geringe Zeitdauer zwischen Dissektion und Messung sollten sowohl ein Aufweichen als auch ein Eintrocknen eher unwahrscheinlich gemacht haben.

Kleine Gefäße, wie die der Mesenterialarkaden, können somit mit dem 2µm-Laserskalpell sicher und schnell verschlossen werden, für Gefäße ab 1 mm nimmt die Verschlussrate ab. Für Gefäße ab 2.3 mm Durchmesser ist das 2µm-Laserskalpell ungeeignet.

5 Zusammenfassung

Das Projekt zur Entwicklung des 2µm-Laserskalpell für laparoskopische Operationen wurde in Zusammenarbeit des MLL und der Klinik für Chirurgie des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, durchgeführt. Der verwendete Thulium-YAG Laser ($\lambda = 2.01 \mu\text{m}$, cw, 5 – 60 W) war bisher in der laparoskopischen Chirurgie noch nicht eingesetzt worden.

Im ersten Teil wurden Untersuchungen zur Gewebedissektion an Leber und Mesenterium des Schweins in vitro durchgeführt. Neben der Untersuchung der Laser-Gewebeinteraktion wurde das geeignete Leistungsniveau für einen Einsatz am lebenden Organismus ermittelt. Makroskopisch und histologisch ließen sich in vitro Koagulationszonen unter 1 mm und Schnitttiefen bis maximal 3 mm an Leber nachweisen. Mesenterialgewebe ließ sich in vitro bei geringer Karbonisation und Koagulation (< 1mm) gut mit dem 2µm-Laserskalpell bei einer Leistung von 10 – 20 W durchtrennen.

Die Gewebedissektion kann jedoch nur in begrenztem Umfang in vitro untersucht werden, weshalb sich eine Tiermodell-Studie zur Dissektion mit dem Laserskalpell anschloss. Als Verfahren wurde die laparoskopische Dünndarmteilresektion an Hausschweinen gewählt. Das verwendete Laserinstrument wurde eigens für dieses Projekt entwickelt. Zum Einsatz kam das 2µm-Laserskalpell mit einer Quarzfaser und poliertem Ende und mit einer Quarzfaser mit Applikationsoptik. Die gleiche Anzahl Schweine wurde unter identischen Bedingungen mit der bipolaren Schere operiert. Der Blutverlust, die OP-Dauer, Schäden am umliegenden Gewebe, Wundheilungsstörungen und Todesfälle wurden verglichen. Dabei ließ sich eine signifikante Reduktion des Blutverlustes bei Gebrauch des Laserskalpells mit einer Faser und poliertem Ende gegenüber der bipolaren Schere nachweisen ($p < 0.05$), auch die Dissektionszeit war vermindert, jedoch nicht signifikant. Die übrigen Parameter wiesen keine signifikanten Unterschiede auf.

Im dritten Teil der Untersuchung wurden auch kaliberstärkere Gefäße (bis 2.3 mm) nach Freipräparation in vivo am narkotisierten Schwein mit dem Laserskalpell koaguliert und durchtrennt. Die Gefäßstümpfe wurden entnommen und im Anschluss einer Druckmessung unterzogen. Damit wurde die Stabilität des Gefäßverschlusses gemessen. Hierdurch konnten Erkenntnisse über die Koagulationseigenschaften des Lasers gewonnen werden. Für kleine Gefäße (bis 0.5 mm) waren diese hervorragend (95%), bei mittelgroßen Gefäße (1 - 2.3 mm) wurden ca. 2/3 der Arterien und Venen verschlossen, in etwa 30% hielten die verschlossenen Gefäße einem intraluminalen

Druck von 375 mmHg stand. Die Verschlussraten sind vergleichbar mit Ergebnissen aus der Literatur für die bipolare Schere, den Ultraschalldissektoren unterlegen.

Das 2µm-Laserskalpell ist eine interessante Alternative zu den derzeit in der laparoskopischen Chirurgie eingesetzten Dissektionsinstrumenten. Ein Vorteil ist die höhere Dissektionsgeschwindigkeit bei sicherer Koagulation von kleinen Gefäßen. Die Koagulation von kaliberstärkeren Gefäßen ist nicht zuverlässig möglich. Die Gefahr der Verletzung hinter dem Applikationsort liegender Strukturen steht einem Einsatz am Menschen noch entgegen und wird sich nur durch die Weiterentwicklung der Applikationsoptik reduzieren lassen.

6 Literaturverzeichnis

1. Furukawa, T, M Watanabe, S Ozawa, Y Otani, G Wakabayashi, Y Morikawa, M Tanabe, H Hasegawa, Y Kitagawa, K Hoshino, M Shimazu, M Ueda, T Kubota, and M Kitajima, *Development of endoscopic surgery for the minimally invasive treatment of digestive and other diseases*. Keio J Med, 50: 167-174.(2001)
2. Vancaillie, T, *Active electrode monitoring. How to prevent unintentional thermal injury associated with monopolar electrosurgery at laparoscopy*. Surg Endosc, 12: 1009-1012.(1998)
3. Huscher, C, M Lirici, A Anastasi, A Sansonetti, and M Amini, *Laparoscopic cholecystectomy by harmonic dissection*. Surg Endosc, 13: 1256-1257.(1999)
4. Henne-Bruns, D, M Düring, and B Kremer, eds. *Chirurgie*. 2 ed. Duale Reihe. Thieme Verlag: Stuttgart.(2003)
5. Cuschieri, A, G Buess, and J Périssat, eds. *Endoscopic manual of endoscopic surgery*. Springer Verlag: Berlin Heidelberg New York.(1992)
6. Park, AE, MJ Mastrangelo, Jr., A Gandsas, U Chu, and NE Quick, *Laparoscopic dissecting instruments*. Semin Laparosc Surg, 8: 42-52.(2001)
7. Shimi, SM, *Dissection techniques in laparoscopic surgery: A review*. J R Coll Surg Edinb, 40: 249-59.(1995)
8. Lantis, JC, FM Durville, R Connolly, and SD Schwaitzberg, *Comparison of coagulation modalities in surgery*. J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 8: 381-94.(1998)
9. Sietses, C, Q Eijbouts, B von Blomberg, and M Cuesta, *Ultrasonic energy vs monopolar electrosurgery in laparoscopic cholecystectomy: Influence on the postoperative systemic immune response*. Surg Endosc, 15: 69-71.(2001)
10. Bergamaschi, R and R Marvik, *Laparoscopic intracorporeal bowel resection with ultrasound versus electrosurgical dissection*. JSLS, 5: 17-20.(2001)
11. Holub, Z, A Jabor, L Kliment, J Lukac, and J Voracek, *Laparoscopic lymph node dissection using ultrasonically activated shears: Comparison with electrosurgery*. J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 12: 175-80.(2002)
12. Schurr, M, M Wehrmann, W Kunert, A Melzer, M Lirici, R Trapp, E Kanehira, and G Buess, *Histologic effects of different technologies for dissection in endoscopic surgery: Nd:Yag laser, high frequency and water jet*. End.Surg., 2: 195-201.(1994)
13. Sinha, UK and LA Gallagher, *Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa*. Laryngoscope, 113: 228-236.(2003)
14. Birch, D, A Park, and H Shuhaibar, *Acute thermal injury to the canine jejunal free flap: Electrocautery versus ultrasonic dissection*. Am Surg, 65: 334-337.(1999)
15. Matthews, BD, BL Pratt, CL Backus, KW Kercher, G Mostafa, A Lentzner, EH Lipford, RF Sing, and BT Heniford, *Effectiveness of the ultrasonic coagulating shears, ligasure vessel sealer, and surgical clip application in biliary surgery: A comparative analysis*. Am Surg, 67: 901-6.(2001)
16. Spivak, H, W Richardson, and J Hunter, *The use of bipolar cautery, laparoscopic coagulating shears, and vascular clips for hemostasis of small and medium-sized vessels*. Surg Endosc, 12: 183-185.(1998)
17. Heniford, B, B Matthews, R Sing, C Backus, B Pratt, and F Greene, *Initial results with an electrothermal bipolar vessel sealer*. Surg Endosc, 15: 799-801.(2001)
18. Kim, DW, *Electric and laser energy for endoscopic surgery*. Yonsei Med J, 40: 536-44.(1999)
19. Berger, M, K Jünemann, and H Schramm, *Gefahr des monopolaren Stroms in der laparoskopischen Gallenblasenchirurgie*. Zentralbl Chir, 126: 591-595.(2001)
20. Kinoshita, T, E Kanehira, K Omura, K Kawakami, and Y Watanabe, *Experimental study on heat production by a 23.5-khz ultrasonically activated device for endoscopic surgery*. Surg Endosc, 13: 621-625.(1999)

21. Tucker, RD, *Laparoscopic electrosurgical injuries: Survey results and their implications*. Surgical Laparoscopy & Endoscopy, 5: 311-317.(1995)
22. Gossot, D, G Buess, A Cuschieri, E Leporte, M Lirici, R Marvik, D Meijer, A Melzer, and M Schurr, *Ultrasonic dissection for endoscopic surgery*. The e.A.E.S. Technology group. Surg Endosc, 13: 412-417.(1999)
23. Nduka, C, N Poland, M Kennedy, J Dye, and A Darzi, *Does the ultrasonically activated scalpel release viable airborne cancer cells?* Surg Endosc, 12: 1031-1034.(1998)
24. Dinstl, K and P Fischer, eds. *Der Laser. Grundlagen und klinische Anwendung*. Springer Verlag: Berlin Heidelberg New York.(1981)
25. Cossmann, P, *Laser in der Medizin - Teil 1: Grundlagen*. Medizintechnik, 122: 48-52.(2002)
26. Cossmann, P, *Laser in der Medizin - Teil 2: Wechselwirkung mit Gewebe und praktischer Einsatz*. Medizintechnik, 122: 92-97.(2002)
27. Harms, V, ed. *Physik für Mediziner und Pharmazeuten*. 14 ed., Harms Verlag: Kiel-Mönkeberg.(1998)
28. Janssen, W, *Surgical lasers: A technology review*. Min Inv Surg Nurs, 10: 94-98.(1996)
29. Stern, J, S Enders, and F Frank, *Biologische Wirkung thermischer Laser*. Chirurg, 59: 61-67.(1988)
30. Vogel, A and Venugopalan, *Pulsed ablation of biological tissues*. Chemical Reviews, 103.(2003)
31. Domankevitz, Y, K McMillan, and N Nishioka, *Characterization of tissue ablation with a continuous wave holmium laser*. Lasers Surg Med, 19: 97-102.(1996)
32. Jansen, ED, TG van Leeuwen, M Motamedi, C Borst, and AJ Welch, *Temperature dependence of the absorption coefficient of water for midinfrared laser radiation*. Lasers Surg Med, 14: 258-68.(1994)
33. Pierce, MC, SD Jackson, MR Dickinson, and TA King, *Laser-tissue interaction with a high-power 2-microm fiber laser: Preliminary studies with soft tissue*. Lasers Surg Med, 25: 407-13.(1999)
34. van Leeuwen, T and C Borst, *Fundamental laser-tissue interactions*. Semin Interv Cardiol, 1: 121-128.(1996)
35. Dougherty, TJ, *An update on photodynamic therapy applications*. J Clin Laser Med Surg, 20: 3-7.(2002)
36. Thomsen, S, *Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interactions*. Photochem Photobiol, 53: 825-35.(1991)
37. Jansen, E, T Asshauer, M Frenz, M Motamedi, G Delacretaz, and A Welch, *Effect of pulse duration on bubble formation and laser-induced pressure waves during holmium laser ablation*. Lasers Surg Med, 18: 278-293.(1996)
38. Brinkmann, R, A Knipper, G Dröge, F Schröer, B Gromoll, and R Birngruber, *Fundamental studies of fiber-guided soft tissue cutting by means of pulsed midinfrared lasers and their application in ureterotomy*. J Biomed Optics, 3: 85-95.(1998)
39. Bowers, S and J Hunter, *Applications of lasers in general surgery*. Problems Gen Surg, 19: 74-79.(2002)
40. Fagniez, P-L and B Tantawi, *Le laser en chirurgie digestive*. Ann Gastroenterol Hepatol, 32: 73-76.(1996)
41. Cossmann, P, *Laser in der Medizin - Teil 3*. Medizintechnik: 128-134.(2002)
42. Godlewski, G, P Ginoves, JM Chincholles, E Viel, JP Bureau, S Rouy, H Mion, A Dubois, and J Fesquet, *Hepatic resection with an Nd:Yag laser in pig*. Lasers Surg Med, 3: 217-24.(1983)
43. Godlewski, G, S Rouy, J Bureau, J Fesquet, J Eledjam, C Gay, and J Cousineau, *The morphological effects in pig liver after Nd-YAG laser resection*. Arch Anat Histol Embryol, 67.(1984)

44. Litwin, GD and AG Kirpichev, *Lasers in surgical hepatology*. J Clin Laser Med Surg: 201-204.(1991)
45. Tranberg, K, P Rigotti, K Brackett, H Bjornson, J Fischer, and S Joffe, *Liver resection. A comparison using the Nd-YAG laser, an ultrasonic surgical aspirator, or blunt dissection*. Am J Surg, 151: 368-373.(1986)
46. Nishioka, N, Y Domankevitz, T Flotte, and R Anderson, *Ablation of rabbit liver, stomach, and colon with a pulsed holmium laser*. Gastroenterology, 96: 831-837.(1989)
47. Hoffman, R, HP Brütsch, T Kramer, and K Heider, *HF-electrosurgery, ultrasound-dissection or laser for the laparoscopic cholecystectomy and for liver-wedge-resection. An experimental study in pigs*. Med Laser Appl: 281-287.(2003)
48. Maher, EF, *Transmission and absorption of coefficients for ocular media of the rhesus monkey*. Report SAM-TR-78-32 USAF School of Aerospace Medicine, Texas: 29-90.(1978)
49. Verdaasdonk, RM, C Borst, and MJ van Gemert, *Explosive onset of continuous wave laser tissue ablation*. Phys Med Biol, 35: 1129-44.(1990)
50. McKenzie, AL, *Physics of thermal processes in laser-tissue interaction*. Phys Med Biol, 35: 1175-209.(1990)
51. Janda, P, R Sroka, B Mundweil, CS Betz, R Baumgartner, and A Leunig, *Comparison of thermal tissue effects induced by contact application of fiber guided laser systems*. Lasers Surg Med, 33: 93-101.(2003)
52. Rolle, A, R Koch, SK Alpart, and JB Zwischenberger, *Lobe-sparing resection of multiple pulmonary metastasis with a new 1318-nm Nd:YAG laser- first 100 patients*. Ann Thorac Surg, 74: 865-9.(2002)
53. Rubio, P, *Endoscopic cholecystectomy with the Holmium:YAG laser: Preliminary report*. J Clin Laser Med Surg, 9: 127-128.(1991)
54. Wenk, H, C Franke, A Rossberg, P Benecke, P Kuhri, E Kiffner, C Strunge, C Trautmann, and H Bruch, *Laparoskopische Lasercholezystektomie*. Langenbecks Arch Chir, 377: 336-340.(1992)
55. Cerullo, G, KK Haase, B Rückle, E Schulz, M Wehrmann, and KR Karsch, *Holmium and thulium lasers: Comparison of solid state systems with potential applications for laser angioplasty*. Lasers Med Sci: 407-413.(1992)
56. Lee, SJ and KH Park, *Ultrasonic energy in endoscopic surgery*. Yonsei Med J, 40: 545-549.(1999)
57. Wendt, M, K Bickhardt, A Herzog, A Fischer, H Martens, and T Richter, *Belastungsmiopathie des Schweines und PSE-Fleisch: Klinik, Pathogenese, Ätiologie und tierschutzrechtliche Aspekte*. Berl Münch Tierarztl Wochensh, 113: 173-190.(2000)
58. Mitchell, G and JJA Heffron, *Porcine stress syndromes*. Adv. Food Res., 28: 167-230.(1982)
59. Schmidt, R and G Thews, eds. *Physiologie des Menschen*. 27 ed., Springer Verlag: Berlin Heidelberg New York.(1997)
60. Voyles, CR, AL Meena, and AB Petro, *Electrocautery is superior to laser for laparoscopic cholecystectomy*. Am J Surg, 160: 457.(1990)
61. Bordelon, BM, KA Hobday, and JG Hunter, *Laser vs electrosurgery in laparoscopic cholecystectomy. A prospective randomized trial*. Arch Surg, 128: 233-6.(1993)
62. Meiser, A, O Casagrande, G Skipka, and H Laubenthal, *Quantifizierung von Blutverlusten. Wie genau ist visuelles Schätzen und wovon hängt die Genauigkeit ab?* Anaesthesist, 50: 13-20.(2001)
63. Power, C, D Maguire, O McAnena, and J Callear, *Use of the ultrasonic dissecting scalpel in laparoscopic cholecystectomy*. Surg Endosc, 14: 1070-1073.(2000)

64. Schäfer, M, M Lauper, and L Krahenbuhl, *A nation's experience of bleeding complications during laparoscopy*. Am J Surg, 180: 73-7.(2000)
65. Bass, L and M Treat, *Laser tissue welding: A comprehensive review of current and future clinical applications*. Lasers Surg Med, 17: 315-49.(1995)
66. Kanehira, E, T Kinoshita, N Inaki, N Sekino, K Iida, and K Omura, *Development of a new haemostatic dissecting forceps utilizing controlled heat as an energy source*. Min Invas Ther & Allied Technol, 11: 243-247.(2002)
67. Kanehira, E, K Omura, T Kinoshita, K Kawakami, and Y Watanabe, *How secure are the arteries occluded by a newly developed ultrasonically activated device?* Surg Endosc, 13: 340-342.(1999)
68. Raestrup, H, L Schnieder, S Klingele, K Manncke, C Kleessen, G Buess, and H Becker, *Dissektionstechnik - ist Ultraschall das beste Medium?* Kongressbd Dtsch Ges Chir Kongr, 118: 69-70.(2001)

7 Anhang

7.1 Tabellen und Bilder

Tabelle 7.1: Übersicht über die in der Tierstudie operierten Tiere

Nummer	Datum	randomisiert	Terminierung/gestorben
1	23.7.03	B	intraoperativ verstorben
2	29.7.03	C	T 26.8.03
3	01.8.03	-	bei Narkoseeinleitung verst.
4	04.8.03	A	T 26.8.03
5	06.8.03	C	T 03.9.03
6	11.8.03	A	T 03.9.03
7	12.8.03	B	T 03.9.03
8	18.8.03	A	T 10.9.03
9	21.8.03	C	T 16.9.03
10	26.8.03	B	T 18.9.03
11	01.9.03	B	T 26.9.03
12	04.9.03	-	bei Narkoseeinleitung verst.
13	10.9.03	B	gestorben 12.9.03, Leckage Darm
14	16.9.03	C	T 07.10.03
15	18.9.03	A	T 31.10.03
16	25.9.03	A	T 31.10.03
17	29.9.03	C	T 31.10.03
18	14.11.03	-	inoperabel w. Verwachsungen
19	17.11.03	B	T 08.12.03
20	20.11.03	A	T 11.12.03
21	28.11.03	C	T 19.12.03
22	02.12.03	B	T 19.12.03
23	19.12.03	B	T 09.01.04

Tabelle 7.2: Zuordnung der Tiere zu den Randomisierungsgruppen

Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	nicht randomisiert
4	(1)	2	3
6	7	5	12
8	10	9	18
15	11	14	
16	13	17	
20	19	21	
	22		
	23		

Tabelle 7.3: Medikation Tierstudie**Prämedikation:** i.m.-Applikation in Nackenfalte mit Butterfly-Kanüle

Medikament	Volumen [ml]	Konzentration [mg/ml]	Menge [mg]	Konzentration pro kg KG (bei 35 kg – Schwein)
Ursotamin (Ketamin)	5 – 12 ml	100mg/ml	500 – 1200 mg	7 ml: 20 mg/kg KG
Ketanest S (Esketamin)	10 - 20 ml	25mg/ml	250 – 500 mg	15 ml: 10.7 mg/kg KG
Rompun (Xylazin)	1 – 2 ml	20mg/ml	20 – 40 mg	1.5 ml: 0.86 mg/kg KG
Atropin (Atropinsulfat)	1 – 2 ml	0.5 mg/ml	0.5 – 1 mg	1ml: 0.014 mg/kg KG 2ml: 0.029 mg/kg KG

Narkoseeinleitung: i.v.-Applikation über Braunüle in Ohrvene

Medikament	Volumen [ml]	Konzentration [mg/ml]	Menge [mg]	Konzentration pro kg KG (bei 35 kg – Schwein)
Hypno (Etomidat)	10 - 15 ml	2 mg/ml	20 – 30 mg	10 ml: 0.57 mg/kg KG
Disoprivan (Propofol)	10 - 15 ml	10 mg/ml	100 - 150 mg	10 ml: 2.9 mg/kg KG
Rompun (Xylazin)	1 ml	20mg/ml	20 mg	1 ml: 0.57 mg/kg KG

Narkose: i.v. – Applikation über Braunüle in Ohrvene (Perfusor)

Medikament	Volumen pro Zeit [ml/h]	Konzentration [mg/ml]	Menge pro Zeit [mg/h]	Konzentration pro kg KG pro Zeit (bei 35 kg – Schwein)
Ursotamin (Ketamin)	10 - 20 ml/h	6 mg/ml (300mg/50ml)	60 – 120 mg/h	5 ml/h: 2.57 mg/kg KG pro h
Ketanest S (Esketamin)	5 - 10 ml/h	13 mg/ml (650 mg/50ml)	65 – 130 mg/h	7 ml/h: 2.6 mg/kg KG
Dormicum (Midazolam)	20 ml/h	0.5 mg/ml (15 mg/30ml)	10 mg/h	20 ml/h: 0.29 mg/kg KG pro h
	25 ml/h	0.2 mg/ml (10 mg/50 ml)	5 mg/h	25 ml/h: 0.14 mg/kg KG pro h

Antibiose: i.v.-Applikation über Braunüle in Ohrvene

Medikament	Volumen [ml]	Konzentration [mg/ml]	Menge [mg]	Konzentration pro kg KG (bei 35 kg – Schwein)
Metronidazol	100 ml	5 mg/ml	500 mg	14.3 mg/kg KG
Cefotaxim	100 ml	5 mg/ml	500mg	14.3 mg/kg KG

Sonstiges: Gabe von Ringer-Infusionslösung ca. 50 ml/h

Terminierung: i.v. –Applikation über Braunüle in Ohrvene

Medikament	Volumen [ml]	Konzentration [mg/ml]	Menge [mg]	Konzentration pro kg KG (bei 35 kg – Schwein)
T61(Butyramid20%, Ammoniumiodid5%, Pantocain 0.5%)	10 ml	2 mg/ml 0.5 mg/ml 0.05 mg/ml	20 mg 5 mg 0.5 mg	0.57 mg/kg KG 0.14 mg/kg KG 0.14 mg/kg KG

Tabelle 7.4: Ergebnisse der Tierstudie (Zielkriterien): Deskriptive Statistik (Institut für Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck)

Gruppe A: Laserskalpell mit Faser mit poliertem Ende

	Anzahl Tiere (n)	Median	Mittelwert	Standard-abweichung	Min.	Max.
Dissektionszeit (min)	6	16.5	21.5	10.65	13	37
Blutungsepisoden	6	0.0	1.5	2.51	0	6
Blutverlust (ml)	6	0.0	5.0*	8.37	0	20
therm. Schäden	6	0.0	0.17	0.41	0	1
Resektatlänge (cm)	6	102.0	108.0	25.11	82	152
Gewicht bei OP (kg)	6	40.5	38.17	8.42	27	46
Todesfall	6	0.0	0.0	0.0	0	0

Gruppe B: Laserskalpell mit Applikationsoptik

	Anzahl Tiere (n)	Median	Mittelwert	Standard-abweichung	Min.	Max.
Dissektionszeit (min)	6	21.0	23.67	13.55	9	45
Blutungsepisoden	6	1.5	1.33	1.21	0	3
Blutverlust (ml)	6	7.5	6.67*	6.06	0	15
therm. Schäden	6	0.0	0.67	1.63	0	4
Resektatlänge (cm)	6	10.6.5	105.17	9.15	90	117
Gewicht bei OP (kg)	6	33.5	31.83	4.83	25	37
Todesfall	6	0.0	0.17	0.41	0	1

Gruppe C: Bipolare Schere

	Anzahl Tiere (n)	Median	Mittelwert	Standard-abweichung	Min.	Max.
Dissektionszeit (min)	6	26.0	26.3	9.05	15	38
Blutungsepisoden	6	5.5	5.83	3.43	2	11
Blutverlust (ml)	6	45.0	65.0*	68.04	70	200
therm. Schäden	6	0.5	0.83	1.17	0	3
Resektatlänge (cm)	6	97.5	102.0	23.50	77	144
Gewicht bei OP (kg)	6	37.0	37.0	4.10	33	42
Todesfall	6	0.0	0.0	0.0	0	0

* = signifikant $p < 0.05$

7.2 Genehmigung der Tierversuche

Die Durchführung der Tierversuche wurde genehmigt durch das Ministerium für Umwelt, Naturschutz und Landwirtschaft des Landes Schleswig-Holstein (Aktenzeichen V74-72241.122-7) nach § 8 Abs. 1 des TierSch. G.¹⁾ entsprechend Anlage 1 der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des Tierschutzgesetzes²⁾.

Die Genehmigung erfolgte am 16.05.2003.

1) Alle Paragraphenangaben beziehen sich auf das Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 25.Mai1998 (BGBl.I Nr. 30 S.1106).

2) In dieser Anlage ist der Originalwortlaut der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des Tierschutzgesetzes vom 09. Februar 2000 (BAnz.Nr. 36a) wiedergegeben.

8 Danksagungen

Die vorliegende Arbeit entstand in der Klinik für Chirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck in Zusammenarbeit mit dem Medizinischen Laserzentrum Lübeck (MLL).

Viele Menschen haben zur Verwirklichung der vorliegenden Arbeit beigetragen. Ihnen allen möchte ich an dieser Stelle danken.

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Peter Bruch, Direktor der Klinik für Chirurgie des UKSH Campus Lübeck, und Herrn Prof. Dr. phil. nat. Reginald Birngruber, Forschungsleiter und Geschäftsführer des Medizinischen Laserzentrums, danke ich für die Initiierung und Förderung der Arbeit, Herrn PD Dr. med. Peter J. W. Sterk, ärztlicher Leiter der Abteilung für Viszeral- und Gefäßchirurgie des Klinikums Kempten-Oberallgäu, für die Betreuung der Dissertation.

Für die exzellente Betreuung, Anleitung und Zusammenarbeit möchte ich den Mitgliedern der Arbeitsgruppe um das 2µm-Laserskalpell danken: Herrn Dr. rer. nat. Dipl. Phys. Ralf Brinkmann, dem Leiter der Arbeitsgruppe und Herrn Dr. med. Robert Keller, Oberarzt in der Klinik für Chirurgie des UKSH, der für die Leitung und Durchführung medizinisch-chirurgischer Aufgaben verantwortlich war, sowie Herrn Dipl. Ing. Dirk Theisen-Kunde und Herrn Dipl. Ing. Veit Danicke, Mitarbeiter des MLL, die für die technische Planung und Durchführung verantwortlich waren. Alle standen mir stets als Ansprechpartner für größere und kleinere Probleme zur Seite, sowohl bei der Durchführung als auch bei der Verfassung der Dissertation.

Mein Dank gilt auch den anderen Mitarbeitern des Medizinischen Laserzentrums für ihre freundliche und hilfreiche Unterstützung, besonders Frau Barbara Flucke für die Anfertigung der histologischen Präparate. Danken möchte ich auch den Mitarbeitern der Tierhaltung der Universität zu Lübeck für die Versorgung der Studientiere. Ebenso möchte ich Prof. Dr. rer. nat. Alexander Ziegler (Direktor) und den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Biometrie und Statistik für die Erstellung der Statistik für die Tierstudie danken. Auch danke ich Herrn Dr. med. Hans-Wolfram Bernd (Institut für Pathologie des UKSH) für die Anfertigung und Auswertung der histologischen Leberpräparate.

9 Lebenslauf



Persönliche Daten

Name Verena Ott
 Geburtstag 01.10.1979
 Geburtsort Erlangen
 Adresse Peter- Vischer- Str. 9
 Telefon 09193-3173
 Email verena.ott@web.de

Ausbildung

06/99 Abitur Gymnasium Höchstadt
 10/99- 9/01 Studium der Humanmedizin an der Universität Erlangen-Nürnberg
 09/01 Ärztliche Vorprüfung
 seit 10/01 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck
 8/02 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 8/04 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 11/05 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (geplant)

Stipendien

10/99- 12/05 Stipendium nach dem Bayrischen Begabtenförderungsgesetz
 10/02 Erasmus-Stipendium im Rahmen des europäischen Studentenaustauschprogramms (1 Semester Studium an der Université de Caen)
 02/05 Stipendium der Zhejiang University zum PJ-Aufenthalt in Hangzhou

Famulaturen, PJ

02- 03/02 Visceralchirurgie, Klinik für Chirurgie, UKSH, Lübeck
 03- 04/03 Institut für Mikrobiologie und Hygiene, UKSH, Lübeck
 07- 08/03 Chirurgische Notaufnahme, Klinik für Chirurgie, UKSH, Lübeck
 08- 09/03 Ophthalmologie, Hospital universitario San Juan, Alicante
 02/04 Abteilung für Kinderchirurgie, Chir. Universitätsklinik Erlangen
 10/04- 11/04 PJ Innere Medizin, Hôpital Saint-Antoine, Univ. 6, Paris
 12/04- 01/05 PJ Innere Medizin, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Univ. 6, Paris
 02/05- 05/05 PJ Chirurgie, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University, Hangzhou, China
 06/05- 09/05 PJ Pädiatrie, Hôpital Necker - Enfants Malades, Univ. 5, Paris

Praktische Tätigkeiten

04/01- 07/04 Tätigkeit als Extrawache an der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen bzw. Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Lübeck
 10/01- 07/02 Tätigkeit als Hiwi am Institut für Biochemie, Universität zu Lübeck
 10/03- 07/04 Teilnahme am Praktikum für Notfallmedizin

Promotion

seit 03/02 Anfertigung der Dissertation an der Klinik für Chirurgie des UKSH über die Anwendung eines Infrarot- Laserskalpells in der laparoskopischen Chirurgie

Fremdsprachen

Englisch (fließend), Französisch (fließend), Spanisch (gut), Chinesisch (Grundkenntnisse)
 Lübeck, 01.07.05