

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

**Untersuchungen zur Dosis-Wirkungs-Beziehung bei
Elektrochemischer Lyse im Modell der isolierten
perfundierten Schweineleber**

Inauguraldissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Sektion Medizin-

Vorgelegt von
Dorothea Helena Dinter
Aus Offenbach a. M.
Lübeck 2012

1. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. Ralf Czymek
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ricardo Felberbaum

Tag der mündlichen Prüfung: 29.08.2013

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 29.08.2013

- Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
1 Einleitung.....	1
1.1 Hepatozelluläres Karzinom: Epidemiologie, Ätiologie, Therapie, Prognose....	1
1.2 Lebermetastasierung des kolorektalen Karzinoms: Epidemiologie, Ätiologie, Therapie, Prognose	2
1.3 Elektrochemische Lyse: Funktionsprinzip, Anwendung und Popularität	2
2 Fragestellung	5
3 Material und Methodik	7
3.1 Versuchsaufbau	7
3.2 Organgewinnung und -vorbereitung.....	9
3.3 Vorbereitungen am Perfusionssystem	11
3.4 Materialliste und Bestandteile des Leberperusionsmodells	12
3.5 Versuchsdurchführung der ECL.....	13
3.6 pH-Messung.....	18
3.7 Aufarbeitung der Nekrosezone und -peripherie für die histologische Untersuchung.....	18
3.8 Statistik	22
3.8.1 Deskriptive Statistik.....	22
3.8.2 Allgemeines lineares Modell (GLM 3)	23
3.8.3 Regressionsanalysen.....	23
4 Ergebnisse.....	24
4.1 Perfusionsmodell und Platzierungsschablone	24
4.2 Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL bei Anwendung von zwei Elektroden ..	26
4.3 Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL bei vier Elektroden	40

4.4	Vergleich der Gesamtnekrosevolumina bei Applikation von vier und zwei Elektroden.....	46
4.5	Vergleich der Nekrosevolumina an Anode und Kathode.....	47
4.6	pH-Wert-Entwicklung im Anwendungsbereich der ECL	48
5	Diskussion.....	50
5.1	Weiterentwicklung des Perfusionsmodells und Versuchsaufbau	50
5.2	Bedeutung der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehung bei ECL im Perfusionsmodell der isolierten Schweineleber.....	53
5.3	Betrachtung der pH-Wert-Entwicklung in der Elektrodenperipherie	65
5.4	Bewertung der ECL unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus dem Modell der perfundierten Schweineleber	67
6	Zusammenfassung	69
7	Literaturverzeichnis.....	71
8	Anhang	IX
7.1	Daten der Nekrosevolumina bei Applikation von zwei Elektroden	IX
7.2	Daten der Nekrosevolumina bei Applikation von vier Elektroden.....	XI
	Publikationen	XVI
	Originalarbeiten	XVI
	Poster	XVI
	Vorträge.....	XVI
	Eidesstaatliche Erklärung.....	XVIII

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius	mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
A.	Arteria	mV	Millivolt
Abb.	Abbildung	O ₂	Sauerstoff
AG	Aktiengesellschaft	OH ⁻	Hydroxidion
bzw.	beziehungsweise	PD	Privatdozent
C	Coulomb	PE	Polyethylen
ca.	zirka	PEI	perkutane Ethanol Injektion
Cl	Chlor	pH	potentia Hydrogenii
cm	Zentimeter	r	Radius
cm ³	Kubikzentimeter	RFA	Radiofrequenzablation
CT	Computertomographie	Tab.	Tabelle
D	Deutschland	TACE	Transarterielle Chemoembolisation
d	Durchmesser	UKSH	Universitätsklinikum Schleswig - Holstein
Dr.	Doktor	V	Volt
e ⁻	Elektron	V	Volumen
ECL	Elektrochemische Lyse	V.	Vena
ECU	Electro Chemical Unit		
et al.	et alia		
g	Gramm		
(g)	gasförmig		
h	Höhe		
H ₂	Wasserstoff		
H ₂ O	Wasser		
HCC	Hepatozelluläres Karzinom		
HE	Hämatoxylin-Eosin		
I.E.	Internationale Einheiten		
kg	Kilogramm		
l	Liter		
mA	Milliampere		
ml	Milliliter		
mm	Millimeter		

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Aufbau des Perfusionsmodells als Schemazeichnung	7
Abbildung 2:	Kompletter Versuchsaufbau	9
Abbildung 3:	Versuchsorgan im Perfusionsbecken mit Anschluss	12
Abbildung 4:	Prototyp des ECU 300 ohne Kabelverbindungen, Ordinationsboxen und Elektroden.	13
Abbildung 5:	Aufbau der Platinelektrode als Schemazeichnung	15
Abbildung 6:	Platzierungsschablone aus Plexiglas in der Schemazeichnung	16
Abbildung 7:	Positionierung der Elektroden mithilfe der Platzierungsschablone im Lebergewebe	17
Abbildung 8:	Prinzip der pH-Messung in der Schemazeichnung.....	18
Abbildung 9:	Schnittschema zur histologischen Aufarbeitung der Nekroseperipherie	20
Abbildung 10:	Präparierter und markierter Gewebeblock in der Kassette	21
Abbildung 11:	Inkubationszeiten in Abhängigkeit von der Coulombzahl	28
Abbildung 12:	Schematische Darstellung der Nekrosezone	29
Abbildung 13:	Anschnitt eines Nekrosezonenpaares direkt nach Abschluss der Elektrolyse.....	30
Abbildung 14:	Mikroskopische Abbildung der Übergangszone zwischen kathodischer Nekrosezone und integrem Leberparenchym in der Peripherie.....	31
Abbildung 15:	Mikroskopische Abbildung eines Ausschnitts der Nekrosezone um die Kathode	32
Abbildung 16:	Mikroskopische Abbildung eines Ausschnitts der Nekrosezone um die Anode	33
Abbildung 17:	Nekrosezonen bei der Einstellungskombination 1 cm und 200 C ...	34
Abbildung 18:	Entwicklung des Nekrosevolumens an der Anode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen	35
Abbildung 19:	Entwicklung des Nekrosevolumens an der Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen	37
Abbildung 20:	Entwicklung des Gesamtnekrosevolumens bei Applikation von zwei Elektroden in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen.....	39

Abbildung 21:	Entwicklung des Nekrosevolumens an der Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen	42
Abbildung 22:	Entwicklung des Nekrosevolumens an der Anode in Abhängigkeit von der Coulombzahl und verschiedenen Elektrodendistanzen	44
Abbildung 23:	Entwicklung des Gesamtnekrosevolumens als Summe aus den Einzelvolumina an Anode und Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen	45
Abbildung 24:	pH-Werte um die Kathode in Abhängigkeit vom Abstand zur Elektrode bei verschiedenen Coulombdosen	48
Abbildung 25:	pH-Werte um die Anode in Abhängigkeit vom Abstand zur Elektrode bei verschiedenen Coulombdosen	49

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Anordnung und Polungsmöglichkeiten der Elektroden eines Therapiekanals.....	15
Tabelle 2:	Tabellarische Zusammenstellung der realisierten Einstellungskombinationen für die Anordnung von zwei Elektroden	27
Tabelle 3:	Tabellarische Zusammenstellung der Einstellungskombinationen mit intakten/ fehlenden Gewebebrücken zwischen den Nekrosezonen	33
Tabelle 4:	Tabellarische Zusammenstellung der erzeugten Nekrosevolumenänderung an der Anode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Abstandes von 1 cm auf 4 cm	36
Tabelle 5:	Tabellarische Zusammenstellung der erzeugten Nekrosevolumenänderung an der Kathode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm	38
Tabelle 6:	Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Gesamtnekrosevolumens durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm.....	40
Tabelle 7:	Tabellarische Zusammenstellung der realisierten Einstellungskombinationen für die Anordnung von vier Elektroden	41
Tabelle 8:	Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Nekrosevolumens an der Kathode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm	43
Tabelle 9:	Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Nekrosevolumens an der Anode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm	44
Tabelle 10:	Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Gesamtnekrosevolumens durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm.....	46

Tabelle 11:	Tabellarische Darstellung und Vergleich der Gesamtnekrosevolumina bei der Applikation von zwei und vier Elektroden, sowie bei den angewendeten Ladungen und Abständen	47
Tabelle 12:	Tabellarische Darstellung und Vergleich der Nekrosevolumina an Anode und Kathode bei den verschiedenen Einstellungskombinationen.....	47

1 Einleitung

Als Kausalitäten maligner und therapiebedürftiger Raumforderungen der Leber kommen primäre Leberzellkarzinome, wie das hepatozelluläre Karzinom (HCC), sowie sekundäre Tumoren, meist durch Filialisierung eines kolorektalen Karzinoms, infrage.

1.1 Hepatozelluläres Karzinom: Epidemiologie, Ätiologie, Therapie, Prognose

Während das HCC in Teilen Asiens und Afrikas mit einer Inzidenz von ca. 30 pro 100.000 Einwohnern als endemisch gilt, beträgt die Inzidenz in Nordeuropa, Australien, Neuseeland und unter der kaukasischen Bevölkerung Amerikas ca. 5 pro 100.000 Einwohner [9], mit zunehmender Tendenz [16]. Hauptrisikofaktoren sind Leberzirrhose, Alkoholkrankheit und Infektionen mit hepatotropen Viren [31]. Zur Behandlung des HCC stehen chirurgische, lokal-ablative, medikamentös-systemische und eine eingeschränkte radiologische Therapie zur Verfügung. Die Vielzahl an Optionen, deren Repertoire konstant durch innovative Verfahren erweitert wird, sowie die uneinheitliche Studienlage erschwert die Etablierung eines einheitlichen Therapiekonzeptes im Sinne einer evidenzbasierten Medizin [10].

Eine chirurgische Resektion des HCC ist bei weniger als 20 % der Patienten indiziert [26], stellt aber die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit dar. Die Möglichkeiten zur Leberteilresektion werden durch die notwendige Leberrestfunktion (Child-Pugh-Stadium A) [30], sowie durch die Lokalisation und Anzahl der Herde (singuläre, Herde < 3 cm) terminiert. Bei größeren oder multiplen Herden liefert die Lebertransplantation bessere 3-Jahres-Überlebensraten. Listenwartezeiten von über einem Jahr können mit perkutanen ablativen Maßnahmen überbrückt werden. Diese stellen derzeit auch die beste Therapieoption bei weniger ausgedehnten aber kurativ nicht sanierbaren Tumoren oder operativ nicht resezierbaren Läsionen dar.

Die gängigsten Verfahren sind derzeit die perkutane ultraschallgesteuerte Ethanolinjection (PEI), die Radiofrequenzablation (RFA) und die transarterielle Chemoembolisation (TACE). Die Auswahl des geeigneten Verfahrens wird anhand individueller Befunde getroffen [1, 27, 34, 46]. Systemische, medikamentöse Therapiestrategien werden vor allem bei sehr ausgedehnten HCC (T3, T4 Stadium) oder bei Fernmetastasierung (M1 Stadium) verfolgt und können mit lokoregionären Verfahren kombiniert werden.

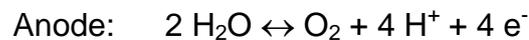
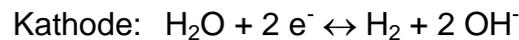
1.2 Lebermetastasierung des kolorektalen Karzinoms: Epidemiologie, Ätiologie, Therapie, Prognose

In westlichen Industriestaaten sind Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms mit bis zu 30 % eine der häufigsten Ursachen maligner, intrahepatischer Raumforderungen [15]. In 25 % der Fälle besteht bereits bei Diagnosestellung des Primarius eine synchrone Lebermetastasierung [6]. Die Inzidenz für das Auftreten metachroner Metastasen beträgt nochmals 25 % [15]. Außerdem ist in 60 % der Fälle auch nach R0-Resektion der Lebermetastasen mit einem Rezidiv zu rechnen [58]. Beim Auftreten von Lebermetastasen im Rahmen einer gastrointestinalen Neoplasie beträgt die mittlere Überlebenszeit ohne Therapie sechs Monate [18, 28]. Die R0-Resektion ist der Goldstandard der Therapie von Lebermetastasen [13]; diesem kurativen Ansatz sind jedoch primär nur 5-20 % der Patienten zuführbar [35]. Als Gründe für eine Inoperabilität gelten multiple Lebermetastasen, Parenchyembefall über 70 %, eingeschränkte Leberrestfunktion, reduzierter Allgemeinzustand des Patienten und inoperable extrahepatische Manifestationen. Für Patienten mit primär inoperablen Metastasen müssen alternative Strategien vorbehalten werden. Innovative zytostatische Therapieschemata, bestehend aus Platinderivaten und Nukleinbasenanaloga [47, 51, 56], auch in Kombination mit monoklonalen Antikörpern [18-20], stehen hier an erster Stelle und optimieren das 5-Jahres-Überleben [13]. Eine zytostatische Therapie verfolgt meist einen palliativen Therapieansatz, sodass für primär chirurgisch inoperable Lebermetastasen lokal ablativ Verfahren entwickelt wurden. Diese stellen ein zusätzliches Instrument zur R0-Tumordestruktion bei ansonsten inoperablen oder Zytostatika-resistenten Patienten dar und können im Hinblick auf eine sekundäre Operabilität auch mit einer zytostatischen Therapie kombiniert werden. Ähnlich wie zur Therapie des HCC eignen sich PEI, TACE, RFA sowie interstitielle Lasertherapie und Kryotherapie [15].

1.3 Elektrochemische Lyse: Funktionsprinzip, Anwendung und Popularität

Während sich in Europa und den USA die RFA als lokal ablativ Methode durchgesetzt hat [35], hat sich vor allem in China die Elektrochemische Lyse (ECL) etabliert [67]. Das Verfahren zählt ebenso wie die RFA zu den perkutanen ablativen Methoden. Dabei wird ein Gleichstrom niedriger Spannung zwischen -in leitfähigem Gewebe positionierten- Platinelektrodenpaaren angelegt. Der

Stromfluss initiiert zahlreiche chemische Reaktionen, welche die physiologische Zellintegrität aufheben. Als zentrale Reaktionen wurden identifiziert [42, 43, 63]:



Die destruktive Wirkung wird durch direkte zytotoxische Eigenschaften der freigesetzten Produkte (Cl_2 (g) und H_2 (g)) sowie durch Ischämie und Zerstörung der Zellmembran vermittelt [67, 64]. Wichtiger ist aber der Effekt der auftretenden pH-Wert-Alteration (pH < 1 an der Anode, > 13 an der Kathode) durch die Kumulation von H^+ und OH^- Ionen im Bereich der Elektroden [3, 5, 22, 32, 38, 40, 50, 70]. Zudem induziert das elektrische Feld eine Migration von Ionen und geladenen Zellkomponenten zu ihrem korrespondierenden Pol, wo sie akkumulieren und die lokale Azidose oder Alkalose verstärken. Unter Einfluss dieser unphysiologischen Bedingungen denaturieren (Zell-)Proteine [32, 43], was zum vollständigen Funktionsverlust des Hepatozyten führt. Daraus resultiert eine Zelldepletion im Sinne einer Parenchymnekrose. Das elektrische Feld erzeugt über elektroosmotische Kräfte eine Fluktuation von Wassermolekülen in Richtung der Kathode zur Anode. Die Folge ist eine Dehydratation des Gewebes um die Anode, während sich an der Kathode ein Ödem formiert [44, 66]. Ein weiterer Effekt der elektrochemischen Lyse ist die Induktion intravaskulärer Mikrothrombosierungen im Bereich der Kathode, wodurch die Gewebsoxygenierung verhindert wird [42, 43].

Relevant für das Volumen der erzeugten Nekrose sind die applizierte Stromdosis und die Applikationsdauer, welche über folgenden Zusammenhang verknüpft sind:

1 Coulomb (C, elektrische Ladung) = 1 Ampere (A, Stromstärke) x 1 Sekunde
--

wobei gilt: 1 Ampere = Watt/ Volt

Aktuell ist die Datenlage der experimentellen Forschung zu einer Dosis-Wirkungs-Beziehung inhomogen.

Die Exploration des antitumorösen Effektes der Stromtherapie steht seit dem 18. Jahrhundert im Interesse der Forschung [12]. Wesentlich bereichert wurde der Erkenntnisstand ab 1980 durch die Forschungsarbeiten des schwedischen Forschers Björn Nordenström zur Wirkung der ECL auf intrapulmonale Metastasen des

Mammakarzinoms [43, 45]. Seitdem findet die Therapie mittels ECL vor allem in China Anwendung. Dort wurden bereits 15.000 Patienten mit malignen sowie benignen Neoplasien unterschiedlicher histologischer Genese behandelt, welche einer konventionellen chirurgischen Therapie nicht zugänglich waren. Die Ergebnisse wurden international publiziert [41, 76] und stießen im Westen in Zeiten von zunehmender Popularität der minimal-invasiven Chirurgie auf reges Interesse. In weiteren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die ECL eine nebenwirkungsarme, minimal-invasive und sichere Methode zur zuverlässigen Destruktion von Tumorgewebe durch Ausbildung von Koagulations- und Kolliquationsnekrosen darstellt [50, 65, 72]. Dabei sind die Kosten vergleichsweise gering.

Trotz intensiver Forschung haben sich andere lokal ablativ Verfahren, wie die Kryotherapie, PEI, RFA, TACE, in der laparoskopischen und thoraxchirurgischen Praxis durchgesetzt. Obwohl der Wirkmechanismus, sowie etwaige Vorteile und Grenzen der ECL bekannt sind, fehlt für die klinische Anwendung eine Standardisierung der Durchführung. Dies betrifft unter anderem die Elektrodenpositionierung, die Anzahl der verwendeten Elektroden und die Auswahl individuell adaptierter elektrischer Parameter [49, 66]. Analog zu Studienmodellen der pharmakologischen Testung sollen im Rahmen dieser Arbeit mit in vitro Experimenten Leitlinien für die präoperative Dosisplanung für die ECL etabliert werden, bevor diese im klinischen Setting am lebenden Organismus exploriert werden.

2 Fragestellung

Die ECL gehört, ebenso wie andere Ablationsverfahren, wie die RFA, zum Pool an Therapieoptionen bei Lebermetastasen. Im Unterschied zur RFA findet die ECL im mitteleuropäischen Raum kaum Anwendung, zählt aber in Russland und China zu den First-line Therapien.

Begründen kann man diese Tatsache zum Teil mit der unzureichenden und inhomogenen Datenlage bezüglich der Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Höhe der applizierten Ladung Q und dem resultierenden Nekrosevolumen. Ebenso sind Vor- und Nachteile von bestimmten Positionierungsvarianten oder Anzahl der verwendeten Elektroden nicht ausreichend untersucht.

- Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Evaluation einer Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL in Abhängigkeit von der Elektrodenanzahl und -anordnung am Lebergewebe unter standardisierten Bedingungen. Damit sollte eine wissenschaftliche Basis für die ethische Rechtfertigung einer klinischen Anwendung der ECL am Patienten geschaffen werden.
- Ebenso galt es, mögliche Vorteile der ECL, verglichen mit anderen ablativen Methoden zu eruieren, die klinisch zur Therapie von inoperablen Lebermetastasen ausgenutzt werden können. Solche Eigenschaften könnten eine Anwendungsnische für die ECL schaffen, in der sie als First-line Therapieoption gilt.
- Des Weiteren sollte untersucht werden, ob die entstehende Nekrosezone sich auf die makroskopisch sichtbare Läsion beschränkt, oder ob in der Peripherie Zellschäden mit mikroskopischem Korrelat auftreten, welche das Nekroseareal erweitern.
- Darüber hinaus sollte durch die ECL erzeugte pH-Wert-Änderung im Gewebe und ihre Entwicklung mit zunehmendem radiären Abstand von der Elektrode analysiert werden.

Für die Durchführung der Versuchsreihen wurde bewusst auf ein Organ-Perfusionsmodell zurückgegriffen, welches physiologische Parameter artifiziell erzeugt, sodass auf Tierversuche verzichtet werden konnte.

Die experimentelle Praxis am Modell zeigt darüber hinaus eventuelle Grenzen und Vorteile eines Perfusionsmodells im Vergleich zum Lebendversuch am Tier auf.

Bei der Versuchsdurchführung wurde erstmals eine neu entwickelte Platzierungsschablone verwendet, mit der eine exakte Platzierung der Elektroden ermöglicht werden sollte. Darüber hinaus sollte die Platzierungsschablone gewährleisten, dass die Elektroden unabhängig von den Veränderungen der Konsistenz des zunehmend destruierten Gewebes, diese Position während der Elektrolyse beibehalten.

Die Versuche sollten überprüfen, ob die Platzierungsschablone diese Kriterien zuverlässig erfüllt.

3 Material und Methodik

3.1 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau stützt sich auf ein von Herrn PD Dr. Lubienski [36] in Heidelberg entwickeltes Versuchsmodell, welches zur Perfusion von Rinderlebern genutzt wurde. Es besteht im Wesentlichen aus einem Wärmepumpen-Schlauchsystem, einem Oxygenator und einem Perfusionsbecken aus Plexiglas. Ein Teil der in dieser Versuchsreihe verwendeten Materialien und Geräte wurde uns von oben genannter Arbeitsgruppe freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Das Modell wurde an die anatomischen Bedingungen der Schweineleber angepasst und unter Berücksichtigung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Fragestellung weiterentwickelt.

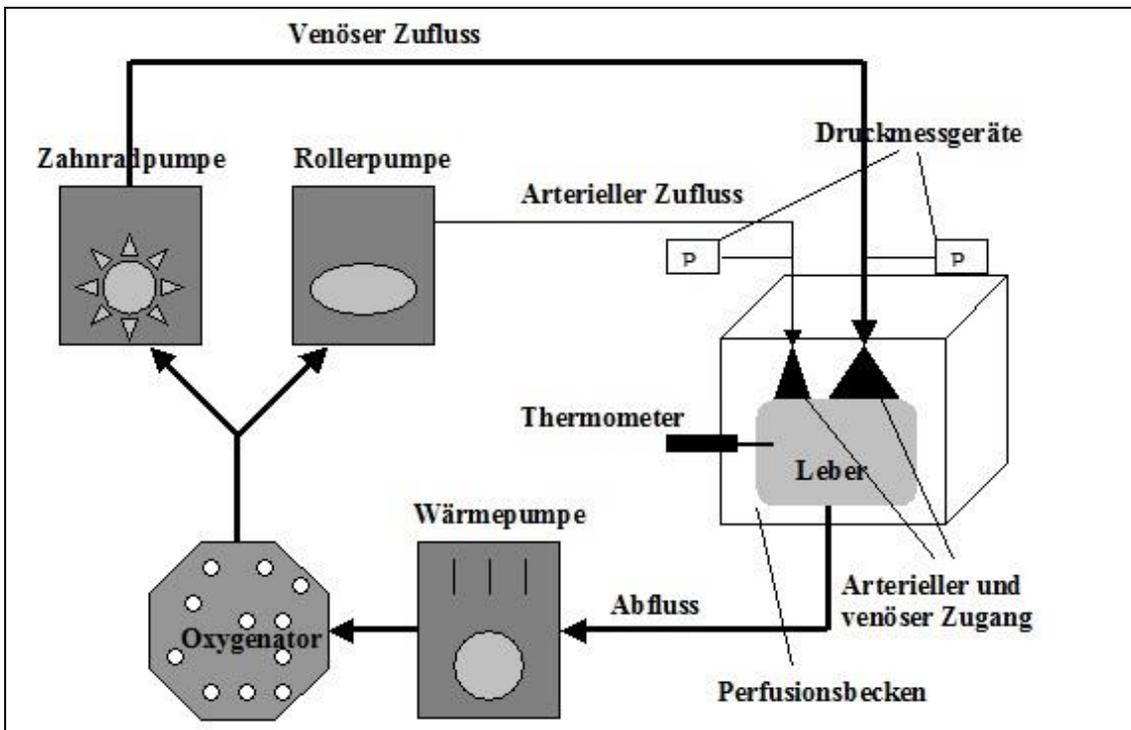


Abbildung 1: Aufbau des Perfusionsmodells als Schemazeichnung (eigene Zeichnung)

Für den venösen Zufluss und Abfluss des Schlauchsystems (siehe Abb. 1) und als Rückstrom wurden Silikonschläuche mit einem Innendurchmesser von 13 mm verwendet. Der arterielle Zufluss bestand aus einem 9 mm dicken Polyethylen-Schlauch. Als Konnektoren wurden konische Kunststoff-Steckverbindungen und für die Schlauch-Pumpen-Verbindung Schlauchschellen gewählt.

Das Perfusionsbecken aus Plexiglas war mit acht Schwenkarmen aus Kupfer ausgestattet, die sich in allen drei Raumdimensionen verstellen ließen, um das Positionieren von zu- und abführenden Schläuchen und von Elektrodenkabeln zu erleichtern.

Das Plexiglasbecken und Schlauchsystem waren mit 5000 ml heparinisierte¹ (1.000 I.E./ l) und auf 38,0 °C gewärmter Ringer-Lactat-Lösung² gefüllt. Während der Zustrom über die zuführenden Gefäße der Leber stattfand, erfolgte der Abfluss bei häufig verlegter V. cava aus dem Plexiglasbecken. Eine Konnektion des Abflusses mit der V. cava war technisch nicht möglich. Das Perfusat im Plexiglasbecken verhinderte das Austrocknen der Oberfläche während der Versuchsprozedur.

Die Perfusionslösung wurde aus dem Perfusionsbecken mittels Silikonschlauch angesaugt. Den Unterdruck erzeugte eine nachgeschaltete Zahnradpumpe mit Umwälzthermostat³ zur Einstellung der Perfusatemperatur. Über die Perfusatemperatur wurde auch die Temperatur im Lebergewebe justiert, welche mit einem Thermometer⁴ bestimmt und konstant zwischen 37,5 °C und 38,5 °C gehalten wurde.

Die Zieltemperatur im Organ lag bei 38,0 °C, hieraus ergab sich eine um 1 - 2 °C geringere Temperatur, des umgebenden Perfusates.

Die temperierte Perfusionslösung wurde über einen Diffusionsmembran-Oxygenator⁵ geleitet, welcher die Perfusionslösung mit Sauerstoff (2 l O₂/ Minute) anreicherte.

Vom Oxygenator wurde das Perfusat über einen arteriellen und einen venösen Schenkel abgeleitet.

Die arterielle Perfusion wurde mittels Rollerpumpe⁶ aufrechterhalten, welche okkludierend betrieben wurde. Dazu wurde der Schlauch durch die Rollen der Pumpe regelmäßig komprimiert, so dass eine kompakte Flüssigkeitssäule transportiert wurde. Daraus resultierte ein pulsatile Fluss des arteriellen Perfusates.

Der Zustrom erfolgte über die Adapterverbindung mit der A. hepatica propria. Über die Pumpengeschwindigkeit wurde der arterielle Mitteldruck auf physiologische Werte zwischen 110 mm Hg und 130 mm Hg manuell eingestellt.

¹ Heparin-Natrium BRAUN, 10.000 IE/ml, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, D.

² Ringer-Lactat-Lösung, Berlin Chemie AG, Berlin, D.

³ Haake, Typ 001-4202/ 001-7992, Berlin, Deutschland, bzw. LKB 2219 Multitemp II, Bromme, Schweden.

⁴ Digitales Thermometer 791.10 FT09; Beurer.

⁵ Maquet, Jostra Quadrox Safeline®, Hirrlingen, Deutschland.

⁶ Dialysemaschine Hospal Dasco BSM-22SC, Medolla, Italien.

Der portalvenöse Zustrom erfolgte pulsationslos über eine Zahnradpumpe⁷. Der Perfusionsdruck wurde über die am Gerät regulierbare Flussgeschwindigkeit an die physiologischen Bedingungen des zu untersuchenden Organes angepasst und auf 5 - 15 mm Hg eingestellt. Die arterielle und venöse Druckkontrolle erfolgte manometrisch im letzten Abschnitt des Schlauchsystems als Parallelschaltung kurz vor der Verbindung zum Adapter mit der Leberpforte. Der Drucksensor wurde in Höhe der Leber angebracht. Unter den genannten Perfusionsparametern (Temperatur und Druck) konnte die zu untersuchende Leber bis zu sechs Stunden perfundiert werden, ohne dass eine signifikante Gewichtszunahme (interstitielles Ödem) zu verzeichnen war.

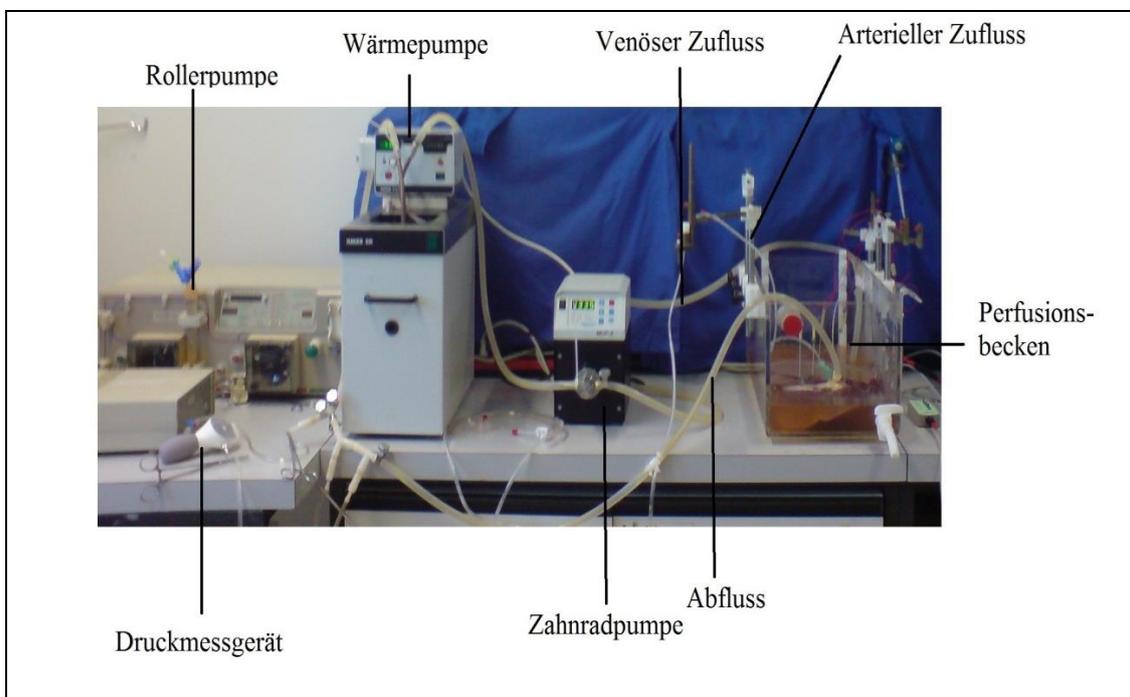


Abbildung 2: Kompletter Versuchsaufbau (der Oxygenator ist hier nicht zu erkennen)

3.2 Organgewinnung und -vorbereitung

Für die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden ausschließlich Frischpräparate von Zuchtschweinen (ca. 300 kg) verwendet, die als Kadaverpräparate bei der Schlachtung anfielen. Die Schlachtung fand im nahegelegenen Schlachthof Bad Oldesloe statt. Die Entnahme der Organe erfolgte im Schlachtablauf direkt nach der Betäubung per Stromstoß und der Tötung des Tieres durch Blutentzug sowie anschließender Fleischschau durch einen Amtstierarzt. Die Leber wurde als Organpaket zusammen mit Lungen, Teilen des Zwerchfells und des Ösophagus sowie der

⁷ ISMATEC ISM 405A, Glattbrugg, Schweiz.

angrenzenden V. cava entnommen und 3 - 10 Minuten nach der Schlachtung übergeben. Sofort erfolgte die Isolation der Leber von den umliegenden Strukturen. Der kaudale Absetzungsrand auf Höhe der Leberpforte wurde exploriert und aus dem umgebenden Bindegewebe freipräpariert. Die zuführenden Gefäße, V. portae hepatis und A. hepatica propria und der Ductus hepaticus wurden identifiziert und markiert, letzterer anschließend mittels Ligatur verschlossen.

Kranial erfolgte die Auslösung aus dem Organpaket subphrenisch mittels Schnittinzision in das Ligamentum coronarium hepatis. Zwerchfelladhäsionen wurden gelöst, die V. cava aufgesucht und proximal des Lebervenensternes ligiert und abgesetzt. Die isolierte Leber konnte nun aus dem Organpaket entnommen werden. Insgesamt wurden 46 Schweinelebern verwendet. Ein Präparat, an dem zu diesem Zeitpunkt schon makroskopisch sichtbar die Gerinnung eingesetzt hatte, wurde nicht weiter verwendet.

Zunächst wurde das Gewicht des Nativpräparates mit einer handelsüblichen Küchenwaage bestimmt. Eine signifikante Zunahme des Lebergewichtes nach Perfusion weist auf die Entstehung eines interstitiellen Ödems hin. Daten, die aus verdächtigen Lebern erhoben wurden, wurden nicht verwendet. Die Organgewichte der Nativlebern lagen im Mittel bei 2125 g +/- 425 g (Minimum: 1700 g Maximum: 2550 g).

Bei der Übergabe wurden regelmäßige Temperaturkontrollen im zentralen Lebergewebe durchgeführt. Die Durchschnittstemperatur lag bei 38,2 °C +/- 0,8 °C. Die physiologische Körperkerntemperatur des Zuchtschweines beträgt 38,8 °C +/- 0,3 °C [68]. Ausschlusskriterium für eine Einbeziehung in die Versuche war eine Lebertemperatur bei Übergabe unter 37 °C, um die Frische des Präparates zu gewährleisten. Nach Präparation aus dem Organblock wurden die V. portae hepatis und die A. hepatica propria mit einem vorbereiteten Schlauchsystem über einen konischen Adapter konnektiert. Die Perfusion erfolgte per Schwerkraft mit 5 l auf 12 °C vorgekühlter, isotonomischer Elektrolytlösung (Ringer-Lactat-Lösung⁸), welche zuvor mit 5.000 I.E. Heparin⁹ versetzt wurde. Die Perfusion diente dem Ausspülen von Blutbestandteilen zur Prävention von intravasalen, thrombotischen Verschlüssen. Außerdem konnten auf diese Weise schon früh Verletzungen des Lebergewebes, die während des Schlachtvorgangs entstanden waren, detektiert werden. Verletzte Lebern wurden für diese Studie nicht verwendet.

⁸ Ringer-Lactat-Lösung, Berlin Chemie AG, Berlin, D.

⁹ Heparin-Natrium BRAUN, 10.000 IE/ml, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, D.

Die Spülung wurde als ausreichend bewertet, wenn das Lebergewebe sich deutlich gegenüber dem Kolorit der Nativleber aufhellte und klare Perfusionslösung aus dem dissezierten Stumpf der V. cava austrat. Für den anschließenden Transport wurden die Adapter mittels Naht am bindegewebigen Anteil der Leberpforte fixiert. Die Leber wurde in ein Kunststoffwasserbad überführt und in einer Styroporbox mit Leitungswasser und Eis umgeben für den Transport vorbereitet. Die Transportdauer betrug ca. eine halbe Stunde.

3.3 Vorbereitungen am Perfusionssystem

Zu Beginn wurde das Schlauchsystem aus den gereinigten und getrockneten Bestandteilen zusammengesteckt.

Weil die Komponenten mehrfach verwendet wurden, wurde das System zu Beginn jedes Versuches dampfsterilisiert. Es folgte eine organfreie Perfusion des Modells mit 8.000 ml Ringer-Lactat-Lösung¹ bei 38 °C. Anschließend wurden das Perfusionsbecken und das Schlauchsystem mit 5.000 ml Ringer-Lactat-Lösung¹⁰ befüllt und das Wärmepumpensystem beim maximaler Pumpflussrate in Betrieb genommen, um das Perfusat auf 37 °C - 38 °C zu temperieren und Luftblasen zu entfernen. Der Oxygenator wurde auf 2 l O₂/ Minute eingestellt.

Das gekühlte und vorperfundierte Organ wurde im Perfusionsbecken mittels Adapter über die V. porta und A. hepatica propria an das Perfusionssystem angeschlossen. Bei optimaler Positionierung war die Leber stets von Flüssigkeit bedeckt und berührte den Rand des Perfusionsbeckens nicht. Auf diese Weise konnte eine gleichmäßige Perfusion bis in die distalen Leberlappenanteile gewährleistet werden. In Probendurchläufen konnte durch Kapselinzisionen die Perfusion bis in die Leberperipherie nachgewiesen werden.

¹⁰ Ringer-Lactat-Lösung, Berlin Chemie AG, Berlin, D.

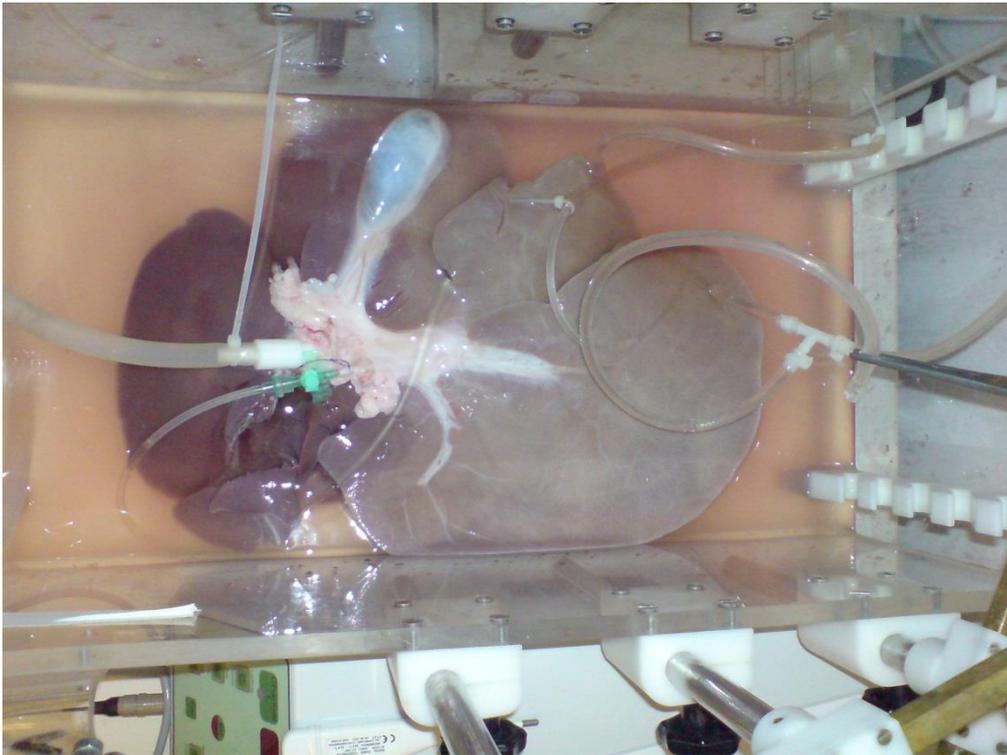


Abbildung 3: Versuchsorgan im Perfusionsbecken mit Anschluss

3.4 Materialliste und Bestandteile des Leberperfusionsmodells

- ✓ Frisches Organpräparat: Schweineleber, heparinisiert, 2125 g +/- 425 g
- ✓ Schlauchsystem (13 mm Silikonschlauch, 9 mm PE-Schlauch)
- ✓ Steckverbindungen
- ✓ Konische Adapter für Gefäßanschluss an der Leberpforte
- ✓ Nahtmaterial für Annaht der Adapter
- ✓ Digitale Waage
- ✓ Heparin-Natrium (10.000 I.E./ Organ)
- ✓ Ringer-Lactat-Lösung als Spül- und Perfusionslösung (10 l/ Organ)
- ✓ Infusionsbesteck
- ✓ Thermometer
- ✓ Präparierbesteck zum Auslösen aus dem Organpaket
- ✓ Transportbehälter incl. Kühlmedium
- ✓ Perfusionsbecken mit Schwenkarmen
- ✓ Wärmepumpe
- ✓ Pumpe für arteriellen Kreislauf
- ✓ Pumpe für venösen Kreislauf
- ✓ Oxygenator

- ✓ Druckmessgeräte
- ✓ ECU 300
- ✓ Platinelektroden mit Kabelverbindungen und Steuerungsboxen
- ✓ Platzierungsschablone
- ✓ Präparationsskalpell
- ✓ Präparatekassetten für histologische Aufarbeitung
- ✓ Formaldehydlösung
- ✓ Orion 3-Star-Plus Portable pH-Meter

3.5 Versuchsdurchführung der ECL

Für die Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL am Lebergewebe wurde das Gerät ECU (Electro Chemical Unit) 300¹¹ der Firma Söring verwendet.

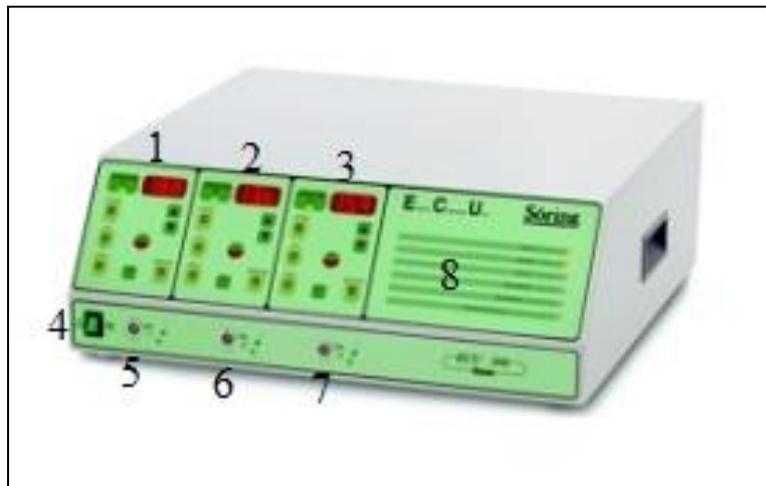


Abbildung 4: Prototyp des ECU 300 ohne Kabelverbindungen, Ordinationsboxen und Elektroden.

1-3: Eingabepad für Anwahl physikalischer Einstellungen für jeden Therapiekanal

4: On/Off

5-7: Therapiekanalausgänge, Verbindung zur Ordinationsbox mittels Kabel

Bildquelle: <http://www.med-group.ru/productdetail/ECU-300/213/0/0/>; Tag des Zugriffs mit Genehmigung: 09.09.2010

Das Gerät verfügt über drei Therapiekanäle (siehe Abb. 4), die unabhängig voneinander gesteuert werden können. Maximal lassen sich drei Leberläsionen simultan

¹¹ ECU 300, Söring Medizintechnik GmbH, Quickborn, D.

behandeln. Die physikalischen Einstellungen werden vom Anwender manuell über ein zugehöriges Eingabepad vorgegeben.

Einfluss auf das erzeugte Nekrosevolumen nehmen die folgenden Parameter:

- Stromstärke I (in mA)
- Spannung U (in Volt)
- Zeit t (in Sekunden).

Stromstärke und Zeit werden über die physikalische Größe Ladung Q (in Coulomb (C)) miteinander verknüpft, welche die Summe der applizierten Ladung über eine bestimmte Zeit wiedergibt.

$$Q = I \times t$$

Dabei gilt: 1 Coulomb = 1 Ampere x 1 Sekunde

Jeweils zwei Größen der Gleichung sind theoretisch variabel und am Gerät einstellbar, während sich die dritte Größe durch mathematische Berechnung ergibt. Um den Effekt am Lebergewebe (Änderung des Nekrosevolumens = abhängige Variable), der Änderung einer Variablen zuordnen zu können, wurde jeweils nur die Coulombzahl (= unabhängige Variable) zwischen 50 C und 400 C variiert und die Stromstärke als Konstante mit 50 mA gewählt. Die Stromstärke lag nicht sofort in voller Höhe an, sondern wurde innerhalb der ersten 5 Sekunden aufgebaut.

Die Spannung wurde mit 25 mV ebenfalls als Konstante gewählt.

Das Niederspannungsgerät ECU 300 applizierte die Ladung über Platinelektroden mit einem Durchmesser von 1 mm. Die Elektroden wurden durch eine bewegliche Kunststoffhülse isoliert, sodass die Länge der nicht-isolierten Spitze wählbar war. In den Versuchen wurden nur Elektrodenlängen von 10 mm verwendet.

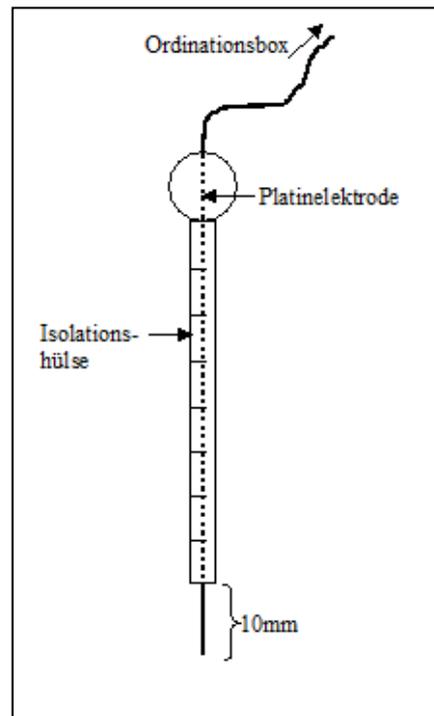


Abbildung 5: Aufbau der Platinelektrode als Schemazeichnung (eigene Zeichnung)

Die Kunststoffhülsen waren mit Markierungen in Abständen von 10 mm versehen. Zwischen Elektrode und ECU war eine Ordinationsbox geschaltet, mithilfe derer sich die Polung (+ oder -) der jeweils vier Elektroden eines Therapiekanals festlegen ließ. Durch Variation der Polung und Auswahl der Elektrodenanzahl pro Therapiekanal ergaben sich sechs mögliche Schaltungsvarianten:

Tabelle 1: Anordnung und Polungsmöglichkeiten der Elektroden eines Therapiekanals

Anzahl der Elektroden	2 Elektroden	3 Elektroden	4 Elektroden
Elektrodenpolung	+ -	+ + -	+ - - -
		- - +	+ + - -
			+ + + -

Variabel ist neben der Elektrodenpolung auch die geometrische Anordnung im Organ beispielsweise als Elektrodenpaar, -quadrat, -dreieck oder als Dreieck mit zentraler Anode. Ebenso sind die Elektrodenabstände frei wählbar. Somit ist theoretisch eine Vielzahl an Anordnungen und Polungen denkbar, welche an die malignen Raumforderungen adaptiert werden können.

Für die Versuche zur Evaluation des Nekrosevolumens wurden Anordnungen als Elektrodenpaar und als Quadrat mit Abständen bzw. Kantenlängen von 1 cm, 2 cm und 4 cm ausgewählt.

- Bei der Anordnung als Elektrodenpaar wurden Ladungen von 50 C, 100 C, 200 C und 400 C appliziert.
- Die Elektrodenanordnungen als Quadrat wurden mit 50 C, 100 C und 200 C durchgeführt.

Anhand der Skalierung auf den Elektrodenhülsen konnte die Position der Elektrodenspitze im Verhältnis zur Leberkapsel bestimmt werden. Der Elektroden-Kapsel-Abstand wurde so gewählt, dass die Nekrosezone ausschließlich von parenchymatösem Lebergewebe umgeben war. Ebenso wurden großkalibrige Gefäße in der Leberpforte durch ausreichenden Sicherheitsabstand geschont.

Zur Positionierung der Elektroden wurde für die vorliegende Studie eine Plexiglasschablone entwickelt (siehe Abb. 6), welche mit geeichten, parallel verlaufenden Bohrungen in definierten Abständen (5 mm) versehen war.

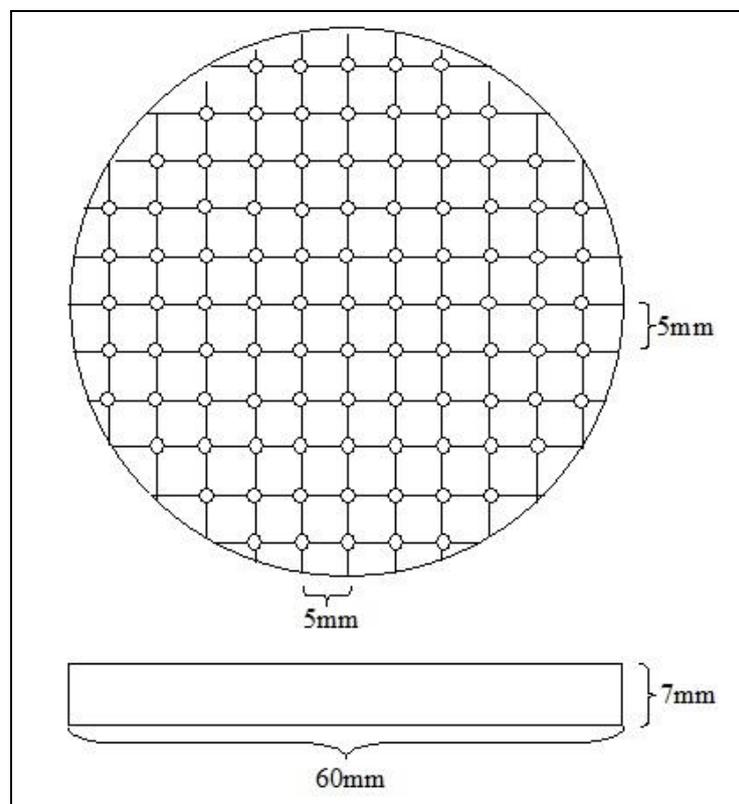


Abbildung 6: Platzierungsschablone aus Plexiglas in der Schemazeichnung (eigene Zeichnung)

Die Schablone wurde, unter Berücksichtigung der Organdicke an dieser Stelle, auf die Oberfläche aufgelegt. Über die Perforationen in der Schablone wurden die Elektroden in das Zielgewebe eingebracht (siehe Abb. 7). Die Anwendung erleichterte die Positionierung der Elektroden in den vorgegebenen Abständen, sie fungierte darüber hinaus als Führungsschiene, welche die Elektroden im Zielgewebe parallel ausrichtete. Somit konnten reproduzierbare Versuchsserien gewährleistet werden. Nach Integration der Elektroden in den vorgesehenen Abständen und Anordnungen im Zielgewebe wurden die Elektrolyseparameter Ladungsstärke, Spannung und Stromstärke am Gerät vorgegeben und die ECL gestartet. Zusätzlich lief eine Kontrollstoppuhr mit, welche die Zeitangabe des Gerätes überprüfte. Nach Ablauf der Zeit und somit vollständiger Applikation der Ladung schaltete das Gerät selbstständig ab.

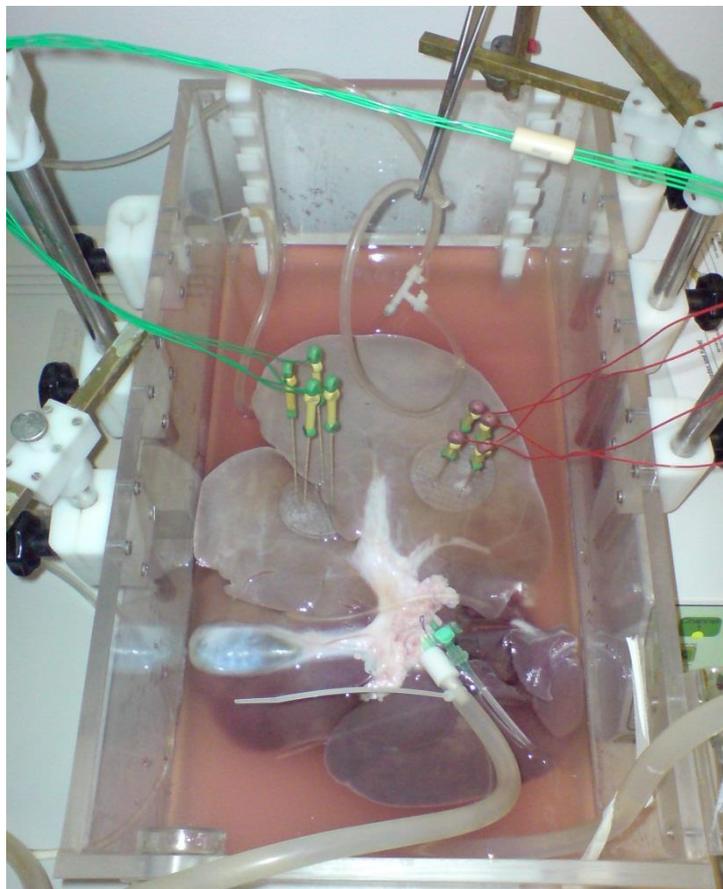


Abbildung 7: Positionierung der Elektroden mithilfe der Platzierungsschablone im Lebergewebe

3.6 pH-Messung

Zur Dokumentation des pH-Wertes in der Peripherie um die Elektroden wurden regelmäßig pH-Wert-Erfassungen zwei Minuten vor Ende des Elektrolyseprozesses durchgeführt. Dafür wurde ein pH-Meter¹² verwendet, welches als Detektor eine 2 mm dünne, gewebeschonende Glaskapillare besaß. Die Messungen wurden an den Kathoden und Anoden bei 50 C, 100 C, 200 C und 400 C in radiären Abständen von 5 mm, 10 mm und 15 mm durchgeführt (siehe Abb. 8) (n = jeweils 12).

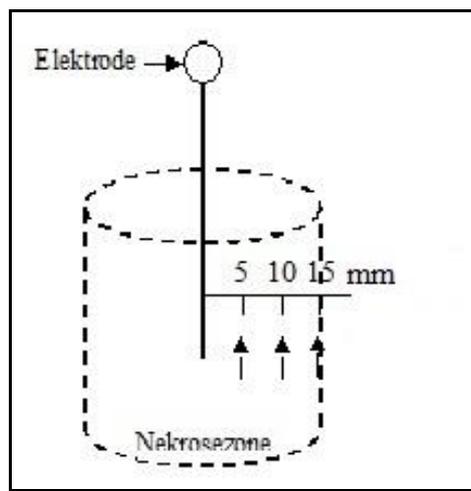


Abbildung 8: Prinzip der pH-Messung in der Schemazeichnung (eigene Zeichnung)

3.7 Aufarbeitung der Nekrosezone und -peripherie für die histologische Untersuchung

Nach Abschluss der ECL wurde die Leber diskonnektiert und dem Perfusionsbecken entnommen.

Die ECL-Zielareale wurden großräumig als Gewebeblock vorpräpariert und für 24 Stunden in einer Standardfixierlösung¹³ eingelegt. Diese verhinderte zum einen Zersetzungsprozesse, wichtiger für die anschließende Präparation war aber, dass das Gewebe gehärtet wurde, da besonders die erzeugten Kolliquationsnekrosen eine geleeartige Konsistenz besaßen.

Da die Nekroseareale für eine histologische En bloc Analyse zu groß waren, wurde ein Schema entwickelt, nach welchem die Ablationsherde zugeschnitten wurden.

¹² Gerät Orion 3-Star Plus Portable pH Meter, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA.

¹³ 10 % Formalin mit pH-Puffer 7,4; entsprechend 3,7 %iger Formaldehydlösung.

Dadurch war eine Korrelation des Schnittpräparates mit einer Position im Leberblock möglich. Die Stichkanäle der Elektroden wurden zur Orientierung mit farbigen Nadeln markiert. Vor Präparation der Gewebeblöcke wurden je eine anodische und eine kathodische Nekrosezone in horizontaler und vertikaler Ebene zur makroskopischen Ausmessung der Nekrosezonen angeschnitten. Da die Auswertung der Versuche mit zwei Elektroden eine symmetrische Ausbreitung der Nekrosezone in Kreiszyylinderform um die Elektrode zeigte und diese Form in Stichproben bei den Versuchen mit vier Elektroden bestätigt werden konnte, wurde in jedem Versuchsansatz jeweils nur das Areal um eine Anode und Kathode in drei Dimensionen ausgemessen (d_1 , d_2 , h).

Für die Berechnung des Gesamtnekrosevolumens eines Versuchsansatzes mit vier Elektroden wurden die errechneten Nekrosevolumina mit dem Faktor zwei multipliziert.

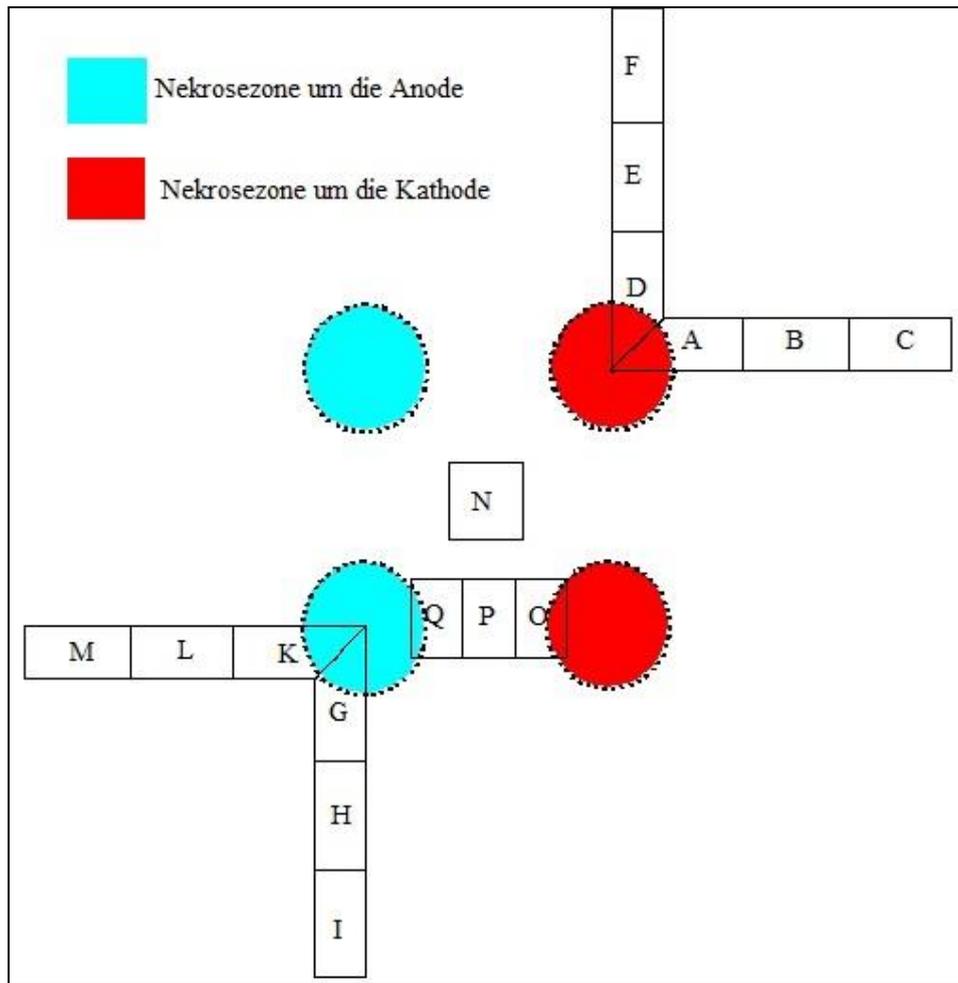


Abbildung 9: Schnittschema zur histologischen Aufarbeitung der Nekroseperipherie. Ansicht von oben, parallel zur Leberkapsel:

Die mit den Buchstaben A - M gekennzeichneten Gewebseblöcke messen 20 x 10 x 1 mm, O - Q sind variabel (siehe Text), N misst 20 x 20 x 1 mm; (eigene Zeichnung)

Die Gewebsschicht unterhalb der Leberkapsel wurde in einer Dicke von ca. 20 mm entfernt. In der nun frei liegenden Ebene wurden je drei 20 x 10 x 1 mm Gewebseblöcke in rechtem Winkel zueinander entnommen.

Die Gewebseblöcke um die Anode wurden mit A - F bezeichnet, die um die Kathode mit G - M (siehe Abb. 9).

Die Gewebsebrücke zwischen zwei Elektroden unterschiedlicher Polung wurde ebenfalls horizontal geschnitten, dann gedrittelt und den Buchstaben O - Q zugeordnet. Als O wurde der an die Anode grenzende Gewebseblock bezeichnet.

In den Versuchsreihen, bei denen die Elektroden als Quadrat angeordnet wurden, wurde im zentralen Feld zwischen den vier Stichkanälen ein 20 x 20 mm messendes Quadrat in horizontaler Ebene entnommen und mit N bezeichnet (siehe Abb. 9).

Die Präparate wurden zur Orientierung unter dem Mikroskop am lateralen, elektrodenfernen Absetzungsrand mit Tusche markiert und einzeln in Kunststoffkassetten gelegt (siehe Abb. 10). Diese wurden bis zur Weiterverarbeitung in Formalin aufbewahrt.

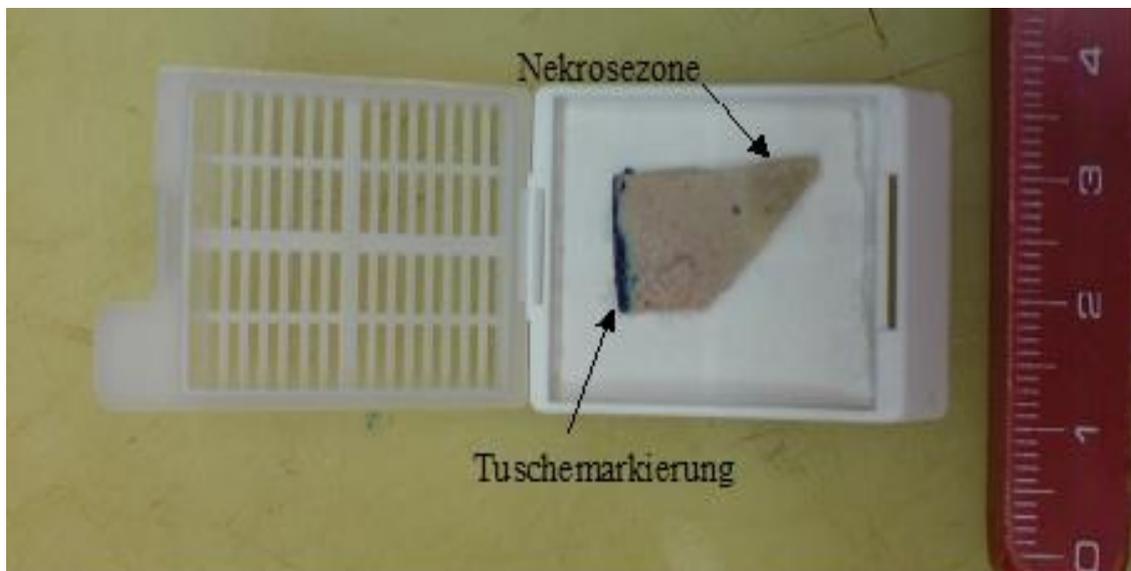


Abbildung 10: Präparierter und markierter Gewebekblock in der Kasette

Als Beispiel ist ein Präparat aus dem Zentrum der Nekrosezone gezeigt.

Das folgende Standardverfahren mit Entwässerung, Fixierung auf einem Objektträger und Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (HE) wurde vom Chirurgischen Forschungslabor der Universität zu Lübeck übernommen.

Die Präparate wurden zur histologischen Begutachtung einem unabhängigen Pathologen¹⁴ übergeben.

Alle Versuchsreihen (Variation von Elektrodenabstand/ -kantenlänge, Ladungsstärke und Elektrodenanordnung) wurden viermal durchgeführt (n = 4).

¹⁴ Dr. M. Gebhard, Dr. H.-W. Bernd, UKSH Campus Lübeck, Institut für Pathologie

3.8 Statistik

Der Umfang der statistischen Auswertung wurde nach statistischer Beratung durch das Institut für Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck festgelegt.

Für die Berechnung und Erstellung der Graphiken wurden die Programme Microsoft® Excel® (MS Office Home and Student) 2010 und IBM® SPSS® Statistics Standard Grad Pack for Windows Version 20.0 verwendet.

Der Auswertung liegt das im Anhang dieser Arbeit gezeigte Datenblatt zu Grunde.

Für die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ ($p = 0,050$) zugrunde gelegt.

3.8.1 Deskriptive Statistik

Da es sich bei den präsentierten Messwerten um metrisch skalierte Daten handelte und davon ausgegangen wurde, dass die angegebenen Messwerte normalverteilt sind, wurde für jeden Datensatz mit gleichen Versuchsbedingungen jeweils der Mittelwert ($n = 4$) gebildet. Dieser wurde in Form eines Punktdiagrammes auf der x-Achse gegen das Nekrosevolumen aufgetragen. Als Lageparameter wurden die Varianz und Standardabweichung bestimmt. Letztere wurde anhand von einseitigen Fehlerbalken angegeben. In das Punktdiagramm wurden die errechneten Regressionsgeraden integriert.

Für die Auswahl eines geeigneten Signifikanztests zur Frage nach signifikanten Mittelwertunterschieden bei verschiedenen Coulombdosen wurden die Stichproben mittels Shapiro-Wilk-Test für kleine Stichprobenumfänge auf Normalverteilung geprüft. Bei Signifikanzwerten von $> 0,05$ wird von einer Normalverteilung der metrisch skalierten Stichproben ausgegangen. Zur Analyse der Gruppenmittelwerte (definiert durch den Abstand zur Elektrode) wird die einfache Varianzanalyse durchgeführt.

Zum Vergleich der Mittelwerte von Lebergewichten vor und nach der Perfusion wurde die Grundgesamtheit mittels Shapiro-Wilk-Test für kleine Stichprobenumfänge auf Normalverteilung getestet, anschließend wurde der t-Test für verbundene Stichproben angewendet, bei Nicht-Normalverteilung wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Zur Berechnung der Auswirkungen, welche durch Variation der unabhängigen Variablen Ladung, Elektrodenabstand, Polung oder Anzahl der Elektroden zustande ka-

men wurden folgende Signifikanztests verwendet: Aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs wurde zum Vergleich der einzelnen Messwertgruppen die Stichprobe zunächst mittels Shapiro-Wilk-Test zunächst auf Normalverteilung geprüft. Im Falle von Normalverteilung wurde der t-Test für unverbundene Stichproben eingesetzt, andernfalls wurde auf den Mann-Whitney-U-Test zurückgegriffen.

3.8.2 Allgemeines lineares Modell (GLM 3)

Mittels univariater Varianzanalyse wurde der Einfluss der unabhängigen Variablen auf die abhängige Variable auf Signifikanz geprüft.

Es wurden als unabhängige Variable definiert:

- der Elektrodenabstand (in cm)
- die Elektrodenpolung (Anode/ Kathode)
- die Elektrodenzahl (zwei oder vier Elektroden)

Als abhängige Variable wurde das Nekrosevolumen in (cm³) definiert.

Zur Schätzung der Effektstärke wurden die partiellen Eta²-Werte herangezogen.

3.8.3 Regressionsanalysen

Zur statistischen Analyse von Kausalbeziehungen zwischen mehreren unabhängigen Variablen und einer abhängigen Variablen wird die multiple Regressionsanalyse eingesetzt. Als Antwort auf die in Kapitel 2 dieser Arbeit formulierte Fragestellung wurde eine Regressionsgleichung formuliert, welche die Dosis-Wirkungs-Beziehung definieren sollte.

Da die univariate Varianzanalyse die größte Effektstärke für die abhängige Variable Ladung herausgab, wurden separate Regressionsgeraden für die Variablen Elektrodenanzahl, Polung und Elektrodenabstand erstellt, wobei die einflussreichste unabhängige Variable Ladung gegen die abhängige Variable aufgetragen wurde.

Die Regressionsgeraden wurden in der Form

$$y = b_0 + b_1 x$$

geschätzt, wobei mit b_0 eine Konstante und mit b_1 der Regressionskoeffizient bezeichnet wurde.

Als Gütemaß des Modells wurde das korrigierte Bestimmtheitsmaß R^2 (im Folgenden nur mit R^2 bezeichnet) für lineare und exponentielle Modelle berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Perfusionsmodell und Platzierungsschablone

Vor Beginn der Versuchsreihen wurde die Funktionsfähigkeit des Elektrolysegerätes ECU 300 der Firma Söring getestet.

Als Organmodell wurden initial vier ca. 500 g schwere Lebersegmente im Einzelhandel (Metzgerei) erworben. Für die Testung des Elektrolysegerätes wurde auf eine vorausgehende Perfusion und auf eine Integration in das vorgestellte Perfusionssystem zunächst verzichtet. Die Elektroden wurden nach Ausmessen von Distanzen zwischen 10 mm und 60 mm und der Anwahl verschiedener Ladungsstärken (50 C - 400 C) im Lebergewebe positioniert.

Nach Start der Elektrolyse wurde diese in einigen Versuchsansätzen vom Gerät mit der Fehlermeldung „gestörter Stromfluss“ beendet. Auch durch die Anwahl höherer Ladungsstärken ließ sich der Stromkreis nicht wieder herstellen. Von der Stromflussinsuffizienz waren alle Versuchsansätze betroffen, deren Elektrodenabstände über 2 cm lagen.

Bei den Versuchsansätzen mit geringeren Elektrodenabständen war ein kontinuierlicher Stromfluss zu beobachten. Allerdings wich die vom Gerät berechnete Anwendungsdauer von der tatsächlich verstrichenen Zeit bis zum Erreichen der gewählten Coulombdosis ab. Die Effektivität des Gerätes wurde auch durch die Präparation der Nekroseareale verifiziert: Die Präparate zeigten Ablationsareale um die Einstichstellen der Elektroden.

Im nächsten Schritt wurden fünf weitere Testversuche mit frischen Schlachthauslebern durchgeführt (siehe Kap. 3.2), die in das Perfusionssystem integriert wurden. Der Stromfluss in den aufbereiteten, perfundierten und gewärmten Lebern ließ sich bis zu einem Elektrodenabstand von 120 mm aufrechterhalten. Auch die berechneten Zeitangaben des Gerätes entsprachen der tatsächlichen Inkubationszeit. Die Integrität des Stromflusses auch über größere Distanzen und die Übereinstimmung der angezeigten mit der tatsächlich benötigten Anwendungszeit in allen Versuchen wurden als Indikator dafür gewertet, dass das Perfusionsmodell die physiologischen Faktoren am lebenden, intakten Organismus ausreichend imitiert.

Während der Testversuche erwies es sich als Problem, dass das parenchymatöse Gewebe um die Elektroden, besonders an der Kathode, durch den Elektrolyseprozess zunehmend mazerierte und die Elektroden sich im Gewebe lockerten. Des Weiteren wurde bei der anschließenden Präparation des Ablationsareals festgestellt, dass zwar die Elektrodenabstände kapselnah weitgehend den vorgesehenen Distanzen entsprachen, aber mit zunehmender Eindringtiefe nicht eingehalten wurden.

Durch die Entwicklung einer Plexiglasschablone (siehe Kap. 3.5, Abb. 6 und 7), welche mit Perforationen in definierten Abständen für die Elektroden versehen ist, konnten wir erstmals beide Störfaktoren zuverlässig beseitigen. Die Plexiglasschablone wurde vor Beginn der Elektrolyse plan auf die Leberkapsel aufgelegt und mit den Elektroden in der geforderten Distanz durchstoßen.

Für die Durchführung der Versuchsreihen zur Evaluation einer Dosis-Wirkungs-Beziehung bei ECL an der Schweineleber wurden insgesamt 43 Frischlebern verwendet. Diese hatten ein mittleres Gewicht von 2125 g +/- 425 g bei Übergabe. Nach abgeschlossener Perfusion zu Versuchsende betrug das Organgewicht 2183 g +/- 396 g. Die Gewichtszunahme wurde als nicht signifikant berechnet ($p = 0,130$). Diese Ergebnisse sprechen gegen eine wesentliche Kapillardysfunktion und gegen ein ausgeprägtes Organödem. Bei Übergabe hatten die frischen Nativlebern mittlere Kerntemperaturen (gemessen im zentralen, parenchymatösen Lebergewebe, nahe der Leberpforte) von 38,1 °C (Minimum: 37,6 °C, Maximum: 39,0 °C).

Das in den vorliegenden Versuchen verwendete Perfusionssystem (siehe Kap. 3.1) basiert auf Vorarbeiten von Lubienski und Bitsch aus dem Jahre 2006 [8, 36]. Das von den genannten Autoren beschriebene System war für die Integration von Rinderlebern zur Untersuchung der RFA konstruiert. Für die hier vorgestellten Versuchsreihen an der Schweineleber musste das Perfusionssystem den neuen Erfordernissen angepasst werden. Die Adaptation umfasste vor allem bauliche Veränderungen der Schlauchsysteme, welche in den Versuchen mit 13 mm und 9 mm kleinkalibriger gewählt wurden als im Vorgängermodell. Der venöse Adapter in der Leberpforte konnte aufgrund seiner konischen Form, welche sich an Venenkaliber von 5 mm - 20 mm anpassen lässt, sowohl für die Rinderleber als auch für die Schweineleber verwendet werden.

In den ersten Versuchsreihen mit fünf Schweinelebern wurden die physiologischen Druckverhältnisse an der Leberpforte (arterieller und venöser Zufluss) sowie die

Temperatureinstellungen evaluiert. Um im Zielorgan eine für die Spezies Schwein physiologische Kerntemperatur von 37,5 °C - 38,5 °C [68] aufrechtzuerhalten, musste die Voreinstellung an der Wärmepumpe 42 °C betragen. Der Temperaturgradient entsteht durch den Wärmeverlust entlang des Schlauchsystems bis zur Leberpforte. Auch lag die Temperatur der Perfusionslösung im Becken 1 °C - 2 °C niedriger, was durch Wärmeverlust über die Plexiglasscheibe zu erklären ist.

Um die physiologischen Druckverhältnisse in der porcinen Leberpforte zu imitieren, wurden venöse Drücke von 5 mm Hg - 15mmHg und systolische, arterielle Drücke von 110 mm Hg - 130 mm Hg gefordert. Die Einstellungen wurden über die Flussraten (Volumenstrom/ Minute) an Roller- und Zahnradschlepppumpe vorgenommen.

Weil die Durchmesser der Portalvene und der A. hepatica propria an der einzelnen Leber individuell unterschiedlich waren und nicht mit dem Lebergewicht korrelierten, mussten die Flussraten für jede Leber vor Beginn des Versuchs neu ermittelt werden. Arterieller und venöser Druck wurden im Verlauf jedes Versuches mehrfach stichprobenartig abgeleitet.

Es zeigte sich, dass die Drücke während der Versuchsdauer konstant im Zielbereich blieben, ohne dass die Flussraten nachjustiert werden mussten.

Dopplersonographische Untersuchungen bewiesen eine suffiziente Perfusion bis in die Leberperipherie.

Die sich an die Perfusion anschließende Präparation des Lebergewebes zeigte in keinem Fall intravasale Thromben. Dies ist Folge der suffizienten intravasalen Spülung und Antikoagulation nach Schlachtung. Mithilfe der fünf Vorversuche konnte der erfolgreiche Transfer des Modells auf die Bedingungen an der Schweineleber verifiziert werden.

4.2 Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL bei Anwendung von zwei Elektroden

Für die Versuchsreihen zur Evaluation der Dosis-Wirkungs-Beziehung bei ECL mit Platzierung von zwei Elektroden (Anoden/ Kathoden-Paar) wurden insgesamt 25 porcine Frischlebern verwendet. Diese hatten ein mittleres Gewicht von 1962 g +/- 262 g (Minimum: 1700 g, Maximum 2224 g). Die Lebergewichte nach Ende der ECL und Entnahme aus dem Perfusionssystem ergaben ein mittleres Lebergewicht von 2030 g +/- 260 g (Minimum 1713 g, Maximum 2233 g). Der p-Wert für die Gewichtszunahme (Vergleich der Organgewichte prä- und postexperimentell) wurde mit 0,220

berechnet. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass die Perfusion kein wesentliches kapilläres Leck im Versuchsorgan induzierte.

Je nach Größe der Leberoberfläche, Gefäßverlauf in der Leberpforte und Dicke der Leberlappen, konnten unterschiedlich viele Elektrodenpaare in einer Leber positioniert werden. Gemäß der Anzahl an Therapiekanälen des ECL-Gerätes war die Ablation von drei Arealen gleichzeitig möglich. Dabei wurde je ein Nekroseherd in einem Lappen erzeugt. Für die Versuche wurden zwölf verschiedene Einstellungskombinationen der variablen Parameter

- Elektrodenabstand und
- Coulombzahl

realisiert (siehe Tab. 2):

Tabelle 2: Tabellarische Zusammenstellung der realisierten Einstellungskombinationen für die Anordnung von zwei Elektroden. n ist die Anzahl der insgesamt durchgeführten Versuchsansätze bei konstanten Einstellungsparametern

Coulombzahl/ Elektrodenabstand	50 C	100 C	200 C	400 C
1 cm	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4
2 cm	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4
4 cm	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4

Jede Einstellungskombination wurde viermal (n = 4) getestet.

Die Spannung wurde mit 25 V in allen Versuchsansätzen als Konstante gewählt, ebenso wie die Stromstärke, die in allen Versuchen 50 mA betrug.

Insgesamt wurden so 48 paarige Läsionen (jeweils bestehend aus einer Läsion um die Kathode und einer Läsion um die Anode) erzeugt. Die Versuchsdurchführung erfolgte wie in den Kapiteln 3.5, 3.6 und 3.7 beschrieben.

Für alle Experimente mit konstanter Coulombzahl wurde eine einheitliche Inkubationsdauer vom Gerät angezeigt. Die parallel gestartete, manuelle Zeitmessung ergab, dass die angezeigte Zeit exakt der verstrichenen Zeit bis zum Ende der Inkubation entsprach.

Entsprechend der im Kapitel 3.5 aufgeführten Formel, welche die Größe "Ladung" als Produkt aus den Größen "Strom" und "Zeit" beschreibt, ergaben sich in den Versu-

chen bei Einstellungen von 50 C eine Inkubationszeit von 17 Minuten, bei 100 C 34 Minuten, bei 200 C 67 Minuten und bei 400 C 134 Minuten (siehe Abb. 11).

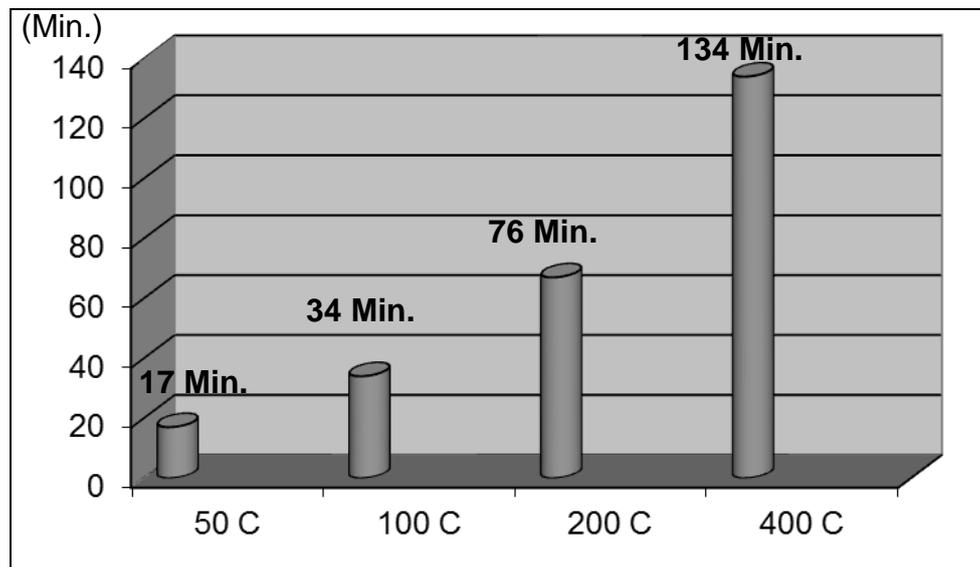


Abbildung 11: Inkubationszeiten in Abhängigkeit von der Coulombzahl

Die makroskopische Ausmessung der Nekroseareale um Anode und Kathode erfolgte nach 24-stündiger Aushärtung der vorpräparierten Gewebelöcke im Formalinbad (siehe Kap. 3.7). Präparationen im Rahmen der Vorversuche zeigten, dass das Zuschneiden des Gewebes direkt nach der Elektrolyse aufgrund der geleeartigen Konsistenz des Lebergewebes nicht möglich war. Nach der Inkubation in Formalin war das Gewebe schnittfest, ohne dass sich die Organstruktur veränderte.

Der erste Anschnitt entlang der Elektrodenstichkanäle ermöglichte die makroskopische Ausmessung der Nekrosezonen in zwei Dimensionen.

Im Rahmen der Vorversuche konnte mittels alternierender, scheibenartiger Schnitttechnik in horizontaler Ebene gezeigt werden, dass beide Nekrosezonen, kathodische sowie anodische, eine zylindrische Form besaßen, deren Längsachse durch die Elektrode gebildet wurde.

Für die Volumenberechnung gilt nach geometrischen Grundsätzen somit folgende Formel:

$$V = \pi \times r^2 \times h$$

Es gilt: $r = d / 2$

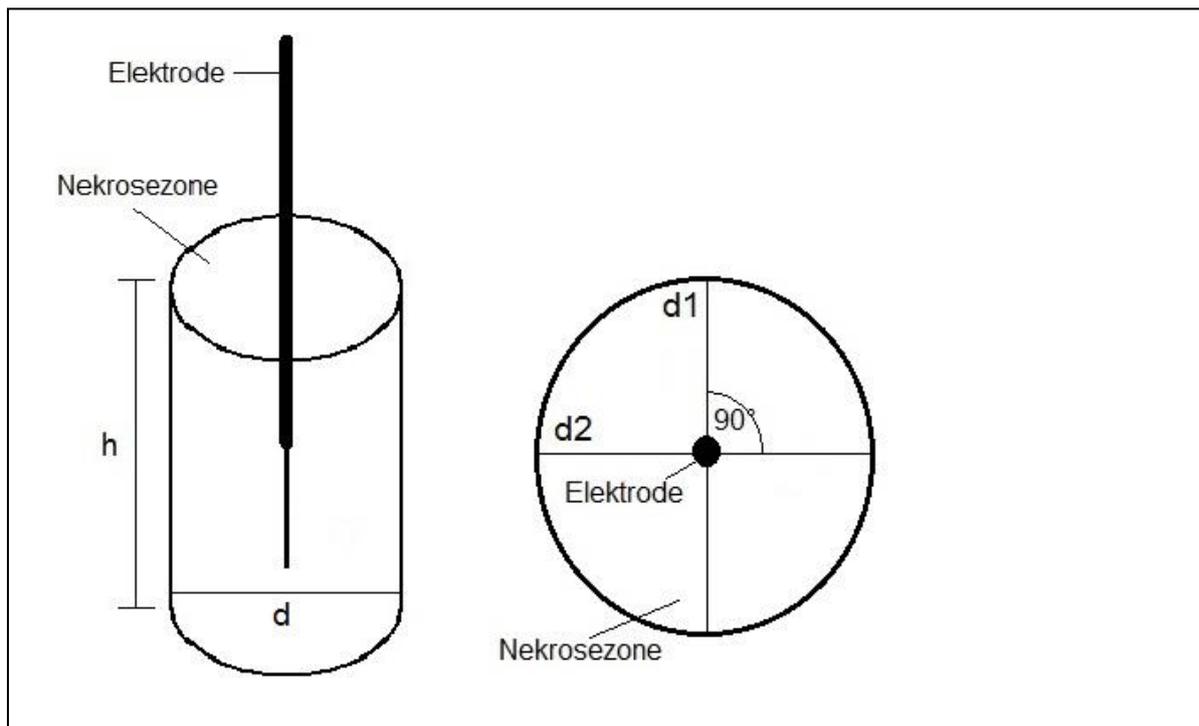


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Nekrosezone. Ausmessung in drei Dimensionen: Höhe h , Durchmesser $d1$ und $d2$: Ansicht von der Seite (links), Ansicht von oben (rechts) (eigene Zeichnung)

Der Durchmesser des Nekroseareals wurde in zwei Dimensionen bestimmt:

- Durchmesser 1 = $d1$
- Durchmesser 2 = $d2$, im rechten Winkel zu $d1$ (siehe Abb. 12).

Zur Berechnung der Nekrosevolumina wurde d berechnet als Mittelwert aus $d1 + d2$, zur Ermittlung des Radius wurde der Mittelwert durch zwei geteilt.

Nach makroskopischer Ausmessung der Nekroseareale wurde das Präparat wie in Kapitel 3.7 dieser Arbeit erwähnt, zur histologischen Begutachtung aufgearbeitet.

Ein makroskopisches Merkmal in allen, durch ECL erzeugten Nekrosearealen war die scharfe Trennung zwischen Ablationsareal und makroskopisch intaktem Leberparenchym in der Peripherie (siehe Abb. 13).

Die Nekrosezone um die Anode imponierte farblich in einem dunkleren Kolorit als das umgebende Leberparenchym und hatte im manuell sensorischen Vergleich eine festere Konsistenz.

Dagegen war die Konsistenz der Nekrosezone um die Kathode geleeartig und auch das Kolorit war deutlich dunkler im Vergleich zum Leberparenchym (siehe Abb. 13).

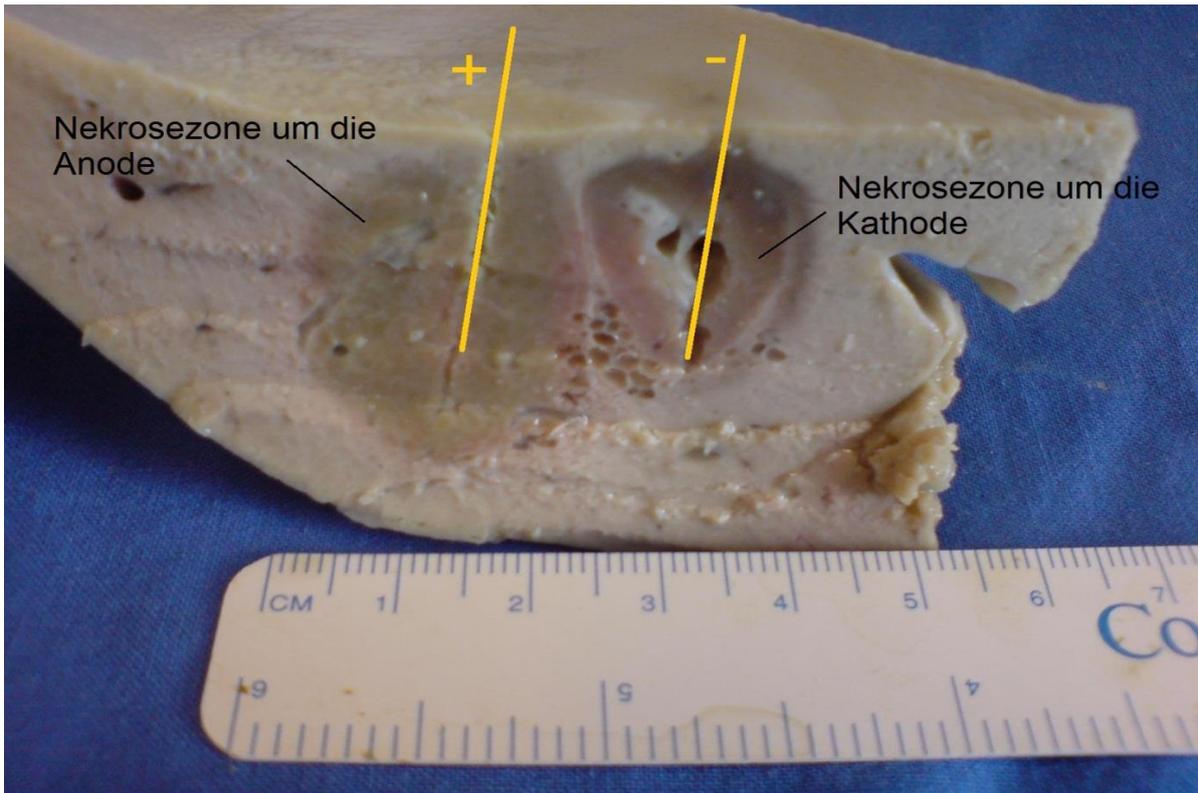


Abbildung 13: Anschnitt eines Nekrosezonenpaares direkt nach Abschluss der Elektrolyse.

Beachte: Scharfe Trennlinie zwischen Nekrosezone und intaktem Leberparenchym.
In gelb ist die Position der Elektroden und ihre Polung markiert (hier bereits entfernt)

Die histologische Begutachtung zeigte die Übereinstimmung zwischen makroskopisch sichtbarer Nekrosezone und der mikroskopisch abgrenzbaren Trennlinie zwischen intaktem und destruiertem Lebergewebe.

Die scharfe Trennung zwischen destruiertem und intaktem Leberparenchym war auch mikroskopisch ein gemeinsames Merkmal aller Übergangszonen (siehe Abb. 14).

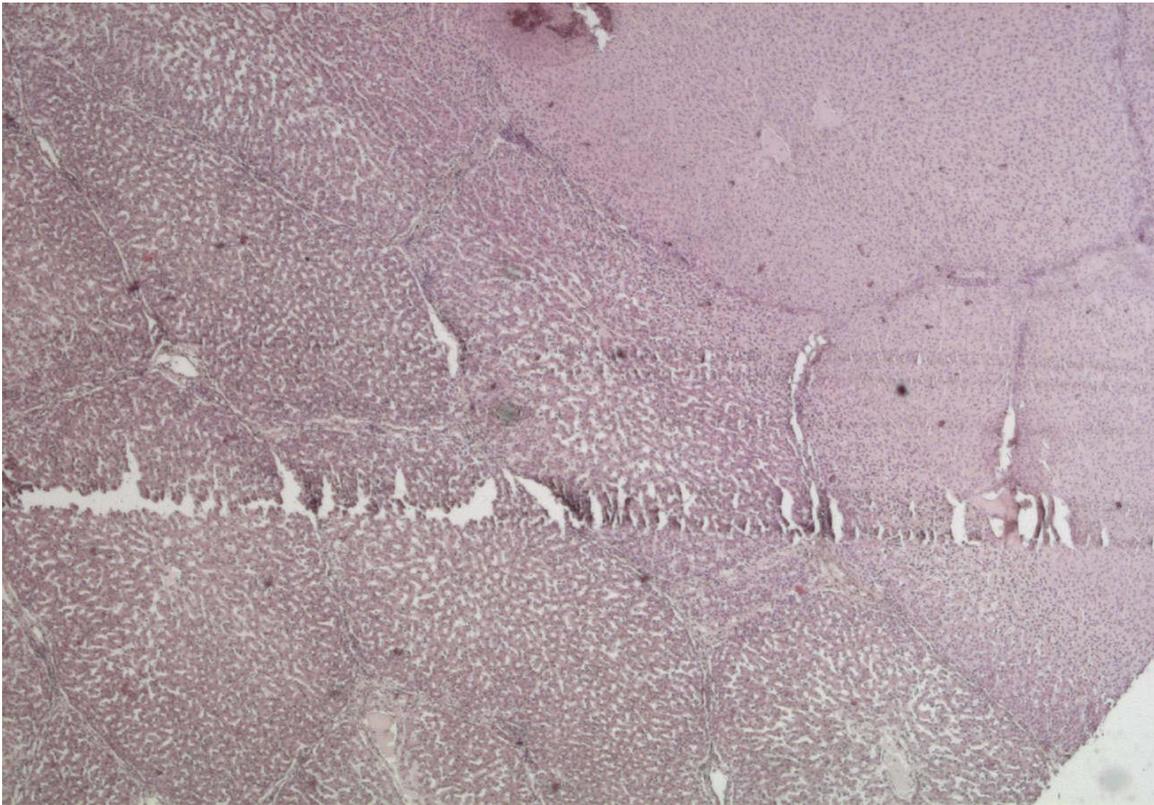


Abbildung 14: Mikroskopische Abbildung der Übergangszone zwischen kathodischer Nekrosezone und integrem Leberparenchym in der Peripherie (HE-Färbung, Vergrößerung 2,5 x 75)

Das histologische Bild in der HE-Färbung wies Unterschiede zwischen anodischen und kathodischen Nekrosezonen auf.

Die Zellkerne der Nekrosezone um die Kathode ließen sich nicht mit dem basophilen Farbstoff anfärben, was als Zeichen für den biochemischen Funktionsverlust des Zellkernes gewertet werden kann.

Einzelne parenchymatöse Zellen konnten nicht mehr von Nachbarstrukturen abgegrenzt werden, was auf eine Zerstörung der Läppchenbinnenstruktur aus Zellverband und Sinusoiden hinweist. Dies imponiert mikroskopisch als Homogenisierung und Verblässen der Leberstruktur.

Eine Zelllyse konnte durch die Demarkierung der Zellmembranen gegen das Interstitium detektiert werden (siehe Abb. 15).

Die histologischen Befunde in der kathodischen Nekrosezone nach ECL decken sich am ehesten mit dem Bild einer Kolliquationsnekrose.

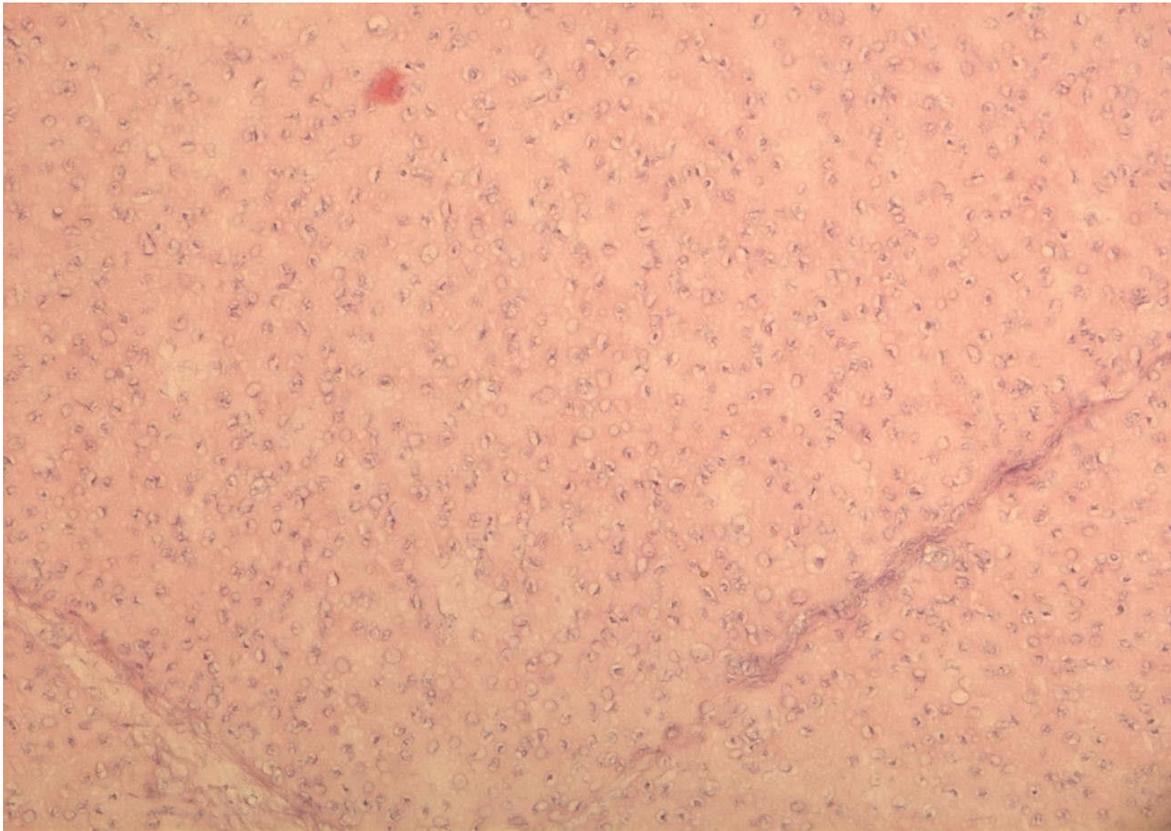


Abbildung 15: Mikroskopische Abbildung eines Ausschnitts der Nekrosezone um die Kathode (HE-Färbung, Vergrößerung 10 x 30)

Die Nekrosezone um die Anode war charakterisiert durch eine starke Eosinophilie, wobei die Morphologie des Leberläppchens erhalten blieb:

Die Hepatozyten waren gegeneinander und von den Sinusoiden durch Zellmembranen abgrenzbar, die Zellkerne pyknotisch und basophil anfärbbar und das typische Bild eines heterogenen Zytosols blieb erhalten (siehe Abb. 16).

Diese Veränderungen sind vergleichbar mit dem mikroskopischen Bild einer Koagulationsnekrose.

Die histologische Ausmessung der Nekroseareale in zwei Dimensionen (siehe Kap. 3.7, Abb. 9) korreliert mit der makroskopischen Ausmessung der Nekrosezonen und bestätigt die gleichmäßige Ausdehnung der Nekrosezone um die Elektrode in Form eines Kreiszyinders.

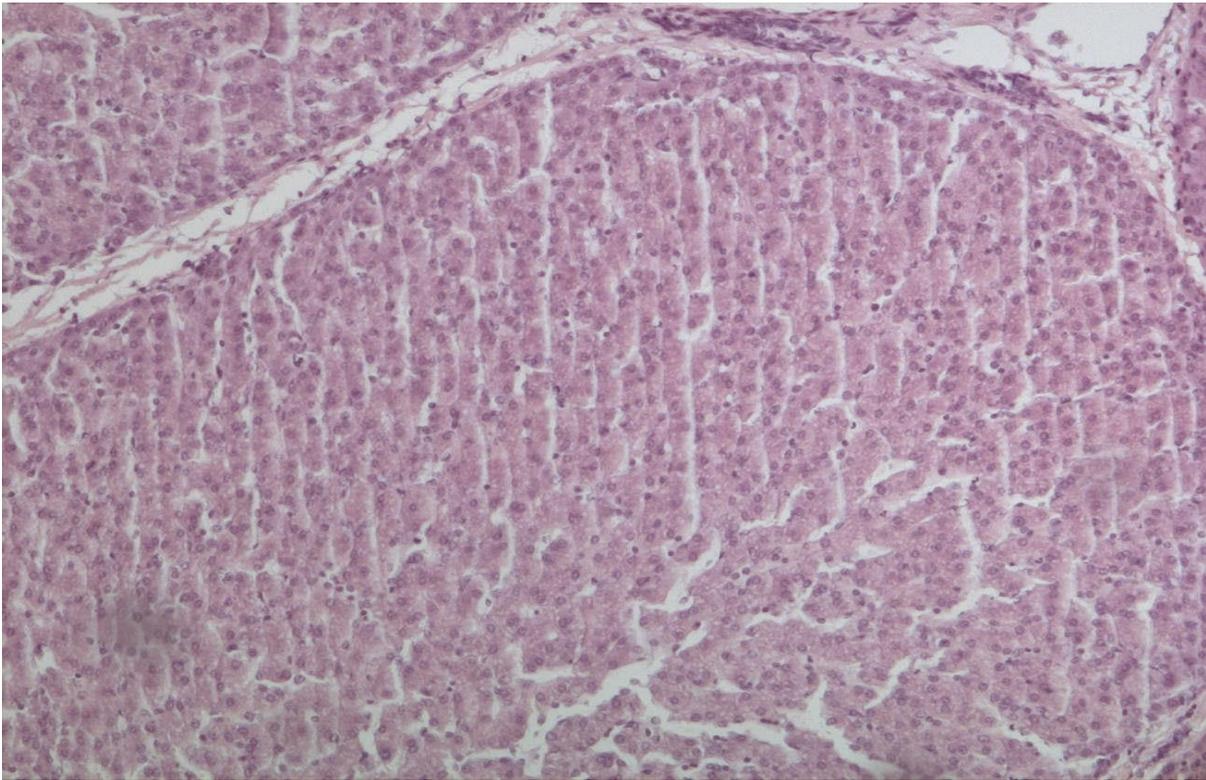


Abbildung 16: Mikroskopische Abbildung eines Ausschnitts der Nekrosezone um die Anode
(HE-Färbung, Vergrößerung 10 x 30)

Bei der Kombination eines geringen Abstandes der Elektroden und einer hohen Coulombzahl hatten die Nekrosezonen von Anode und Kathode einen direkten Kontakt (siehe Abb. 17). Tabelle 3 zeigt die Einstellungsparameter, bei denen dieser Effekt zu sehen war (+). Wenn zwischen den einzelnen Nekrosezonen makroskopisch eine intakte Gewebebrücke detektiert werden konnte, ist dies mit (-) gekennzeichnet.

Tabelle 3: Tabellarische Zusammenstellung der Einstellungskombinationen mit intakten/ fehlenden Gewebebrücken zwischen den Nekrosezonen; (-) Gewebebrücke fehlt, (+) Gewebebrücke vorhanden, n = 4 Versuchsansätze je Einstellungskombination

Coulombzahl/ Elektrodenabstand	50 C	100 C	200 C	400 C
1 cm	- -	+ +	+ +	+ +
	- +	+ +	+ +	+ +
2 cm	- -	- -	- -	- -
	- -	- -	- -	+ +
4 cm	- -	- -	- -	- -
	- -	- -	- -	- -

Die mikroskopische Untersuchung des Lebergewebes zwischen den Elektroden konnte morphologisch intaktes Lebergewebe in den Gewebebrücken identifizieren. Der Übergangsbereich zwischen zwei aneinandergrenzenden Ablationsarealen war durch eine vollständige Zellyse ohne intakte Residualzellen gekennzeichnet. Koagulations- und Kolliquationsnekrosen waren makroskopisch sowie mikroskopisch durch eine scharfe Linie getrennt (siehe Abb. 17).

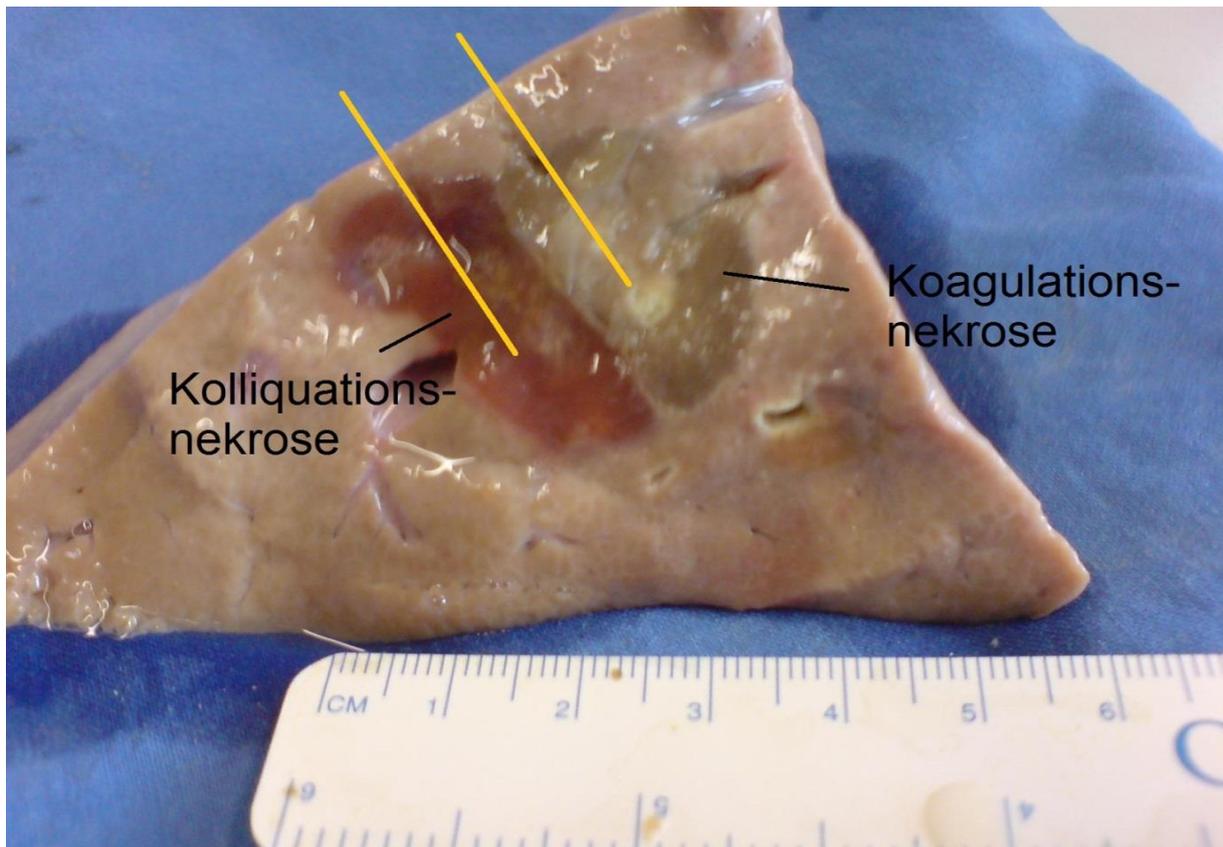


Abbildung 17: Nekrosezonen bei der Einstellungskombination 1 cm und 200 C. Zu sehen ist eine scharfe Trennung von Koagulations- und Kolliquationsnekrose, gelb markiert sind die Elektrodenpositionen

Mittels univariater Varianzanalyse konnte gezeigt werden, dass insgesamt alle unabhängigen Variablen einen signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable Nekrosevolumen hatten ($p < 0,001$ jeweils für Ladung, Elektrodenabstand, Polung, Elektrodenzahl). Anhand der partiellen Eta^2 - Werte konnte die Einflussgröße bestimmt werden:

Den größten Einfluss auf das Nekrosevolumen nahm dabei die Ladung (part. $\text{Eta}^2 = 0,572$). Den kleinsten Einfluss auf das Nekrosevolumen hatte der Elektrodenabstand (part. $\text{Eta}^2 = 0,112$). Für die Polung wurde ein part. Eta^2 von 0,270 und für die Elektrodenanzahl von 0,199 ermittelt (diese Werte sind gleichermaßen gültig für Kapitel 4.3 dieser Arbeit). Im Folgenden sollen daher die Auswirkungen auf das Nekrosevo-

lumen durch Änderung der Variablen Ladung, Elektrodenabstand und Polung näher beschrieben werden.

Die Beurteilung der Kurvenanpassung erfolgte mittels des Gütemaßes korrigiertes R^2 . Für jede Regressionsgerade sind korrigierte R^2 -Werte für das lineare Modell sowie für ein exponentielles Modell verfügbar und können miteinander verglichen werden. Zwecks Vergleichbarkeit wurde jeweils nur das lineare Modell graphisch dargestellt.

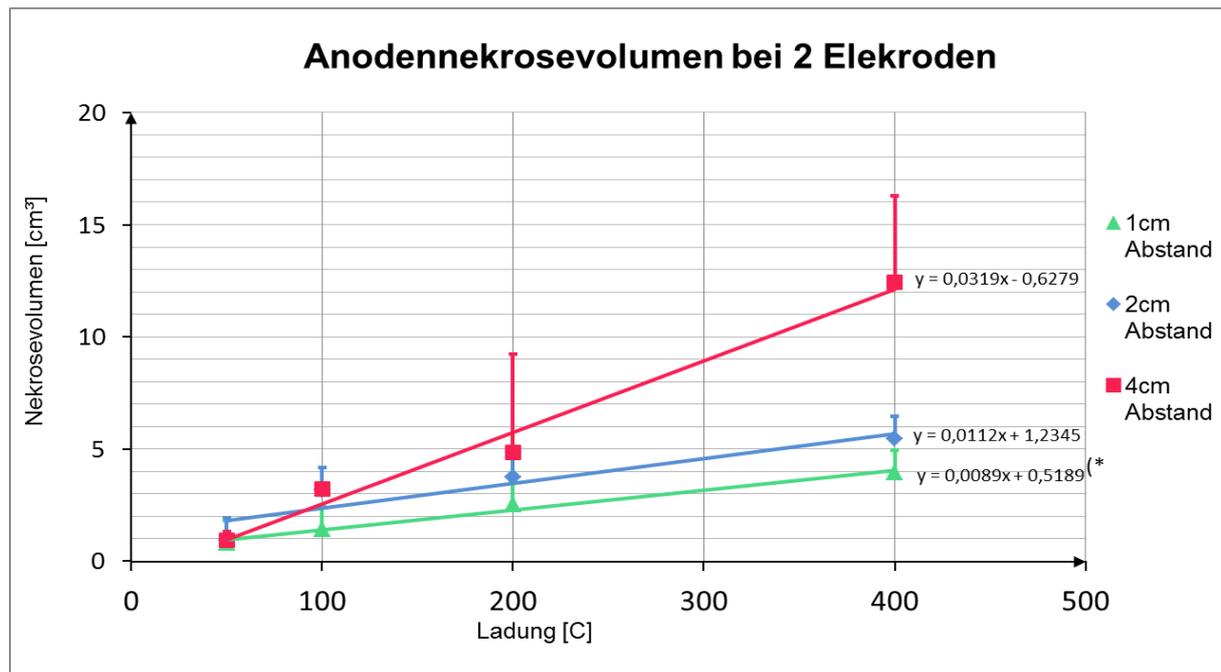


Abbildung 18: Entwicklung des Nekrosevolumens an der Anode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodenabständen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Abbildung 18 zeigt die Dosis-Wirkungs-Beziehung von Coulombzahl und resultierendem Nekrosevolumen an der Anode bei der Realisierung verschiedener Elektrodenabstände.

Bei Anwendung von zwei Elektroden mit dem Abstand 1 cm ließ sich das Nekrosevolumen an der Anode durch die Geradengleichung $y = 0,0089 x + 0,5189$ beschreiben.

Für den Elektrodenabstand 2 cm wurde die Gleichung $y = 0,0112 x + 1,2345$ formuliert und für den Elektrodenabstand 4 cm galt $y = 0,0319 x - 0,6279$.

Der „Model fit“ für die Datenreihe „1 cm Abstand“ zeigte eine bessere Übereinstimmung mit dem linearen ($R^2 = 0,786$; $p < 0,001$) als mit dem exponentiellen Modell ($R^2 = 0,768$; $p < 0,001$). Für die Datenreihen „2 cm Abstand“ und „4 cm Abstand“

konnten bessere Gütemaße für das exponentielle Modell gezeigt werden ($R^2 = 0,843$; $p < 0,001$ gegenüber $0,731$; $p < 0,001$ für die Datenreihe „2 cm Abstand“ und $R^2 = 0,91$; $p < 0,001$ gegenüber $R^2 = 0,898$; $p < 0,001$ für die Datenreihe „4 cm Abstand“).

Tabelle 4: Tabellarische Zusammenstellung der erzeugten Nekrosevolumenänderung an der Anode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Abstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 400 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	400 C	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
1	0,81	3,97	- 3,15 ($p = 0,003$)	+ 390,1
2	0,95	5,47	- 4,52 ($p = 0,005$)	+ 475,0
4	0,92	12,42	- 11,59 ($p = 0,001$)	+ 1248,9
Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
50	0,81	0,92	- 0,11 ($p = 0,657$)	+ 13,9
100	1,41	3,20	- 1,79 ($p < 0,001$)	+ 126,0
200	2,54	4,87	- 2,32 ($p = 0,79$)	+ 91,4
400	3,97	12,42	- 8,45 ($p < 0,001$)	+ 213,5

Die Steigerung der Dosis von 50 C bis 400 C bewirkte eine signifikante Erhöhung des Nekrosevolumens an der Anode (siehe Tab. 4): In den Versuchsreihen mit einer Elektrodendistanz von 1 cm wurde bei einer Erhöhung der Coulombzahl eine Zunahme des Nekrosevolumens von 390,1 % ($0,81 \text{ cm}^3$ auf $3,97 \text{ cm}^3$; $p = 0,003$) erreicht, bei 2 cm Elektrodendistanz waren es 475,0 % ($0,95 \text{ cm}^3$ auf $5,47 \text{ cm}^3$; $p = 0,005$) und bei 4 cm 1248,9 % ($0,92 \text{ cm}^3$ auf $12,42 \text{ cm}^3$, $p = 0,001$).

Der Einfluss des Elektrodenabstandes auf das Nekrosevolumen konnte wie folgt beschrieben werden: Durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm konnte bei einer Ladung von 50 C keine Vergrößerung des Nekrosevolumens erzielt werden ($p = 0,657$). Bei Ladungsstärken von 100 C wurde eine signifikante Erhöhung des Nekrosevolumens um 126,0 % ($p < 0,001$) erzeugt, während bei 200 C die Vergrößerung um 91,4 % ($p = 0,790$) nicht signifikant war. Dagegen konnte bei 400 C eine signifikante Steigerung um 213,5 % ($p < 0,001$) erzielt werden.

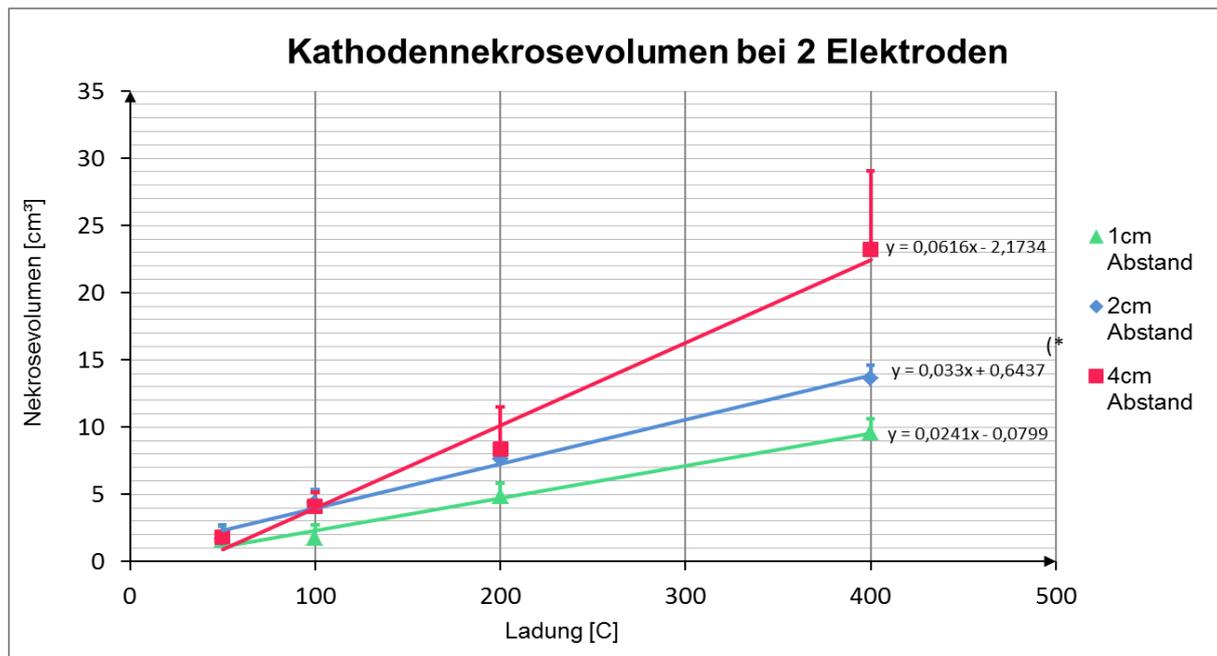


Abbildung 19: Entwicklung des Nekrosevolumens an der Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodendistanzen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Abb. 19 stellt die Dosis-Wirkungs-Beziehung an der Kathode graphisch dar. Diese lässt sich wie folgt beschreiben: Bei einem Abstand von 1 cm wurde die Gleichung $y = 0,0241 x - 0,0799$ formuliert. Bei einem Elektrodenabstand von 2 cm konnte die Gleichung mit $y = 0,033 x + 0,6437$ und bei 4 cm als $y = 0,0616 x - 2,1734$ beschrieben werden.

Der Test des „Model fit“ ergab für die Datenreihe „Abstand 2 cm“ eine bessere Übereinstimmung mit dem linearen Modell ($R^2 = 0,894$; $p < 0,001$ gegenüber $R^2 = 0,887$; $p < 0,001$ des exponentiellen Modells). Für die Datenreihe „1 cm Abstand“ ($R^2 = 0,922$; $p < 0,001$ beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,926$; $p < 0,001$ beim exponentiellen Modell) und „4 cm Abstand“ ($R^2 = 0,951$; $p < 0,001$ beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,962$; $p < 0,001$ beim exponentiellen Modell) konnten bessere Gütemaße für das exponentielle Modell gezeigt werden.

Für die Entwicklung der Nekrosevolumina an der Kathode wurde (siehe Tab. 5) durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C eine signifikante Zunahme des Nekrosevolumens erzielt. In Versuchsreihen mit einer Elektrodendistanz von 1 cm wurde eine Expansion des Nekrosevolumens um 508,0 % ($1,58 \text{ cm}^3$ auf $9,60 \text{ cm}^3$; $p < 0,001$) bei 2 cm Elektrodendistanz um 697,2 % ($1,71 \text{ cm}^3$ auf $13,63 \text{ cm}^3$; $p = 0,004$) und bei 4 cm um 1189,1 % ($1,80 \text{ cm}^3$ auf $23,20 \text{ cm}^3$; $p = 0,043$) gezeigt.

Tabelle 5: Tabellarische Zusammenstellung der erzeugten Nekrosevolumenänderung an der Kathode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 400 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm ³ durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	400 C	Mittlere Differenz in cm ³	Nekrosevolumenänderung in %
1	1,58	9,60	- 8,02 (p < 0,001)	+ 508,0
2	1,71	13,63	- 11,92 (p = 0,004)	+ 697,2
4	1,80	23,20	- 0,52 (p = 0,043)	+ 1189,1
Veränderung des Nekrosevolumens in cm ³ durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm ³	Nekrosevolumenänderung in %
50	1,58	1,80	- 0,22 (p = 0,528)	+ 13,2
100	1,72	4,12	- 2,40 (p < 0,001)	+ 140,0
200	4,86	8,37	- 3,52 (p = 0,008)	+ 72,3
400	9,60	23,20	- 13,60 (p < 0,001)	+ 141,7

Auch durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm konnte das Nekrosevolumen außer bei einer Ladung von 50 C signifikant beeinflusst werden (siehe Tab. 5): Bei Applikation von 50 C konnte durch diese Maßnahme keine Zunahme des Gesamtvolumens an der Kathode erzielt werden (p = 0,528). Die Inkubation von 100 C brachte eine signifikante Volumenzunahme von 140,0 % (p < 0,001), bei 200 C wurde das Gesamtvolumen signifikant um 72,3 % (p = 0,008) erhöht. Bei Applikation von 400 C wurde an der Kathode eine signifikante Spitzenvolumenexpansionen von 141,7 % (p < 0,001) verzeichnet.

Aus der Summe der paarigen Einzelnekrosezonen wurde die Gesamtnekrosezone als klinisch nutzbares Ablationsareal gebildet (siehe Abb. 20) und als Dosis-Wirkungs-Beziehung dargestellt: Bei Anwendung von zwei Elektroden mit dem Abstand 1 cm konnte für das Gesamtnekrosevolumen die Gleichung $y = 0,033 x + 0,439$ definiert werden. Für den Elektrodenabstand 2 cm wurde die Gleichung beschrieben mit $y = 0,0442 x + 1,8799$ und für den Abstand 4 cm mit $y = 0,0935 x - 2,8013$.

Die Dosis-Wirkungs-Beziehung bei 1 cm Elektrodenabstand war eher übereinstimmend mit dem linearen Modell ($R^2 = 0,914$; p < 0,001 beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,908$; p < 0,001 beim exponentiellen Modell). Während bei Elektrodenabständen von 2 cm ($R^2 = 0,878$; p < 0,001 beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,891$; p < 0,001) und 4 cm ($R^2 = 0,947$; p < 0,001 gegenüber $R^2 = 0,956$; p < 0,001) eine bessere Anpassung für das exponentielle Modell berechnet wurde.

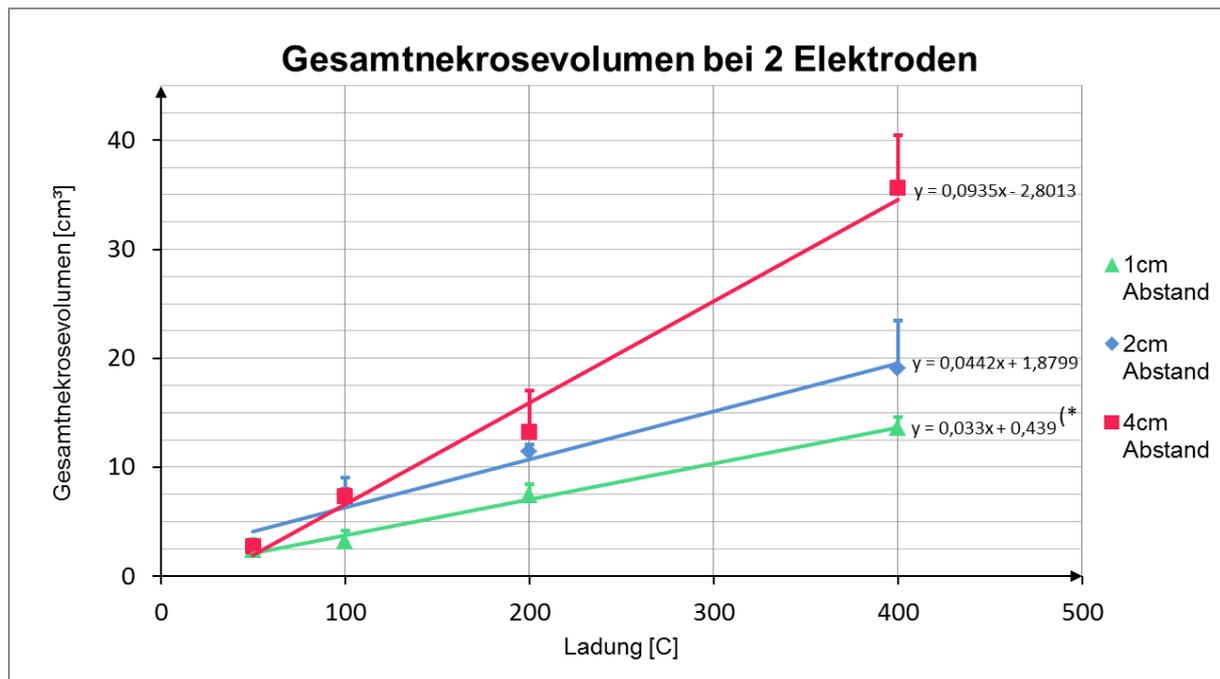


Abbildung 20: Entwicklung des Gesamtnekrosevolumens bei Applikation von zwei Elektroden in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodenabständen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Die Steigerung der Dosis von 50 C auf 400 C bewirkte eine signifikante Vergrößerung des Nekrosevolumens (siehe Tab. 6):

Die Erhöhung der Coulombzahl von 50 C auf 400 C zeigte eine Zunahme des Gesamtnekrosevolumens bei 1 cm Elektrodenabstand um 475,0 % (2,39 cm³ auf 13,57 cm³; $p < 0,001$), bei 2 cm Distanz um 618,0 % (2,66 cm³ auf 19,10 cm³; $p = 0,006$) und 1209,6 % (2,72 cm³ auf 35,62 cm³; $p = 0,007$) bei 4 cm Elektrodenabstand.

Analog zu den Ergebnissen an Anode und Kathode konnte durch eine Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm außer bei einer Dosis von 50 C eine signifikante Vergrößerung des Gesamtvolumens erzeugt werden: Bei 50 C wurde ein zusätzliches Volumen von 11,3 % ($p = 0,482$) erzielt, bei 100 C von 133,4 % ($p < 0,001$), sowie von 78,9 % ($p = 0,022$) bei 200 C und 162,5 % ($p < 0,001$) bei 400 C.

Tabelle 6: Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Gesamtnekrosevolumens durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 400 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm ³ durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	400 C	Mittlere Differenz in cm ³	Nekrosevolumenänderung in %
1	2,39	13,57	- 11,17 (p < 0,001)	475,0
2	2,66	19,10	- 16,44 (p = 0,006)	618,0
4	2,72	35,62	- 32,89 (p = 0,007)	1209,6
Veränderung des Nekrosevolumens in cm ³ durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm ³	Nekrosevolumenänderung in %
50	2,39	2,67	- 0,27 (p = 0,482)	11,3
100	3,14	7,33	- 4,19 (p < 0,001)	133,4
200	7,40	13,24	- 5,84 (p = 0,022)	78,9
400	13,57	35,62	- 22,05 (p < 0,001)	162,5

4.3 Dosis-Wirkungs-Beziehung der ECL bei vier Elektroden

Wie im Teil Material und Methodik (siehe Kap. 3) erwähnt, besitzt das Gerät ECU 300 der Firma Söring drei separat steuerbare Therapiekanäle, wovon jeder Kanal über eine Ordinationsbox vier Elektroden versorgt.

Der Versuchsaufbau mit einem Kathoden-Anoden-Paar wurde um je eine weitere Kathode und Anode ergänzt, die mithilfe der Platzierungsschablone, im Quadrat angeordnet wurden. Der Stromfluss erfolgte zwischen Elektroden mit entgegengesetzten Polen.

Zur Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung bei Applikation von vier Elektroden wurden insgesamt 18 Frischlebern vom Schwein mit einem mittleren Gewicht von 2226 g +/- 356 g (Minimum: 1870 g, Maximum 2580 g) in das Perfusionssystem integriert. Die Gewichtskontrollen der prozessierten Organe nach Entnahme aus dem Perfusionsbecken ergaben ein mittleres Lebergewicht von 2238 g +/- 352 g (Minimum: 1886 g, Maximum: 2591 g). Der p-Wert für die Gewichtszunahme (Vergleich der Organgewichte prä- und postexperimentell) wurde mit 0,960 als nicht signifikant berechnet. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass die Perfusion kein wesentliches kapilläres Leck im Versuchsorgan induzierte.

Bei der anschließenden histologischen Untersuchung des Lebergewebes wurden keine interstitiellen oder intrazellulären Ödeme detektiert.

Beide Befunde werden als Hinweis für den Erhalt einer intakten Struktur des Lebergewebes ohne wesentlichen Defekt des Kapillarendothels gewertet.

Maximal konnten auf einer Leber gleichzeitig drei Versuchsansätze mit ausreichendem Sicherheitsabstand positioniert werden, insofern die Oberflächenbeschaffenheit und Dicke des Versuchsorganes dies ermöglichte.

Insgesamt wurden neun verschiedene Einstellungskombinationen der variablen Parameter

- Elektrodenbestand (= Kantenlänge) und
- Coulombzahl

realisiert (siehe Tab. 7).

Insgesamt wurden so 36 Läsionen erzeugt, wobei jede Läsion aus vier Einzelnekrosezonen (je zwei anodische und zwei kathodische Nekrosezonen) bestand. Die Versuchsdurchführung erfolgte wie im Teil Material und Methodik (siehe Kap. 3) beschrieben.

Tabelle 7: Tabellarische Zusammenstellung der realisierten Einstellungskombinationen für die Anordnung von vier Elektroden; n ist die Anzahl der insgesamt durchgeführten Versuchsansätze bei konstanten Einstellungsparametern

Coulombzahl/ Elektrodenabstand	50 C	100 C	200 C
1 cm	n = 4	n = 4	n = 4
2 cm	n = 4	n = 4	n = 4
4 cm	n = 4	n = 4	n = 4

Die vom Elektrolysegerät berechneten und angezeigten Zeiten entsprachen den Inkubationszeiten für die Versuchsreihen mit zwei Elektroden (siehe Abb. 11) und stimmten mit der unabhängig und parallel durchgeführten manuellen Zeitmessung überein.

Das makroskopische Erscheinungsbild der Nekroseareale präsentierte sich konform zu den Befunden bei einer Applikation von zwei Elektroden.

Auch mikroskopisch zeigte sich übereinstimmend mit den Ergebnissen bei den Versuchen mit zwei Elektroden eine Koagulationsnekrose um die Anode und eine Kolliquationsnekrose um die Kathode mit jeweils scharfen Trennlinien zum intakten Leberparenchym in der Peripherie.

Abbildung 21 stellt die Dosiswirkungsbeziehung an der Kathode bei Applikation von vier Elektroden dar.

Bei Verwendung von vier Elektroden mit dem Abstand 1 cm konnte durch die Gleichung $y = 0,0194 x + 4,287$ beschrieben werden. Für den Elektrodenabstand 2 cm wurde die Geradengleichung $y = 0,0662 x + 1,404$ und für 4 cm Abstand $y = 0,0458 x + 3,051$ als Dosis-Wirkungs-Gerade geschätzt.

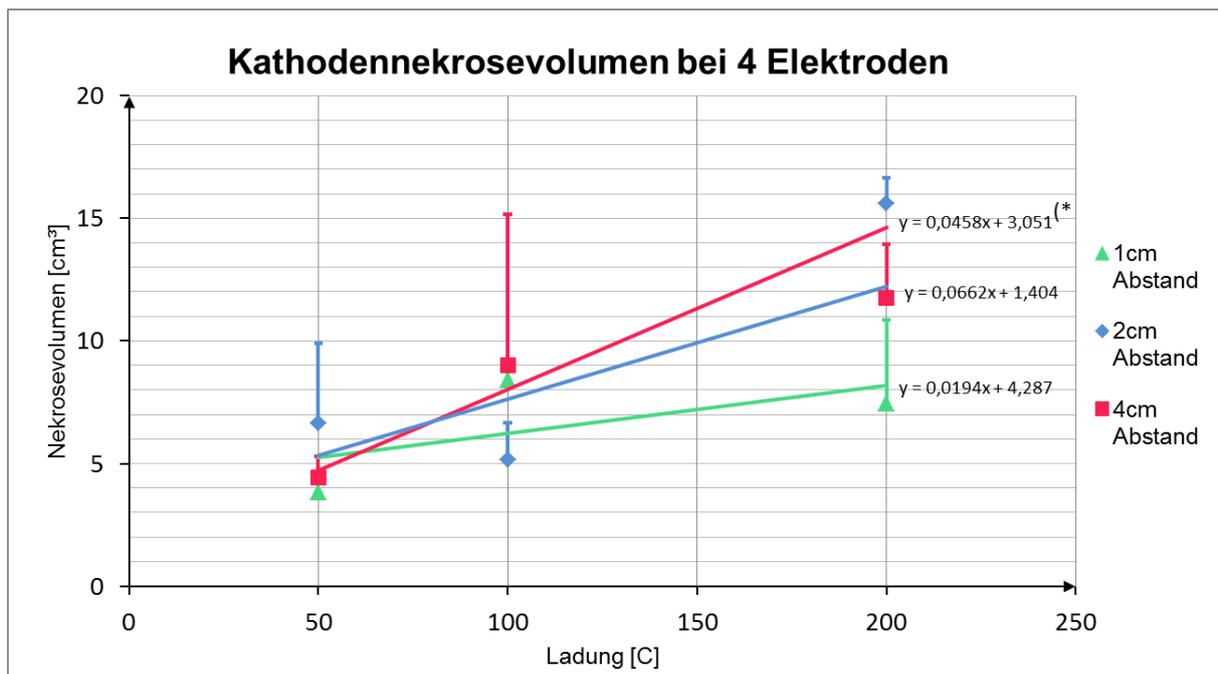


Abbildung 21: Entwicklung des Nekrosevolumens an der Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodenabständen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Für den Elektrodenabstand 4 cm konnte eine bessere Modellgüte durch Annahme einer linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung erzeugt werden ($R^2 = 0,349$; $p = 0,025$ beim linearen Modell, $R^2 = 0,338$; $p = 0,063$ beim exponentiellen Modell). Die Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei 1 cm ($R^2 = 0,131$; $p = 0,134$ beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,465$; $p = 0,024$ beim exponentiellen Modell) und 2 cm ($R^2 = 0,657$; $p = 0,001$ beim linearen Modell und $R^2 = 0,829$; $p < 0,001$ beim exponentiellen Modell) Elektrodenabstand ließen sich besser durch ein exponentielles Modell erklären.

Parallel zu den Ergebnissen bei den Versuchen mit zwei Elektroden konnte auch hier gezeigt werden, dass mit der Höhe der applizierten Ladung das Nekrosevolumen, außer bei einem Elektrodenabstand von 1 cm, signifikant zunahm (siehe Tab. 8): Die Erhöhung der Coulombdosis von 50 C auf 200 C bei einem Elektrodenabstand von 1 cm erbrachte hier keine Zunahme des Nekrosevolumens ($p = 0,080$) bei 2 cm zeigte

sich eine Zunahme um 135,5 % ($6,63 \text{ cm}^3$ auf $15,60 \text{ cm}^3$; $p = 0,008$) und bei 4 cm 166,2 % ($4,41 \text{ cm}^3$ auf $11,75 \text{ cm}^3$; $p = 0,001$).

Auch konnten durch Vergrößerung der Elektrodendistanz größere Nekrosevolumina erzielt werden, welche im Vergleich der Mittelwerte jedoch nicht signifikant waren (siehe Tab. 8).

Tabelle 8: Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Nekrosevolumens an der Kathode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 400 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	200 C	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
1	3,80	7,44	- 3,64 ($p = 0,080$)	+ 95,5
2	6,63	15,60	- 8,97 ($p = 0,008$)	+ 135,5
4	4,41	11,75	- 7,34 ($p = 0,001$)	+ 166,2
Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
50	3,81	4,41	- 0,61 ($p = 0,264$)	+ 15,9
100	8,40	9,02	- 0,62 ($p = 0,854$)	+ 7,4
200	7,44	11,75	- 4,31 ($p = 0,78$)	+ 57,8

Abbildung 22 zeigt die Dosis-Wirkungs-Beziehung an der Anode bei Applikation von vier Elektroden. Bei einem Elektrodenabstand von 1 cm wurde eine Dosis-Wirkungs-Gerade mit der Gleichung $y = 0,0272 x + 1,843$ geschätzt. Für einen Elektrodenabstand von 2 cm konnte die Geradengleichung mit $y = 0,0563 x - 1,221$ und für 4 cm mit $y = 0,0321 x + 0,425$ formuliert werden.

Bei Elektrodenabständen von 1 cm ($R^2 = 0,654$; $p = 0,010$ für das lineare Modell gegenüber $R^2 = 0,643$; $p = 0,040$ beim exponentiellen Modell) und 4 cm ($R^2 = 0,952$; $p < 0,001$ beim linearen Modell gegenüber $R^2 = 0,947$; $p < 0,001$ beim exponentiellen Modell) wurde eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung angenommen. Bei einem Elektrodenabstand von 2 cm wurde dagegen eine exponentielle Dosis-Wirkungs-Beziehung geschätzt ($R^2 = 0,956$; $p < 0,001$ beim linearen Modell und $R^2 = 0,961$; $p < 0,001$ beim exponentiellen Modell).

An der Anode konnten durch Erhöhung der Coulombzahl von 50 C auf 200 C signifikante Effekte auf das Nekrosevolumen gezeigt werden (siehe Tab. 9): Bei den Versuchsansätzen mit einem Elektrodenabstand von 1 cm zeigte sich eine Zunahme des Nekrosevolumens um 144,7 % ($2,91 \text{ cm}^3$ auf $7,13 \text{ cm}^3$; $p = 0,003$), bei einem Elek-

trodenabstand von 2 cm ein Wachstum von 436,3 % ($1,90 \text{ cm}^3$ auf $10,18 \text{ cm}^3$; $p < 0,001$) und bei 4 cm ein Plus von 228,9 % ($2,08 \text{ cm}^3$ auf $6,87 \text{ cm}^3$; $p < 0,001$).

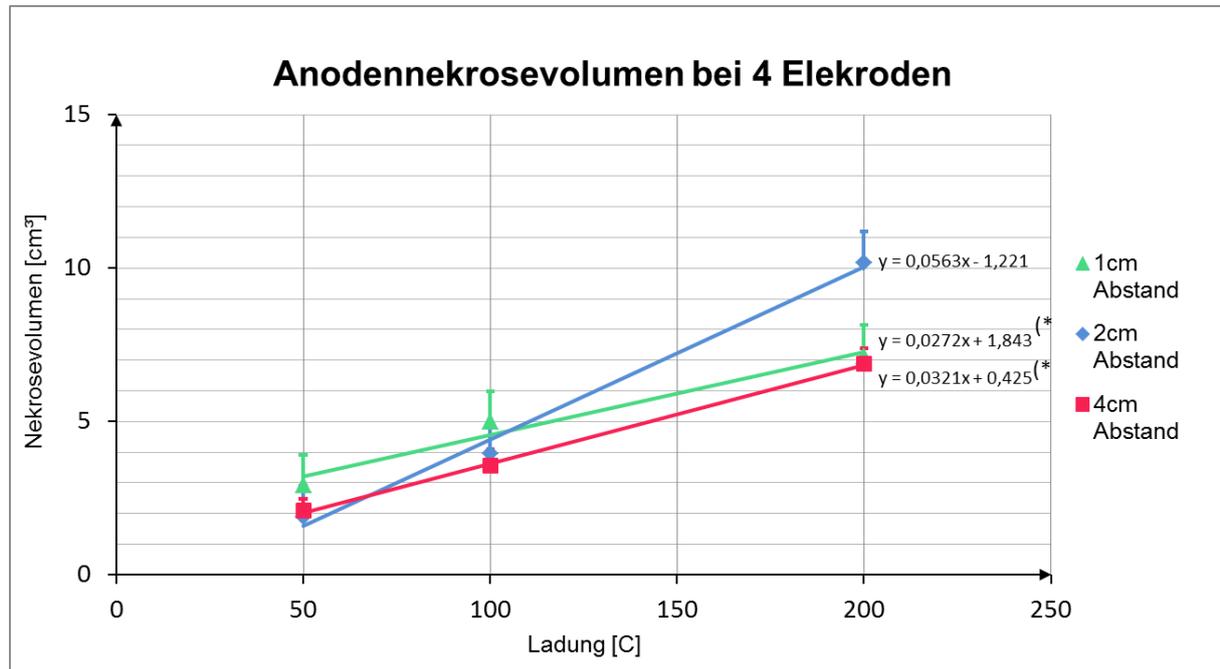


Abbildung 22: Entwicklung des Nekrosevolumens an der Anode in Abhängigkeit von der Coulombzahl und verschiedenen Elektrodenabständen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Im Gegensatz zu den Ergebnissen an der Kathode wurde durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm hier eine Abnahme des Nekrosevolumens erzielt, welche jedoch nicht signifikant war (siehe Tab. 9).

Tabelle 9: Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Nekrosevolumens an der Anode durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 400 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 200 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	200 C	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
1	2,91	7,13	- 4,22 ($p = 0,003$)	+ 144,7
2	1,90	10,18	- 8,29 ($p < 0,001$)	+ 436,3
4	2,08	6,87	- 4,79 ($p < 0,001$)	+ 228,9
Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
50	2,91	2,08	0,83 ($p = 0,070$)	- 28,5
100	4,99	3,55	1,44 ($p = 0,105$)	- 28,9
200	7,13	6,87	0,26 ($p = 0,761$)	- 3,70

Abbildung 23 zeigt die Entwicklung des Gesamtnekrosevolumens aus der Summe von Anoden- und Kathodennekrosevolumen:

Bei Anwendung von vier Elektroden mit dem Abstand 1 cm ließ sich die Gerade mit der Gleichung $y = 0,0466x + 6,129$ schätzen. Bei 2 cm Elektrodenabstand wurde die Gerade durch die Formel $y = 0,125x - 0,011$ und bei 4 cm $y = 0,0779x + 3,476$ beschrieben.

Mittels Vergleich der Modellgütemaße konnte für die Datenreihen bei 1 cm ($R^2 = 0,432$; $p = 0,120$ für das lineare Modell und $R^2 = 0,616$; $p = 0,050$ für das exponentielle Modell) und 2 cm ($R^2 = 0,83$; $p < 0,001$ für das lineare Modell und $R^2 = 0,913$; $p < 0,001$ für das exponentielle Modell) Elektrodenabstand eine exponentielle Dosis-Wirkungs-Beziehung angenommen werden. Bei einem Elektrodenabstand von 4 cm ($R^2 = 0,627$; $p = 0,010$ für das lineare Modell gegenüber $R^2 = 0,616$; $p = 0,050$ für das exponentielle Modell) wurde ein linearer Zusammenhang der Dosis-Wirkungs-Beziehung angenommen.

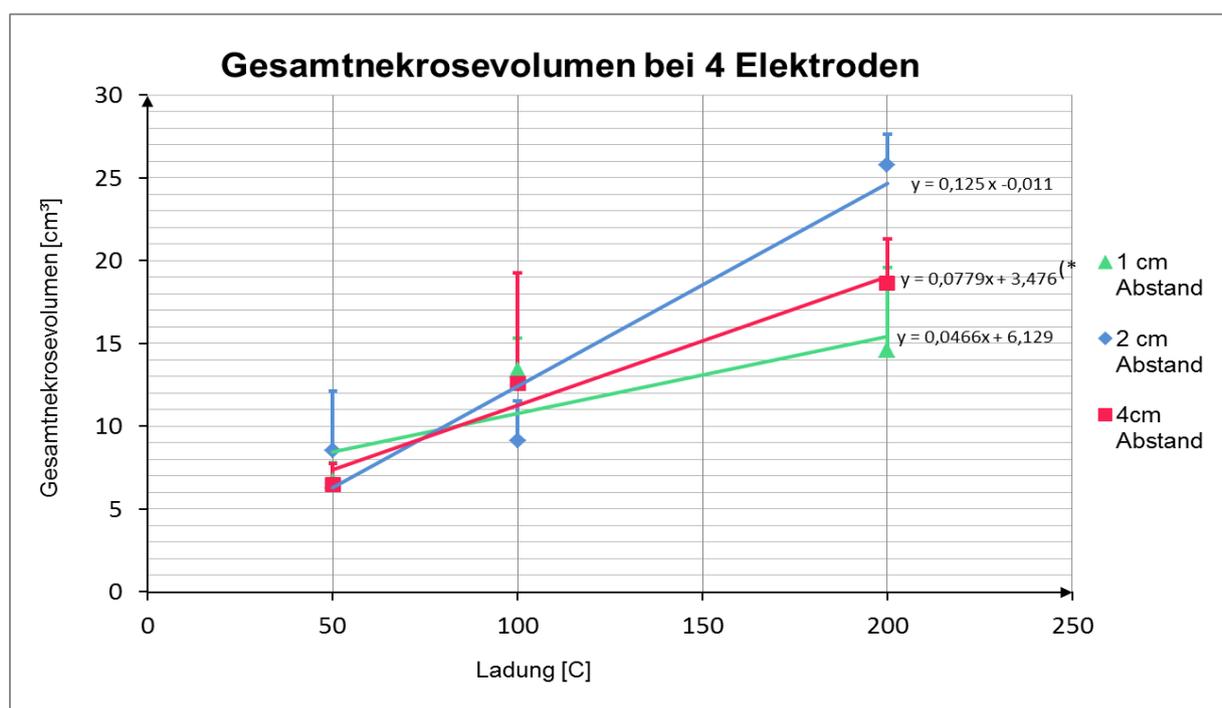


Abbildung 23: Entwicklung des Gesamtnekrosevolumens als Summe aus den Einzelvolumina an Anode und Kathode in Abhängigkeit von der Coulombzahl bei verschiedenen Elektrodenabständen. Darstellung der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen (SD +/- 1) als Punktdiagramm mit zugehörigen Regressionsgeraden. Die definierenden Geradengleichungen sind angegeben. Mit (*) sind die Geraden bezeichnet, für die ein lineares Modell geschätzt wird

Insgesamt konnten durch Erhöhung der Ladungsdosis von 50 C auf 200 C signifikante Effekte auf das Nekrosevolumen erzeugt werden (siehe Tab. 10): Die Erhöhung

der Ladung von 50 C auf 200 C bewirkte bei einer Elektrodendistanz von 1 cm eine Zunahme des Nekrosevolumens von 116,9 % ($6,72 \text{ cm}^3$ auf $14,58 \text{ cm}^3$; $p = 0,014$), bei einem Abstand von 2 cm eine Steigerung um 202,5 % (von $8,52 \text{ cm}^3$ auf $25,78 \text{ cm}^3$; $p < 0,001$) und bei 4 cm einen Volumenzuwachs von 186,4 % ($6,50 \text{ cm}^3$ auf $18,62 \text{ cm}^3$; $p < 0,001$).

Tabelle 10: Tabellarische Zusammenstellung der Änderung des Gesamtnekrosevolumens durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C bzw. des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte bei 50 C und 200 C, sowie deren absolute und relative Differenz

Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Erhöhung der Ladung von 50 C auf 200 C				
Elektrodenabstand in cm	50 C	200 C	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
1	6,72	14,58	- 7,86 ($p = 0,014$)	+116,9
2	8,52	25,78	- 17,25 ($p < 0,001$)	+ 202,5
4	6,50	18,62	- 12,12 ($p < 0,001$)	+ 186,4
Veränderung des Nekrosevolumens in cm^3 durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm				
Ladung in C	1 cm	4 cm	Mittlere Differenz in cm^3	Nekrosevolumenänderung in %
50	6,72	6,50	0,22 ($p = 0,779$)	- 3,3
100	13,37	12,57	0,80 ($p = 0,819$)	- 6,0
200	14,58	18,62	- 4,04 ($p = 0,147$)	+ 27,9

Da sich das Gesamtnekrosevolumen aus der Summe von kathodischen und anodischen Nekrosevolumina berechnet und an der Anode durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes eine nicht-signifikante Abnahme und an der Kathode eine nicht-signifikante Zunahme der Nekrosevolumina resultierte, zeigte die Entwicklung des Gesamtvolumens durch diese Maßnahme ebenfalls eine nicht-signifikante Inhomogenität (siehe Tab. 10).

4.4 Vergleich der Gesamtnekrosevolumina bei Applikation von vier und zwei Elektroden

Durch Anwendung der doppelten Elektrodenzahl (vier Elektroden) ließ sich in den meisten Fällen eine signifikante Steigerung des Nekrosevolumens erreichen (siehe Tab. 11). Eine Ausnahme bildete hier die Kombination aus 100 C Ladung bei einem Elektrodenabstand von 2 cm und 4 cm. Hier konnte keine Zunahme des Nekrosevolumens gezeigt werden ($p = 0,207$ und $p = 0,196$).

Als effektivste Einstellung (maximale Steigerung des Nekrosevolumens) konnte in der Tabelle die Kombination 100 C und 1 cm Elektrodendistanz angesehen werden.

Hier wurde eine signifikante Nekrosevolumensteigerung um 326,5 % ($p < 0,001$) gezeigt.

Tabelle 11: Tabellarische Darstellung und Vergleich der Gesamtnekrosevolumina bei der Applikation von zwei und vier Elektroden, sowie bei den angewendeten Ladungen und Abständen. Gezeigt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte sowie deren absolute und relative Differenz

Ladung in C	Elektrodenabstand in cm	Gesamtnekrosevolumen bei 2 Elektroden in cm ³	Gesamtnekrosevolumen bei 4 Elektroden in cm ³	Mittlere Differenz in cm ³	Nekrosevolumenänderung in %
50	1	2,39	6,72	- 4,33 ($p < 0,001$)	180,7
	2	2,66	8,52	- 5,86 ($p = 0,046$)	220,3
	4	2,72	6,50	- 3,78 ($p = 0,001$)	138,9
100	1	3,14	13,39	- 10,25 ($p < 0,001$)	326,5
	2	7,53	9,11	- 1,58 ($p = 0,207$)	21,0
	4	7,33	12,57	- 5,24 ($p = 0,196$)	71,5
200	1	7,40	14,58	- 7,18 ($p = 0,021$)	97,0
	2	11,38	25,78	- 14,40 ($p < 0,001$)	126,6
	4	13,24	18,62	- 5,38 ($p = 0,039$)	40,7

4.5 Vergleich der Nekrosevolumina an Anode und Kathode

Der Vergleich der an allen Anoden und Kathoden erzeugten Nekrosevolumina zeigte, dass an der Kathode signifikant größere Ablationsvolumina zwischen 130,7 % - 264,2 % erzeugt wurden. Eine Ausnahme bildete hier die Einstellungskombination 100 C und 2 cm Elektrodenabstand. Hier wurde kein signifikant größeres Nekrosevolumen an der Kathode beobachtet (Anodennekrosevolumen: 2,57 cm³, Kathodennekrosevolumen: 3,47 cm³; $p = 0,106$) (siehe Tab. 12).

Tabelle 12: Tabellarische Darstellung und Vergleich der Nekrosevolumina an Anode und Kathode bei den verschiedenen Einstellungskombinationen. Gezeigt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte, sowie deren absolute und relative Differenz

Ladung in C	Elektrodenabstand in cm	Anodennekrosevolumen in cm ³	Kathodennekrosevolumen in cm ³	Mittlere Differenz in cm ³	Differenz in %
50	1	1,14	1,83	- 0,69 ($p = 0,021$)	130,7
	2	0,95	2,51	- 1,56 ($p = 0,014$)	264,2
	4	0,98	2,00	- 1,02 ($p < 0,001$)	204,0
100	1	1,95	2,96	- 1,01 ($p = 0,090$)	151,8
	2	2,57	3,47	- 0,90 ($p = 0,106$)	135,0
	4	2,49	4,32	- 1,83 ($p = 0,034$)	173,5
200	1	3,06	4,29	- 1,23 ($p = 0,046$)	140,2
	2	4,41	7,72	- 3,31 ($p < 0,001$)	175,0
	4	4,15	7,12	- 2,97 ($p = 0,004$)	171,6

4.6 pH-Wert-Entwicklung im Anwendungsbereich der ECL

Abbildung 24 und 25 zeigen die Entwicklung des pH-Wertes und damit der ablativen Potenz im Verhältnis zur radiären Distanz von der Elektrode. Die Änderungen des pH-Wertes waren in unmittelbarer Nähe (Abstand 0,5 cm) am größten und glichen sich bei zunehmendem Abstand dem physiologischen pH-Wert an:

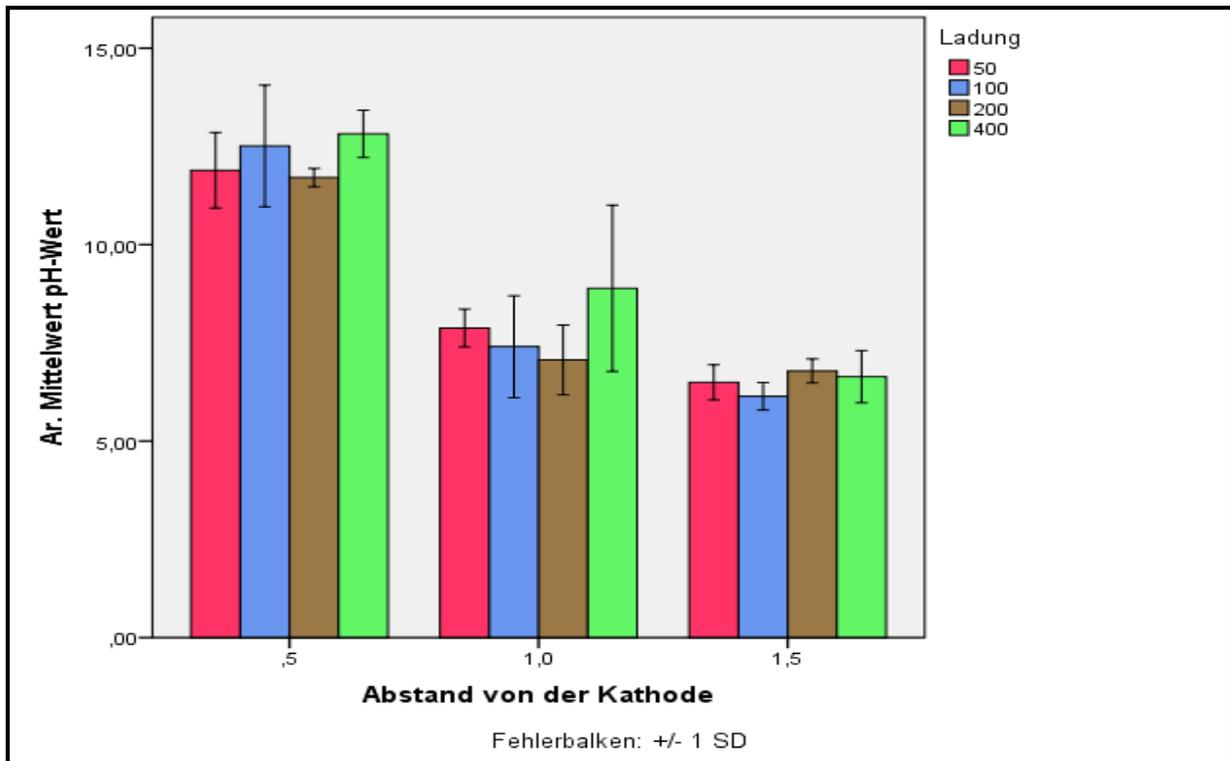


Abbildung 24: pH-Werte um die Kathode in Abhängigkeit vom Abstand zur Elektrode bei verschiedenen Coulombdosen. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte der pH-Werte bei den angewendeten Ladungen sowie die Standardabweichungen (n = 12)

An der Kathode (siehe Abb. 24) lagen die arithmetischen Mittelwerte der pH-Werte bei einer Distanz von 0,5 cm, abhängig von der applizierten Ladung im Bereich von 11,71 - 12,77, bei 1,0 cm zwischen 7,07 - 8,89 und bei 1,5 cm zwischen 6,14 - 6,64 (p-Wert für signifikante Gruppenunterschiede (zwischen den Gruppen) < 0,001).

An der Anode (siehe Abb. 25) wurden bei einem Abstand von 0,5 cm zur Elektrode abhängig von der Coulombdosis mittlere pH-Werte von 0,61 - 0,85 gemessen, bei einem Abstand von 1,0 cm arithmetische pH-Mittelwerte von 2,28 - 4,29 und bei 1,5 cm Distanz zur Elektrode 6,41 - 5,90 (p-Wert für signifikante Gruppenunterschiede (zwischen den Gruppen) < 0,001).

Es konnte gezeigt werden, dass der pH-Wert an Anode sowie Kathode unabhängig von der applizierten Coulombdosis war: An der Anode ergab die Auswertung für 50 C

einen mittleren pH-Wert von 3,09, bei 100 C 3,75, bei 200 C 3,49 und bei 400 C 3,25 (p-Wert für signifikante Gruppenunterschiede (zwischen den Gruppen) = 0,940).

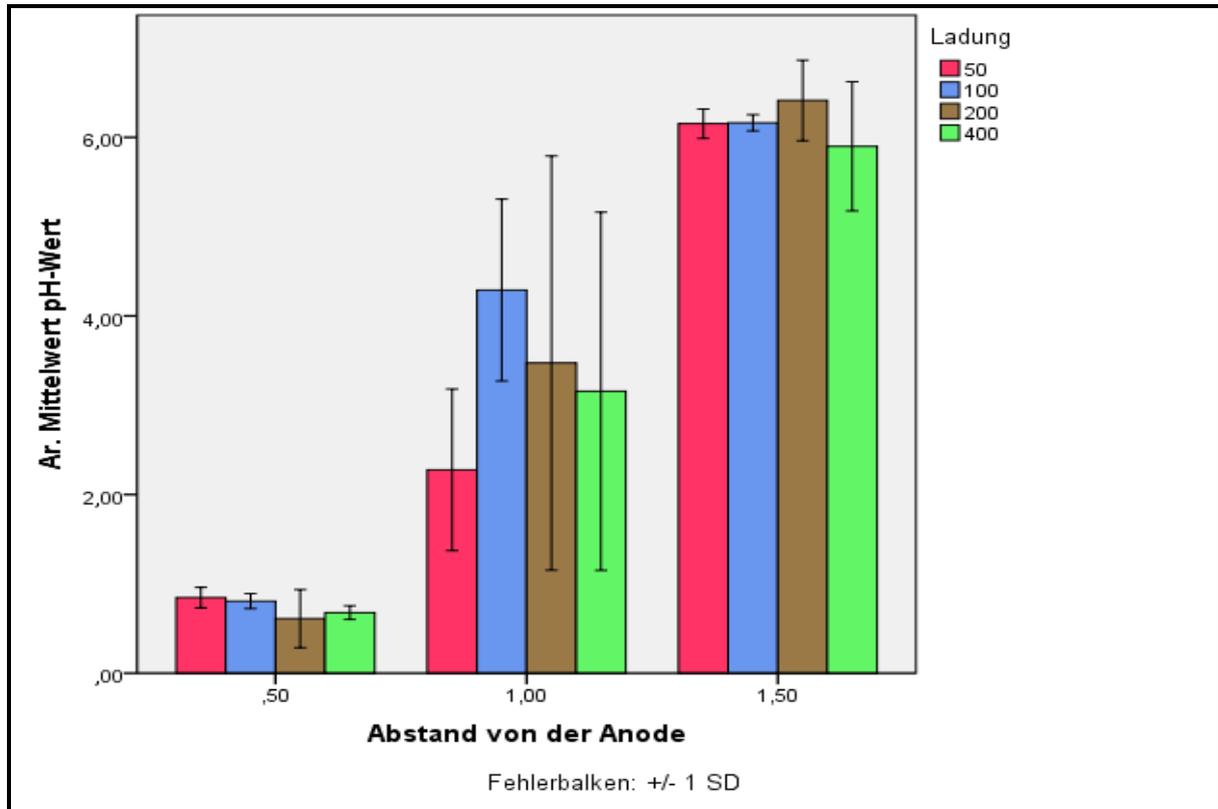


Abbildung 25: pH-Werte um die Anode in Abhängigkeit vom Abstand zur Elektrode bei verschiedenen Coulombdosen. Gezeigt sind die arithmetischen Mittelwerte der pH-Werte bei den angewendeten Ladungen sowie die Standardabweichungen (n = 12)

Die statistische Auswertung an der Kathode ergab für 50 C einen mittleren pH-Wert von 8,75, bei 100 C 8,68, bei 200 C 8,52 und bei 400 C 9,44 (p-Wert für signifikante Gruppenunterschiede (zwischen den Gruppen) = 0,890).

5 Diskussion

5.1 Weiterentwicklung des Perfusionsmodells und Versuchsaufbau

Im Rahmen von Arzneimittelstudien sind präklinisch Studien zur Ermittlung von Wirkungs- und Nebenwirkungsprofilen von innovativen Substanzen unverzichtbar. Analog erfordert auch die Einführung einer Therapiemethode ein stufenweises Vorgehen, bis sie klinisch initialisiert werden kann.

In der Regel werden neue Therapiemethoden zunächst als in vivo-Experimente am lebenden Tier erprobt. Dieses Vorgehen bedeutet neben der Auseinandersetzung mit ethischen Aspekten auch eine erhebliche finanzielle sowie logistische Herausforderung.

Mit dem Ziel der Vermeidung von Tierversuchen wurde in der vorliegenden Arbeit ein in vitro Modell zur Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehung bei der ECL entwickelt. Dazu wurde das von Lubienski und Bitsch [7, 35] etablierte Perfusionsmodell für Rinderlebern auf die Bedingungen an der Schweineleber (siehe Kap. 3) übertragen. Die dafür notwendigen Modifikationen beinhalteten nicht nur Veränderungen am Versuchsaufbau, sondern auch individuelle Anpassungsmaßnahmen an das einzelne Versuchsorgan. Beispielsweise erforderte die Einstellung eines physiologischen portalvenösen Druckes die Entwicklung eines Adapters, welcher trotz anatomischer Kaliberschwankungen den Zugang zur Portalvene ermöglicht.

Dieses in der hier vorliegenden Arbeit gezeigte Versuchsmodell ist unter der Berücksichtigung einschlägiger Datenbanken wie „Pubmed“ und „Medline“ das erste Perfusionsystem, mit dem in vitro Untersuchungen zur ECL durchgeführt werden können. In Vorversuchen wurden Bedingungen etabliert, die die Funktionstüchtigkeit des Modells mit korrekter Integration des Organes gewährleisten. Ohne Perfusion kommt in der nativen Leber ein suffizienter Stromfluss während ECL mit substanzieller Ionenverschiebung und Gewebsdestruktion nur bei Elektrodenabständen unter 2 cm zustande. Bei Vergrößerung des Elektrodenabstandes wird eine Elektrolyse in der nicht-perfundierten Leber durch Unterbrechung des kontinuierlichen Stromflusses unmöglich. Als Ursache wird eine reduzierte Leitfähigkeit (abhängig von der Ionenkonzentration und der Temperatur) und ein erhöhter Widerstand im avitalen, nicht-perfundierten und untemperierten Leberparenchym angenommen. Durch Integration des Versuchsorganes in das Perfusionsystem konnte ein Stromfluss bei Elektro-

denabständen bis zu 120 mm aufrechterhalten werden, was sich durch Ausbildung der typischen Nekrosezonen manifestierte. Die Verwendung einer unversehrten, kompletten Leber direkt ex vivo mit initialer Spülung und Integration in ein Perfusionsystem muss somit als Mindestvoraussetzung für die Untersuchung der ECL im Lebergewebe angesehen werden.

Der hier vorgestellte Versuchsaufbau verzichtet ebenso wie das Modell von Lubienski und Bitsch [7, 35] auf die Verwendung einer gepufferten Perfusionslösung. Als Gewebepuffersysteme sind in der Leber Proteine und organische Phosphate relevant, im Blut vor allem das offene Bicarbonatsystem [2, 41]. Aus der Arbeit von Nilsson und Fontes lässt sich entnehmen, dass für die Pufferung der bei einer ECL anfallenden Produkte interstitielle Puffersysteme, wie Proteine, eine besondere Bedeutung haben [41]. In vivo Experimente zeigen die Induktion von intravasalen Thromben im Bereich um die Elektroden [50, 69, 71]. Bereits Nordenström beobachtete, besonders im ödematös geschwollenen Bereich um die Kathode, die Kompression zuführender Kapillaren [43]. Konsekutiv ist die Perfusion des betroffenen Nekroseareals reduziert, sodass Puffersysteme des Blutes auch in vivo eine untergeordnete Rolle spielen (siehe unten).

Totović et al. konnten durch Versuche zur Konservierung der porcinen Leber zeigen, dass bei einer initialen Spülung mit Elektrolytlösung und anschließender hypothermer Konservierung bei 2 °C - 4 °C nach sechs Stunden erste Veränderungen in der Ultrastruktur der Hepatozyten auftreten [61]. Die Transplantation einer initial mit Ringerlösung gespülten und unter hypothermen Bedingungen (2 °C - 4 °C) für 2 - 4 Stunden gekühlten Leber durch Lie et al. erwies sich als erfolgreich und zeigte eine gute post-implantative Leberfunktion [33].

Auf Basis dieser Versuchsergebnisse wurde in der vorliegenden Untersuchung bei Einhaltung einer Ischämiezeit von maximal 45 Minuten unter Hypothermie von einem Erhalt der Leberkonstitution mit integerer Hepatozytenfunktion bei Wiedererwärmung im Perfusionsystem ausgegangen. Selbst nach normothermer, vierstündiger extrakorporaler Perfusion bleibt die Leberfunktion intakt [55].

Die Kenntnis der Tumorgröße sowie seiner Lagebeziehung zu empfindlichen Nachbarstrukturen ist substantiell für die Dosisplanung und die Positionierung der ECL-Elektroden.

In vorangegangenen Arbeiten erfolgte die Positionierung der Platinelektroden entweder ohne Hilfsmittel oder unter sonographischer bzw. CT-gesteuerter Kontrolle. Bei diesem Vorgehen ist mit zwei Fehlerquellen zu rechnen:

Die Position und der Abstand der Elektroden kann zwar im subkapsulären Niveau exakt bestimmt werden, die Positionierung der Elektrodenspitzen im Zielgewebe gelingt allerdings auch mit unterstützender sonographischer Kontrolle bestenfalls näherungsweise. Ein paralleler Verlauf der Elektroden zueinander kann nicht gewährleistet werden. Diese Fehlerquelle gewinnt an Bedeutung, je mehr Elektroden räumlich zueinander appliziert werden sollen. Trotz Ausschöpfung der präoperativen Diagnostik, die eine Lokalisation des Tumors ermöglicht, wird der Therapieerfolg durch die praktische Ausführung limitiert.

Bei den hier beschriebenen Versuchsbedingungen (siehe Kap. 3) dienen acht Kupferschwenkarme als Halterung für die Elektroden und Elektrodenkabel. Im intraoperativen Setting sind vergleichbare Vorrichtungen nicht implementiert.

Hinzu kommt, dass es mit Fortschreiten der ECL zu einer therapeutisch induzierten, zunehmenden Mazeration der Leberkonsistenz um die Elektroden kommt. Der Bereich um die Kathode wird zunehmend ödematös und die Elektrode verliert ihren Halt im Gewebe. Resultat ist ein Stabilitätsverlust und eine unkontrollierte Deviation der Elektroden mit Auswirkung auf die Nekroseform.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelte Plexiglasschablone (siehe Abb. 6) beseitigt beide Fehlerquellen stellt die Reliabilität der Versuche sicher. Die Plexiglasschablone mit parallel verlaufenden Perforationen in definierten Abständen (hier 5 mm) erlaubt eine exakte Elektrodeninsertion auf Kapseloberfläche. Auch bei konvexer oder konkaver Oberflächenstruktur kann eine Applikation im rechten Winkel zur Kapseloberfläche sichergestellt werden. Die Plexiglasschablone dient weiterhin als Führungsschiene, sodass ein paralleler Verlauf der Elektroden auch im tieferen Lebergewebe beibehalten wird.

Die Perforationen ermöglichen eine Insertion von beliebig vielen Elektroden in Anordnung eines Quadrates oder Rechtecks mit variabler Kantenlänge.

Kritisch betrachtet werden muss die Tatsache, dass zur Integration in das hier vorgestellte Perfusionsmodell sowie auch in anderen Versuchsaufbauten [4, 7, 50, 71] ausschließlich Lebern verwendet wurden, welche durch tierärztliche Kontrolle als gesund identifiziert wurden. Im Rahmen maligner Neoplasien wird typischerweise eine

Umorganisation des betroffenen Gewebes [17], unter anderem durch eine verstärkte Vaskularisierung, beobachtet. Aus der Tumorphysiologie resultiert ein geringerer Widerstand der malignen Zellen mit konsekutiv erhöhter Leitfähigkeit [23]. Der applizierte Strom fließt entlang des geringsten Widerstandes und erzeugt eine größere Nekrosezone. Daraus resultiert eine Effektivitätssteigerung der ECL bei Tumoren im Vergleich zu gesundem Gewebe. Da sich verschiedene Tumorentitäten in ihrer Leitfähigkeit unterscheiden, diskutierten Xin et al. [74] sogar eine Adaptation der Stromstärke nach histologischem Befund.

Die Auswirkungen der ECL auf den Zellverbund (Dehydratation, pH-Wert-Veränderung, zytotoxische Ionisierung) sind unspezifisch und werden in maligne veränderten sowie in gesundem Leberparenchym gleichermaßen beobachtet [38].

5.2 Bedeutung der ermittelten Dosis-Wirkungs-Beziehung bei ECL im Perfusionsmodell der isolierten Schweineleber

Die Arbeiten des schwedischen Forschers Nordenström aus dem Jahre 1983 gelten als Basis für die weitere Erforschung der Wirkungsweise und Anwendungsmöglichkeiten der ECL. Nordenström empfahl eine Applikation von 100 C pro Zentimeter Tumordurchmesser [43]. Ergänzt wurden diese Vorgaben neben den Arbeiten von Nilsson et al. [41, 65] vor allem durch klinische Anwendungen an über 10.000 Patienten in China durch Xin et al. [74], welche zeigten, dass die Größe der erzeugten Nekrose auch von der Tumorentität abhängig ist [76] und die Effektivität der Methode durch das Platzieren beider Elektroden im Zielgewebe erhöht wird. Aus dieser klinischen Anwendung gingen jedoch keine kontrollierten Studien mit Evidenz-basierten Empfehlungen zu Dosisparametern, Elektrodeninsertion, elektrischen Parametern sowie zur Sicherheit der Methode im Gewebe hervor [49, 71].

Ren et al. konnten zeigen, dass außer den elektrischen Parametern auch der Elektrodenabstand Einfluss auf die Nekrosezone nimmt und plädierten dafür, die applizierte Coulombzahl nicht auf den Tumordurchmesser, sondern auf dessen Volumen zu beziehen [49]. Für die von Nordenström initial proklamierten 100 C konnten Ren et al. keine wissenschaftliche Grundlage sehen, sondern bewerteten diese Vorgabe als erträglichen Kompromiss zwischen Applikationsdauer und Toleranzschwelle der Patienten (Schmerz) durch einen zu starken Stromfluss [49].

Auch andere Autoren konstatierten, dass die Auswahl der elektrischen Parameter und des Elektrodenabstandes auf den Erfahrungen des Anwenders basiert und eine hinreichende Evidenz nicht zu erkennen ist. In der aktuell verfügbaren Literatur finden sich zwar Hinweise zur Wahl von Dosisparametern mit Adaptation an Spezies und Gewebeentität, allerdings meist im Rahmen von Versuchsreihen mit übergeordneten Fragestellungen. So verwendeten Wemyss-Holden et al. für Versuche zur Verträglichkeit der ECL an der Schweineleber eine Dosisparameter-Kombination von 100 C und 50 mV [71, 72]. Im Vergleich dazu wurden in einer Studie über die Koinzidenz des Systemischen Inflammatorischen Response Syndroms (SIRS) bei ECL-Applikation in der Schweineleber Dosen von 400 C - 1000 C und 200 mA verwendet [60].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in der verfügbaren Literatur der Einfluss verschiedener Parameter auf die Größe des resultierenden Nekrosevolumens, jeweils unter eigenen Versuchsbedingungen, untersucht wurde. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden erstmalig die in der Literatur bekannten Parameter unter standardisierten Bedingungen auch auf deren Effektstärke hin untersucht (Kapitel 4.2).

Verfügbare Daten zur ECL mit entsprechender Adaptation der Dosisparameter wurden in der Regel an Kleintieren (Ratte [49], Hamster [54], Maus [24] und Kaninchen [53]) sowie an unterschiedlichen Tumorentitäten durchgeführt. Erkenntnisse über Dosis-Wirkungs-Beziehungen aus solchen Arbeiten sind aufgrund der stark divergierenden Zielvolumina nur bedingt auf eine Anwendung am Menschen übertragbar. Die in Versuchen am Kleintier applizierten Dosierungen sind für eine Anwendung am Menschen zu gering, um einen auswertbaren Effekt zu erzeugen. So ist die Etablierung einer suffizienten Dosis-Wirkungs-Beziehung als Basis für eine klinische Dosisplanung Forderung zahlreicher Autoren [42, 67, 70]. Mit einem mittleren Organgewicht von 2125 g +/- 425 g der in unseren Versuchen verwendeten Schweinelebern werden annäherungsweise menschliche Proportionen zur Erhebung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung imitiert.

Auch die Beschaffenheit des Elektrodenmaterials ist in der Literatur variabel: So verwendeten Schauble et al. [54] rostfreien Stahl für die Melanomtherapie bei Hamstern, während Samuelsson et al. Kupferelektroden zur Ablation von Lungenmetastasen einsetzen [52]. Von den meisten Arbeitsgruppen, wie auch in dieser Arbeit, werden

heute Platinelektroden verwendet, denen zusätzliche antineoplastische Eigenschaften zugeschrieben werden [38, 51]. Das Material gilt zudem als chemisch inert und recycelbar. Die Elektroden haben einen Durchmesser von 0,5 mm - 1 mm [11, 49]. Zur Vergleichbarkeit von Ergebnissen muss aber neben der Einheitlichkeit des Elektrodenmaterials auch eine Standardisierung der nicht isolierten Elektrodenspitze gefordert werden, welche in ihrer Funktion als Elektronendonator und -akzeptor Einfluss auf die Größe sowie Form des Nekroseareals nimmt [38, 50].

Die geometrische Form der erzeugten Nekrosezone wird in der Literatur uneinheitlich beschrieben und mathematisch unterschiedlich ermittelt. Von Euler et al. [67] verwendeten zur Berechnung der Nekrosevolumina an der Rattenleber die Formel für die Volumenbestimmung einer Kugel, während an der Hundeleber die Formel für zylindrische Volumina zugrunde gelegt wurde. Die Ursache für diese Divergenz wurde wissenschaftlich nicht näher untersucht. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Spezies und Nekroseform ist unwahrscheinlich, daher wird angenommen, dass die Anwendung geringerer elektrischer Parameter beim Versuchstier Ratte zur Ausprägung einer sphärischen -anstatt einer zylindrischen Nekroseform- bei höheren Coulombdosen führt. Prinzipiell ist die Form des Nekroseareals auch durch die Länge der wirksamen Elektrodenspitze beeinflussbar. Wemyss-Holden bezeichnete die mittels ECL erzeugten Nekrosezonen in Experimenten an der Schweineleber als ellipsoid [71, 72].

Makroskopisch wurden die in den vorliegenden Versuchen erzeugten Ablationsareale als zylindrisch beurteilt und dementsprechend mathematisch berechnet.

Zusammenfassend ist die Datenlage bezüglich verwendeter Spannung, Stromstärke, Coulombzahl und Versuchsaufbau bei verschiedenen Versuchstierarten als inhomogen zu bewerten, sodass wir als Basis unserer Angaben zur Dosis-Wirkungs-Beziehung eigene Messungen an der Spezies Schwein durchführten.

Die Positionierung der Elektroden und das Anoden-Kathoden-Verhältnis war in der Vergangenheit ebenfalls Gegenstand der ECL-Forschung. Nordenström schlug die Platzierung einer zentralen Anode mit peripheren Kathoden variabler Anzahl vor. Ausgehend von der Annahme, dass die meisten malignen Neoplasien an ihrer Oberfläche eine negative Ladung tragen, sollte so die Streuung von Mikrometastasen verhindert werden [45]. Diese Hypothese konnte jedoch nie belegt werden. Xin et al. verließen bei ihren klinischen Anwendungen diese Empfehlungen und platzierten je

nach Größe der zu therapierenden Läsion mehrere Kathoden im Zentrum und eine äquivalente Anzahl Anoden im nicht-afektierten Gewebe in der Peripherie. In ihren Versuchsreihen am Lungenkarzinom wurden zur Protektion des gesunden Gewebes die peripheren Kathoden noch im distalen Tumorgewebe platziert [77]. In Experimentreihen an Mäusen mit artifiziell induzierten, subkutanen Metastasen wurde dagegen eine Anode im Tumorzentrum platziert, während geräte- und tumorabhängig mehrere Kathoden den Tumorrund säumten [11]. Die Ergebnisse von Turler et al. [62] und Maintz et al. [37] an der Rattenleber über die Auswirkung unterschiedlicher Elektrodenpositionierung und Coulombdosen auf das resultierende Nekrosevolumen demonstrieren einen Vorteil der Applikation einer zentralen Anode mit peripheren Kathoden. Diese Konstellation erweist sich gegenüber der Anwendung mit einer zentralen Kathode als effektiver bezüglich des erzielbaren Nekrosevolumens.

Von Euler et al. [66] versuchten, die divergierenden Ergebnisse hinsichtlich der Nekrosezonen von Anode und Kathode mit verschiedenen histologischen Tumorentitäten in Verbindung zu bringen. Der ECL-Generator ECU 300 der Firma Söring erlaubt pro Therapiekanal die Steuerung von vier Elektroden variabler Polung.

Da die vorgestellten Versuche an gesundem Lebergewebe durchgeführt wurden, bei dem die Positionierungsoptionen unabhängig von einer Tumorsilhouette waren, wurde ein quadratisches Positionierungsmuster, wie es sich bereits in Arbeitsgruppen von Hintz et al. [25] und von Euler et al. [67] bewährt hat, gewählt. Unter diesen Bedingungen bestehen eine äquivalente Elektrodenrelation und einheitliche Anoden-Kathoden-Distanzen. Weiterhin ist die exakte Zuordnung zweier entgegengesetzt geladener Elektroden, welche über die geringste Distanz, eine Kantenlänge, in Verbindung stehen, von Vorteil. Der Stromfluss findet so zwischen einem Elektrodenpaar statt, während bei sternförmiger Anordnung der Strom zwischen einer zentralen Elektrode und beliebig vielen peripheren Elektroden fließt. Der Einsatz von Elektrodenpaaren in einem 1:1-Verhältnis erleichtert die Vergleichbarkeit von Ergebnissen aus Versuchsreihen mit einem oder mehreren Elektrodenpaaren.

Parallel zu den beschriebenen Versuchsreihen mit Insertion zweier Elektrodenpaare in quadratischer Anordnung wurden separate Testreihen mit Positionierung von vier Elektroden mit zentraler Anode in Form eines gleichschenkligen Dreiecks durchgeführt (Daten nicht gezeigt). Die durch diese abweichende Elektrodenschaltung und -insertion erzeugten Gesamtnekrosevolumina unterschieden sich nicht signifikant von

den Ergebnissen bei quadratischer Anordnung zweier Elektrodenpaare. Diese Beobachtung lässt sich durch die Tatsache erklären, dass im Gegensatz zur Anordnung als Quadrat drei Kathoden appliziert wurden, welche schon durch Ödembildung ein größeres Ablationsareal induzieren.

Die oben beschriebene Annahme, dass bei der Anordnung zweier Elektrodenpaare im Quadrat der Stromfluss zwischen einer definierten Anode und Kathode stattfindet und somit das Volumen der resultierenden Nekrosezone reproduzierbar und konstant ist, wird durch eine interessante Beobachtung im Rahmen der Testreihen bestätigt:

Bei Anordnung mit zentraler Anode im gleichschenkligen Dreieck zeigte sich die Ausbildung einer großprominenten kathodischen Nekrosezone. Dieser Effekt wird als Resultat anatomischer Variationen der Leberinnenstruktur gewertet, welche zu einer Inhomogenität des intrahepatischen Widerstandes führen, sodass der Strom zwischen der zentralen Anode und den peripheren Kathoden eine dominante Flussrichtung nimmt. Da das Nekrosevolumen direkt abhängig von der Größe des applizierten Stroms ist, resultiert eine vergrößerte Nekrosezone in der bevorzugten Flussrichtung.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie belegen, dass die Wahl des Positionierungsmusters, bzw. die Elektrodenanzahl, signifikanten Einfluss auf die Form und das Volumen der resultierenden Gesamtnekrosezone haben (siehe Kap. 4.2): So wurde neben dem Haupteinflussfaktor Ladung (part. $\eta^2 = 0,572$) der Elektrodenabstand (part. $\eta^2 = 0,122$) und die Elektrodenanzahl (part. $\eta^2 = 0,199$) als quantitative Einflussfaktoren der Nekrosezone beschrieben (jeweils $p < 0,001$).

Robertson et al. [50] zeigten an der Rattenleber, dass mit einer Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 12 mm auf 20 mm eine Zunahme des Nekrosevolumens (hier um 70 % pro 100 C) erzielt werden kann. Dieser Effekt wurde von Wemyss-Holden et al. [70] bestätigt (Verdopplung der Nekrosevolumina bei Erhöhung des Abstandes von 2 mm auf 20 mm) und durch eine Neutralisationsreaktion der sauren und basischen Nekrosezonen erklärt, welche mit Zunahme der Elektrodendistanz ausbleibt.

Die Vergrößerung der Elektrodendistanz für die Dosis 100 C von 1 cm auf 2 cm erzeugte in unserem Perfusionsmodell eine Zunahme des Gesamtnekrosevolumens um 140 %. Die abweichenden Werte von Wemyss-Holden et al. lassen sich mit einem Überlappen der Nekrosezonen bei geringen Elektrodenabständen erklären. In

diesen Fällen wurde das Volumen der Gesamtnekrosezone und nicht die einzelnen Ablationsvolumina von Anode und Kathode bestimmt.

Das Überlappen von Nekrosezonen stellte auch im Rahmen dieser Arbeit ein Problem dar, weil in den Überlappungszonen die Abgrenzung der einzelnen Nekroseareale zu Messungenauigkeiten führen konnte. Dieser Umstand wird als Ursache für die zum Teil stark variierenden Durchmesser der Nekrosezonen angenommen (siehe Abb. 18 - 23).

Die vorliegenden Versuche zeigen, dass bei einer Anordnung von vier Elektroden im Quadrat keine zusätzliche, über einen additiven Effekt hinausgehende, signifikante Volumenzunahme durch Distanzvergrößerung erzielt werden kann (siehe Tab. 8 - 10). Dieser fehlende synergistische Effekt ist unabhängig von der applizierten Coulombzahl. Durch Applikation von zwei Elektrodenpaaren in räumlicher Nähe (1 cm - 4 cm) nahm das erzeugte Nekrosevolumen zwar zu, die erwartungsgemäße Verdoppelung des Nekrosevolumens durch Anwendung der doppelten Anzahl an Elektroden konnte allerdings nicht in allen Fällen erreicht werden (siehe Tab. 11, Kapitel 4.4). Besonders die Kombination von höheren Coulombdosen und größeren Elektrodendistanzen induzierte kleinere Nekrosevolumina (siehe Tab. 8 - 10). Diese Beobachtung lässt sich gleichermaßen an den einzelnen Nekrosevolumina von Anode und Kathode nachvollziehen. Den größten Volumengewinn durch Addition eines weiteren Elektrodenpaares konnte bei der Einstellungskombination 100 C und 1 cm Abstand erzielt werden. Diese Kombination wird als die Effektivste betrachtet. Als Erklärung für dieses Phänomen wäre denkbar, dass die Vergrößerung der Elektrodendistanz zu einer Alteration des Stromflusses führt, was als eine Reduktion der Nekrosevolumina imponiert. Bei Applikation von vier Elektroden müssen darüber hinaus hemmende Interferenzen der über die Kantenlänge in Verbindung stehenden, gleichsinnig geladenen elektrischen Felder berücksichtigt werden, was in einer Reduktion der Gesamtnekrosezone resultiert. Diese Theorie wird durch die Beobachtung unterstützt, dass bei Applikation eines Elektrodenpaares keine Reduktion des Nekrosevolumens bei Distanzvergrößerung resultiert.

Die Demonstration extremer Positionierungsoptionen gelang Wemyss-Holden mit der Insertion von Anode und Kathode in verschiedenen Leberlappen mit einem Abstand von 200 mm [70] und einer Dosis von 300 C. Interessanterweise war eine ungestörte

Elektrolyse auch über die Grenzen der Leberlappen hinweg möglich und induzierte außerdem eine um ca. 30 % vergrößerte Nekrosezone.

Im Rahmen vergangener Studien zur Wirkungsweise der ECL wurden verschiedene Elektrodenabstände untersucht. Die Auswirkung der Distanzzunahme auf die Entwicklung des Nekrosevolumens stand dabei weniger im Focus, vielmehr ergab sich die Elektrodendistanz aus dem zu behandelnden Tumordurchmesser oder der Größe des Versuchstieres. Die Wahl der Elektrodenabstände basiert somit nicht auf einer empirischen Datenlage. Svane und Nordenström implantierten für klinische Studien am Mammakarzinom eine Anode tumorzentral und die Kathode in einer Distanz von 100 mm in Richtung Axilla [59]. Die klinischen Studien von Xin et al. an Patienten mit Lungenkarzinomen ergaben, dass mit einem Nekroseareal von 20 mm um jede Elektrode zu rechnen ist, woraus sich die Empfehlung ergab, die einzelnen Elektroden nicht mehr als 25 mm zu separieren [77]. Song et al. wählten in ihren Versuchen an oberflächlich gelegenen Tumoren Elektrodenabstände zwischen 10 und 20 mm [57]. Diese Vorgaben wurden später von Xin et al. aufgegriffen. In klinischen Studien von Matushima et al. wurden zur Therapie maligner Tumoren Elektrodenabstände von 3 cm - 4 cm umgesetzt [38].

Alle Ergebnisse müssen stets im Zusammenhang mit der eingesetzten Dosis betrachtet werden. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigen in nahezu allen Versuchsansätzen eine signifikante, dosisunabhängige Steigerung des Nekrosevolumens bei zunehmender Erhöhung der Elektrodendistanz (siehe oben). Dieser Effekt, der nur bei Anwendung eines Elektrodenpaares auftrat, war allerdings limitiert: Bei zu einem zu großen Abstand berührten sich die Nekrosezonen nicht und somit konnte keine konfluierende Gesamtnekrosezone ausgehend von Kathode und Anode induziert werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Ladungserhöhung (part. $\text{Eta}^2 = 0,572$) im Vergleich zur Vergrößerung des Elektrodenabstandes (part. $\text{Eta}^2 = 0,112$) einen stärkeren Einfluss auf das Nekrosevolumen hat (siehe Kap. 4.2). Bei Vergrößerung der Elektrodendistanz oder Reduktion der Dosis (Coulomb) konnten histologisch intakte Zellen im Bereich zwischen den einzelnen Ablationsarealen beobachtet werden. Daher sind die ausgesprochenen Empfehlungen zur Wahl des Elektrodenabstandes dosisabhängig und zunächst auf die Verwendung eines Anoden-Kathodenpaares bezogen. Tabelle 3 im Kapitel 4.2 zeigt die tabellarische Zusammenstellung der Einstellungskombinationen, bei denen konfluierende Nekrosezonen erzeugt wurden.

- In dem Modell der isolierten perfundierten Schweineleber können Elektrodenabstände von 1 cm bei Applikation von mehr als 100 C als sicher beurteilt werden.

Bei einem Abstand von 2 cm wurden nur in 50 % der Fälle konfluierende Nekrosezonen bei 400 C detektiert, sodass hier keine sichere Empfehlung gegeben werden kann, diese aber vermutlich durch eine Dosissteigerung erreicht werden könnte. Diese Empfehlungen scheinen mit denen der anderen Autoren [49, 53, 62, 74] übereinzustimmen. Eine generelle Empfehlung von 100 C pro Zentimeter Tumordurchmesser kann nicht befürwortet werden, denn bereits bei einer Dosissteigerung auf 200 C und einer Vergrößerung der Elektrodendistanz auf 2 cm zeigten alle Versuchsansätze Areale histologisch intakter Hepatozyten zwischen den Nekrosezonen. Ähnlich müssen die in dieser Arbeit vorgestellten Geradengleichungen bewertet werden: Die Formulierung von Geradengleichungen zu jeder möglichen Kombination aus Ladung, Elektrodenzahl und -abstand sowie Polung ist insofern vorteilhaft, als dass für jede denkbare Kombination das erzeugte Nekrosevolumen exakt ermittelt werden kann und darüber hinaus prinzipiell auch Prognosen für außerhalb der Gerade liegende Werte erstellt werden können (Daten nicht gezeigt). Allerdings muss berücksichtigt werden, dass das erzeugte Nekrosevolumen eventuell aus einzelnen, nicht konfluierenden Nekroseherden besteht und somit die Anwendung zwecks vollständiger Tumordestruktion nicht empfohlen werden kann.

Inwieweit die im histologischen Präparat morphologisch intakt erscheinenden Zellen zwischen den Nekrosezonen noch vital und teilungsfähig sind, kann das hier vorgestellte Versuchsmodell nicht abschließend beantworten. Zur Klärung dieser Frage sind in vivo Studien indiziert.

- Bei Insertion von vier Elektroden im Verhältnis 1:1 (Kathoden : Anoden) sollte die Elektrodendistanz reduziert werden.

Dieses dient erstens der Sicherung der Kontakte zwischen zwei benachbarten Kathoden-Nekrosearealen (Areale mit dem geringsten Radius) und ist zweitens als Konsequenz der fehlenden Nekrosevolumensteigerung bei zunehmender Kantenlänge zu fordern. Diese Empfehlung wird durch eine Beobachtung von Ren et al. [49] unterstützt, welche zur Therapie des Mammakarzinoms bei Ratten Coulombdosen von 10 C, 40 C, 60 C, 80 C und 100 C bei konstanter Spannung von 8 V einsetzten und die Elektrodenabstände auf 5 mm, 10 mm und 15 mm variierten. Die anschlie-

ßende histologische Begutachtung in dieser Arbeit zeigte, dass bei Elektrodenabständen über 10 mm zunehmend mit isolierten Nekrosezonen zu rechnen ist. In parallel durchgeführten in vivo Versuchen an Ratten wurden artifiziiell erzeugte Mammakarzinome mit einem durchschnittlichen Volumen von 8 cm^3 mit 40 C, 60 C, 80 C und 100 C und variierenden Elektrodenabständen zwischen 3 mm und 10 mm therapiert. Es konnte hierbei keine signifikante Beeinflussung der Tumorkontrollrate durch den Elektrodenabstand detektiert werden. Es ist allerdings möglich, dass durch Erzeugung isolierter Nekrosezonen ab einem Elektrodenabstand von 10 mm die Tumorkontrollrate beeinträchtigt wird.

Bei Elektrodendistanzen unter 5 mm beobachteten die Autoren eine eingeschränkte Anwendbarkeit der ECL einerseits durch eine deutlich erschwerte Elektrodeninsertion und -positionierung, andererseits aber auch durch Kurzschlüsse zwischen den subkapsulär gelegenen Elektrodenspitzen. Die Erfahrungen aus der vorliegenden Analyse lassen vermuten, dass die Kurzschlussreaktion durch eine Elektrodendeviation mit Kontakt der Elektrodenspitzen hervorgerufen wurde. Dieses Problem ist durch die Anwendung der neu entwickelten Platzierungsschablone lösbar.

In der Literatur wird das Größenverhältnis von Anoden- und Kathodennekrosezone kontrovers diskutiert. Während in einigen Publikationen die Läsion um die Anode als größer beschrieben [21, 44, 50, 62] wird, dokumentieren andere Autoren das Nekrosevolumen um die Kathode als das prominentere und toxischere Areal. Um einen maximalen Effektivität zu erzielen empfehlen diese Autoren die Applikation einer zentralen Anode mit peripheren Kathoden [37, 67, 77]. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten Größenverhältnisse präsentieren sich fast ausnahmslos mit signifikant größerer kathodischer Nekrosezone. Wie die Daten im Kapitel 4.5 dieser Arbeit belegen, beträgt das kathodische Nekrosevolumen zwischen 40,2 % - 164,2 % des anodischen Nekrosevolumens. Insgesamt kann anhand der vorliegenden Arbeit der Einfluss der Polung auf die Größe des Nekrosevolumens als mittelstark betrachtet werden (part. $\text{Eta}^2 = 0,270$), wobei beachtet werden muss, dass die Daten bei Applikation von paarigen Elektroden erhoben wurden. Eine klare Tendenz, bei welchen Einstellungskombinationen eine besonders günstige Anoden- /Kathodenrelation genutzt werden kann geht aus den Daten jedoch nicht hervor. Jedoch kann als günstig eine solche Kombination betrachtet werden, bei der die Volumendifferenzen von Anode und Kathode nicht zu stark divergieren, um eine gleichmäßig ausgedehnte Gesamtnekrosezone zu erzeugen.

Der Größenunterschied der Nekrosezonen um die gegensätzlich gepolten Elektroden wird mit einem osmotischen Ungleichgewicht erklärt. An der Kathode resultiert als Folge eine Hyperhydratation und Kolliquationsnekrose ein ödembedingter, größerer Durchmesser. An der Anode imponieren dagegen eine ebenfalls osmotisch bedingte Dehydratation und die Ausbildung einer Koagulationsnekrose. Als mögliche Erklärung für das geringere Nekrosevolumen wird eine Beeinträchtigung der Gewebeleitfähigkeit durch Wasserverlust gesehen, welche den elektrolytischen Prozess behindert [67]. Dieses aus der Literatur bekannte [32] Phänomen der Flüssigkeitsverschiebung mit konsekutiver Ausbildung einer ödematös geschwollenen und einer dehydrierten Nekrosezone, konnte mit dem hier verwendeten Modell der perfundierten Leber bestätigt werden.

Von Euler et al. beschrieben in ihrer Arbeit neben der Ausbildung einer Primärnekrose, welche mit dem Ende der Elektrolyse vollständig ausgebildet ist, an der Anode die postinterventionelle Entstehung einer Sekundärnekrose nach 7 - 14 Tagen. Als Ursache wurden eine Gewebehypoxie sowie das saure Milieu in der Elektrodenperipherie angenommen. Bedingt durch die direkte Aufarbeitung des Zielgewebes nach Elektrolyse konnte mit dem in der Untersuchung verwendeten Modell der perfundierten Leber dieser Effekt nicht analysiert werden.

Die bei der Inspektion der Schnittflächen auffallende dunkelbraune Verfärbung wird auf eine Hämatinsedimentierung im therapeutischen Bereich um die Elektroden zurückgeführt. Ein Hinweis, dass es sich dabei um ein reproduzierbares Phänomen handelt, findet sich in den Arbeiten von Samuelsson et al. [53] und Colombo et al. [14].

Zwei weitere histologische Besonderheiten beschrieben Finch et al. [17] in ihren in vivo Experimenten an der Schweineleber: Die primäre Nekrosezone war umgeben von einer Gewebeschicht mit einer Anreicherung eosinophiler Hepatozyten, welche sich scharf vom umgebenden intakten Gewebe demarkierte. Die an die Elektrode unmittelbar angrenzende Zone war durch eine Kavität charakterisiert, welche mit einer porösen Schicht ausgekleidet war. Diese Schicht wurde bei der histologischen Begutachtung als Zelldebris identifiziert. Ähnliche Beobachtungen wurden nach histologischer Aufarbeitung in den vorliegenden Versuchen gemacht (siehe Abb. 13).

Finch et al. [17] beobachteten bei Versuchstieren 3 - 4 Tage postoperativ nach ECL eine reaktive Infiltration mit Fibroblasten, Leukozyten (besonders Neutrophile) und

Makrophagen sowie eine biliäre Proliferationsaktivität. Von Miklavcic et al. [39] wurde ein ähnliches Phänomen beschrieben, dessen Extension abhängig von der Immunkompetenz des Versuchstieres war. Durch Betrachtung eines isolierten Versuchorgans ex vivo entzieht sich das hier vorgestellte Versuchsmodell der Repräsentation systemischer und immunologischer Wechselwirkungen, sodass in unseren Versuchen kein Korrelat für diese sekundären Einflüsse gefunden werden konnte.

Als histologische Kriterien für Nekrose gelten neben „Zellkernveränderungen (Karyopyknose, Karyorrhesis, Karyolyse), in der HE-Färbung Eosinophilie des Zytoplasmas, histologische Gewebeeinfiltration mit Leukozyten, Demarkation des nekrotischen Gewebes mit Randsaumbildung und Entstehung von Granulationsgewebe“ [48] am vitalen Organ.

Obwohl die zuletzt genannten Kriterien und Definitionen aufgrund der Betrachtung des isoliert perfundierten Organes ex vivo puristisch gesehen nicht möglich sind, werden die Läsionen in dieser Arbeit als Nekrose bezeichnet, denn die induzierten Zellschäden sind mit einer Zellvitalität nicht vereinbar (siehe Kap. 4.2 und 4.3):

An der Anode konnten als Zeichen der Koagulationsnekrose eine starke Eosinophilie sowie pyknotische Zellkerne detektiert werden, die Läppchenbinnenstruktur war weitgehend erhalten. Die Nekrosezone um die Kathode präsentierte sich mit den Charakteristika einer Kolliquationsnekrose: Dazu gehören der Verlust der Anfärbbarkeit der Zellkerne, eine aufgehobene Läppchenarchitektur und ein homogenes Zytosol.

Die pathologischen Veränderungen innerhalb der Nekrosezonen präsentierten sich als einheitlich. Das steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von von Euler et al., die ein Abnehmen der Destruktionsparameter mit zunehmender Distanz zum Elektrodenzentrum sowie eine geringere Toxizität an der Kathode durch ödembedingte Distribution [67] sahen.

Das Lebergewebe außerhalb der sich demarkierenden Nekrosezone präsentierte sich mit homogener Anfärbbarkeit des Zytoplasmas, geordneten Zellbalken, intakter Läppchenarchitektur, gut abgrenzbaren Zellmembranen und typischer Hepatozytenmorphologie mit erhaltenen Zellkernen. Die Gallenkanalikuli waren regelhaft und offen. Zusammenfassend entsprechen diese Befunde einem histologisch gesunden, nicht-afektierten Lebergewebe, was darauf schließen lässt, dass die ECL in diesem Bereich keine morphologischen Zellveränderungen induzierte.

Die Klassifikation der Nekrosesubtypen erfolgte anhand eindeutig vorhandener strukturell morphologischer Veränderungen.

Mithilfe des entwickelten Schnittschemas konnte histologisch belegt werden, dass die makroskopisch sichtbare Nekrosezone mit der histologischen Destruktionszone übereinstimmt. Dies konnten auch andere Arbeitsgruppen [69] belegen.

Im Rahmen experimenteller Studien an Kleintieren wurden von verschiedenen Forschergruppen Dosis-Wirkungs-Beziehungen der ECL ermittelt: Colombo et al. therapierten Mäuse mit genetisch determinierten subkutanen Tumoren mit Coulombdosen zwischen 10 C und 50 C, um den Durchmesser der erzeugten Nekrosezonen postoperativ bestimmen zu können [14]. Es zeigte sich eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung, was auch in Versuchen von Griffin et al. [22] bei Anwendung am Mammakarzinom der Maus bestätigt wurde. Weiterhin beschrieben Samuelson et al. [53] bei Versuchen an Leber und Lunge von Kaninchen eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung. In den oben genannten Studien wurden jeweils Dosen von 2 C - 40 C appliziert.

Robertson fand eine Proportionalität zwischen applizierter Ladung und resultierendem Nekrosevolumen bei der Therapie kleiner Leberläsionen der Ratte, wies aber gleichzeitig darauf hin, dass diese Beziehung in größeren Versuchsmodellen für die klinische Anwendung verifiziert werden müsse [50].

Tatsächlich dokumentierten von Euler et al. für Ratten- und Hundelebern in vivo eine logarithmische Dosis-Wirkungs-Beziehung im Bereich bis 90 C [67], sahen aber im Gegensatz dazu eine lineare Beziehung für niedrigere Coulombdosen. Berendson und Olsson [4] postulierten 1998, dass mit zunehmendem Destruktionsvolumen und konsekutiv vergrößerter Kontaktfläche zu integerem Umgebungsgewebe an dieser Grenzschicht vermehrt Puffer aktiviert werden, woraus eine Neutralisation des toxischen pH-Gradienten resultiert. Auch Wemyss-Holden et al. diskutierten diesen Effekt, ohne jedoch einen logarithmischen Verlauf zu definieren: sie beschrieben ab 75 C lediglich eine Abweichung von der bis dahin linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung [70].

Wemyss-Holden et al. sowie Robertson et al. fanden keinen Zusammenhang zwischen Höhe der applizierter Stromstärke (in mA) und resultierendem Nekrosevolumen bei gleichbleibender Ladung.

Formal gesehen bilden die vorliegenden Daten an der Schweineleber (siehe Abb. 18 - 23 Kap. 4.2 und 4.3) in den meisten Fällen zwar eine exponentielle Dosis-Wirkungs-Beziehung im Bereich bis 200 C bzw. 400 C ab, jedoch kann dabei keine Regelmäßigkeit beobachtet werden. Tatsächlich muss die Klassifikation in eindeutig linear oder exponentiell aus zwei Gründen kritisch hinterfragt werden: Erstens liegen die zur Klassifikation herangezogenen korrigierten R^2 -Werte in den meisten Fällen nah beieinander und weisen außerdem für beide Modelle einen sehr guten „Model fit“ aus. Somit ist aus statistischer Sicht für die meisten Fälle keine eindeutige Entscheidung möglich. Zweitens sind zur sicheren Unterscheidung zwischen linearem oder exponentiellem Modell eventuell weitere Versuche im Bereich höherer Ladungsdosen nötig, da sich exponentieller und linearer Verlauf im Bereich kleiner Werte auf der x-Achse sehr ähnlich sein können.

Hintz et al. [25] postulierten eine exponentielle Verlängerung der Anwendungsdauer mit zunehmender Tumorgroße. Ausgehend von den vorliegenden Ergebnissen im Leberperfusionsmodell kann diese Aussage zum Teil bestätigt werden. Die vom Gerät berechnete und mit der Realzeit übereinstimmende Applikationsdauer war bis zu einer Coulombzahl von ca. 150 C dem erzeugten Nekrosevolumen proportional (siehe Abb. 11). Erst bei einer Applikation von mehr als 150 C ist mit einem exponentiellen Anstieg der Anwendungsdauer zu rechnen. Im Hinblick auf die bevorzugte Dosis von 100 C wird die Anwendungsdauer von 34 Minuten hinsichtlich ihrer Praktikabilität als effizient beurteilt. Im Bereich über 400 C und einer hieraus resultierenden Anwendungsdauer von 134 Minuten wird es schwieriger die Methode im klinischen Alltag, der unter einem immer intensiveren Zeitdruck steht, zu etablieren. Für die Ablation größerer Herde sollte daher der Weg über eine Steigerung der Elektrodenanzahl führen, was gerätetechnisch möglich und durch die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Plexiglasschablone auch praktikabel ist.

5.3 Betrachtung der pH-Wert-Entwicklung in der Elektrodenperipherie

Extreme pH-Wert-Verschiebungen in der Elektrodenperipherie wurden bereits in zahlreichen Studien als Ursache der Nekroseinduktion beschrieben [29, 67, 71]. Dabei wurden pH-Werte unter 1 an der Anode und über 13 an der Kathode registriert. Diese Ergebnisse konnten in den vorliegenden Versuchen reproduziert werden (siehe Abb. 24 und 25, Kap. 4.4) was die Aussagekraft und Funktionsfähigkeit des verwendeten Perfusionsmodells bekräftigt.

Die starke Streuung (siehe Abb. 24 und 25) der ermittelten pH-Werte vor allem für die ermittelten Werte im Abstand von 1 cm kann auf Messungenauigkeiten zurückgeführt werden, welche sich zum Beispiel auch durch eine ungenaue Abstandsmessung oder Deviation der Messkapillare im mazerierten Gewebe ergeben können.

Das pH-Profil näherte sich mit zunehmendem Abstand dem physiologischen interstitiellen pH-Wert von 6,4 - 7,55 [29] an, wobei sich die mittleren pH-Werte bei 0,5 cm, 1 cm und 1,5 cm signifikant unterschieden ($p < 0,001$ für Anode und Kathode). Finch et al. [17] konnten an der Schweinleber zeigen, dass bei pH-Werten zwischen 6,0 und 6,5 an der Anode und 8,5 - 9,0 mit einer Nekrose zu rechnen ist, in extremeren Bereichen gilt der pH-Wert als Indikator für irreversible Zerstörung.

Mit einem ähnlichen wie dem in Kapitel 3.1 und 3.6 dieser Arbeit gezeigten Versuchsaufbau zur extrakorporalen Perfusion des Frischorgans und radiärer Erfassung der durch ECL induzierten pH-Werte, konnten Colombo et al. [14] belegen, dass die Entwicklung des pH-Wertes dosisabhängig ist: Dazu wurden die in radiären Abständen von Anode und Kathode gemessenen pH-Werte mit Coulombdosen korreliert. Die Erhöhung der Coulombdosis bewirkte eine Verschiebung der Grenze zum physiologischen pH-Wert nach peripher. Das pH-Profil zwischen Anode und Kathode zeigte bei niedrigen Coulombdosen eine verbreiterte Zone mit physiologischen pH-Werten, welche mit dem Auftreten von histologisch intakten Gewebebrücken korrelierte. Diese Beobachtungen unterstützen die These von Finch et al. [17], dass die pH-Alteration als physiologisches Korrelat und Indikator für eine Nekroseerzeugung betrachtet werden kann. Übereinstimmend zeigen die pH-Wert-Profile der vorliegenden Versuche neutrale Werte ab Distanzen von 1,5 cm; dies entspricht in etwa der maximalen Nekrosezone mit einem Durchmesser von 1,4 cm.

Die Korrelation von pH-Wert und applizierter Dosis oder gar die Festlegung auf einen definitiv mit Nekrose assoziierten pH-Wert ist anhand der vorliegenden Daten allerdings nicht möglich. Eher stehen die Ergebnisse dieser Arbeit im Widerspruch zu den Ergebnissen von Colombo [14]: In den Versuchen wurden keine signifikanten Unterschiede bei den Mittelwerten verschiedener Coulombdosen gesehen ($p = 0,940$ an der Anode und $p = 0,890$ an der Kathode), was als Hinweis darauf gewertet wird, dass pH-Wert-Änderungen im betrachteten Radius von 0,5 cm - 1,5 cm unabhängig von der applizierten Coulombzahl sind und somit auch geringe Ladungsdosen (z.B. von 50 C) eine effektive pH-Wert-Verschiebung im Abstand von 1,5 cm induzieren.

Um überlappende Nekrosezonen mit unvollständiger Tumordestruktion zu vermeiden, empfehlen Colombo et al. die Positionierung der Elektroden in ausreichendem Abstand [14]. In den vorliegenden Versuchen wurde auch im Bereich großflächiger Überlappungszonen eine einheitliche Zeldestruktion nach den oben genannten Kriterien festgestellt, sodass die Überschneidung der Nekrosezonen sogar als ein Kriterium für erfolgreiche Ablation gefordert werden kann.

5.4 Bewertung der ECL unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus dem Modell der perfundierten Schweineleber

In der Literatur werden charakteristische Merkmale der ECL hervorgehoben, welche für die praktische Anwendung vorteilhaft sind: Die ECL wird als einfach durchzuführende, effektive und kostengünstige Therapiemethode mit nebenwirkungsarmem Begleiteffekten [14] bei vollständiger Gewebsdestruktion [41] beschrieben. Klinische Erfahrungen bestehen in China durch Anwendung an mehr als 10.000 Patienten [75, 76]. Kritisch muss angemerkt werden, dass die Verbreitung der Methode in China mehr politisch als medizinisch gesteuert wurde. Die Tumorstadien und Indikationen der behandelten Patienten sind in den Veröffentlichungen selten nachvollziehbar. In der westlichen Welt gilt die chirurgische Resektion weiterhin als „Goldstandard“ in der Therapie maligner Leberläsionen. Ist eine Tumorsektion nicht möglich, so implizieren die aus der vorliegenden Arbeit gewonnenen Daten, dass eine lokale, intrahepatische Gewebedestruktion mit vorhersagbaren Defekten durch ECL durchführbar und praktikabel ist. Eine Steigerung dieser Gewebsdestruktion und Potenzierung antineoplastischer Effekte durch gleichzeitige Anwendung einer Radio- oder Chemotherapie ist beschrieben [38]. Neben diesen anwendungsassoziierten Aspekten sieht Wemyss-Holden [70] einen Vorteil der ECL in der morphologischen Präsentation der Nekrosezonen. Diese histologisch eindeutigen Nekrosen korrelieren mit dem makroskopischen Bild der Gewebedestruktion. Im Gegensatz dazu erzeugt die RFA als weit verbreitete Ablationsmethode Nekrosezonen, die sich zur Peripherie über eine Transitionszone, mit diffuser Zellvitalität [70] absetzen.

Als Grenze der Anwendbarkeit einer ECL geben Wang et al. [69] in klinischen Protokollen einen Tumordurchmesser von 9 cm an. Dieser Wert sollte sehr zurückhaltend betrachtet werden, da für die Ablation sehr großer Herde zum einen eine entsprechend lange Applikationsdauer veranschlagt werden muss, was aus Gründen der Praktikabilität im klinischen Alltag nur schwer realisierbar ist. Darüber hinaus stellt die

Erzeugung konfluierender Nekrosezonen vor allem bei großen Tumoren eine besondere Herausforderung dar und kann aufgrund der Interferenzen zwischen den elektrischen Feldern nicht immer gewährleistet werden. Aus den Erkenntnissen der vorliegenden Studie ist bei Anwendung von ECL für intrahepatische Läsionen dieser Größe eher von einer Reduktion der Tumorlast auszugehen als von einer Tumorkontrolle.

Bei der intrahepatischen Anwendung ist eine maximale Effektivität ohne Auftreten von Kurzschlüssen oder Gewebeschäden bei zumutbaren Anwendungszeiten durch eine Spannung von 25 V bei einer Stromstärke von 50 mA zu erzielen.

Die Studienlage ist bezüglich der zahlreichen verschiedenen Anwendungen und Indikationen für die ECL als heterogen zu bewerten. Eine Hauptindikation und einen Forschungsschwerpunkt stellen nicht-resezierbare Tumoren unterschiedlicher histologischer Entitäten dar, doch auch zur Therapie von tuberkulösen Rundherden wurde die ECL bereits eingesetzt [38, 73].

Kritisch betrachtet werden muss die im Vergleich zu anderen Methoden erhöhte Anwendungsdauer. Dieser Nachteil kann durch parallele Insertion mehrerer Elektroden in Kombination mit geringeren Coulombdosen minimiert werden. Bei einer multiplen Lebermetastasierung verschiebt sich der zeitliche Nachteil zugunsten der ECL, da diese im Gegensatz zu konkurrierenden Verfahren wie der RFA die simultane Therapie mehrerer Herde ermöglicht.

Für alle lokalen Ablationsverfahren muss nachteilig dokumentiert werden, dass eine Erfolgskontrolle parallel zur Anwendung durch bildgebende Verfahren nur eingeschränkt möglich ist. Die sonographische Beurteilung der Nekroseentstehung bei ECL wird durch Entwicklung von Gasblasen im Bereich von Anode und Kathode behindert. Umso wichtiger sind die initiale, exakte Planung des therapeutischen Vorgehens (Anzahl der Elektroden, Dosis in Coulomb) und die korrekte Elektrodenplatzierung im Gewebe. Nur so können Residualzellen vermieden und ein maximaler Benefit für den Patienten erzielt werden. Zur Optimierung dieser Aspekte dient die vorliegende Arbeit.

6 Zusammenfassung

Hintergrund und Fragestellung: Die elektrochemische Lyse wird in der Literatur als Methode zur Erzeugung von Nekrosen beschrieben. Untersuchungen zur Anwendung existieren vor allem am Kleintier. Dennoch ist die Datenlage bezüglich Dosis-Wirkungs-Beziehung, Elektrodenpositionierung und Anzahl der zu verwendenden Elektroden als nicht evident zu betrachten.

Ziel dieser Arbeit war die Erhebung von oben geforderten Basisdaten am Großtier Schwein, um eine Annäherung an den humanen Organismus zu ermöglichen.

Methodik: Mithilfe eines weiterentwickelten Perfusionsmodells für Frischleberpräparate wurde die durch ECL erzeugte Dosis-Wirkungs-Beziehung an 46 Lebern untersucht. Ausgewertet wurden makroskopische und histologische Effekte auf das Zielgewebe sowie des umgebenden Leberparenchyms. Eine Plexiglasschablone mit genormten Perforationen, welche die reproduzierbare Positionierung der Elektroden erleichterte, sowie deren Führung und Stabilität im Gewebe sicherte, wurde neu entwickelt.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 240 Nekrosen erzeugt. Die applizierten Dosen betragen 50 C, 100 C, 200 C und 400 C mit jeweils variierenden Elektrodendistanzen von 1 cm, 2 cm und 4 cm bei Anwendung von vier und zwei Elektroden. Die Dauer der Elektrolyseprozesse betrug dosisabhängig zwischen 17 (50 C) und 137 Minuten (400 C). In nahezu allen Versuchen präsentierte sich die Nekrosezone um die Kathode mit 130,7 % - 264,2 % größerem Volumen als signifikant größenprominent im Vergleich zur Anode. Die makroskopisch abgrenzbaren Läsionen waren deckungsgleich mit den mikroskopischen Nekrosezonen und zeigten keine Hinweise für persistierende Zellvitalität. Die Nekrosezone um die Kathode präsentierte sich als Kolliquationsnekrose, während sich um die Anode eine Koagulationsnekrose detektieren ließ.

Die Dosis-Wirkungs-Beziehungen wurden in Form von Geradengleichungen formuliert. Bei Applikation von zwei Elektroden konnte gezeigt werden, dass das Gesamtnekrosevolumen bei einem Elektrodenabstand von 1 cm durch eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung beschrieben werden kann, während bei Elektrodenabständen von 2 cm und 4 cm eher das exponentielle Modell die Dosis-Wirkungs-Beziehung abbildet. Durch Dosissteigerung von 50 C auf 400 C konnte abhängig von der Elektrodendistanz eine signifikante Zunahme des Gesamtnekrosevolumens zwi-

schen 475,0 % und 1209,6 % erzielt werden. Zusätzlich konnte unabhängig von der jeweiligen Coulombdosis eine signifikante Zunahme des Gesamtnekrosevolumens bis zu 177,6 % (bei 400 C) durch Vergrößerung des Elektrodenabstandes von 1 cm auf 4 cm erreicht werden.

Bei Applikation von vier Elektroden konnte gezeigt werden, dass die Dosis-Wirkungs-Beziehung bei einem Elektrodenabstand von 4 cm eher durch ein lineares Modell erklärt wird, während bei Abständen von 1 cm und 2 cm ein exponentielles Modell bessere Gütemaße lieferte. Die Dosissteigerung von 50 C auf 200 C erbrachte eine signifikante Zunahme des Gesamtnekrosevolumens zwischen 116,9 % und 202,5 %. Bei Applikation von vier Elektroden konnte jedoch keine signifikante Steigerung des Nekrosevolumens durch Abstandsvergrößerung gezeigt werden.

Die Verdoppelung der Elektrodenzahl brachte in den meisten Fällen eine signifikante Steigerung des Nekrosevolumens zwischen 40,7 % (bei 200 C und 4 cm) und 326,5 % (bei 100 C und 1 cm).

Schlussfolgerung: Das weiterentwickelte Perfusionsmodell mit der Platzierungsschablone erwies sich als reproduzierbares Modell zur Erforschung der ECL unter Einsparung von Tierversuchen. Die elektrochemische Lyse erzeugt kalkulierbare Nekrosezonen, welche sich scharf vom umgebenden Gewebe demarkieren, ohne dieses zu affektieren. Allerdings konnten eventuelle systemische Effekte in diesem ex vivo Modell nicht bewertet werden.

Als nachteilig für die Methode in der klinischen Anwendung könnten sich die langen Therapiezeiten, insbesondere bei Applikation größerer Coulombdosen erweisen. Durch die Möglichkeit der simultanen Ablation lässt sich dieser Nachteil jedoch im Falle von multifokalen Läsionen partiell kompensieren.

7 Literaturverzeichnis

1. Acunas B, Rozanes I: Hepatocellular carcinoma: treatment with transcatheter arterial chemoembolization. *Eur J Radiol* (32), 86 – 89 (1999)
2. Arieff AI, de Fronzo RA: *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*. 2nd edn., pp 255 - 299, Churchill Livingstone; New York (1995)
3. Baxter PS, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ: Electrochemically induced hepatic necrosis: the next step forward in patients with unresectable liver tumours? *Aust NZ J Surg* (68), 637 - 640 (1998)
4. Berendson J, Olsson JM: Biochemical aspects of the treatment of tissue with direct current. *Electro Magnetbiol* (17), 1 - 16 (1998)
5. Berendson J, Simonsson D: Electrochemical aspects of treatment of tissue with direct current. *Eur J Surg* (574), 111 - 115 (1994)
6. Berry DP, Maddern GJ, Maddern B: Other in situ ablative techniques for unresectable liver tumors. *Asian J Surg* (23), 22 - 31 (2000)
7. Bitsch RG, Dux M, Helmberger T, Lubienski A: Effects of vascular perfusion on coagulation size in radiofrequency ablation of ex vivo perfused bovine livers. *Invest Radiol* (41), 422 - 427 (2006)
8. Bitsch RG, Dux M, Helmberger T, Lubienski A: Effects of vascular perfusion on coagulation size in radiofrequency ablation of ex vivo perfused bovine livers for extensive bench resting. *Cardiovasc Intervent Radiol* (29), 1068 - 1072 (2006)
9. Bosch FX, Ribes J, Borrás J: Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis* (19), 271 - 285 (1999)
10. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodés J, EASL Panel of Experts on HCC: Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. *European Association for the Study of the Liver. Hepatol J* (35), 421 - 430 (2001)
11. Cabrales LB, Ciria HC, Bruzón RP, Quevedo MS, Aldana RH, De Oca LM, Salas MF, de la Guardia Peña O: Electrochemical Treatment of Mouse Ehrlich Tumor with Electric Current. *Bioelectromagnetics* (22), 316 - 322 (2001)
12. Cavallo T: *A complete treatise on electricity in theory and practice*. Dilly, London 1777
13. Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, Sumetchotimetha W, Ragsin R, Schulick RD, Lillemoe KD, Yeo CJ, Cameron JL: Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg* (235), 759 - 766 (2002)

14. Colombo L, González G, Marshall G, Molina FV, Soba A, Suarez C, Turjanski P: Ion transport in tumors under electrochemical treatment: In vivo, in vitro and in silico modeling. *Bioelectrochemistry* (71), 223 - 232 (2007)
15. de Haas RJ, Wichters DH, Flores E, Azoulay D, Castaing D, Adam R: R1 resection by necessity for colorectal liver metastases: is it still a contraindication for surgery? *Ann Surg* (248), 626 - 637 (2008)
16. El-Serag HB, Mason AC: Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* (340), 745 - 750 (1999)
17. Finch JG, Fosh B, Anthony A, Slimani E, Texler M, Berry DP, Dennison AR, Maddern GJ: Liver electrolysis: pH can reliably monitor the extent of hepatic ablation in pigs. *Clinical Science* (102), 389 - 395 (2002)
18. Flanagan I, Foster J: Hepatic resection for metastatic cancer. *Am J Surg* (113), 551 (1967)
19. Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, O'Dwyer PD, Mitchell EP, Alberts SR, Schwartz MA; Benson AB 3rd, Eastern Cooperative Oncology Group Study E2300: Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* (25), 1539 - 1544 (2007)
20. Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, Findlay BP, Pitot HC, Alberts SR: A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* (22), 23 - 30 (2004)
21. Griffin DT, Dodd NJF, Moore JV, Pullan BR, Taylor TV: The effects of low-level direct current therapy on a preclinical mammary carcinoma: tumour regression and systemic biochemical sequelae. *Br J Cancer* (69), 875 - 878 (1994)
22. Griffin DT, Dodd NJF, Zhao S, Pullan BR, Moore JV: Low-level direct electrical current therapy for hepatic metastases: Preclinic studies on normal liver. *Br J Cancer* (72), 31 - 34 (1995)
23. Haemmerich D, Staelin S, Tsoi J, Tungjikusolmun S, Mahvi D, Webster JG: In vivo electrical conductivity of hepatic tumors. *Physiol Mens* (24), 251 - 260 (2003)
24. Heiberg E, Nalesnik WJ, Janney C: Effects of varying potential and electrolytic dosage in direct current treatment of tumors. *Acta Radiol* (32), 174 (1991)
25. Hintz S, Egberts JH, Pauser U, Schafmayer C, Fändrich F, Trepel J: Electrolytic Ablation is as Effective as Radiofrequency in the Treatment of Artificial Liver Metastases in a Pig Model. *J Surg Oncol* (98), 135 - 138 (2008)
26. Huguet C, Stipa F, Gavelli A: Primary hepatocellular cancer: Western experience in Surgery of the Liver and Biliary Tract, pp. 1365 - 1369, Churchill Livingstone, Edinburgh, (1994)

27. Ikeda M, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Kuriyama H: Radiofrequency ablation and percutaneous ethanol injection in patients with small hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Jpn J Clin Oncol* (31), 322 - 326 (2001)
28. Jaffe B, Donegan W, Watson F, Spratt J: Factors influencing survival in patients with untreated hepatic metastases. *Surg Gynecol Obstet* (127), 1 (1968)
29. Kozin SV, Gerweck LE: Cytotoxicity of weak electrolytes after the adaption of cells to low pH: Role of transmembrane pH gradient. *J Cancer* (77), 1580 - 1585 (1998)
30. Kubota K, Makuuchi M, Kusaka K, Kobayashi T, Miki K, Hasegawa K, Harihara Y, Takayama T : Measurement of liver volume and hepatic functional reserve as a guide to decision-making in resectional surgery for hepatic tumors. *Hepatology* (26), 1176 - 1181 (1997)
31. Kuper H, Ye W, Broomé U, Romelsjö A, Mucci LA, Ekblom A, Adami HO, Trichopoulos D, Nyrén O: The risk of liver and bile duct cancer in patients with chronic viral hepatitis, alcoholism, or cirrhosis. *Hepatology* (34), 714 - 718 (2001)
32. Li KH, Xin Y, Gu Y, Xu B, Fan D, Ni B: Effects of direct current on dog liver: Possible mechanisms for tumor electrochemical treatment. *Bioelectromagnetics* (18), 2 - 7 (1997)
33. Lie TS, Struck E, Homoth HU, Nitschke I, Totović V, Tauber R, Hamelmann H: Four hours preservation of porcine liver by simple hypothermia. *Transplantation and biochemical results. Research in experimental medicine* (155), 211 - 224 (1971)
34. Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Sala R, Rodés J, Bruix J, Barcelona Liver Cancer Group: Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* (359), 1734 - 1739 (2002)
35. Lubienski A: Radiofrequency ablation in metastatic disease. *Recent Results in Cancer Research*(165), 268 - 276 (2005)
36. Lubienski A, Bitsch RG, Lubienski K, Kaufmann G, Duex M: Radiofrequency ablation (RFA): development of a flow model for bovine livers for extensive bench testing. *Cardiovasc Intervent Radiol* (6), 1068 - 1072 (2006)
37. Maintz D, Fischbach R, Schäfer N, Schäfer H, Gossmann A, Kugel H: Results of Electrochemical Therapy of Colorectal Liver Metastases in Rats Followed Up by MRI. *Invest Radiol* (35), 289 - 294 (2000)
38. Matsushima Y, Takahashi I, Hagiwara K, Konaka C, Miura H, Kato H, Koshiishi Y: Clinical and experimental studies of anti-tumoural effects of electrochemical therapy (ECT) alone or in combination with chemotherapy. *Eur J Surg* (574), 59 - 67 (1994)

39. Miclavcic D, Vodovnik L, Bobanovic F, Rebersek S, Sersa G, Novakovic S, Golough R: Local treatment of tumors by electric current. *Electro Magnetobiol* (11), 109 - 125 (1992)
40. Miclavic D, Sersa G, Kryzanowski M, Novakovic S, Bobanovic F, Golough R, Vodovnik L: Tumor treatment by direct electric current-tumor temperature and pH, electrode material and configuration. *Bioelectrochem Bioenerg* (30), 209 - 220 (1993)
41. Nilsson E, von Euler H, Berendson J, Thörne A, Wärsell P, Näslund I, Langerstedt AS, Narfström K, Olsson JM: Electrochemical treatment of tumors. *Bioelectrochemistry* (51), 1 - 11 (2000)
42. Nilsson E, Fontes E: Mathematical modelling of physicochemical reactions and transport process occurring around a platinum cathode during the electrochemical treatment of tumors. *Bioelectrochemistry* (53), 213 - 224 (2001)
43. Nordenström BE: *Biologically Closed Electrical Circuits: Clinical, Experimental and Theoretical Evidence for an Additional Circulatory System*. Nordic Medical Publications, Stockholm, (1983)
44. Nordenström BE: Survey of mechanisms in electrochemical treatment (ECT) of cancer. *Eur J Surg Suppl* (574), 93 - 109 (1994)
45. Nordenström BE: Electrochemical treatment of cancer: Variable response to anodic and cathodic fields. *Am J Clin Oncol* (12), 530 - 536 (1998)
46. Orlando A, Cottone M, Virdone R, Parisi P, Sciarrino E, Maringhini A, Caltagirone M, Simonetti RG, Pagliaro L: Treatment of small hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis by percutaneous ethanol injection. A trial with a comparison group. *Scand J Gastroenterol* (32), 598 - 603 (1997)
47. Poston GJ: The use of irinotecan and oxaliplatin in the treatment of advanced colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* (31), 325 - 330 (2005)
48. Pschyrembel: *Klinisches Wörterbuch* 259. Auflage, pp1145, deGruyter Verlag Berlin, New York (2002)
49. Ren RL, Vora N, Yang F, Longmate J, Wang W, Sun H, Li JR, Weiss L, Staud C, McDougall J, Chou CK: Variations of Dose and Electrode Spacing for Rat Breast Cancer Electrochemical Treatment. *Bioelectromagnetics* (22), 205 - 211 (2001)
50. Robertson GSM, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, de la M Hall P, Baxter P, Maddern GJ: Experimental study of electrolysis-induced hepatic necrosis. *Br J Surg* (85), 1212 - 1216 (1998)
51. Rosenberg B, Van Camp L, Trosko JE, Mansour VH: Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. *Nature* (222), 385 - 386 (1969)
52. Samuelsson L, Jönsson L, Lamm IL, Linden CJ, Ewers SB: Electrolysis with different electrode materials and combined with irradiation for treatment of experimental rat tumours. *Acta Radiol* (32), 178 - 181 (1990)

53. Samuelsson L, Olin T, Berg NO: Electrolytic destruction of lung tissue in the rabbit. *Acta Radiol* (21), 447 (1980)
54. Schauble MK, Habal MB, Gullik HD: Inhibition of experimental tumour growth in hamsters by small direct currents. *Arch Pathol Lab Med* (101), 294 - 297 (1977)
55. Schon MR, Kollmar O, Wolf S, Schrem H, Matthes M, Akkoc N, Schnoy NC, Neuhaus P: Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion. *Ann Surg* (233), 114 - 123 (2001)
56. Seium Y, Stupp R, Ruhstaller T, Gervaz P, Mentha G, Philippe M, Allal A, Trembleau C, Bauer J, Morant R, Roth AD: Oxaliplatin combined with irinotecan and 5-fluorouracil/leucovorin (OCFL) in metastatic colorectal cancer: a phase I-II study. *Ann Oncol* (16), 762 - 766 (2005)
57. Song YQ, Li CJ, Li YW, Song Q, Chang BP, Song LC, Liu CY, Wang T : Electrochemical therapy in the treatment of malignant tumours on the body surface. *Eur J Surg* (574), 41 - 43 (1994)
58. Sugihara K, Hojo K, Moriya Y, Yamasaki S, Kosuge T, Takayama T: Pattern of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases. *Br J Surg* (80), 1032 - 1035 (1993)
59. Svane G, Nordenström BE: Radiological evidence of response to electrochemical treatment in breast cancer. *Clin Radiol* (43), 84 - 87 (1991)
60. Teague BD, Court FG, Morrison CP, Kho M, Wemyss-Holden SA, Maddern GJ: Electrolytic liver ablation is not associated with evidence of a systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg* (91), 178 - 183 (2004)
61. Totović V, Lagacé R, Lie TS, Brüsselberg E, Yamamoto T: Zur Ultrastruktur der Schweineleber bei 24 stündiger einfacher hypothermer Konservierung. *Research in experimental medicine* (58), 129 - 151 (1972)
62. Turler A, Schäfer H, Schäfer N, Wagner M, Maintz D, Quiao JC, Hoelsche AC: Experimental low-level direct current therapy in liver metastases: influence of polarity and current dose. *Bioelectromagnetics* (21), 395 - 401 (2000)
63. Vogl TJ, Mayer HP, Zangos S, Selby B, Ackermann H, Mayer FB: Prostate Cancer: MR Imaging-guided Galvanotherapy-Technical Development and First Clinical results. *Radiology* (245), 895 - 902 (2007)
64. von Euler H, Nilsson E, Langerstedt AS, Olsson JM: Development of a dose-planning method for electrochemical treatment of tumors. A study of mammary tissue in healthy female CD-rats. *Electro Magnetobiol* (51), 1 - 11 (2000)
65. von Euler H, Nilsson E, Olsson JM, Lagerstedt AS: Electrochemical treatment (EchT) effects on rat mammary and liver tissue. In vivo optimizing of a dose planning model of EchT of tumors. *Bioelectrochemistry*, (54), 117 - 124 (2001)

66. von Euler H, Strahle K, Thorne A, Yongqing G: Cell proliferation and apoptosis in rat mammary cancer after electrochemical treatment (EChT). *Bioelectrochemistry* (62), 57 - 65 (2004)
67. von Euler H, Olsson JM, Hultenby K, Thörne A, Lagerstedt AS: Animal models for treatment of unresectable liver tumors: a histopathologic and ultrastructural study of cellular toxic changes after electrochemical treatment in rat and dog liver. *Bioelectrochemistry* (59), 89 - 98 (2003)
68. Waldmann KH, Wendt M: Lehrbuch der Schweinekrankheiten. In: Plonait H: Fieberhafte Allgemeinerkrankungen, 4. Auflage, pp. 93, Parey Verlag Stuttgart, 2004
69. Wang HL: Electrochemical Therapy of 74 Cases of Liver Cancer. *Eur J Surg* (574), 55 - 57 (1994)
70. Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Finch GJ, de la M Hall P, Maddern GJ: Electrolytic ablation as an adjunct to liver resection: Experimental studies of predictability and safety. *Br J Surg* (89), 579 - 585 (2002)
71. Wemyss-Holden SA, Hall P, Robertson GS, Dennison AR, Vanderzon PS, Maddern GJ: The safety of electrolytically induced hepatic necrosis in a pig model. *Aust NZ J Surg* (70), 607 - 612 (2000)
72. Wemyss-Holden SA, Robertson GSM, Dennison AR, Vanderzon PS, de la M Hall P, Maddern GJ: A new treatment for unresectable liver tumors: long-term studies of electrolytic lesions in the pig liver. *Clinical Science* (98), 561 - 567 (2000)
73. Wojcicki M, Kostyrka R, Kaczmarek B, Kordowski J, Romanowski M, Kaminski M, Klonek J, Zielinski S: Electrochemical Therapy in Palliative Treatment of Malignant Dysphagia: a Pilot Study. *Hepato Gastroenterol* (46), 278 - 284 (1999)
74. Xin YL: Advances in the treatment of malignant tumors by electrochemical therapy (ECT). *Eur J Surg Suppl* (574), 205 - 211 (1994)
75. Xin YL: Organization and clinical spread of electrochemical therapy in China. *Eur J Sur Suppl* (574), 25 - 29 (1994)
76. Xin YL: The clinical advance in application of EChT within the past ten years. Preprints from the 2nd International Symposium on electrochemical treatment of Cancer. Beijing, 27-30 Sept, pp 81 - 92 (1998)
77. Xin YL, Xue F, Zhao F: Effectiveness of electrochemical therapy in the treatment of lung cancers of middle and late stage. *Chin Med J* (110), 379 - 383 (1997)

8 Anhang

8.1 Daten der Nekrosevolumina bei Applikation von zwei Elektroden

Tabellarische Darstellung der ermittelten Nekrosevolumina bei verschiedenen Elektrodendistanzen und Coulombdosen (Beachte: Angaben in mm):

Ladung: 50 [C]												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	5	6	15	356,19	814,73	1580,06	168518,55	351635,89	410,51	592,99
		-	12	11	20	2076,33						
	2	+	8	7	16	706,50						
		-	8	6	19	730,84						
	3	+	10	9	12	850,16						
		-	11	12	18	1868,69						
	4	+	9	10	19	1346,08						
		-	10	11	19	1644,38						
20	1	+	9	10	16	1133,54	949,07	1711,74	64326,91	71310,90	253,63	267,04
		-	11	12	19	1972,51						
	2	+	8	8	20	1004,80						
		-	10	9	20	1416,93						
	3	+	6	8	15	576,98						
		-	10	12	20	1899,70						
	4	+	9	9	17	1080,95						
		-	11	10	18	1557,83						
40	1	+	8	8	20	1004,80	921,49	1799,51	38035,71	78988,48	195,03	281,05
		-	10	10	18	1413,00						
	2	+	8	8	23	1155,52						
		-	10	11	22	1904,02						
	3	+	8	7	18	794,81						
		-	12	10	19	1804,72						
	4	+	6	8	19	730,84						
		-	12	11	20	2076,33						

Ladung: 100 [C]												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	9	10	17	1204,39	1415,16	1724,55	51308,97	14584,00	226,51	120,76
		-	11	10	19	1644,38						
	2	+	10	9	18	1275,23						
		-	10	11	19	1644,38						
	3	+	11	11	18	1709,73						
		-	12	10	20	1899,70						
	4	+	11	10	17	1471,29						
		-	12	10	18	1709,73						
20	1	+	14	16	21	3709,13	3161,73	4366,46	182557,21	1073568,23	427,27	1036,13
		-	14	14	23	3538,78						
	2	+	14	13	23	3290,52						
		-	17	18	24	5769,75						
	3	+	13	14	20	2861,33						
		-	14	15	22	3631,02						
	4	+	14	12	21	2785,97						
		-	15	16	24	4526,31						
40	1	+	14	14	20	3077,20	3205,06	4124,68	13628,34	275511,90	116,74	524,89
		-	16	15	20	3771,93						
	2	+	13	14	23	3290,52						
		-	16	15	21	3960,52						
	3	+	14	15	19	3135,88						
		-	13	14	27	3862,79						
	4	+	13	13	25	3316,63						
		-	15	16	26	4903,50						

Ladung 200 C												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	12	11	22	2283,96	2544,33	4856,01	65735,99	766350,25	256,39	875,41
		-	17	17	25	5671,63						
	2	+	13	11	21	2373,84						
		-	14	15	22	3631,02						
	3	+	12	13	23	2821,09						
		-	18	16	23	5217,90						
	4	+	13	12	22	2698,44						
		-	15	16	26	4903,50						
20	1	+	15	14	23	3796,06	3732,82	7643,99	100222,92	139825,31	316,58	373,93
		-	20	20	25	7850,00						
	2	+	15	14	20	3300,93						
		-	20	20	25	7850,00						
	3	+	17	14	20	3771,93						
		-	20	18	25	7084,63						
	4	+	17	13	23	4062,38						
		-	19	18	29	7791,32						
40	1	+	18	18	25	6358,50	4866,66	8371,39	4753224,90	2453879,78	2180,19	1566,49
		-	20	21	26	8577,30						
	2	+	12	11	16	1661,06						
		-	17	19	24	6104,16						
	3	+	17	16	25	5342,91						
		-	20	21	28	9237,10						
	4	+	19	17	24	6104,16						
		-	21	20	29	9566,99						

Ladung 400 C												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	17	16	25	5342,91	3965,67	9601,19	1471302,31	2444942,82	1212,97	1563,63
		-	21	22	28	10160,26						
	2	+	14	15	25	4126,16						
		-	20	19	33	9850,38						
	3	+	13	14	28	4005,86						
		-	23	21	29	11018,26						
	4	+	12	11	23	2387,77						
		-	18	18	29	7375,86						
20	1	+	18	18	27	6867,18	5470,76	13630,20	1655766,42	9256276,27	1286,77	3042,41
		-	25	25	29	14228,13						
	2	+	16	15	24	4526,31						
		-	23	22	30	11922,19						
	3	+	18	17	26	6250,56						
		-	27	26	32	17640,52						
	4	+	14	16	24	4239,00						
		-	22	23	27	10729,97						
40	1	+	25	24	29	13664,69	12418,80	23201,26	3770389,11	8664680,62	1941,75	2943,58
		-	29	29	40	26407,40						
	2	+	22	22	29	11018,26						
		-	26	25	38	19396,96						
	3	+	25	23	32	14469,12						
		-	27	29	37	22771,28						
	4	+	21	22	29	10523,12						
		-	29	28	38	24229,42						

8.2 Daten der Nekrosevolumina bei Applikation von vier Elektroden

Tabellarische Darstellung der ermittelten Nekrosevolumina bei verschiedenen Elektrodenabständen und Coulombdosen (Beachte: Angaben in mm):

Ladung: 50 [C]												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	10	10	20	1570,00	1457,79	1903,63	104409,78	46952,26	323,13	216,68
		-	12	11	19	1972,51						
	2	+	9	11	19	1491,50						
		-	12	11	21	2180,14						
	3	+	12	11	17	1764,88						
		-	11	10	20	1730,93						
	4	+	5	11	20	1004,80						
		-	11	10	20	1730,93						
20	1	+	9	10	15	1062,69	948,43	3313,14	38375,19	2603848,12	195,90	1613,64
		-	14	16	23	4062,38						
	2	+	8	9	20	1134,33						
		-	15	17	26	5224,96						
	3	+	10	6	18	904,32						
		-	12	12	19	2147,76						
	4	+	7	7	18	692,37						
		-	11	10	21	1817,47						
40	1	+	9	10	14	991,85	1042,77	2206,83	37812,32	195583,40	194,45	442,25
		-	14	12	15	1989,98						
	2	+	10	10	12	942,00						
		-	10	12	20	1899,70						
	3	+	8	9	16	907,46						
		-	13	10	20	2076,33						
	4	+	11	11	14	1329,79						
		-	13	14	20	2861,33						

Ladung 100 C												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	10	15	12	1471,88	2494,39	4201,42	494335,96	73942,08	703,09	271,92
		-	15	15	26	4592,25						
	2	+	13	12	25	3066,41						
		-	15	14	25	4126,16						
	3	+	12	14	20	2653,30						
		-	15	14	24	3961,11						
	4	+	13	13	21	2785,97						
		-	14	15	25	4126,16						
20	1	+	13	11	15	1695,60	1975,50	2577,99	205859,83	576960,69	453,72	759,58
		-	12	12	15	1695,60						
	2	+	14	11	15	1839,84						
		-	14	13	16	2289,06						
	3	+	12	13	14	1717,19						
		-	13	16	21	3465,97						
	4	+	14	16	15	2649,38						
		-	13	14	20	2861,33						
40	1	+	12	11	18	1868,69	1774,20	4511,20	76554,90	9455394,37	276,69	3074,96
		-	24	20	24	9118,56						
	2	+	11	10	16	1384,74						
		-	12	14	21	2785,97						
	3	+	13	11	18	2034,72						
		-	15	14	19	3135,88						
	4	+	12	12	16	1808,64						
		-	14	13	21	3004,39						

Ladung 200C												
Parameter			Nekrose				Statistik					
Abstand [mm]	Focus	Polarität	d1 [mm]	d2 [mm]	Tiefe [mm]	Volumen [mm ³]	Mittelwert		Varianz		SD	
							Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)	Volumina Polarität (+)	Volumina Polarität (-)
10	1	+	12	13	20	2453,13	3567,29	3721,73	623971,09	2930447,68	789,92	1711,86
		-	13	12	24	2943,75						
	2	+	14	13	25	3576,66						
		-	12	12	22	2486,88						
	3	+	16	16	20	4019,20						
		-	16	17	15	3205,74						
	4	+	16	16	21	4220,16						
		-	17	18	26	6250,56						
20	1	+	19	17	20	5086,80	5092,69	7799,51	164208,56	275367,26	405,23	524,75
		-	21	20	24	7917,51						
	2	+	19	16	20	4808,13						
		-	20	20	25	7850,00						
	3	+	18	20	20	5667,70						
		-	21	22	23	8345,92						
	4	+	20	15	20	4808,13						
		-	22	16	25	7084,63						
40	1	+	14	15	20	3300,93	3435,21	5874,25	65934,18	1190051,47	256,78	1090,89
		-	15	18	25	5342,91						
	2	+	14	16	21	3709,13						
		-	18	14	25	5024,00						
	3	+	16	15	19	3583,33						
		-	20	18	20	5667,70						
	4	+	12	15	22	3147,46						
		-	20	19	25	7462,41						

Danksagung

Mein Dank gilt im Besonderen Herrn PD Dr. Ralf Czymek für die Vergabe des Themas und die kontinuierliche Anleitung während der Versuchsdurchführung sowie die stets zeitnahe Beratung und konstruktive Kritik während der Fertigstellung der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. Alfred C. Feller danke ich für die Bereitstellung des Materials im Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck.

Den Mitarbeitern Herrn Dr. Heinz-Wolfram Bernd und Dr. Maximilian Gebhard gilt mein Dank für die wertvollen Anregungen und ihre enorme Motivation bei der Beurteilung der Präparate.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des chirurgischen Forschungslabors des Universitätsklinikums zu Lübeck für ihre hervorragende Kooperation. Besonders schätze ich den kompetenten und zeitintensiven Einsatz von Herrn PD Dr. Dr. Jens Habermann und Frau Gisela Grosser-Pape, welcher zum flüssigen Arbeitsablauf beitrug.

Die unmittelbare Bereitschaft zur Förderung eines wissenschaftlichen Projektes von Herrn Hans-Jörg Schacht (Geschäftsführer des Schlachthofs Bad Oldesloe) und seinen Mitarbeitern ermöglichte mir die Durchführung der Versuche. Vielen Dank für die stets zuverlässige Explantation und Verfügbarkeit der Versuchsorgane.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung möchte ich mich bei meiner langjährigen Freundin Christine Köhler bedanken.

Für die Unterstützung während meines Studiums sowie der Promotion und besonders während der Examenszeit bedanke ich mich bei meinen Eltern und bei meinen Schwestern Alexandra und Katharina.

Lebenslauf

Name: Dorothea Helena Dinter

Geburtsdatum: 28.06.1985 in Offenbach a.M.

Schulbildung:

1991 – 1995 Besuch der Grundschule Limeshain

1995 – 2004 Besuch des Wolfgang-Ernst-Gymnasiums in Büdingen

2004 Abitur

Studium:

Oktober 05 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck

August 07 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Februar 09 Beginn der experimentellen Arbeiten zur Dissertation an der Klinik für Chirurgie der Universität zu Lübeck

Juni 09 Fertigstellung der experimentellen Arbeiten

Februar 11 1. PJ - Terial Wahlfach Gynäkologie, 1. Teil: Frauenklinik Universität zu Lübeck (Prof. Diedrich) 2. Teil: Asklepios Klinik Lich, (Dr. Kullmer) Lehrkrankenhaus der Universität Gießen (Zweithörerschaft Justus - Liebig Universität Gießen im SS11)

Juni 11 2. PJ - Terial Innere Medizin, Rheumaklinik Bad Bramstedt, Prof. Gross

Oktober 11 3. PJ - Tertiärl Chirurgie, Tygerberg Hospital/ Cape Town/ South Africa (Prof. Warren)

Juni 12 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Juli 12 Approbation zur Ärztin

Famulaturen:

März 08 Innere Medizin Ketteler Krankenhaus Offenbach (Dr. Kliemkiewicz)

September 08 Frauenklinik des Rotkreuzkrankenhauses München (Prof. Eiermann)

September 09 Radiologiepraxis am Marienplatz München

Juli 10 Asklepios Klinik Lich, Fachbereich Gynäkologie und Geburtshilfe (Dr. Kullmer)

Berufliche Ausbildung:

November 12 Assistenzarztstelle Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, Asklepios Klinik Lich (Prof. Dr. Uwe Wagner)

Publikationen

Originalarbeiten

- Czymek R, Dinter D, Loeffler S, Gebhard M, Laubert T, Lubienski A, Bruch H-P, Schmidt A: Electrochemical treatment: An investigation of dose-response relationships using an isolated liver perfusion model. Saudi J Gastroenterology 17(5), 335 - 342 (2011)
- Czymek R, Loeffler S, Dinter D, Gebhard M, Schmidt A, Jungbluth T, Kleemann M, Bruch H-P, Lubienski A: Intrahepatic Radiofrequency Ablation Versus Electrochemical Treatment ex vivo. J Surg Res 2010; epub

Poster

- Dinter D, Loeffler S, Gebhard M, Bruch HP, Habermann J, Lubienski A, Czymek R: Dosis - Wirkungsbeziehung der Elektrochemischen Lyse am weiterentwickelten Perfusionsmodell. Dritter Lübecker Doktorandentag; Lübeck 10.06.09
- Posterpreis der Universität zu Lübeck:

Löffler S, Dinter D, Gebhard M, Habermann J, Bruch HP, Czymek R: Lebermetastasen in Gefäßnähe – Radiofrequenzablation (RFA) versus Elektrochemische Lyse (ECL). Dritter Lübecker Doktorandentag; Lübeck 10.06.2009
- Dinter D, Gebhard M, Jungbluth T, Kleemann M, Hildebrand P, Bruch HP, Czymek R: Untersuchungen zur Dosis-Wirkungsbeziehung bei elektrochemischer Lyse in einem Leberperfusionsmodell. 185. Tagung Nordwestdeutscher Chirurgen. Lübeck; 04.06.2010

Vorträge

- Czymek R, Loeffler S, Dinter D, Nassrallah J, Bruch H-P. Intrahepatische Ablation: Radiofrequenzablation versus Elektrochemische Lyse. 186. Tagung der Vereinigung Nordwestdeutscher Chirurgen. Hamburg; 11.12.2010
Günther-Haenisch-Preis der Vereinigung Nordwestdeutscher Chirurgen Dezember 2010; beste wissenschaftliche Leistung (dotiert mit 4.000 Euro)

-
- Czymek R, Löffler S, Dinter D, Gebhard M, Lubienski A, Bruch H-P. Intrahepatische Radiofrequenzablation versus elektrochemische Lyse ex vivo: Was passiert perivaskulär? 3. Jahrestagung Viszeralmedizin; Hamburg; 02.10.2009

Eidesstaatliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Das aus anderen Quellen übernommene Material, auf welches in der Arbeit Bezug genommen oder welches verwendet wurde, habe ich als Solches kenntlich gemacht.

Ich versichere, dass ich mich bisher keinem weiteren Promotionsverfahren unterzogen habe und dass diese Arbeit keiner anderen Prüfungsbehörde zum Zweck der Promotion vorgelegt wurde.

Hiermit widerspreche ich der Zulassung von Zuhörern und Zuhörerinnen bei der mündlichen Prüfung.

Limeshain, den 21.02.2013

Dorothea Dinter