

Aus der Klinik für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie,

Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, Deutschland

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Glanemann

Vergleich der postinterventionellen Diagnostik nach Mikrowellenablation von implantierten kolorektalen Lebertumoren im Rattenmodell

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2025

vorgelegt von:

Lennart Scheel

geb. am: 07.04.1986 in Bonn

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Matthias Hannig

Erstberichterstatte: PD Dr. med. Robert M. Eisele

Zweitberichterstatte: Prof. Dr. med. Jörn M. Schattenberg

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Februar 2026

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VII
1 Zusammenfassung.....	1
1.1 Deutsche Zusammenfassung.....	1
1.2 Englische Zusammenfassung.....	3
2 Einleitung.....	4
2.1 Ablation von Lebertumoren.....	4
2.2 Mikrowellenablation.....	7
2.3 Magnetresonanztomographie.....	8
2.4 Ultraschall.....	9
2.5 Fragestellung.....	10
3 Material und Methodik.....	11
3.1 Versuchstiere	11
3.2 Interventionelle Techniken	12
3.3 Implantation der Tumorzellen.....	14
3.4 Mikrowellenablation.....	15
3.5 Magnetresonanztomographie.....	16
3.6 Ultraschalldiagnostik	17
3.7 Makroskopische Vermessung	18
3.8 Histologische Aufbereitung	19
3.9 Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	19
3.10 Immunhistochemische Färbungen.....	20
3.11 Mikroskopische Auswertung.....	21
3.12 Datenverarbeitung	22
4 Ergebnisse	23
4.1 Tumervolumina präinterventionell am Tag 0	24
4.1.1 MRT	24
4.1.2 Ultraschall.....	25
4.1.3 Vergleich von MRT und Ultraschall	27
4.2 Läsionsvolumina postinterventionell am Tag 1	28
4.2.1 Histologie	28
4.2.2 MRT	28
4.2.3 Ultraschall.....	29
4.2.4 Vergleich von Histologie, MRT und Ultraschall.....	29

4.3	Läsionsvolumina postinterventionell am Tag 7	33
4.3.1	Histologie	33
4.3.2	MRT	33
4.3.3	Vergleich von Histologie und MRT	34
4.4	Vergleich zwischen Tag 1 und Tag 7	35
4.4.1	Läsion	35
4.4.2	MRT	36
4.5	Histologie.....	37
4.5.1	Tag 1	37
4.5.2	Tag 7	37
4.6	Zellmarker.....	38
4.6.1	Zellmarker CD3	40
4.6.2	Zellmarker CD68	43
4.6.3	Zellmarker MPO.....	46
4.6.4	Zellmarker PCNA.....	48
5	Diskussion.....	49
5.1	Behandlung von Lebermetastasen	49
5.2	Mikrowellenablation.....	50
5.3	Vergleich mit anderen Ablationsverfahren.....	55
5.4	Bewertung in bildgebender Diagnostik	58
5.5	Histologie und Zellmarker	64
5.6	Tumorrezidive nach Ablation	69
5.7	Fazit	72
6	Literaturverzeichnis	74
7	Publikationen und Danksagung.....	81
7.1	Publikationen	81
7.2	Danksagung	82
8	Lebenslauf.....	83

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µm ²	Kubikmikrometer
Abb.	Abbildung
ALPase	Alkalische Phosphatase
ANOVA	Analysis of Variance
B-Mode	Brightness Modulation
CD	Cluster of Differentiation
cm	Zentimeter
CRLM	Kolorektale Lebermetastasen
CT	Computertomographie
dB	Dezibel
EKG	Elektrokardiogramm
FBS	Fetal Bovine Serum
g	Gramm
GHz	Gigahertz
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HIFU	High Intensity Focused Ultrasound
HSP	Hitzeschockprotein
IRE	Irreversible Elektroporation
kHz	Kilohertz
kJ	Kilojoule
LITT	Laserinduzierte Thermotherapie
M	Mittelwert
mg/l	Milligramm pro Liter
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm ³	Kubikmillimeter
MPO	Myeloperoxidase

MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
MWA	Mikrowellenablation
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (reduziert)
Na-Ka-ATPase	Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCNA	Proliferating-Cell-Nuclear-Antigen
PEI	Perkutane Ethanolinjektion
PME	Perfusion Microwave Electrode
POD	Peroxidase
RFA	Radiofrequenzablation
rpm	Revolutions per Minute
SD	Standardabweichung
SDH	Succinyl Dehydrogenase
SIRT	Selektive Interne Radiotherapie
TACE	Transarterielle Chemoembolisation
TACP	Transarterielle Chemoperfusion
US	Ultraschall

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Versuchsaufbau.	13
Abbildung 2: Mikrowellenablation an der Rattenleber.	16
Abbildung 3: Ultraschalldiagnostik an der präparierten Rattenleber.	18
Abbildung 4: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Versuche.	19
Abbildung 5: Übersicht über die vorhandenen Daten pro Tier.	23
Abbildung 6: Tumervolumina der 1-Tages-Gruppe in der MRT am Tag 0.	24
Abbildung 7: Tumervolumina der 7-Tage-Gruppe in der MRT am Tag 0.	25
Abbildung 8: Tumervolumina der 1-Tages-Gruppe im Ultraschall am Tag 0.	25
Abbildung 9: Tumervolumina der 7-Tage-Gruppe im Ultraschall am Tag 0.	26
Abbildung 10: Tumervolumina im Streudiagramm. MRT in Relation zum Ultraschall.	27
Abbildung 11: Tumervolumina im Bland Altman Plot. MRT im Vergleich mit Ultraschall.	27
Abbildung 12: Läsionsvolumina in der Histologie am Tag 1.	28
Abbildung 13: Läsionsvolumina in der MRT am Tag 1.	28
Abbildung 14: Läsionsvolumina im Ultraschall am Tag 1.	29
Abbildung 15: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. Histologie in Relation zur MRT.	29
Abbildung 16: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit der MRT.	30
Abbildung 17: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. Histologie in Relation zum Ultraschall.	30
Abbildung 18: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit dem Ultraschall.	31
Abbildung 19: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. MRT in Relation zum Ultraschall.	31
Abbildung 20: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. MRT im Vergleich zum Ultraschall.	32
Abbildung 21: Läsionsvolumina in der Histologie am Tag 7.	33
Abbildung 22: Läsionsvolumina in der MRT am Tag 7.	33
Abbildung 23: Läsionsvolumina am Tag 7 im Streudiagramm. Histologie in Relation zur MRT.	34
Abbildung 24: Läsionsvolumina am Tag 7 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit der MRT.	34
Abbildung 25: Ablationsvolumina in der Histologie. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	35
Abbildung 26: Ablationsvolumina in der MRT. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	36
Abbildung 27: Histologische Präparate nach Mikrowellenablation.	38
Abbildung 28: Schematische Darstellung der nachgewiesenen Signale.	39
Abbildung 29: Anzahl CD3-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	40
Abbildung 30: Anzahl CD3-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	40
Abbildung 31: Anzahl CD3-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	41
Abbildung 32: Anzahl CD3-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	41
Abbildung 33: Anzahl CD3-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	42
Abbildung 34: Anzahl CD68-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	43
Abbildung 35: Anzahl CD68-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	43
Abbildung 36: Anzahl CD68-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	44

Abbildung 37: Anzahl CD68-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	44
Abbildung 38: Anzahl CD68-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	45
Abbildung 39: Anzahl MPO-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	46
Abbildung 40: Anzahl MPO-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	46
Abbildung 41: Anzahl MPO-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	47
Abbildung 42: Anzahl MPO-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	47
Abbildung 43: Anzahl MPO-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.	48
Abbildung 44: Anzahl der Versuchstiere mit PCNA-positiven Signalen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.	48

1 ZUSAMMENFASSUNG

1.1 DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Bei der Mikrowellenablation handelt es sich um ein interventionelles Verfahren zur Behandlung von kolorektalen Lebermetastasen, das in geeigneten Fällen als Alternative oder Ergänzung zu einer Leberteilresektion angewendet wird. Ziel dieser Arbeit war es, die mittels Magnetresonanztomographie und Ultraschall bestimmten Volumina von Tumor- bzw. Ablationsgewebe zu verschiedenen Zeitpunkten miteinander zu vergleichen sowie das abladierte Gewebe histologisch aufzuarbeiten und der Bildgebung gegenüber zu stellen.

Methodik: Es erfolgte zunächst eine Injektion von Tumorzellen vom Typ CC531 in die Rattenleber. Unmittelbar vor der Ablation wurden die Tumervolumina mittels Magnetresonanztomographie und Ultraschall bestimmt. Einen Tag, bzw. sieben Tage nach der Intervention erfolgte eine erneute Bestimmung der Ablationsvolumina. Intraindividuelle Vergleiche wurden zwischen den volumetrischen Verfahren bei denselben Tieren angestellt. Interindividuelle Vergleiche erfolgten zwischen den Gruppen mit Nachuntersuchungen am Tag 1 bzw. Tag 7. Die Präparate wurden anschließend vermessen und die histologischen Schnitte auf das Vorhandensein von CD3, CD68, Myeloperoxidase und Proliferating-Cell-Nuclear-Antigen hin untersucht.

Ergebnisse: Die Tumervolumina wurden in der Magnetresonanztomographie größer eingeschätzt als im Ultraschall (Differenz: $M = 9,09 \text{ mm}^3$). Die mittels Magnetresonanztomographie bestimmten Ablationsvolumina korrelierten mit den Volumina der Präparate, wiesen am Tag 1 jedoch größere Werte auf (Differenz: $M = 519,17 \text{ mm}^3$). Am Tag 7 wurden ebenfalls Abweichungen festgestellt (Differenz: $M = 624,77 \text{ mm}^3$). Auch im Ultraschall stellten sich die Volumina im Vergleich zu den Präparaten am Tag 1 größer dar (Differenz: $M = 336,57 \text{ mm}^3$), jedoch geringer als in der Magnetresonanztomographie ($M = 281,69 \text{ mm}^3$). An den histologischen Präparaten ließen sich zu beiden Zeitpunkten drei Zonen mit unterschiedlicher Gewebsstruktur abgrenzen. Die größte Anzahl an CD3, CD68 und Myeloperoxidase lagen jeweils im Grenzbereich zwischen abladiertem und unbehandeltem Lebergewebe vor. Sieben Tage nach der Ablation war bei der Hälfte der Tiere ein Proliferating-Cell-Nuclear-Antigen nachweisbar.

Schlussfolgerung: Die Magnetresonanztomographie scheint direkt postinterventionell nur eingeschränkt für die Einschätzung der Tumor- und Ablationsvolumina geeignet zu sein. Im Ultraschall sind die Volumina dagegen genauer erkennbar. Eine Markierung von CD3, CD68 und Myeloperoxidase kann einen unscharfen Grenzbereich abbilden, ohne dabei eine exakte Abgrenzung von nekrotischem und vitalem Gewebe zuzulassen. Darüber hinaus konnte auch im Ablationsbereich eine noch vorhandene Zellaktivität nachgewiesen werden.

1.2 ENGLISCHE ZUSAMMENFASSUNG

Comparison of post-interventional diagnostics after microwave ablation of implanted colorectal liver tumors in a rat model

Introduction: Microwave ablation is an interventional procedure for the treatment of colorectal liver metastases which in suitable cases is used as an alternative or supplement to partial liver resection. The aim of this study was to compare the volumes of tumor and ablation tissue determined by magnetic resonance imaging and ultrasound at different points in time as well as to histologically process the ablated tissue and compare it with the imaging.

Method: Initially, CC531 tumor cells were injected into the rat liver. Immediately before ablation, the tumor volumes were determined using magnetic resonance imaging and ultrasound. The ablation volumes were determined again one day and seven days after the intervention. Intra-individual comparisons were made between the volumetric procedures in the same animals. Inter-individual comparisons were made between the groups with follow-up examinations on day 1 and day 7. The specimens were then measured and the histological sections examined for the presence of CD3, CD68, myeloperoxidase and proliferating cell nuclear antigen.

Results: The tumor volumes were estimated to be larger in magnetic resonance imaging than in ultrasound (difference: $M = 9.09 \text{ mm}^3$). The ablation volumes determined by magnetic resonance imaging correlated with the volumes of the specimens, but showed larger values on day 1 (difference: $M = 519.17 \text{ mm}^3$). Deviations were also found on day 7 (difference: $M = 624.77 \text{ mm}^3$). The volumes were also larger in ultrasound compared to the specimens on day 1 (difference: $M = 336.57 \text{ mm}^3$), but smaller than in magnetic resonance imaging ($M = 281.69 \text{ mm}^3$). Three zones with different tissue structures could be defined on the histological specimens at both points in time. The largest numbers of CD3, CD68 and myeloperoxidase were present in the border area between ablated and untreated liver tissue. Seven days after ablation, a proliferating cell nuclear antigen was detectable in half of the animals.

Conclusion: Magnetic resonance imaging appears to be of limited use for estimating tumor and ablation volumes directly postinterventionally. In contrast, the volumes can be recognized more precisely on ultrasound. Labeling of CD3, CD68 and myeloperoxidase can depict a blurred border area without allowing an exact differentiation between necrotic and vital tissue. In addition, cell activity could also still be detected in the ablation area.

2 EINLEITUNG

2.1 ABLATION VON LEBERTUMOREN

Kolorektale Karzinome stellen mit einer Inzidenz von weltweit über 1,3 Millionen Fällen pro Jahr die dritthäufigsten Karzinome dar und gelten als die am zweithäufigsten tödlich verlaufende Krebserkrankung weltweit [1, 61]. Allein in Europa und den USA treten jährlich rund 300.000 neue Fälle auf, die zu etwa 200.000 Todesfällen führen [69]. In Deutschland liegt die Inzidenz bei ca. 73.000 und die Mortalität bei ca. 27.000 Fällen im Jahr [73]. Im Verlauf der Krankheit entwickeln über 50 % der Patienten Metastasen in der Leber [44, 74]. Diese sind bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei fast 25 % der Fälle nachweisbar [36]. Damit liegt die Wahrscheinlichkeit, schon wenige Jahre nach der Erstmanifestation kolorektale Lebermetastasen (CRLM) zu entwickeln, bei über 70 % [70]. Ohne Behandlung beträgt die Überlebensrate der Patienten 31 % nach einem Jahr, 7,9 % nach zwei Jahren, 2,6 % nach drei Jahren und nur noch 1 % nach vier Jahren [58].

Tumore der Leber sind nur wenig sensibel gegenüber Chemotherapie oder Bestrahlung. Während die Lebertransplantation beim hepatozellulären Karzinom (HCC) als bevorzugte Behandlungsmethode angesehen wird, gilt die operative Entfernung als Standardbehandlung von Lebermetastasen [71]. In Bezug auf CRLM liegt die Fünfjahres-Überlebensrate, selbst nach einer vollständigen Entfernung, bei nur 25 bis 40 % [73]. Dabei kommt jedoch nur ein geringer Anteil der Patienten mit Lebertumoren überhaupt für eine kurative Resektion der betroffenen Gewebeanteile in Frage [34, 61]. Die Tumoresektion kann bei nur 5 bis 15 % der Patienten mit HCC und etwa 20 bis 25 % der Patienten mit CRLM angewendet werden [54, 59]. Für ca. 80 % der Patienten müssen alternative Wege gefunden werden, um die Erkrankung zu behandeln bzw. deren Progress zu verlangsamen, da sie zum Beispiel aufgrund eines bereits fortgeschrittenen Krankheitsstadiums oder schwerer Komorbiditäten für einen operativen Eingriff nicht geeignet sind [21, 58]. Voraussetzungen für eine Resektion sind in diesem Zusammenhang eine Beschränkung des Tumors auf gut zugängliche Bereiche, die Gewährleistung eines Sicherheitsabstandes zum Tumorgewebe von 1 cm sowie eine ausreichende Leberreserve nach der Resektion [36, 54, 69]. In allen anderen Fällen, in denen eine radikale Resektionsoperation aufgrund von ungünstigen Ausgangsbedingungen oder Kontraindikationen nicht in Frage kommt, steht mit der Ablation eine alternative Behandlungsmöglichkeit zur Verfügung. Herausforderungen bestehen unter anderem bei Tumoren, die sich durch eine geringe Distanz

zu sensiblen Gewebestrukturen in einer risikoreichen Lage befinden. Beispiele hierfür sind kritische Lagebeziehungen mit weniger als 1 cm Abstand zum Gastrointestinaltrakt, großen Gefäßen, dem Zwerchfell, der Gallenblase sowie Gallengängen mit einem Durchmesser von über 3 mm [32, 42]. Darüber hinaus sind Ablationsverfahren sinnvoll, wenn aufgrund eines multifokalen Auftretens von einer hohen Rezidivrate auszugehen ist und wiederholte Resektionen zu einer verminderten Reserve der Leber führen würden [14]. Hingegen gelten als absolute Kontraindikationen bestehende Aszites, eine aktive Infektion sowie ein Tumor mit direkter Infiltration eines großen Blutgefäßes. Als relative Kontraindikationen werden mehr als vier parallel bestehende Läsionen oder mindestens eine Läsion mit einem Durchmesser von über 5 cm, eine schwere Herzerkrankung oder Gerinnungsstörung beschrieben [21, 29].

Ablationsverfahren können in die Gruppen der auf einer Injektion basierenden Ablation und der Thermoablation unterteilt werden. Zur Gruppe der auf Injektionen basierenden Verfahren zählen die Transarterielle Chemoembolisation (TACE) und –perfusion (TACP), die Selektive Interne Radiotherapie (SIRT), die Perkutane Ethanolinjektion (PEI), sowie die Injektion von Essigsäure [65, 80]. Bei der TACE und der TACP werden vor allem im palliativen oder neoadjuvanten Kontext Chemotherapeutika bzw. Mittel zur Embolisation in die arteriellen Gefäße des Tumors injiziert. Dies führt neben einer lokalen Ischämie zu einer längeren und höheren Konzentration des Chemotherapeutikums im Tumorgewebe als bei einer systemischen Chemotherapie [73]. In ähnlicher Weise wird bei der SIRT der Betastrahler Yttrium-90 über eine Arterie im malignen Gewebe angereichert. Unter Schonung anderer Gewebestrukturen wird hierbei eine selektive Hochdosis Bestrahlung über mehrere Tage erreicht [73]. Die Gruppe der Thermoablationen umfasst vor allem die Radiofrequenzablation (RFA) und die Mikrowellenablation (MWA) sowie die etwas seltener angewendete Kryoablation. Zudem stehen weitere Verfahren wie die Laserinduzierte Thermotherapie (LITT), die Irreversible Elektroporation (IRE) und der High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) zur Verfügung [21, 32, 33, 80]. Abgesehen von der Kryoablation, basiert die Funktionsweise der Thermoablation im Wesentlichen darauf, das Gewebe über einen sehr kurzen Zeitraum auf mindestens 90°C oder über etwa zwei Minuten auf mindestens 50 °C zu erhitzen. Durch die hohen Temperaturen wird eine Denaturierung der Proteine bis hin zur Koagulationsnekrose herbeigeführt [29]. Die verschiedenen thermoablativen Verfahren unterscheiden sich zum Teil stark in ihrem zugrunde liegenden physikalischen Prinzip und damit auch in Bezug auf die Temperaturentwicklung, Ausdehnung, Morphologie und Präzision der Ablation. In manchen Fällen werden die Verfahren zudem kombiniert eingesetzt. Vor allem die TACE hat sich als eine gute Möglichkeit erwiesen,

den therapeutischen Effekt einer thermalen Ablationstechnik zu unterstützen [84]. Häufig wird eine Ablation durch eine begleitende systemische Chemo- oder Immuntherapie unterstützt [73]. Bei der LITT wird durch eine starke Hitzeentwicklung mithilfe eines Lasers eine Koagulationsnekrose induziert. Durch die individuelle Anpassung von Leistung, Betriebsart und -dauer kann damit eine Ablationszone von bis zu 5 cm Durchmesser erreicht werden [73]. Mithilfe der IRE werden bis zu sechs Nadeln in den Tumor eingeführt, über die dann eine Reihe sehr kurzer elektrischer Feldimpulse appliziert werden, um den Tumor zu behandeln [73]. Die HIFU stellt eine neue nichtinvasive Methode dar, bei der mithilfe von Ultraschallwellen Energie in das Tumorgewebe abgegeben werden kann. Durch die Erhitzung des Zielgebietes auf 60 bis 100°C entstehen präzise Koagulationsnekrosen, während das umliegende Gewebe geschützt wird [38, 84]. Bei der Kryoablation handelt es sich um einen raschen Gefriervorgang, der mit ausgeprägten zytotoxischen Effekten einhergeht. Hierzu werden eine oder mehrere Ablationssonden direkt in das Tumorgewebe eingeführt. Mithilfe verschiedener Kryogene wie Argon oder flüssigem Stickstoff, wird eine Zerstörung der zellulären Membranen und damit der Zelltod induziert [73]. Mit der RFA steht für die Ablation von CRLM seit Mitte der 90er Jahre ein weit verbreitetes Verfahren mit geringer Komplikationsrate zur Verfügung [4, 34]. Hierbei wird eine Elektrode in Form einer Nadel im Zentrum der Läsion platziert und eine Ableitungselektrode auf der Haut des Patienten angebracht. Der Wechselstrom mit einer Frequenz von 200 bis 1200 MHz bewirkt eine hochfrequente Richtungsänderung der Ionen im Gewebe. Diese Oszillation erzeugt im direkten Umfeld der Elektrode eine Reibungshitze von über 100 °C, die über Konduktion an das umliegende Gewebe weitergeleitet wird. Die Hitze führt im Gewebe zu einer Denaturierung der Proteine und schließlich zu einer Koagulationsnekrose mit der Folge eines irreversiblen Zelltodes [7, 21, 33, 36, 54, 71].

Die Mikrowellenablation kann bei unterschiedlichen Tumorarten angewendet werden und zeichnet sich durch relativ gut vorhersagbare Ablationszonen aus. Nach allgemeiner Ansicht wird sie kaum durch den sogenannten Heat Sink-Effekt beeinflusst [32]. Der Begriff „Heat Sink“ beschreibt in diesem Zusammenhang ein Phänomen, das vor allem in der Nähe größerer Blutgefäße auftritt. Der Blutfluss leitet dabei die Energie von der Ablation ab und vermindert somit deren Wirkung auf das Tumorgewebe [54]. Die rasche Erzeugung hoher Temperaturen und die Möglichkeit einer Ablation, trotz der Nähe zu großen Blutgefäßen, sind daher die besonderen Merkmale der MWA [73]. Unabhängig davon, welches Verfahren angewendet wird, soll die Intervention vorhersagbare Ablationszonen ermöglichen und einen ausreichenden Sicherheitsabstand um den Tumor gewährleisten. Zudem soll neben einer vollständigen

Ablation des Tumorgewebes, die Dauer der Intervention möglichst kurz gehalten werden [30]. Tumorgröße, Anzahl, Ort der Läsion sowie der operative Zugangsweg stellen wichtige Planungskriterien dar. Je nach angewandeter Technologie kann eine Ablation offen chirurgisch, laparoskopisch oder perkutan durchgeführt werden. Einen weiteren relevanten Faktor stellt die Wahl der Diagnostik zur Kontrolle des Ablationserfolges dar [20]. Für die Bildgebung stehen in der Regel Ultraschall, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) zur Verfügung. CT und Ultraschall werden derzeit am häufigsten in Verbindung mit Ablationsverfahren genutzt [29]. Der Fokus liegt dabei auf dem Nachweis eines ausreichenden Sicherheitsabstandes innerhalb des Lebergewebes, bzw. der Darstellung von nicht behandelten Tumorbereichen. Auch bei der Anwendung von MRT gibt es mittlerweile Hinweise auf Vorteile zur Beurteilung von Ablationsarealen. Diese liegen neben dem Fehlen von schädlicher Röntgenstrahlung auch in einer höheren Sensitivität bei der Erkennung von CRLM [54].

2.2 MIKROWELLENABLATION

Die Koagulation von Gewebe mit Hilfe von Mikrowellen wurde erstmals 1979 durch Tabuse et al. in Zusammenhang mit der Blutungskontrolle bei rupturiertem hepatozellulärem Karzinom in der offenen Leberchirurgie beschrieben [50, 80]. In den nachfolgenden Jahren folgte eine kontinuierliche Weiterentwicklung dieser Technologie mit Ausweitung auf die direkte Ablation von Tumorgewebe. Wichtige Punkte der Entwicklung waren zu Beginn unter anderem die Verminderung des Energieverlustes im Gewebe sowie die Vermeidung einer übermäßigen Erhitzung von Kabel und Ablationssonde [30]. Bei der Mikrowellenablation handelt es sich um eine therapeutische Anwendung von elektromagnetischer Energie, die über eine Nadel an das Gewebe abgegeben wird. Der Frequenzbereich liegt zwischen 900 und 2450 MHz und damit zwischen der Frequenz von Infrarotstrahlung und Radiowellen. Die Energie bewirkt je nach Frequenz eine Ladungsumkehr innerhalb der Wassermoleküle von 2 bis 5 Milliarden mal pro Sekunde [9]. Da die Wassermoleküle polar sind, bilden sie ein dielektrisches Feld, das durch die Absorption der elektromagnetischen Energie zur Oszillation angeregt wird [7, 71]. Die kontinuierliche Bewegung innerhalb der Dipole resultiert in Reibungshitze, die ab Überschreitung einer kritischen Schwelle zum Zelltod führt [21]. Dieses Verfahren funktioniert in allen Geweben und Materialien, die Wasser enthalten und endet erst durch eine Unterbrechung der Energiezufuhr, bzw. sobald kein Wasser mehr innerhalb der Zellen enthalten ist [80]. Während der Anwendung kann es in unmittelbarer Nähe der Ablationsnadel aufgrund

der raschen Temperaturerhöhung zu einer Karbonisation des umliegenden Gewebes kommen. Diese Karbonisation schwächt wiederum den Energiefluss auf Gewebe in weiterer Entfernung, sodass hierdurch die Reichweite der Ablation begrenzt wird [68]. Bei nahezu allen Systemen verfügen die Ablationsnadeln über einen Temperatursensor am Schaft. Über diesen wird die abgegebene Energie automatisch an die im Gewebe zu erzielende Temperatur angepasst [30]. Somit muss zur Einstellung des Gerätes neben der Dauer nur die erforderliche Temperatur der Ablation gewählt werden. Da das Verfahren unabhängig von einem Stromfluss durch das Gewebe ist, können auch Bereiche behandelt werden, die eine hohe Impedanz oder eine schlechte Konduktion aufweisen [41]. Dies resultiert in einer gleichmäßigen Erhitzung bei relativ kurzer Behandlungszeit [7]. Bei der MWA werden zudem keine Erdungselektroden verwendet, sodass damit verbundene Komplikationen entfallen [41]. Die Indikation zur MWA wird unter anderem hinsichtlich der zu behandelnden Tumoren, des möglichen Zugangsweges und des Allgemeinzustandes der Patienten gestellt. Ihre Anwendung sollte daher interdisziplinär und ggf. in Kombination mit anderen Verfahren geplant werden [24].

2.3 MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE

Ein Magnetresonanztomograph besteht im Wesentlichen aus einem starken Magneten, Gradientenspulen in X-, Y- und Z-Richtung, einem Hochfrequenzsender und -empfänger sowie einem Computer zur Berechnung der Bilder. Bei diesem diagnostischen Verfahren werden Wasserstoffprotonen zur Bildgebung genutzt [16]. Ein Wasserstoffatom besteht aus einem Proton als Kern und einem Elektron in der Hülle. Das Proton besitzt einen als Spin bezeichneten konstanten Drehimpuls um seine eigene Achse, der durch elektromagnetische Wellen beeinflusst werden kann. Die dabei entstehenden Vektor Änderungen induzieren wiederum Spannungen in einer Spule, die mithilfe eines Computers zu einem Bild verrechnet werden [82]. Innerhalb eines starken Magnetfeldes richtet sich die Mehrheit der Protonen-Spins des Gewebes nach diesem aus. Dabei kommt es zu einer Ausweichbewegung der Spins, die als Präzession bezeichnet wird und einer bestimmten Frequenz folgt. Die Höhe der sogenannten Larmorfrequenz steigt proportional mit der Stärke des Magnetfeldes. Die meisten Vektoren der Atomkerne sind zunächst parallel zu dem von außen wirkenden Magnetfeld ausgerichtet, sodass ein stabiles Spin-System entsteht. Wird mithilfe einer Spule nun ein Hochfrequenzimpuls auf dieses Spin-System übertragen, kommt es zu einer Neuausrichtung einer zunehmenden Anzahl an Spins. Dies bezeichnet man als Resonanz [16]. Je nach Leistung und Dauer des

Hochfrequenzimpuls wird dabei eine definierte Auslenkung der Spins erreicht. Die Auslenkung in eine andere Ebene induziert in einer Empfangsspule wiederum eine Wechselspannung, die als MR-Signal bezeichnet wird. Wiederholungen des Vorgangs erhöhen die Genauigkeit der Messung und somit die Auflösung des Bildes. Um eine genaue Ortskodierung zu ermöglichen, ist es notwendig, dass jede Schicht des zu untersuchenden Körpers eine eigene Frequenz hat [77]. Die Frequenzen innerhalb des Magnetfeldes müssen somit inhomogen sein, also andere Larmorfrequenzen aufweisen. Dies wird gewährleistet durch Gradientenspulen in X-, Y- und Z-Richtung, die jeweils eigene Magnetfelder darstellen und das Hauptmagnetfeld überlagern. Nur so können die Schichten durch Änderung des Impulses einzeln angeregt werden. Dadurch, dass sich die Achsen innerhalb der Schichten in Bezug auf die Frequenzen unterscheiden, kommt es zu einer Phasen-, bzw. Frequenzverschiebung der Spins [16]. Somit entsteht eine unterschiedliche Präzession der Frequenzen, was wiederum eine Lokalisierung der Spins in jeder Zeile der jeweiligen Schicht ermöglicht. Mithilfe einer als Fourier-Transformation bezeichneten mathematischen Formel können die Frequenzkodierungen zu Voxeln verrechnet werden. Aus den Voxeln entsteht schließlich das MR-Bild [77].

2.4 ULTRASCHALL

Ultraschallgeräte erzeugen mithilfe von Schallwellen Schnittbilder über einen reziproken piezoelektrischen Effekt. Quarzkristalle senden bei entsprechender Ladungsänderung durch Ausdehnung und Stauchung Schallwellen aus, die auf ihrem Weg durch Gewebe Impedanz-Sprünge durch Widerstände erfahren. Diese treten an Gewebegrenzen mit Änderungen der Dichte auf und reflektieren dadurch einen Teil der Schallwellen, die als Echo zurückgeworfen werden [12]. Ein Großteil der Schallwellen wird jedoch absorbiert und in Wärme umgewandelt. Die Absorption verstärkt sich dabei exponentiell mit der Bildtiefe und steigt linear mit der gewählten Frequenz an. Hochfrequenz-Ultraschallköpfe arbeiten in einem Frequenzbereich von bis zu 20 MHz und erzeugen damit in oberflächlichen Strukturen eine sehr hohe Auflösung [3]. Sind die Grenzflächen kleiner als die Wellenlänge, werden die Schallwellen umso mehr gestreut. Bei jedem Eintritt in ein anderes Medium werden sie zudem in ihrer Richtung abgelenkt. Diese Ablenkung wird als Refraktion bezeichnet. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Schallwellen hängt im Wesentlichen von der Elastizität und der Moleküldichte des jeweiligen Mediums ab [57]. Der reflektierte Schalldruck erzeugt im Empfänger eine

Verformung der Quarzkristalle, was wiederum zu einer Ladungsverschiebung und somit erneut zu einem piezoelektrischen Effekt führt. Diese Spannungsänderungen können schließlich im Computer zu einem Bild verrechnet werden. Im sogenannten B-Mode werden die empfangenen Signale je nach Stärke in unterschiedlichen Graustufen kodiert, wodurch ein zweidimensionales Bild entsteht [3]. Zur Erzeugung eines dreidimensionalen Eindrucks müssen die Schnittbilder um eine dritte Ebene erweitert werden. Hierzu bewegt sich der Schallkopf über das Gewebe und erstellt dabei in definierten Abständen Schnittbilder. Alle Informationen werden schließlich zu einer 3D-Struktur verrechnet.

2.5 FRAGESTELLUNG

Die Mikrowellenablation stellt ein vielversprechendes und zunehmend verbreitetes Verfahren zur Behandlung von CRLM dar. Ultraschallgeräte sind flächendeckend und kosteneffektiv verfügbar und auch MRT-Geräte stehen den meisten Kliniken heutzutage zeitnah zur Verfügung. Mit der vorliegenden Arbeit untersuchten wir, wie sich MRT und Ultraschall hinsichtlich der Einschätzung der Tumervolumina nach einer MWA unterscheiden. Auf der initialen Diagnostik basieren in der klinischen Anwendung neben der grundsätzlichen Behandlungsmöglichkeit auch die Wahl des geeigneten Zugangs, die Platzierung der Ablationsnadel und die Geräteeinstellung. Nicht zuletzt aufgrund eines notwendigen Sicherheitsabstandes ist die möglichst präzise Kenntnis der Tumorgrenzen für das Erreichen einer effektiven Ablation relevant. Daher stellte sich die Frage, wie genau MRT und Ultraschall in der Lage sind, die Volumina der Ablationen darzustellen. Vor allem der Zeitpunkt der Untersuchung war in diesem Zusammenhang interessant. Hierfür bildeten wir zwei Versuchsgruppen mit verschiedenen Untersuchungszeitpunkten nach einem Tag und nach sieben Tagen. Die in den beiden bildgebenden Verfahren ermittelten Volumina und die Volumina der Präparate sollten dabei miteinander verglichen werden. Bei der Bewertung des Erfolges der Ablation hat die Genauigkeit der Diagnostik eine hohe Relevanz, da sich der Erfolg letztlich auf eine definitive Zellnekrose im behandelten Bereich bezieht. Es galt daher zu untersuchen, ob histologische Unterschiede in Bezug auf die Zellstruktur erkennbar sind und ob eine Markierung der Zellen eine Definition des effektiv abladierten Bereiches ermöglicht. Ziel dieser Arbeit war es demnach, den prä- und postablativen Einsatz moderner Bildgebung sowie die histologischen Veränderungen nach einer MWA zu bewerten.

3 MATERIAL UND METHODIK

3.1 VERSUCHSTIERE

Für die Versuche verwendeten wir Ratten des Stammes WAG-Rij (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) in der Gewichtsklasse von 150 bis 250 g und einem Alter zwischen sechs und acht Wochen. Die Tiere wurden acht Tage vor den Versuchen geliefert und untersucht, bzw. in den Stallungen des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie (Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Deutschland) gezüchtet. Die Haltung erfolgte artgerecht in einem 24 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus und zu je vier Tieren in einem Käfig geeigneter Größe. Sie erhielten ausreichend Futter und Wasser ad libitum. Bereits einen Tag vor der Behandlung erhielten die Tiere zur Prämedikation Tramadolhydrochlorid (Grünenthal GmbH, Aachen, Deutschland) aus der Trinkflasche. Nach den operativen Eingriffen wurden die Ratten zunächst in einen separaten Käfig gelegt und bis zur vollständigen Wachheit beobachtet. Anschließend wurden sie zurück in ihren ursprünglichen Käfig gesetzt und versorgt. Zur analgetischen Nachbehandlung erhielten die Tiere für weitere drei Tage Tramadolhydrochlorid aus der Trinkflasche und wurden täglich untersucht. Die Versuche waren zuvor unter der Nummer 31-2013 vom Landesamt für Verbraucherschutz (Saarbrücken, Deutschland) geprüft und genehmigt worden.

Die Leber der Ratte besteht aus mehreren, deutlich voneinander abgrenzbaren Leberlappen, von denen der mittlere Lappen und der linke Lappen zusammen ca. 70 % des gesamten Volumens der Leber ausmachen. Ein etwas kleinerer, nach unten spitz zulaufender rechter Lappen, liegt unmittelbar an der Vena Cava an. Ein weiterer, halbrunder Lappen der rechten Seite, liegt der Vena Cava ebenfalls flächig an. Zusammen machen diese beiden kleineren Lappen ca. 20 % des Volumens der Leber aus [43]. Auf der linken Seite liegen zwei weitere kleine, den Magen umschließende Lappen. Diese werden als oberer und unterer omentaler Lappen bezeichnet und bilden zusammen mit einer kurzen Gewebebrücke die übrigen 10 % der Leber [43]. Die Milz befindet sich in der hinteren peritonealen Loge und wird durch das peritoneale Meso und Hilusgefäße an ihrem Platz gehalten. Der venöse Abfluss erfolgt über diesen Hilus und mündet nach einer Passage durch das Pankreas schließlich in die Pfortader. Die Pfortader verläuft gemeinsam mit abführenden Gefäßen und Gallenwegen in die Leber und teilt sich dort in die jeweiligen Lappen und Segmente auf [72].

3.2 INTERVENTIONELLE TECHNIKEN

Alle Behandlungen sowie deren Vorbereitung erfolgten nach einem standardisierten Muster. Hierzu wurde das Versuchstier zunächst mittels 5 % Isofluran über einen Vaporisator (Isofluran Vapor 19.3; Drägerwerk AG, Lübeck, Deutschland) und 2 Litern Sauerstoff pro Minute (Linde AG, Pullach, Deutschland) in Narkose versetzt. Für die Narkoseeinleitung wurde ein durchsichtiges Kunststoffbehältnis von 30 x 20 x 15 cm Größe verwendet, das mit einem Deckel verschlossen werden konnte. Ein Schlauchsystem führte dem Behältnis gleichmäßig das Gasgemisch zu, während der Deckel nur locker aufgelegt wurde, um einen Überdruck zu vermeiden. In diesem Behältnis wurde die Ratte während der Narkotisierung anhand ihrer Atemfrequenz überwacht. Eine ausreichende Narkosetiefe konnte in der Regel nach drei bis vier Minuten erreicht werden. Nach der Narkotisierung erfolgte eine gründliche Rasur (Isis GT 420; B. Braun AG, Melsungen, Deutschland) der gesamten Bauchfläche. Wir fixierten das Tier mittels Pflasterband (Fink & Walter GmbH, Merchweiler, Deutschland) auf einer Korkplatte und hielten die Narkose mit 2,5 % Isofluran und 2 Liter Sauerstoff pro Minute aufrecht. Hierbei ruhten der Mund- und Nasenbereich des Tieres in einem trichterförmigen Ende des Schlauchsystems, über den ein konstanter Fluss des Gasgemisches gewährleistet wurde (Abbildung 1). Zum Schutz der Hornhaut trugen wir eine Salbe (Bepanthen Augen und Nasensalbe 5 g; Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) auf die Augen auf und markierten den Schwanz eindeutig und gut sichtbar mit einem wasserfesten Stift. Anschließend wurde die Bauchhaut desinfiziert (Octeniderm; Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) und 1 mg Rimadyl (Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland) zur postoperativen Analgesie mittels einer 1 ml Spritze (BD Plastipak; Becton Dickinson S.A., Madrid, Spanien) subkutan in die laterale Bauchhaut appliziert. Als Wärmeerhalt dienten Bauchtücher der Größe 30 x 20 cm (Nobamed Paul Danz AG, Wetter, Deutschland), die wir kranial und kaudal des Operationsgebietes auflegten.

Zunächst wurde der Processus Xiphoideus aufgesucht und die Cutis 10 mm distal davon mit einer Schere (BC324R; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) inzidiert. Die Subcutis wurde mithilfe der Schere oberhalb des Processus Xiphoideus unterminiert und der Schnitt bis auf eine Gesamtlänge von 15 mm nach kranial erweitert. Daraufhin wurde die unmittelbar darunter gelegene abdominelle Muskulatur mit einer chirurgischen Pinzette (BD559R; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) gefasst und leicht angehoben. Hierdurch war ein weiterer Schnitt bis ins Peritoneum möglich, ohne dabei die Bauchorgane zu verletzen. Auch diese Öffnung erweiterten wir bis zu einer Gesamtlänge von 15 mm. Zwei Tuchklemmen (BF432R; Aesculap

AG, Tuttlingen, Deutschland) sowie eine Splitterzange (BD995R; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) dienten der Darstellung des Operationsgebietes nach lateral und kranial. Wir befeuchteten eine Mullkompressen von 5 x 5 cm Größe (Fink & Walter GmbH, Merchweiler, Deutschland) mit Natriumchloridlösung 0,9 % (NaCl) (Ecotainer 1000 ml; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und legten diese unmittelbar unterhalb der Wunde auf die Bauchwand. Zwei Wattestäbchen (Fink & Walter GmbH, Merchweiler, Deutschland) wurden ebenfalls angefeuchtet und dienten als Hilfsmittel zur Mobilisierung des Leberlappens. Alle Interventionen erfolgten am linken Leberlappen (vergl. Kap. 3.1), den wir für die Behandlung unter schonender Präparation auf einem Tupfer positionierten.

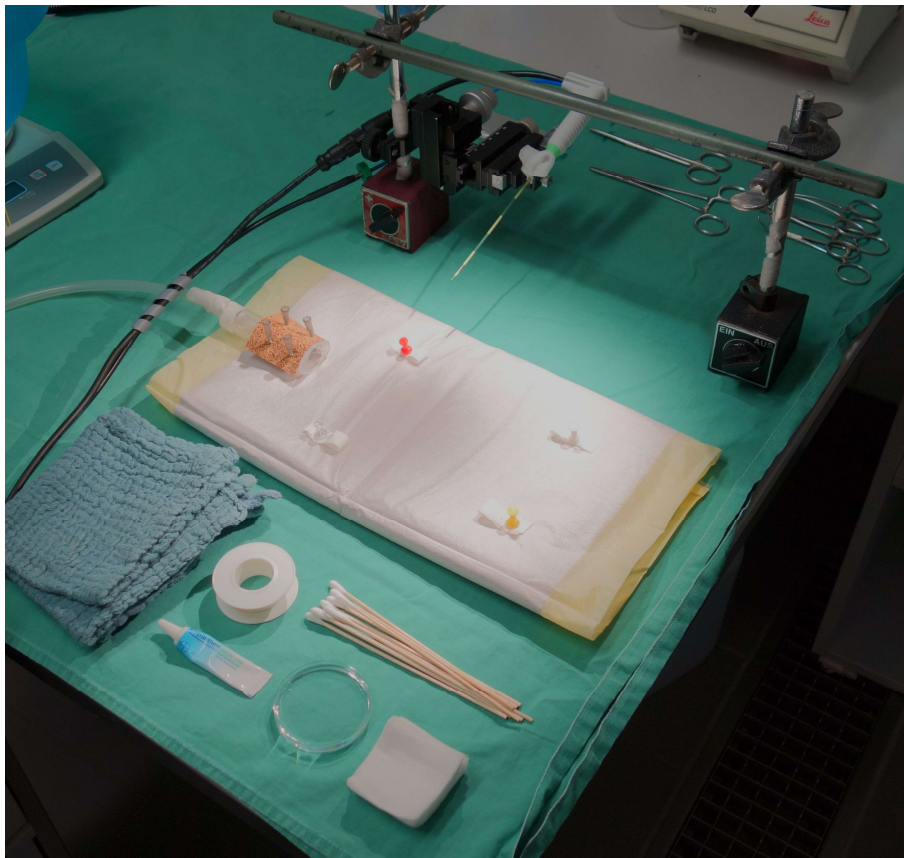


Abbildung 1: Versuchsaufbau mit Fixiermöglichkeit, Narkosegaszufuhr und Apparatur mit vorjustierter Ablationsnadel.

Nach erfolgter Implantation (vergl. Kap.3.3) bzw. Ablation (vergl. Kap. 3.4) verbrachten wir den Leberlappen wieder mittels Wattestäbchen in seine anatomische Lage und spülten den Bauchraum mit 5 ml 0,9 % NaCl. Die Klemmen wurden entfernt und anschließend das Peritoneum und die Bauchmuskeln mithilfe einer chirurgischen Pinzette (BD535R; Aesculap

AG, Tuttlingen, Deutschland), eines Nadelhalters (BM200R; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) und eines resorbierbaren Fadens (Vicryl Plus 3-0, 26 mm, 70 cm; Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) fortlaufend vernäht. Danach wurde die Hautschicht ebenfalls fortlaufend vernäht und anschließend die Wunde mit einem angefeuchteten Tupfer äußerlich gereinigt. Um die Belastung durch die Narkose für die Ratten so gering wie möglich zu halten, reduzierten wir die Isofluran-Zufuhr bereits zu Beginn der Hautnaht auf 1 % und beendeten die Narkose unmittelbar nach dem Wundverschluss. Die Bauchtücher wurden entfernt, alle Fixierungen gelöst und das Tier mit einer Grammwaage (MB 500-1; Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) gewogen. Abschließend notierten wir das Gewicht sowie die Start- und Endzeit des Eingriffes.

3.3 IMPLANTATION DER TUMORZELLEN

Alle zellbiologischen Arbeiten zur Aufbereitung der Tumorzellen fanden unter sterilen Bedingungen statt. Die Suspension der Tumorzellen vom Stamm CC531 (Cell Lines Service GmbH, Heidelberg, Deutschland) enthielt 5×10^5 Tumorzellen in 50 µl der Nährlösung Phosphate Buffered Saline 17-517 (PBS) (Lonza Inc., Walkersville, USA). Diese Nährlösung setzt sich aus 1,440 mg/l Kaliumhydrogenphosphat, 90,000 mg/l Natriumchlorid und 7,950 mg/l Dinatriumhydrogenphosphat zusammen. Zunächst wurde 1 g Zellpellet in einer Zellkultur-Schale der Größe 100 x 20 mm (Greiner-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) mit 5 ml PBS gespült. Danach lösten wir das Zellpellet mit 3 ml Trypsin/EDTA (0,05/0,02 %) (PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland) in PBS innerhalb einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei 37°C und 5 % CO₂ ab. Die Zellen wurden anschließend mittels PBS mit 10 % Fetal Bovine Serum (FBS) (PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland) neutralisiert und bei 2000 rpm über 5 Minuten in einer Zentrifuge zentrifugiert (Universal 30F; Hettich, Tuttlingen, Deutschland). Nach Entfernung des Überstandes konnten die Zellen mit weiteren 2 ml PBS mit 10 % FBS aufgenommen werden. Die Bestimmung der Zellzahl erfolgte in einer Neubauer-Zählkammer unter einem Lichtmikroskop (DMIL; Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland). Hierfür mussten eine Zellsuspension aus 80 µl PBS mit 10 µl Trypanblau (PAN-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland) und 10 µl der gewonnenen Zellen hergestellt und die Gesamtzellzahl sowie die entsprechende Verdünnung bestimmt werden. Das Zellpellet wurde ein weiteres Mal mit 10 ml PBS gewaschen, über 5 Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert und der Überstand anschließend entfernt. Über die Aufnahme der Zellen in der errechneten Verdünnung mit PBS,

erhielten wir schließlich eine Anzahl von 5×10^5 CC531 Zellen. Die Vorbereitung der Versuchstiere erfolgte entsprechend Kapitel 3.2. Kurz vor der Implantation wurde die Zelllösung in einem Reaktionsgefäß (Greiner-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) gemischt und mit einer 1 ml Spritze aufgezogen. Unter mikroskopischer Kontrolle punktierten wir den linken Leberlappen an seinem rechten Randsaum. Der Stichkanal verlief streng subkapsulär bis zu einer Distanz von 1 cm zu der Punktionsstelle, um bei der Applikation einen ausreichenden Sicherheitsabstand zu gewährleisten. Wir applizierten die Zelllösung gleichmäßig und unter Sicht in das periphere Lebergewebe und entfernten die Kanüle anschließend wieder zügig aus dem Organ. Um eine Nachblutung und einen Rücklauf der Zellsuspension zu vermeiden, wurde über 5 Minuten ein leichter Druck auf die Einstichstelle ausgeübt. Die weitere Versorgung verlief gemäß Kapitel 3.2.

3.4 MIKROWELLENABLATION

Die Ablationen wurden mit dem Gerätemodell AveCure der Firma MedWaves (MedWaves Inc., San Diego, USA) in Verbindung mit einer 16 Gauge Nadel durchgeführt. Bei der von uns gewählten Temperatur der Ablation von 80°C über eine Dauer von 60 Sekunden, entspricht die abgegebene Energie der Herstellerangabe zufolge 0,8 kJ. Die Geräteeinstellung resultiert demnach, in Abhängigkeit vom Gewebe, in einem Ablationsvolumen von ca. 524 mm³. Um eine vergleichbare Ablation zwischen allen Tieren zu gewährleisten, verwendeten wir eine eigene Konstruktion, in der die Ablationsnadel eingespannt und dadurch kontrolliert in das Zentrum des Tumors eingeführt werden konnte. Diese Haltevorrichtung ermöglichte es uns zudem, die Nadel über die Dauer der Ablation gleichmäßig in Position zu halten und somit die Energie präzise abzugeben. Über die Halterung konnte die Nadel in drei Freiheitsgraden bewegt und mit Stellschrauben arretiert werden (Abbildung 1). Vor dem Einbringen der Nadel eröffneten wir die Leberkapsel punktuell mit einer chirurgischen Pinzette, um eine möglichst widerstandsarme Punktion zu gewährleisten. Die Ablationsnadel wurde im Zentrum des Tumorgewebes positioniert. In dieser Einstellung führten wir die Ablation ohne weitere Manipulationen über insgesamt 65 Sekunden durch (Abbildung 2). Während der letzten fünf Sekunden wurde die Nadel unter gleichmäßigem Zug aus dem Gewebe entfernt. Hierdurch konnten verletzte Gefäße im Stichkanal koaguliert und somit das Risiko einer Nachblutung vermindert werden. Wir tamponierten die Punktionsstelle anschließend für fünf Minuten mit einem Wattetupfer und

verbrachten den Leberlappen wieder zurück in die anatomische Lage. Die weitere Behandlung erfolgte gemäß Kapitel 3.2.



Abbildung 2: Mikrowellenablation an der Rattenleber.

3.5 MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE

Alle Tiere wurden unmittelbar vor der Ablation sowie vor der Organentnahme mittels horizontalem Tier-Magnetresonanztomographen (BioSpin 94/20; Bruker Corporation, Billerica, USA) untersucht (9,4 Tesla; 16 Kanal Spule). Hierzu wurden die Ratten zunächst mit einem Gasgemisch aus Isofluran und Sauerstoff gemäß Kapitel 3.2 in Narkose versetzt. Bei ausreichender Narkosetiefe legten wir die Tiere bäuchlings in eine Führungsschiene und hielten die Narkose über eine Gesichtsmaske aufrecht. Zur Überwachung der Narkosetiefe, befestigten wir einen Bewegungssensor (Graseby infant respiration sensor; Smith Medical, Grasbrunn, Deutschland) am Bauch des Tieres. Für den Wärmeerhalt sorgte ein Schaumstoffkissen von 10 x 5 cm Größe, mit dem die Ratte während der Untersuchung abgedeckt wurde. Ein digitales Thermometer wurde rektal eingeführt und diente zur Messung der Körpertemperatur. Die Vitalwerte wurden über einen externen Computer mit der Software PC-SAM32 (SA Instruments Inc., Stony Brook, USA) erfasst und dargestellt. Zur Vermeidung von Augenschäden applizierten wir eine Salbe (Bepanthen; Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) in beide

Augen. Zur Lokalisation des Tumors führten wir eine T2-gewichtete Sequenz durch. Die Daten wurden anschließend mithilfe einer Bearbeitungs-Software (OsiriX; Pixmeo, Bernex, Schweiz) ausgewertet. Hierbei wurde je Tier eine Volumetrie in axialer und in sagittaler Achse durchgeführt. Die weiteren Berechnungen erfolgten mit dem Mittelwert beider Messungen.

3.6 ULTRASCHALLDIAGNOSTIK

Für die sonographische Bildgebung verwendeten wir das Ultraschallsystem Vevo LAZR (Fujifilm VisualSonics Inc., Toronto, Canada) in Verbindung mit einem 40 MHz Echtzeit-Linearschallkopf LZ550 für Mikrovaskularisation (Fujifilm VisualSonics Inc., Toronto, Canada). Die Untersuchung erfolgte im direkten Anschluss an die Kernspintomographie, sodass die Narkose weiter aufrechterhalten werden konnte. Hierzu legten wir das Versuchstier unmittelbar nach der Kernspintomographie auf die Untersuchungsplattform des Ultraschallsystems und führten über ein daran befestigtes Narkosesystem das Gasmisch zu. Die Plattform, Teile des Narkosesystems, sowie eine passende Halterung (Vevo Imaging Station; Fujifilm VisualSonics Inc., Toronto, Canada) für den Schallkopf, befanden sich in einem speziellen Gehäuse (LAZRTight Imaging Enclosure; Fujifilm VisualSonics Inc., Toronto, Canada). Dieses Gehäuse diente der Abschirmung äußerer Einflüsse und gewährleistete somit vergleichbare Untersuchungsbedingungen. Mittels eines in der Plattform befindlichen Sensors konnte die Atemfrequenz erfasst und über vier Extremitäten-Elektroden ein EKG abgeleitet werden. Die Körpertemperatur wurde über eine rektal eingeführte Sonde (THM100; Indus Instruments, Texas, USA) kontinuierlich überwacht. Wir legten den linken Leberlappen gemäß Kap. 3.2 frei und trugen Ultraschallgel (Aquasonic 100; Parker Laboratories Inc., Fairfield, USA) in ausreichender Menge auf das Gewebe auf. Nach der Feinjustierung von Plattform und Schallkopf starteten wir die Untersuchung (Abbildung 3). Um die hochauflösenden dreidimensionalen Ultraschallbilder zu generieren, wurde der 40 MHz Schallkopf im B-Mode mit 12 dB mittels eines Linearmotors kontinuierlich über das Lebergewebe bewegt. Das System erzeugte zunächst zweidimensionale Ultraschallbilder des untersuchten Bereiches. Die parallelen Intervalle mit je 50 µm Abstand wurden anschließend zu einer dreidimensionalen Struktur verrechnet. Mithilfe des Atemfrequenz-Sensors konnten Artefakte durch Atembewegungen auf ein Minimum reduziert werden, indem das System die Messung bei jeder Atemexkursion selbstständig pausierte. Alle gemessenen Werte wurden mithilfe der Software Vevo Lab (Fujifilm VisualSonics Inc., Toronto, Canada) verarbeitet.



Abbildung 3: Ultraschalldiagnostik an der präparierten Rattenleber.

3.7 MAKROSKOPISCHE VERMESSUNG

Die Organentnahme erfolgte unmittelbar im Anschluss an die sonographische Untersuchung (Abbildung 4). Das Abdomen wurde hierzu im offenen Zustand belassen und die Ratte zunächst gewogen. Anschließend fixierten wir das Tier mit Pflasterband auf einer Korkplatte und stellten den Situs gemäß Kapitel 3.2 dar. Sämtliche intraperitonealen Organe wurden mobilisiert und auf einem feuchten Tupfer ausgelagert, um einen Zugang zur Vena Cava zu erhalten. Wir punktierten die Vena Cava kranial des Zuflusses der Vena renalis dextra und exsanguinierten das Tier mithilfe einer 5 ml Spritze bis zum Eintritt des Herzstillstandes. Der behandelte linke Leberlappen wurde weit proximal der Läsion mit einer Schere abgesetzt und mit NaCl 0,9 % abgespült. Mithilfe eines digitalen Messschiebers (Wentronic GmbH, Braunschweig, Deutschland) vermaßen wir die entnommenen Gewebeproben entlang ihrer längsten Achse. Anschließend erfolgte für 24 Stunden eine Einbettung in Formalin. Nach der Formalin-Fixierung vermaßen wir die Proben erneut entlang ihrer längsten Achse, um die entstandenen Kontraktionen des Gewebes feststellen zu können. Für die weiteren Auswertungen wurde ein Kontraktionsartefakt von 5 % berücksichtigt. Die Volumina wurden bei bekanntem Schnittabstand von 1 mm mithilfe der stereologischen Methode nach dem Cavalieri-Prinzip berechnet.

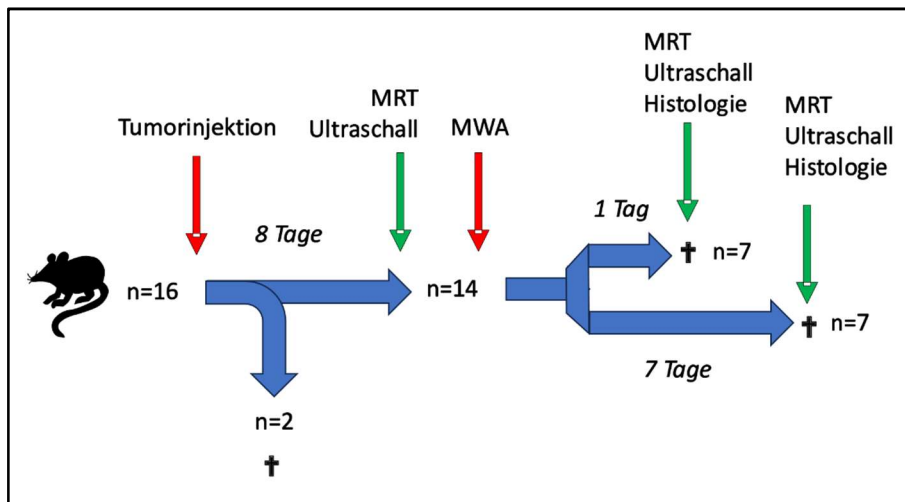


Abbildung 4: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Versuche.

3.8 HISTOLOGISCHE AUFBEREITUNG

Die Präparate wurden zur Entwässerung für 90 Minuten in ein Wasserbad gelegt und anschließend für jeweils eine Stunde in ein Bad mit 70 % Ethanol, dann mit 80 %, mit 90 % und schließlich dreimal in Bäder mit 100 % Ethanol eingelegt. Hiernach folgten für je eine Stunde drei Bäder nacheinander in Xylol und schließlich vier Bäder in Paraffin mittels eines Gewebeeinbeters (MTM, SLEE medical GmbH, Mainz, Deutschland). Nach dem Aushärten des Paraffins schnitten wir die Präparate mit einem speziellen Schnittgerät (Model TC752, Campden Instruments LTD, Loughborough, England) in 1 mm dünne Scheiben und legten diese erneut in Paraffin ein. Der Zuschnitt für die Objektträger erfolgte mit einem Rotationsmikrotom (RM2265, Leica, Wetzlar, Deutschland). Die Objektträger wurden hierfür mit einer Vorbeschichtung aus Poly-L-Lysin versehen und die Zuschnitte in einem Streckbad (TFB35, Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland) aufgezogen. Anschließend lagerten wir die Objektträger über Nacht in einem Wärmeschrank (Function Line, Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland).

3.9 HÄMATOXYLIN-EOSIN-FÄRBUNG

Zur Vorbereitung der Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurden die Objektträger zunächst dreimal für fünf Minuten in Xylol und danach zweimal für jeweils fünf Minuten in Bäder mit zunächst 100 % Ethanol, dann mit 90 %, hiernach mit 80 % und schließlich mit 70 % Ethanol eingelegt.

Zur Herstellung der Hämatoxylin-Lösung nach Böhmer bereiteten wir zwei Lösungen vor. Für Lösung A wurde 1 g Hämatoxylin in 10 ml Ethanol gelöst. Für Lösung B gaben wir 20 g Kaliumaluminiumsulfat in 200 ml warmes destilliertes Wasser, ließen die Lösung erkalten und filtrierten sie schließlich ab. Das Gemisch aus den Lösungen A und B wurde für drei Tage bei Raumluft inkubiert. Nach einem weiteren fünfminütigen Bad in destilliertem Wasser, legten wir die Trägerplatten drei Minuten lang in die fertige Lösung ein. Anschließend wurden die Objektträger fünfmal in HCL-Alkohol (bestehend aus 198 ml 70 % Alkohol und 2 ml konzentrierte Salzsäure) eingetaucht und danach fünf Minuten lang in Leitungswasser gebläut. Nach einer weiteren Spülung mit destilliertem Wasser, legten wir die Objektträger über 30 Sekunden in 2 % Eosin ein und spülten sie danach erneut mit destilliertem Wasser ab. Zur abschließenden Entwässerung erfolgten weitere Bäder für jeweils eine Minute zunächst in 70 % Ethanol, dann in 80 %, hiernach in 90 % Ethanol und schließlich zwei Bäder nacheinander in 100 % Ethanol. Zuletzt folgten drei Bäder über fünf Minuten in Xylol. Anschließend wurden die Präparate mit Xylolkitt eingedeckt.

3.10 IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN

Zur Herstellung der immunhistochemischen Färbungen wurde ein Teil der Schnitte je dreimal für fünf Minuten in Xylol entparaffiniert und darauf zunächst mit 100 % Ethanol, dann 90 %, später 80 % und zuletzt 70 % Ethanol rehydriert. Anschließend folgte ein Bad in destilliertem Wasser. Für eine Blockierung der endogenen Peroxidase, wurden die Schnitte für zehn Minuten in Methanol mit 3 % Wasserstoffperoxid eingelegt und hiernach zunächst mit destilliertem Wasser und anschließend mit PBS gespült. Aufgrund der Formalinfixierung und der Einbettung in Paraffin musste zunächst eine hitzeinduzierte Epitopdemaskierung in einem Wasserbad bei 97°C für 45 Minuten erfolgen. Wir verwendeten für die Differenzierung der Immunzellen einen rabbit-anti-CD3-Antikörper, einen rabbit-anti-CD68-Antikörper und einen rabbit-anti-Myeloperoxidase-Antikörper. Die CD3-Färbung gelang durch eine Andauung mit einem Citracon Puffer (pH 7,4) und die CD68- und MPO-Färbungen jeweils durch eine Andauung in einem EDTA-Puffer (pH 9,0). Zur Abkühlung spülten wir die Objektträger zunächst für zehn Minuten in destilliertem Wasser und anschließend in PBS. Hiernach wurden die Schnitte für 30 Minuten mit 3 % Goat Serum in PBS bei Raumtemperatur inkubiert, um eine unspezifische Bindung des Sekundärantikörpers zu verhindern. Die Blockierung von endogenem Avidin und Biotin erfolgte durch das Auftragen der entsprechenden Lösung für jeweils 15 Minuten. Die

Objektträger wurden im Anschluss erneut in PBS gespült. Für die CD3- und die MPO-Antikörper verwendeten wir jeweils eine 1:100 Verdünnung und für die CD68-Antikörper eine 1:300 Verdünnung in PBS. Nach dem Auftragen der Primärantikörper wurden die Schnitte über Nacht unter einem Deckglas bei Raumtemperatur inkubiert. Die Entfernung des Deckglases erfolgte mittels PBS-Spülung, sodass wir die Objektträger anschließend mit einem goat-anti-rabbit-IgG-Sekundärantikörper für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren konnten. Hiernach wurde erneut mit PBS gespült. Um die Antikörperreaktion zu detektieren, brachten wir das Chromogen 3-Amino-9-Ethylcarbazole für drei Minuten auf die Schnitte auf. Nach einer weiteren Spülung für zehn Minuten in PBS und destilliertem Wasser erfolgte die Kernfärbung mit Hämalaun nach Mayer mit anschließender erneuter Spülung unter destilliertem Wasser. Hiernach wurden die Objektträger für zehn Minuten mit Leitungswasser gebläut, wiederum mit destilliertem Wasser abgespült und mit Glyceringelatine eingedeckt.

Den Nachweis der Zellproliferation konnten wir mit einem mouse-anti-PCNA-Antikörper erbringen. Hierzu kochten wir die Schnitte zur Andauung für zehn Minuten in Citratpuffer (pH 6,0) bei 600 Watt in der Mikrowelle. Nach dem Abkühlen und einer Spülung in PBS, wurde hier ebenfalls 3 % Goat Serum in PBS aufgetragen und die Schnitte über Nacht bei Raumtemperatur in einer 1:100 Verdünnung des primären Antikörpers inkubiert. Nach einer erneuten Spülung in PBS, verwendeten wir als Sekundärantikörper einen peroxidase-gekoppelten goat-anti-mouse-IgG-Antikörper mit einer 1:200 Verdünnung in PBS. Nach einer weiteren Spülung mit PBS, trugen wir das Chromogen 3,3'-Diaminobenzidin für drei Minuten auf. Nach einer weiteren Spülung färbten wir die Zellkerne mit Hämalaun. Daran schloss sich eine Entwässerung in 70 % Ethanol, dann 80 %, später 90 % und schließlich 100 % Ethanol an. Zuletzt wurden die Schnitte dreimal für fünf Minuten in Xylol gegeben und abschließend mit einem Xylolkitt eingedeckt.

3.11 MIKROSKOPISCHE AUSWERTUNG

Zur Vermessung der histologischen Schnitte verwendeten wir ein Mikroskop (Olympus BX53, Evident Europe GmbH, Hamburg, Deutschland) mit einer 40-fachen Vergrößerung. Über eine an dem Mikroskop befestigte Kamera (Olympus DP37, Evident Europe GmbH, Hamburg, Deutschland) mit einer Lichtquelle (Olympus U-LGPS, Evident Europe GmbH, Hamburg, Deutschland) wurden Einzelbilder erstellt und mittels einer Software (ImageJ) zu einem Gesamtbild zusammengesetzt. Zur Bestimmung der Läsionsvolumina wurden die

mikroskopisch erkennbaren Grenzen der Läsionen mithilfe der Software manuell markiert. Das Programm errechnete anhand dieser Markierungen die Flächeninhalte in μm^2 , die wir in geordneter Reihenfolge der Schnitte in eine Tabelle (MS Excel, Microsoft Corporation, Redmond, USA) einpfligten. Die Auszählung der Zellsignale nach immunhistochemischer Färbung wurde mithilfe einer Neubauer-Zählkammer unter einem Lichtmikroskop (DMIL; Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland) durchgeführt. Die ermittelten Zahlenwerte wurden in eine Tabelle übertragen (MS Excel, Microsoft Corporation, Redmond, USA).

3.12 DATENVERARBEITUNG

Auf Grundlage der digital erfassten Daten, konnten wir mithilfe eines Datenanalyse-Programmes (SPSS Statistics, Version 27, IBM, Armonk, USA) die statistische Auswertung durchführen. Ein Test auf Normalverteilung wurde aufgrund der geringen Stichprobengröße als statistisch nicht sinnvoll erachtet. Die nachfolgenden statistischen Tests wurden dennoch durchgeführt, wobei die eingeschränkte Aussagekraft kleiner Stichproben berücksichtigt wurde. Für die volumetrischen Auswertungen ermittelten wir die bivariate Pearson-Korrelation und den 2-seitigen p-Wert. Die Messungen wurden in Streudiagrammen aufgetragen. Mithilfe von Bland Altman Plots überprüften wir die Messgenauigkeiten der Bildgebungsverfahren. Hierzu wurden auf der Grundlage von Mittelwert und Standardabweichung die Differenzen in Bezug auf die Referenzmessungen ermittelt. Die Gegenüberstellungen der volumetrischen sowie der histologischen Daten von Tag 1 und Tag 7 wurden als Balkendiagramm dargestellt. Für die Bestimmung der jeweils geltenden p-Werte führten wir den t-Test für unabhängige Stichproben durch. Um die Anzahl der Zellsignale in den Bereichen Läsion, Grenzbereich und Leber in einem Direktvergleich darzustellen, verwendeten wir Balkendiagramme. Zunächst überprüften wir in einem Mauchly-Test auf Sphärizität, ob signifikante Unterschiede zwischen den drei Werten bestanden. Sofern dies zutraf, führten wir paarweise Vergleiche durch. In einem ANOVA-Test mit Messwiederholung konnten wir schließlich signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Werten bestimmen. Die Darstellung der Anzahl der PCNA-Signale von Tag 1 und Tag 7 erfolgte als gruppiertes Balkendiagramm und die Ermittlung des p-Wertes mittels exaktem Test nach Fisher.

4 ERGEBNISSE

Es wurden insgesamt 16 Tiere eingeschlossen. Von diesen verstarben zwei Ratten unmittelbar postinterventionell, sodass hier lediglich die Daten der MRT- und Ultraschalldiagnostik am Tag 0 zur Verfügung standen. Eine ausgeprägte Ödembildung verhinderte bei sämtlichen Tieren der 7-Tage-Gruppe die Auswertung mittels Ultraschall. Die histologischen Präparate von jeweils drei Tieren pro Gruppe waren stark brüchig, sodass eine exakte Volumetrie nicht durchführbar war. Die Versuchstiere sind nicht fortlaufend nummeriert, da die fehlenden Nummern Teil einer anderen Versuchsreihe waren (Abbildung 5).

Die ersten Auswertungen betreffen die Volumina beider Gruppen unmittelbar vor der Intervention am Tag 0. Es folgen die Vergleiche zwischen den mittels MRT, Ultraschall und anhand der Präparate gemessenen postinterventionellen Volumina der Läsionen am Tag 1 und am Tag 7. Die beiden Versuchsgruppen werden in einem weiteren Kapitel direkt miteinander verglichen. Zuletzt werden Anzahl und Verteilung der Zellmarker CD3, CD68, MPO und PCNA in Balkendiagrammen dargestellt.

Tier	MRT 0	US 0	Hist. 1	MRT 1	US 1	Hist. 7	MRT 7	US 7
Nr. 1	x	x					x	
Nr. 2	x	x				x	x	
Nr. 3	x	x					x	
Nr. 4	x	x				x	x	
Nr. 9	x	x		x	x			
Nr. 11	x	x		x	x			
Nr. 12	x	x	x	x	x			
Nr. 16	x	x	x	x	x			
Nr. 17	x	x						
Nr. 18	x	x	x	x	x			
Nr. 19	x	x		x	x			
Nr. 20	x	x	x	x	x			
Nr. 25	x	x						
Nr. 26	x	x					x	
Nr. 27	x	x				x	x	
Nr. 28	x	x				x	x	

Abbildung 5: Übersicht über die vorhandenen Daten pro Tier. MRT (0/1/7) = Magnetresonanztomographie am Tag 0, 1 bzw. 7; US (0/1/7) = Ultraschall am Tag 0, 1 bzw. 7; Hist. (1/7) = Histologie am Tag 1 bzw. 7; x = Daten vorhanden.

4.1 TUMORVOLUMINA PRÄINTERVENTIONELL AM TAG 0

Die Messwerte der Tumorumina sind in Tabellen aufgeführt. Es wurden bivariate Pearson-Korrelationen durchgeführt. Das Streudiagramm zeigt die mittels MRT und Ultraschall gemessenen Volumina in Relation. Die Messgenauigkeit der Verfahren wird anhand eines Bland Altman Plots verglichen. Die Differenzen des Bland Altman Plots sind aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Tiere nicht normal verteilt. Es gilt ein 95 % Konfidenzintervall. Der p -Wert testet 2-seitig auf ein Niveau von 0,05.

4.1.1 MRT

Die Tumore der 1-Tages-Gruppe wurden in der MRT am Tag 0 vor der Intervention in axialer und sagittaler Achse vermessen und aus jeweils beiden Werten der Mittelwert bestimmt. Dieser diente als Grundlage für den Vergleich mit der Ultraschalldiagnostik (Abbildung 6); $M = 69,40$; $SD = 32,43$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 9	55,40
Nr. 11	26,56
Nr. 12	93,34
Nr. 16	139,00
Nr. 17	70,82
Nr. 18	39,44
Nr. 19	69,34
Nr. 20	61,32

Abbildung 6: Tumorumina der 1-Tages-Gruppe in der MRT am Tag 0.

Auch die Tumore der 7-Tage-Gruppe wurden in der MRT am Tag 0 vor der Intervention sowohl axial als auch sagittal vermessen. Aus diesen Werten wurde der Mittelwert berechnet, der als Grundlage für den Vergleich mit der Ultraschalldiagnostik diente (Abbildung 7); $M = 67,23$; $SD = 29,81$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 1	21,00
Nr. 2	65,58
Nr. 3	110,60
Nr. 4	83,12
Nr. 25	23,34
Nr. 26	95,36
Nr. 27	62,04
Nr. 28	76,78

Abbildung 7: Tumervolumina der 7-Tage-Gruppe in der MRT am Tag 0.

4.1.2 ULTRASCHALL

Die Volumina der Tumore der 1-Tages-Gruppe wurden mittels Ultraschall vor der Intervention am Tag 0 ermittelt (Abbildung 8) und für den Vergleich mit der MRT-Diagnostik verwendet; $M = 62,67$; $SD = 40,51$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 9	40,27
Nr. 11	32,53
Nr. 12	110,08
Nr. 16	138,77
Nr. 17	28,90
Nr. 18	16,98
Nr. 19	52,55
Nr. 20	81,28

Abbildung 8: Tumervolumina der 1-Tages-Gruppe im Ultraschall am Tag 0.

Die Volumina der Tumore der 7-Tage-Gruppe wurden ebenfalls mittels Ultraschall vor der Intervention am Tag 0 ermittelt (Abbildung 9) und für den nachfolgenden Vergleich verwendet; $M = 55,77$; $SD = 20,45$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 1	19,48
Nr. 2	74,39
Nr. 3	59,85
Nr. 4	69,01
Nr. 25	23,53
Nr. 26	63,00
Nr. 27	74,61
Nr. 28	62,32

Abbildung 9: Tumorstadien der 7-Tage-Gruppe im Ultraschall am Tag 0.

4.1.3 VERGLEICH VON MRT UND ULTRASCHALL

Das nachfolgende Diagramm zeigt die in MRT und Ultraschall bestimmten Tumervolumina in Relation (Abbildung 10). Es wurden jeweils die 1-Tages-Gruppe und die 7-Tage-Gruppe gemeinsam verglichen. Die Werte korrelieren miteinander; $n = 16$; $r = 0,801$; $p < 0,001$.

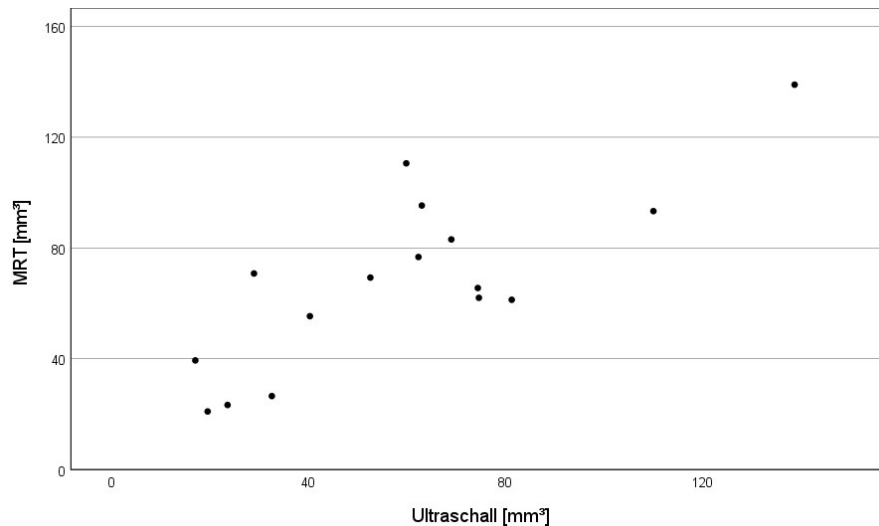


Abbildung 10: Tumervolumina im Streudiagramm. MRT in Relation zum Ultraschall.

In einem Vergleich beider Messmethoden besteht keine hinreichende Genauigkeit, da nicht alle Messwerte innerhalb des Toleranzbereiches liegen (Abbildung 11). Die gemessenen Volumina sind in der MRT größer als im Ultraschall; Differenz: $M = 9,09 \text{ mm}^3$; $SD = 20,71 \text{ mm}^3$.

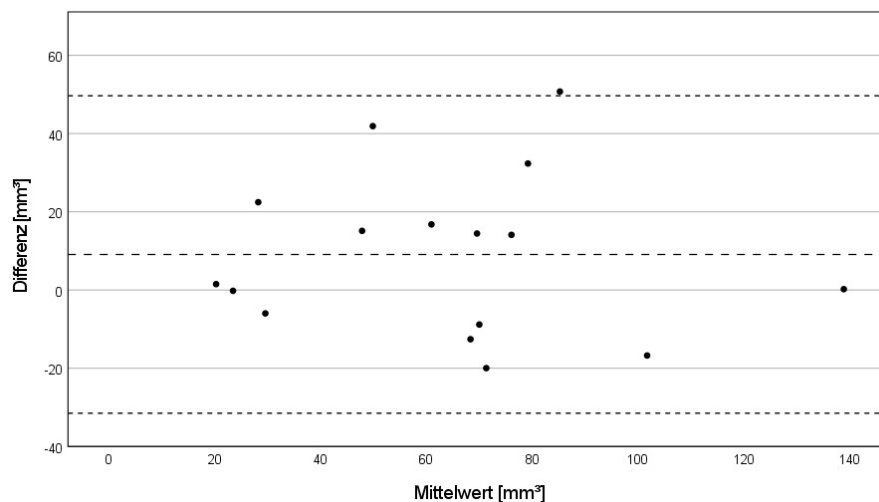


Abbildung 11: Tumervolumina im Bland Altman Plot. MRT im Vergleich mit Ultraschall.

4.2 LÄSIONSVOLUMINA POSTINTERVENTIONELL AM TAG 1

Die Messwerte der Volumina sind in Tabellen aufgeführt. Es wurden bivariate Pearson-Korrelationen durchgeführt. Die Streudiagramme zeigen die gemessenen Volumina jeweils in Relation. Anhand der Bland Altman Plots sind die Vergleiche der Messgenauigkeiten der jeweiligen Verfahren dargestellt. Die Differenzen der Bland Altman Plots sind aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Tiere nicht normalverteilt. Es gilt ein 95 % Konfidenzintervall. Der p -Wert testet 2-seitig auf ein Niveau von 0,05.

4.2.1 HISTOLOGIE

Die anhand der Präparate am Tag 1 nach der Intervention ermittelten Volumina wurden um ein Kontraktionsartefakt von 5 % korrigiert (Abbildung 12). Diese Werte wurden für die nachfolgenden Vergleiche verwendet; $M = 423,35$; $SD = 201,54$.

Tier	Volumen in mm³	V_{korrigiert} in mm³
Nr. 12	128,25	135,00
Nr. 16	355,24	373,94
Nr. 18	467,99	492,62
Nr. 20	657,24	691,83

Abbildung 12: Läsionsvolumina in der Histologie am Tag 1.

4.2.2 MRT

Die Tumore der 1-Tages-Gruppe wurden in der MRT am Tag 1 nach der Intervention in axialer und sagittaler Achse vermessen und aus beiden Werten jeweils der Mittelwert bestimmt (Abbildung 13). Dieser diente als Grundlage für den Vergleich mit der Ultraschalldiagnostik und der Histologie; $M = 755,46$; $SD = 507,80$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 9	181,40
Nr. 11	213,91
Nr. 12	436,24
Nr. 16	538,74
Nr. 18	1205,42
Nr. 19	1122,80
Nr. 20	1589,68

Abbildung 13: Läsionsvolumina in der MRT am Tag 1

4.2.3 ULTRASCHALL

Die Volumina der Tumore der 1-Tages-Gruppe wurden mittels Ultraschall nach der Intervention am Tag 1 ermittelt und für die nachfolgenden Vergleiche verwendet (Abbildung 14); $M = 473,77$; $SD = 151,89$.

Tier	Volumen in mm ³
Nr. 9	297,05
Nr. 11	337,28
Nr. 12	331,60
Nr. 16	521,75
Nr. 18	495,15
Nr. 19	750,92
Nr. 20	582,63

Abbildung 14: Läsionsvolumina im Ultraschall am Tag 1.

4.2.4 VERGLEICH VON HISTOLOGIE, MRT UND ULTRASCHALL

Das nachfolgende Diagramm stellt die mittels MRT gemessenen Volumina der Läsionen in Relation zu den Volumina der Histologie am Tag 1 dar (Abbildung 15). Die Werte korrelieren miteinander; $n = 4$; $r = 0,932$; $p = 0,068$.

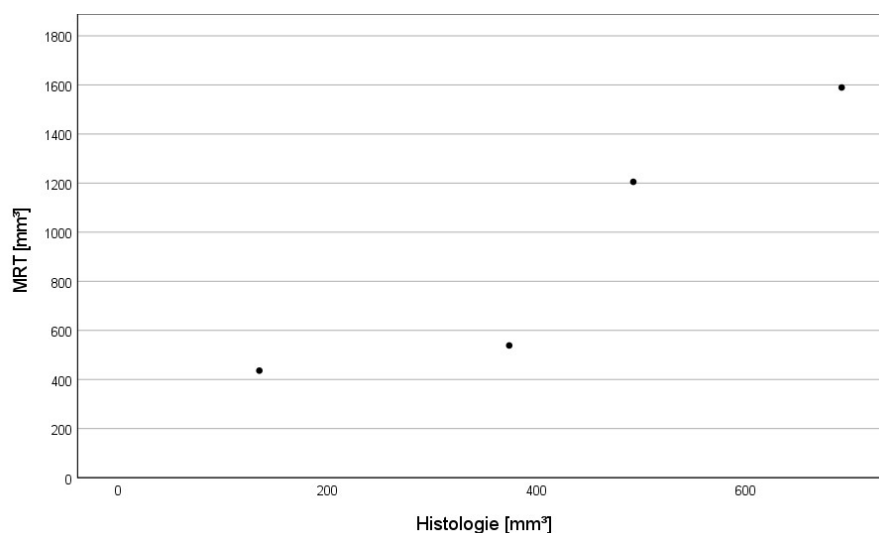


Abbildung 15: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. Histologie in Relation zur MRT.

In einem Vergleich beider Messmethoden besteht eine hinreichende Genauigkeit, da alle Werte im Toleranzbereich liegen (Abbildung 16). Die gemessenen Volumina sind in der MRT größer als in der histologischen Auswertung; Differenz: $M = 519,17 \text{ mm}^3$; $SD = 343,49 \text{ mm}^3$.

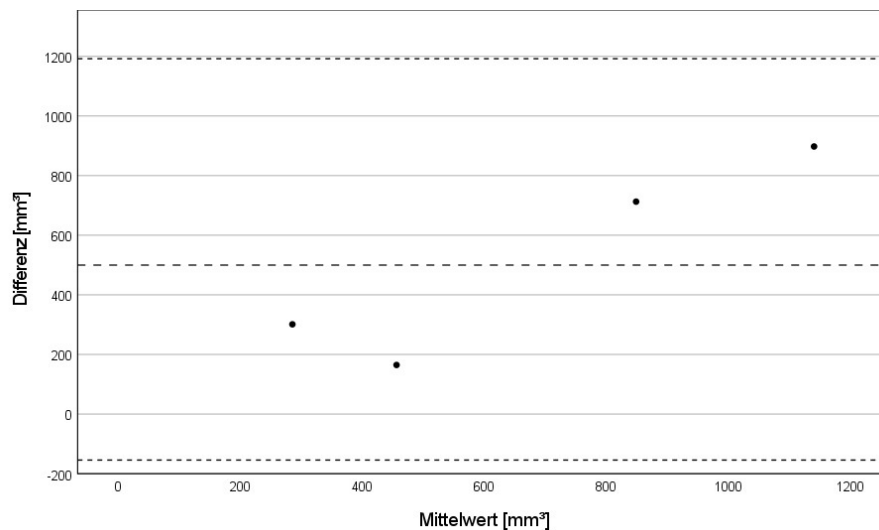


Abbildung 16: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit der MRT.

Das nachfolgende Diagramm zeigt die mittels Ultraschall ermittelten Läsionsvolumina in Relation zur Histologie am Tag 1 (Abbildung 17). Die Werte korrelieren miteinander; $n = 4$; $r = 0,926$; $p = 0,074$.

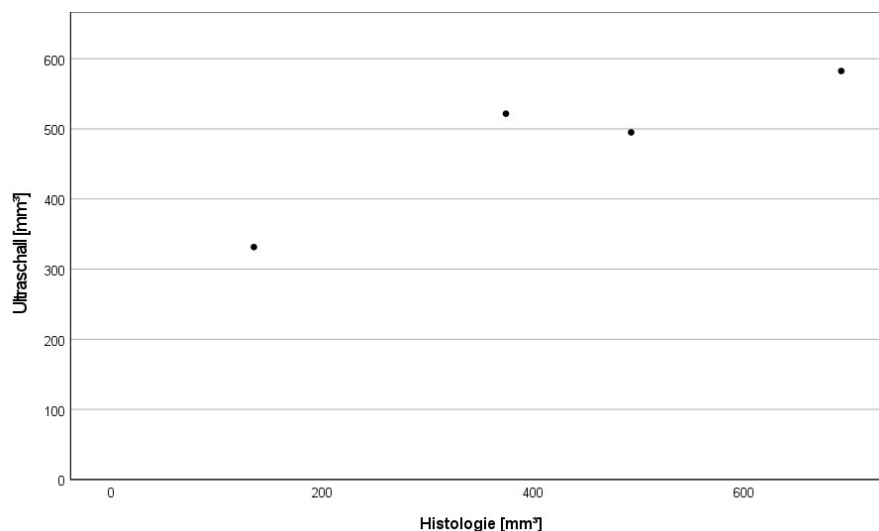


Abbildung 17: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. Histologie in Relation zum Ultraschall.

Ein direkter Vergleich der beiden Messmethoden weist eine hinreichende Genauigkeit auf, da alle Werte im Toleranzbereich liegen (Abbildung 18). Die gemessenen Volumina sind im Ultraschall größer als in der Histologie; Differenz: $M = 336,57 \text{ mm}^3$; $SD = 259,37 \text{ mm}^3$.

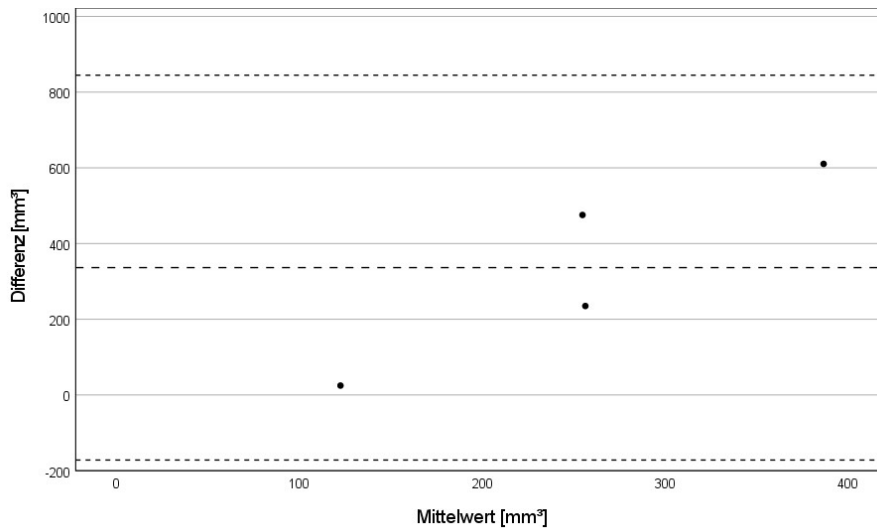


Abbildung 18: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit dem Ultraschall.

Im folgenden Diagramm werden die volumetrischen Messungen von MRT und Ultraschall am Tag 1 zueinander in Relation gesetzt (Abbildung 19). Die Werte korrelieren miteinander; $n = 7$; $r = 0,764$; $p = 0,045$.

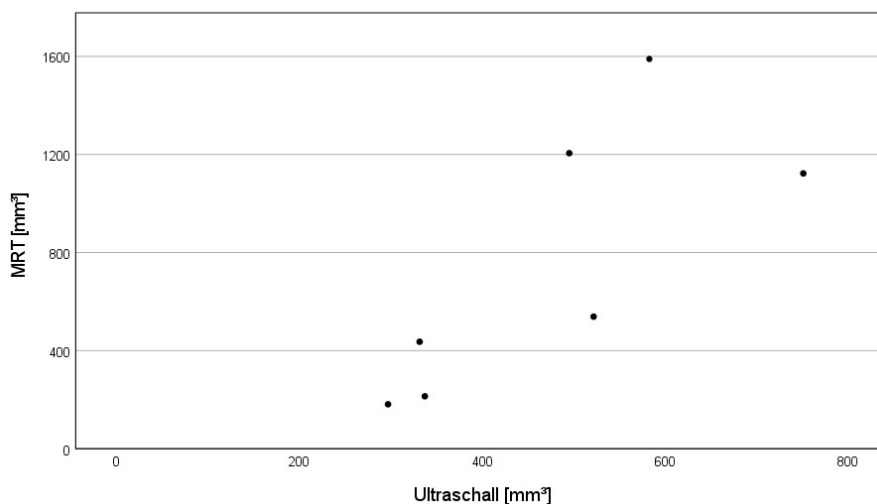


Abbildung 19: Läsionsvolumina am Tag 1 im Streudiagramm. MRT in Relation zum Ultraschall.

Ein direkter Vergleich von MRT und Ultraschall am Tag 1 zeigt eine hinreichende Genauigkeit beider Messmethoden (Abbildung 20). Alle Punkte liegen im Toleranzbereich. Die gemessenen Volumina sind in der MRT größer als im Ultraschall; $M = 281,69 \text{ mm}^3$; $SD = 436,14 \text{ mm}^3$.

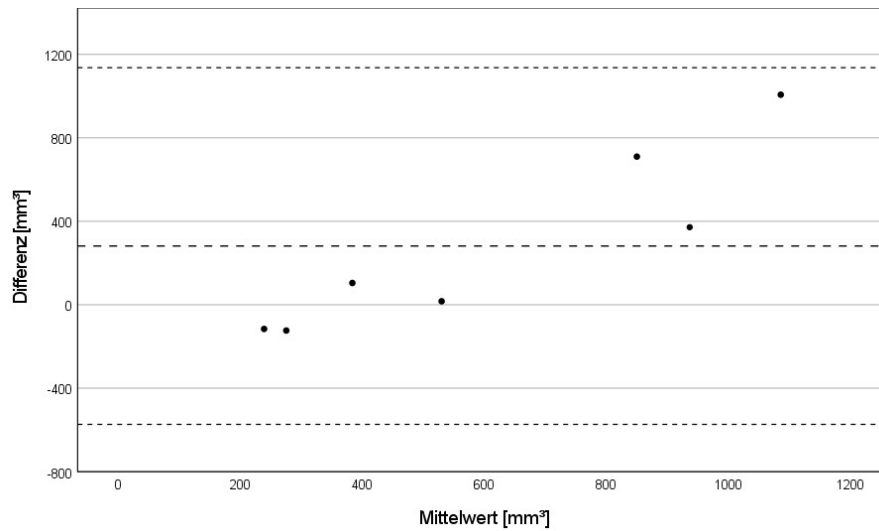


Abbildung 20: Läsionsvolumina am Tag 1 im Bland Altman Plot. MRT im Vergleich zum Ultraschall.

4.3 LÄSIONSVOLUMINA POSTINTERVENTIONELL AM TAG 7

Die in der Histologie und mit der MRT gemessenen Volumina sind in Tabellen aufgeführt und in einem Streudiagramm zueinander in Relation gesetzt. Es wurden bivariate Pearson-Korrelationen durchgeführt. Anhand eines Bland Altman Plots wird der Vergleich der Messgenauigkeit beider Verfahren dargestellt. Die Differenzen des Bland Altman Plots sind aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Tiere nicht normal verteilt. Es gilt ein 95 % Konfidenzintervall. Der p -Wert testet 2-seitig auf ein Niveau von 0,05.

4.3.1 HISTOLOGIE

Die anhand der Präparate am Tag 7 nach der Intervention ermittelten Volumina wurden um ein Kontraktions Artefakt von 5 % korrigiert (Abbildung 21). Diese Werte wurden für den nachfolgenden Vergleich verwendet; $M = 319,6$; $SD = 135,03$.

Tier	Volumen in mm³	V_{korrigiert} in mm³
Nr. 2	206,08	216,93
Nr. 4	515,69	542,83
Nr. 27	295,23	310,77
Nr. 28	197,49	207,88

Abbildung 21: Läsionsvolumina in der Histologie am Tag 7.

4.3.2 MRT

Die Tumore wurden in der MRT am Tag 7 nach der Intervention in axialer und sagittaler Achse vermessen und aus beiden Werten jeweils der Mittelwert bestimmt (Abbildung 22). Dieser diente als Grundlage für den Vergleich mit der Histologie; $M = 1624,66$; $SD = 1193,36$.

Tier	Volumen in mm³
Nr. 1	3907,04
Nr. 2	568,12
Nr. 3	2824,84
Nr. 4	1564,30
Nr. 26	863,23
Nr. 27	1230,32
Nr. 28	414,76

Abbildung 22: Läsionsvolumina in der MRT am Tag 7.

4.3.3 VERGLEICH VON HISTOLOGIE UND MRT

Das Diagramm zeigt einen Vergleich der Läsionsvolumina in der MRT gegenüber der Histologie am Tag 7 (Abbildung 23). Die Werte korrelieren miteinander; $n = 4$; $r = 0,918$; $p = 0,082$.

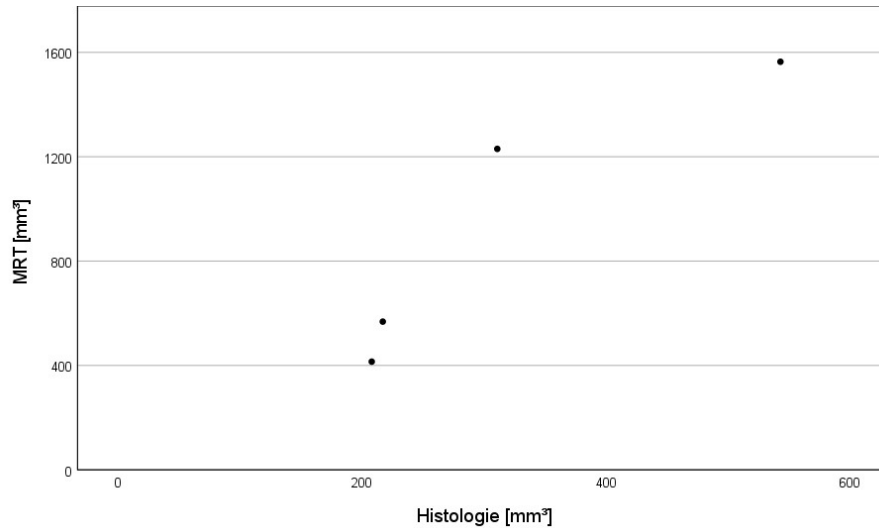


Abbildung 23: Läsionsvolumina am Tag 7 im Streudiagramm. Histologie in Relation zur MRT.

In einem Vergleich beider Messmethoden besteht eine hinreichende Genauigkeit, da alle Werte im Toleranzbereich liegen (Abbildung 24). In der MRT sind die gemessenen Volumina größer als in der Histologie; Differenz: $M = 624,77 \text{ mm}^3$; $SD = 405,69 \text{ mm}^3$.

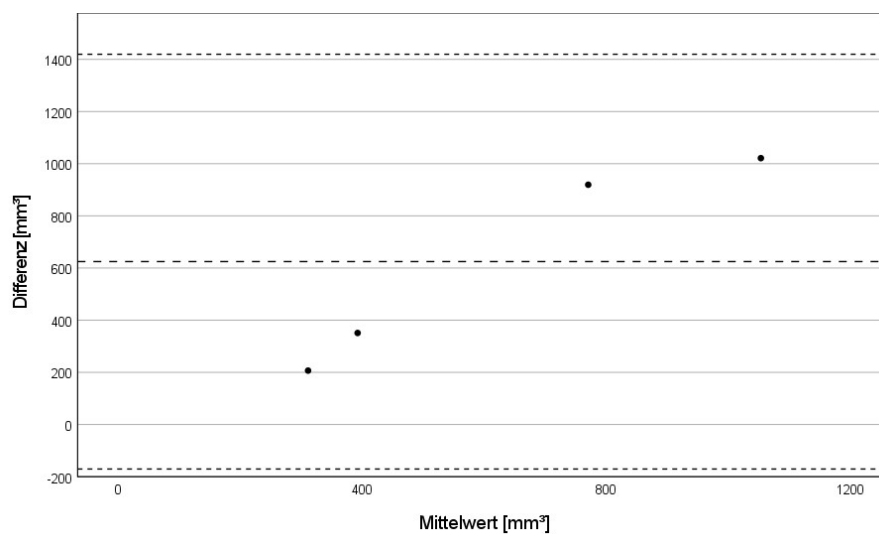


Abbildung 24: Läsionsvolumina am Tag 7 im Bland Altman Plot. Histologie im Vergleich mit der MRT.

4.4 VERGLEICH ZWISCHEN TAG 1 UND TAG 7

Bei den Vergleichen zwischen Tag 1 und Tag 7 handelt es sich um verschiedene Versuchsgruppen. Es wurde jeweils ein t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Der p -Wert testet 2-seitig auf ein Niveau von 0,05. Während die Volumina der histologischen Präparate am Tag 7 kleiner sind als am Tag 1, stellen sich die Volumina in der MRT am Tag 7 im Vergleich zum Tag 1 größer dar.

4.4.1 LÄSION

In der Darstellung der Volumina der histologischen Präparate als Balkendiagramm (Abbildung 25) sind die Mittelwerte der Ablationen am Tag 1 ($n = 4$) größer als am Tag 7 ($n = 4$); $p = 0,487$.

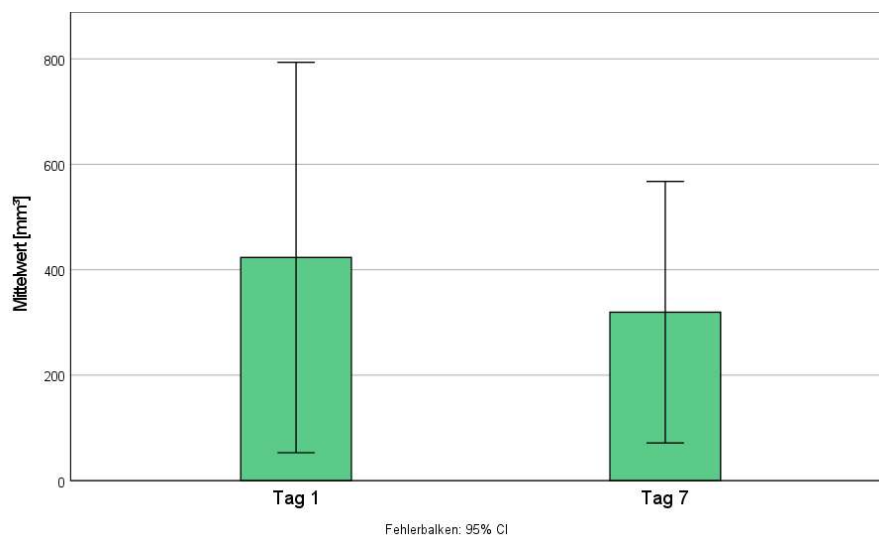


Abbildung 25: Ablationsvolumina in der Histologie. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

4.4.2 MRT

Das Balkendiagramm zeigt die Mittelwerte der Volumina nach Ablation mittels MRT an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten (Abbildung 26). Die ermittelten Volumina sind am Tag 1 ($n = 7$) kleiner als am Tag 7 ($n = 7$); $p = 0,127$.

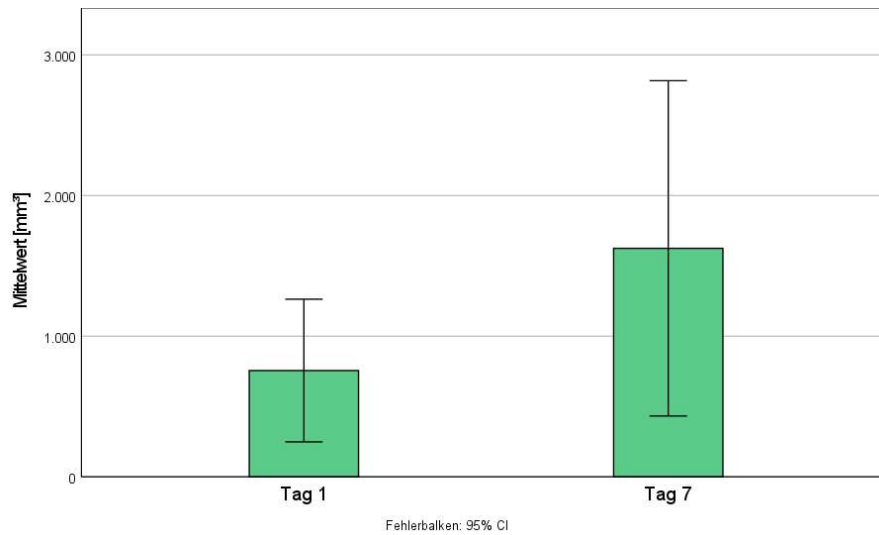


Abbildung 26: Ablationsvolumina in der MRT. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

4.5 HISTOLOGIE

4.5.1 TAG 1

In der zentralen Zone um den Stichkanal herum sind komprimierte und eosinophile Zellen erkennbar. Diese weisen eine streifige Anordnung um das Zentrum herum auf und wirken verzerrt. Zellkerne sind nur vereinzelt nachweisbar und Zellverbände können nicht klar abgegrenzt werden. Nach außen schließt sich ein ausgedehnter Bereich an, in dem sich die sinusoidale Struktur der Leber überwiegend nachvollziehen lässt. Die Zellen sind in tubulärer Form um die jeweiligen Sinus angeordnet. Zellkerne sind mehrheitlich vorhanden und können den jeweiligen Zellen zugeordnet werden. Insgesamt wirkt dieser Bereich hell und aufgelockert. Im Randbereich ist eine dritte Zone mit intakten und deutlich abgrenzbaren Zellstrukturen erkennbar. Die Kerne sind vorhanden und die Lebersinus in annähernd physiologischer Form erhalten. Auffällig ist die ausgeprägte Eosinophilie. Jenseits dieser Zone findet sich zunehmend normales Lebergewebe (Abbildung 27).

4.5.2 TAG 7

Im zentralen Bereich der Ablation wirken die Zellen stark komprimiert und das Gewebe dadurch homogen. Die Zellstrukturen sind eosinophil und weisen eine zirkuläre Anordnung um den Stichkanal herum auf. In der sich anschließenden Zone ist die sinusoidale Struktur der Leber nur ansatzweise erkennbar. Der Bereich erscheint überwiegend komprimiert und homogen. Anstatt einer tubulären Anordnung wirken die Zellen verwaschen und verzogen, sodass eine Struktur nicht eindeutig abgrenzbar ist. Die Kerne sind den Zellen nur vereinzelt zuzuordnen. Der Randbereich erscheint ödematös und die Zellstrukturen verwaschen (Abbildung 27).

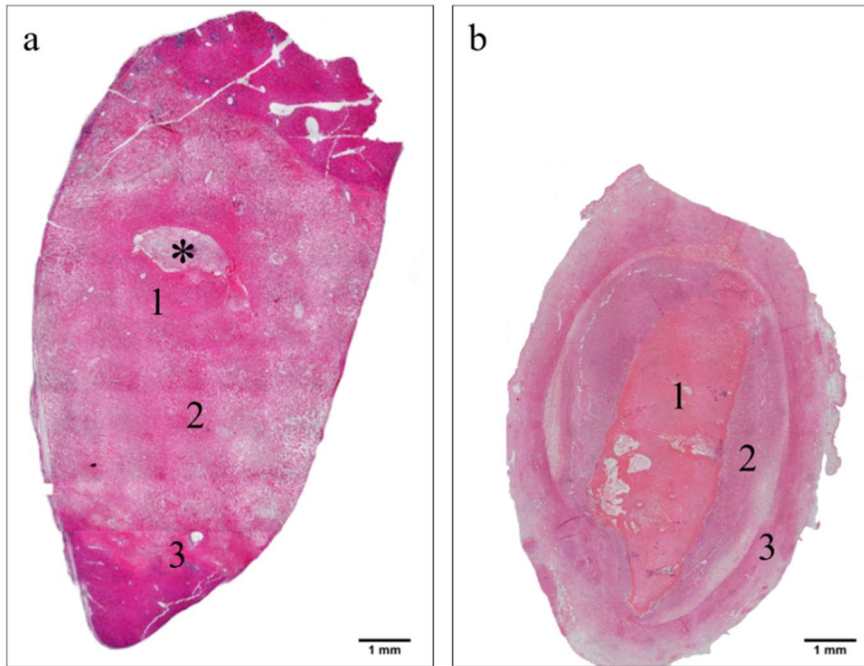


Abbildung 27: Histologische Präparate nach Mikrowellenablation, Hämatoxylin-Färbung. (a) Tag 1. Asterisk: Stichkanal. 1: Zentrale Zone. 2: Intermediärzone. 3: Hämorrhagische Zone. (b) Tag 7. 1: Zentrale Zone. 2: Intermediärzone. 3: Hämorrhagische Zone.

4.6 ZELLMARKER

Bei den Ergebnissen, in denen Werte vom Tag 1 ($n = 5$) mit Tag 7 ($n = 6$) verglichen werden, handelt es sich jeweils um verschiedene Versuchsgruppen. Zellen mit einem positiven Nachweis von CD3 sind ein Hinweis auf vorhandene T-Lymphozyten. Mit CD68-positiven Zellen kann das Vorhandensein von Makrophagen nachgewiesen werden, während MPO positive Zellen das Vorkommen von Granulozyten anzeigen. Es wurde jeweils ein t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Die Anzahl an PCNA-positiven Signalen lässt auf eine aktive Zellproliferation schließen. Hier wurde der exakte Test nach Fisher angewendet. In der Gruppe von Tag 1 wurden fünf Tiere untersucht, während sich in der Gruppe vom Tag 7 hingegen sechs untersuchte Tiere befanden. Aus jeweils vier Bildausschnitten wurde ein Mittelwert der vorhandenen Signale gebildet. Bei den Vergleichen von Läsion, Grenzbereich und Leber wurde jeweils ein Mauchly-Test auf Sphärizität angewendet. Bei $p < 0,05$ wurden paarweise Vergleiche in einem ANOVA-Test mit Messwiederholung durchgeführt. Die Mittelwerte sind zum Vergleich in Balkendiagrammen dargestellt. Die Schematische Darstellung der Ablation zeigt die Anzahl der Signale pro mm^2 der Marker CD3, CD68 und MPO jeweils am Tag 1 und

Tag 7 (Abbildung 28). In den Vergleichen zwischen den Bereichen Läsion, Grenzbereich und Leber weist der Grenzbereich die höchste Anzahl an Signalen auf. Eine mittlere Anzahl liegt innerhalb der Läsion vor. Die geringste Anzahl findet sich bei jeder Gruppe im Lebergewebe. Innerhalb der Sieben-Tages-Gruppe von CD68-Antikörpern und der Ein-Tages-Gruppe von MPO-Antikörpern sind die Unterschiede signifikant.

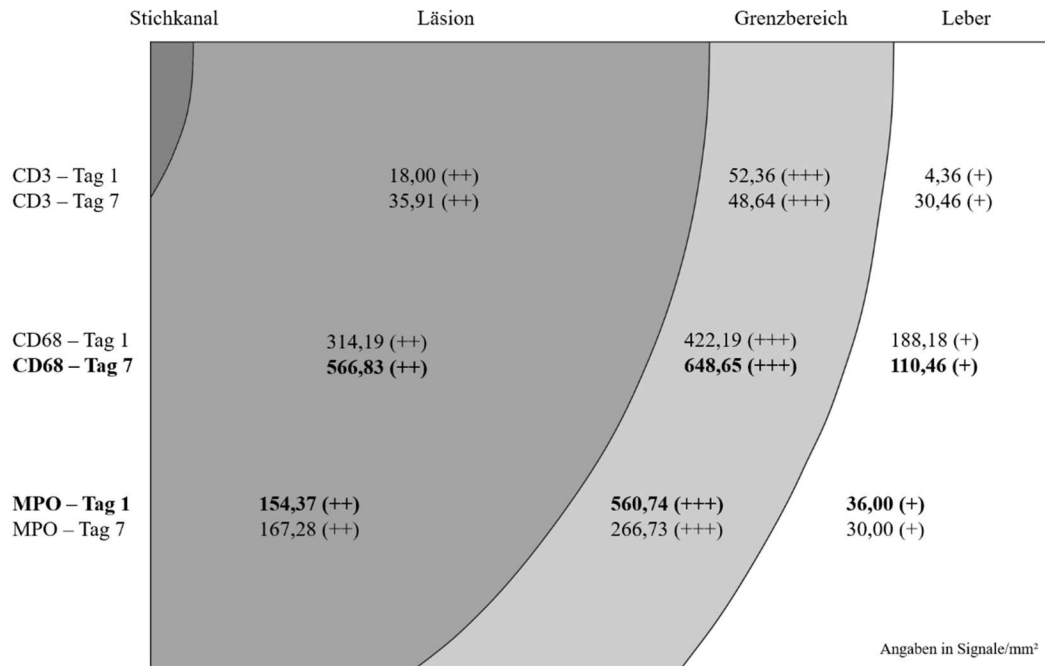


Abbildung 28: Schematische Darstellung der nachgewiesenen Signale in räumlicher Verteilung auf Läsion, Grenzbereich und Leber am Tag 1 und Tag 7. Anzahl der Signale: (+) geringster Wert, (++) mittlerer Wert, (+++) höchster Wert. Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben.

4.6.1 ZELLMARKER CD3

Das Diagramm zeigt einen Vergleich der CD3-positiven Zellen im Läsionsbereich (Abbildung 29). Am Tag 7 ist die Anzahl größer als am Tag 1; $p = 0,253$.

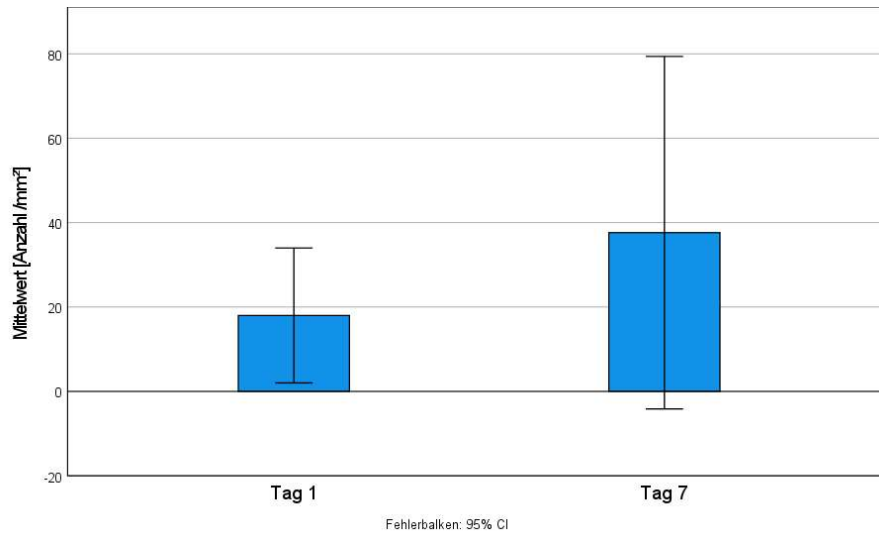


Abbildung 29: Anzahl CD3-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

Der Vergleich von CD3-positiven Zellen innerhalb des Grenzbereichs zeigt ebenfalls eine größere Anzahl am Tag 7 als am Tag 1; $p = 0,943$ (Abbildung 30).

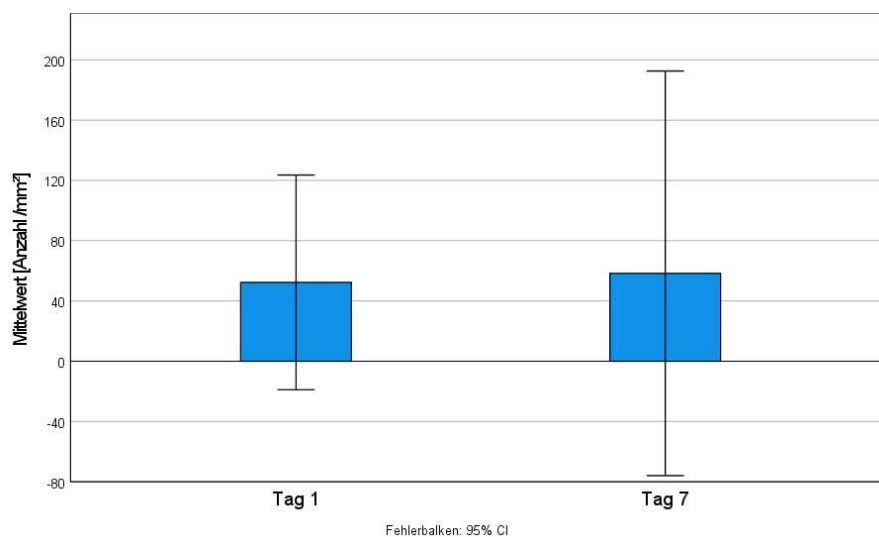


Abbildung 30: Anzahl CD3-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

Im Lebergewebe findet sich eine geringere Anzahl CD3-positiver Zellen am Tag 7 im Vergleich zu Tag 1; $p = 0,221$ (Abbildung 31).

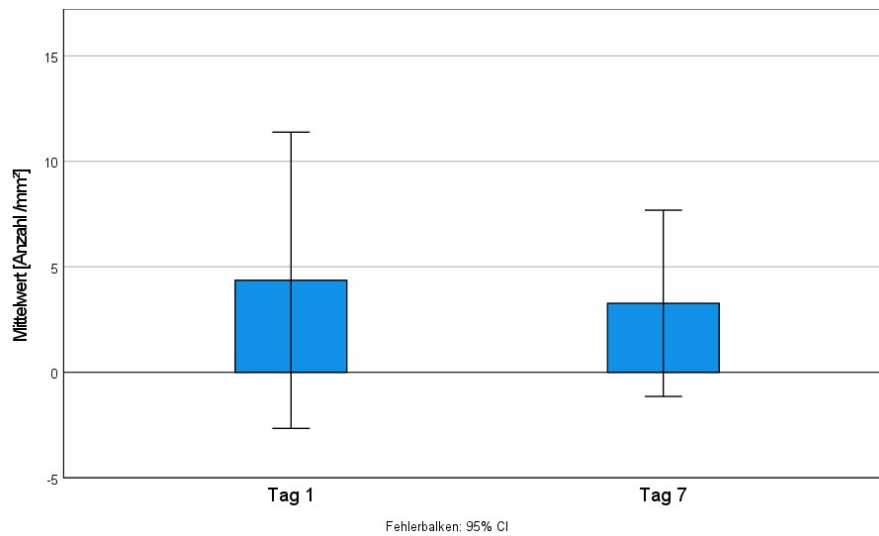


Abbildung 31: Anzahl CD3-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

In einer Gegenüberstellung von Läsionsbereich, Grenzbereich und Leber am Tag 1 liegt die größte Anzahl an CD3-positiven Zellen im Grenzbereich vor (Abbildung 32). Die geringste Anzahl wurde in der Leber gemessen; $p = 0,138$.

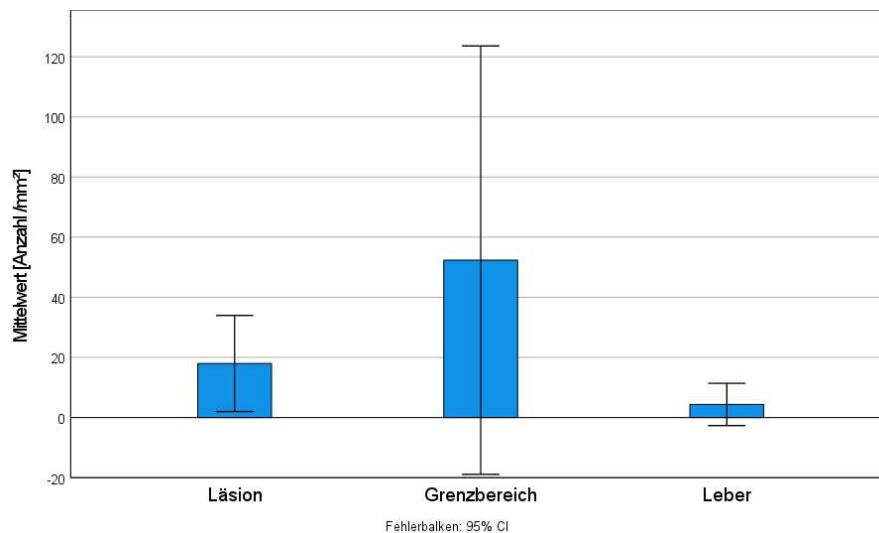


Abbildung 32: Anzahl CD3-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

Am Tag 7 ist die Anzahl der CD3-positiven Zellen im Grenzbereich am größten (Abbildung 33). Die geringste Anzahl liegt im Lebergewebe vor; $p = 0,895$.

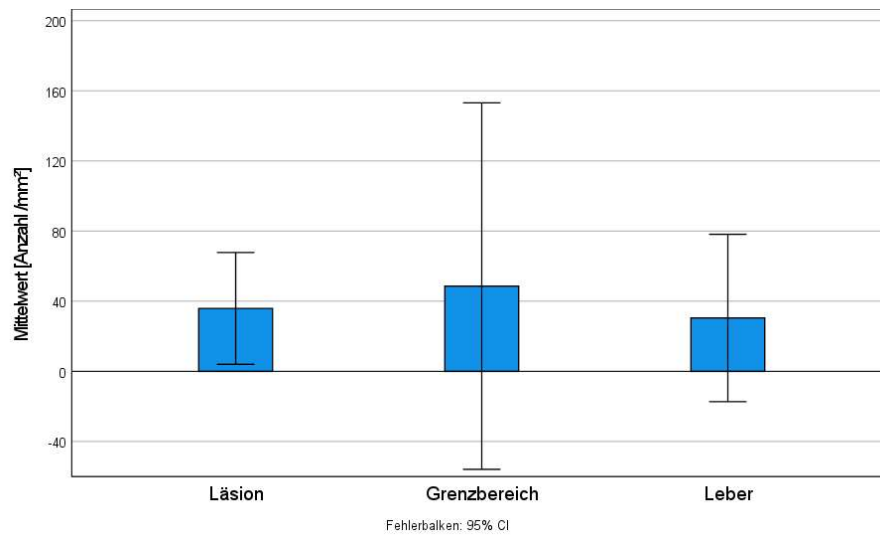


Abbildung 33: Anzahl CD3-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

4.6.2 ZELLMARKER CD68

Das Diagramm zeigt einen Vergleich CD68-positiver Zellen im Läsionsbereich an den Tagen 1 und 7 (Abbildung 34). Die am Tag 7 untersuchte Gruppe weist im Vergleich zum Tag 1 eine erhöhte Anzahl an CD68-positiven Zellen auf; $p = 0,102$.

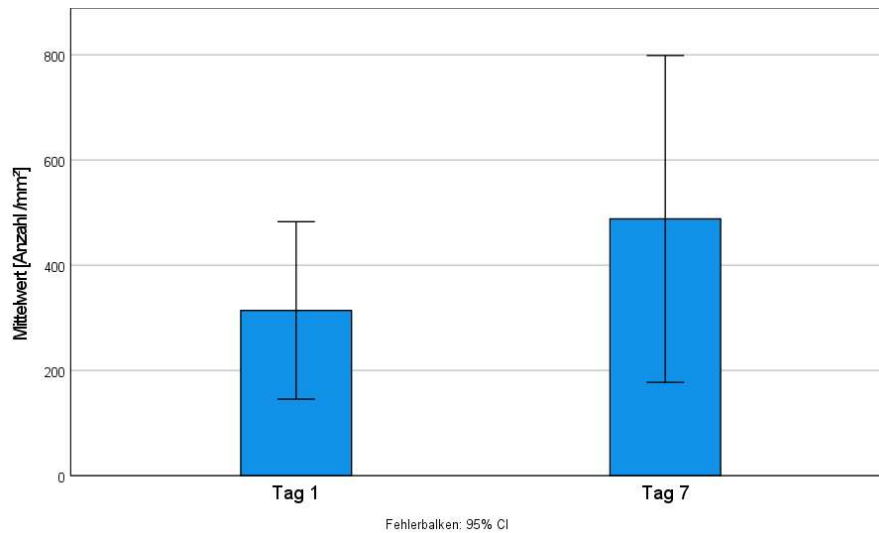


Abbildung 34: Anzahl CD68-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

Im Grenzbereich ist die Anzahl CD68-positiver Signale am Tag 7 im Vergleich zum Tag 1 erhöht; $p = 0,292$ (Abbildung 35).

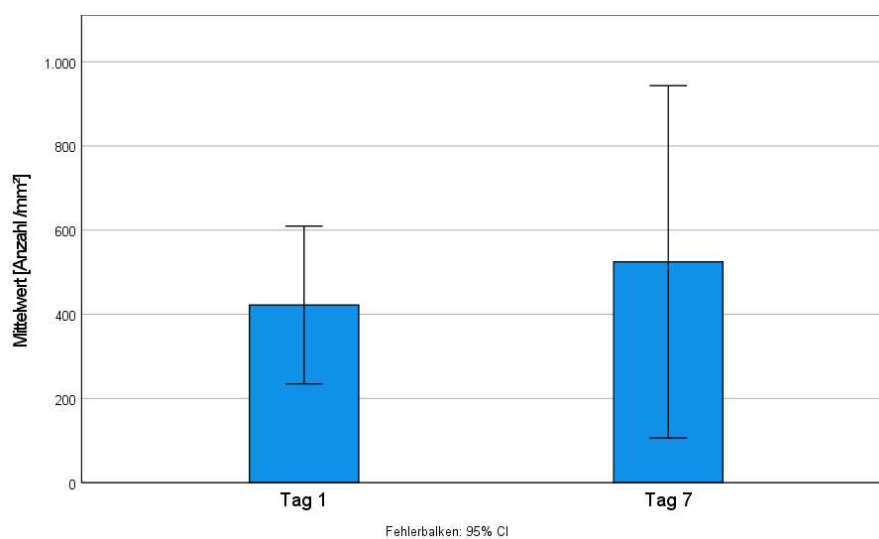


Abbildung 35: Anzahl CD68-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

In der Leber liegt eine geringere Anzahl CD68-positiver Zellen am Tag 7 im Vergleich zum Tag 1 vor; $p = 0,279$ (Abbildung 36).

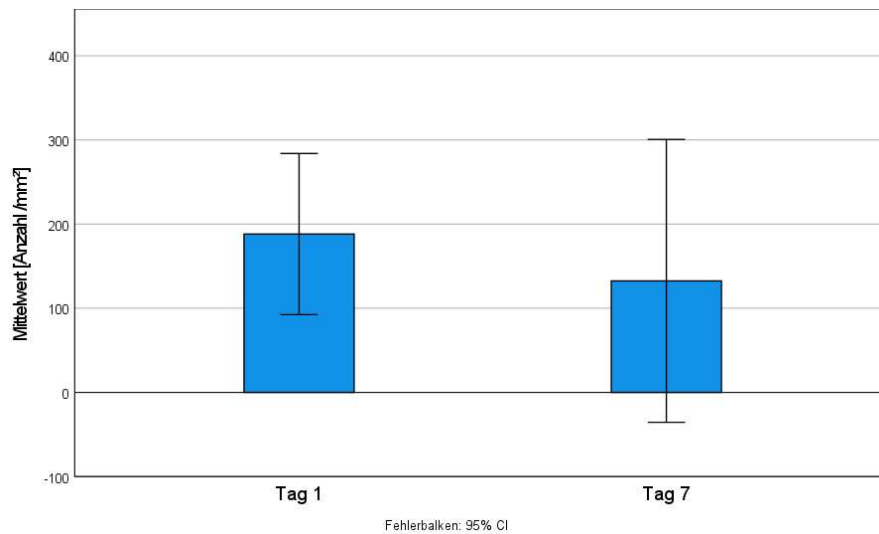


Abbildung 36: Anzahl CD68-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

In einer Gegenüberstellung der Bereiche Läsion, Grenzbereich und Leber am Tag 1 liegt die größte Anzahl an CD68-positiven Zellen im Grenzbereich vor, die geringste Anzahl hingegen im Lebergewebe; $p = 0,060$ (Abbildung 37).

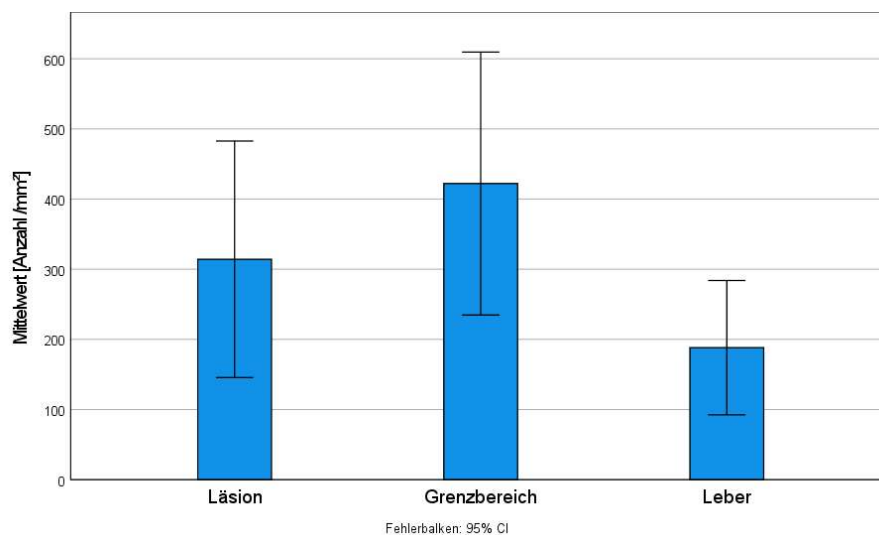


Abbildung 37: Anzahl CD68-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

Am Tag 7 ist die Anzahl der CD68-positiven Zellen im Grenzbereich am höchsten (Abbildung 38). Die Anzahl im Lebergewebe ist im Vergleich geringer ($p = 0,017$). Zur Bestimmung der p -Werte zwischen den Einzelwerten wurden paarweise Vergleiche durchgeführt: Läsion vs. Grenzbereich ($p = 0,599$); Läsion vs. Lebergewebe ($p = 0,037$); Grenzbereich vs. Lebergewebe ($p = 0,029$).

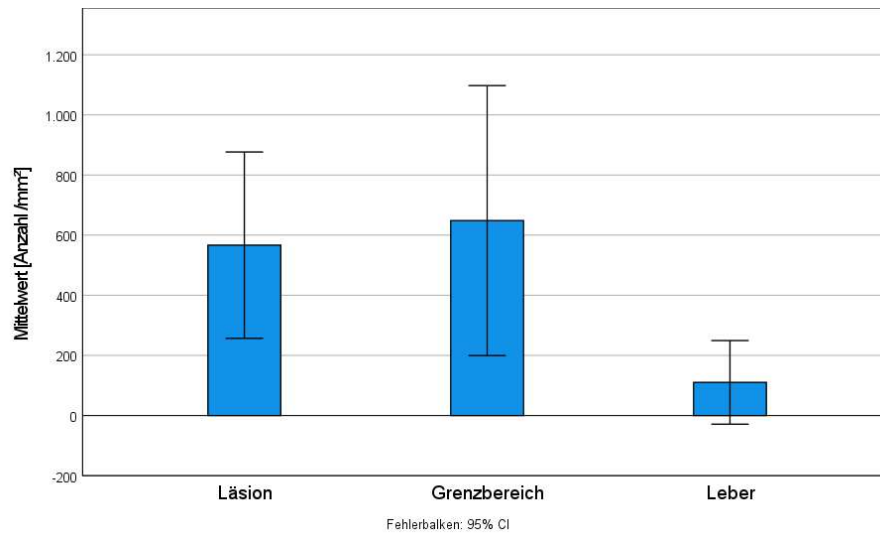


Abbildung 38: Anzahl CD68-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

4.6.3 ZELLMARKER MPO

Der Vergleich MPO-positiver Zellen im Läsionsbereich an den Tagen 1 und 7 zeigt eine erhöhte Anzahl am Tag 7 ($p = 0,854$) (Abbildung 39).

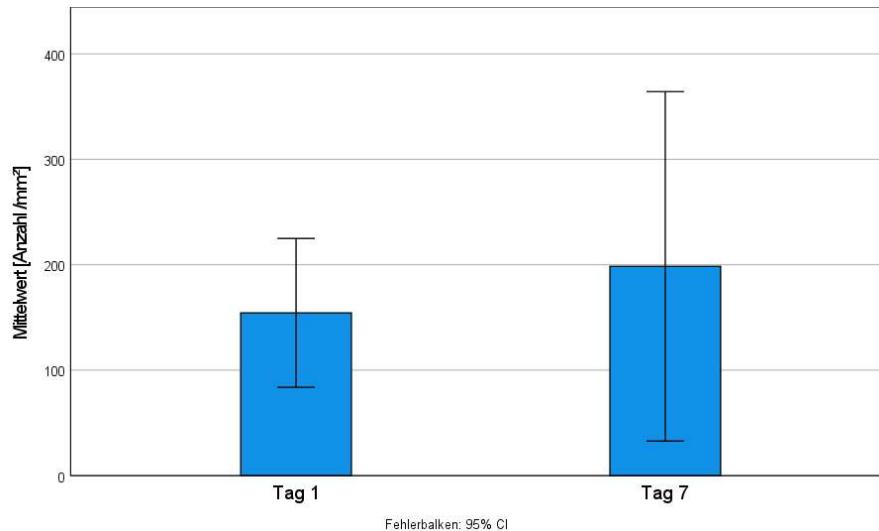


Abbildung 39: Anzahl MPO-positiver Zellen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

Im Grenzbereich ist die Anzahl MPO-positiver Signale am Tag 7 im Vergleich zum Tag 1 nach der Intervention geringer ($p = 0,002$) (Abbildung 40).

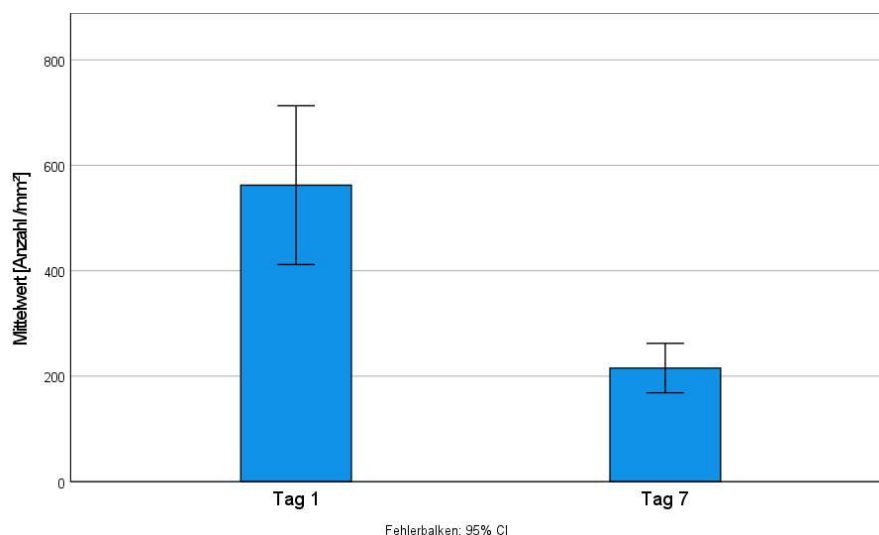


Abbildung 40: Anzahl MPO-positiver Zellen im Grenzbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

Beim Vergleich der MPO-positiven Zellen ist die Anzahl im Lebergewebe am Tag 7 im Vergleich zum Tag 1 geringer ($p = 0,532$) (Abbildung 41).

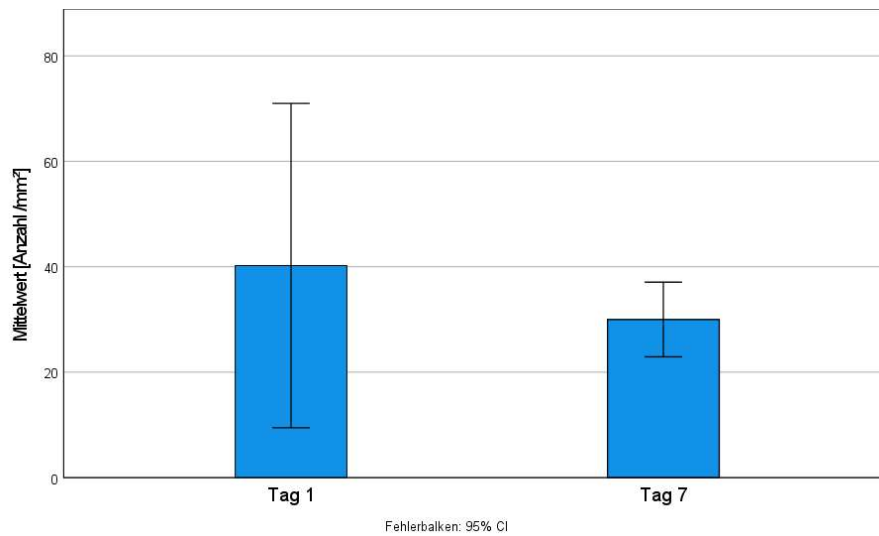


Abbildung 41: Anzahl MPO-positiver Zellen im Lebergewebe. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

In einer Gegenüberstellung der Bereiche Läsion, Grenzbereich und Leber am Tag 1 liegt eine deutlich erhöhte Anzahl an MPO-positiven Zellen im Grenzbereich vor (Abbildung 42). Die geringste Anzahl wurde im Lebergewebe gemessen ($p < 0,001$). Es wurden paarweise Vergleiche durchgeführt: Läsion vs. Grenzbereich ($p < 0,001$); Läsion vs. Lebergewebe ($p = 0,019$); Grenzbereich vs. Lebergewebe ($p < 0,001$).

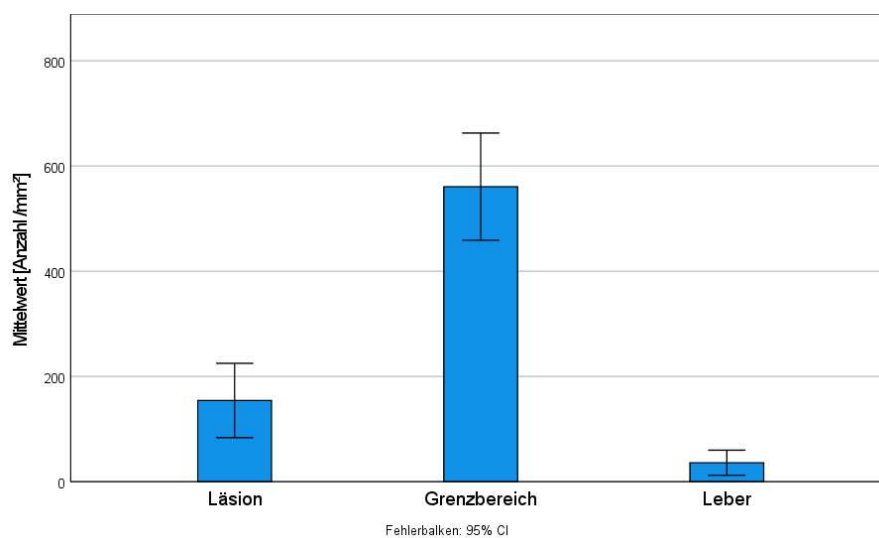


Abbildung 42: Anzahl MPO-positiver Zellen am Tag 1. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

Am Tag 7 ist die Anzahl der MPO-positiven Zellen im Grenzbereich am höchsten (Abbildung 43). Im Lebergewebe ist die Anzahl gering ($p = 0,064$).

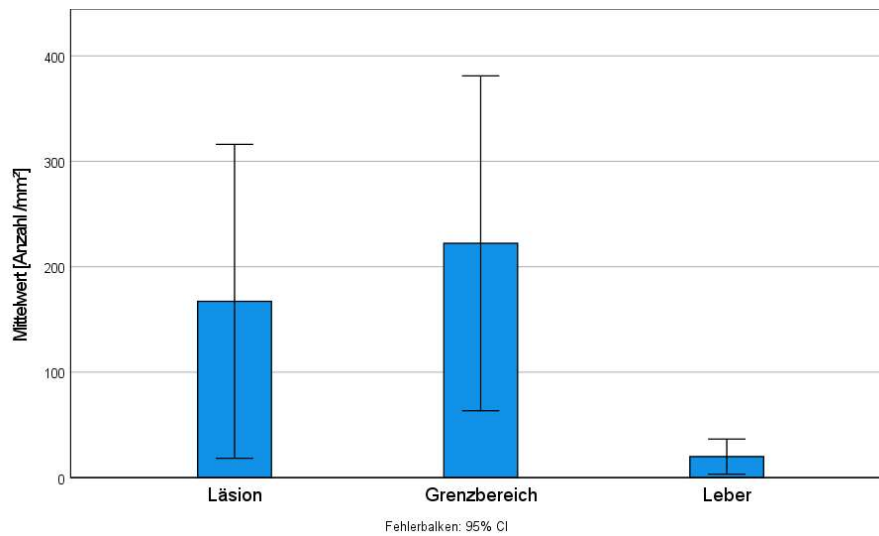


Abbildung 43: Anzahl MPO-positiver Zellen am Tag 7. Vergleich von Läsionsbereich, Grenzbereich und Lebergewebe.

4.6.4 ZELLMARKER PCNA

Die Anzahl der Läsionen mit PCNA-positiven Signalen ist am Tag 7 höher als am Tag 1 ($p = 0,545$) (Abbildung 44). Es wurde ein exakter Test nach Fisher durchgeführt.

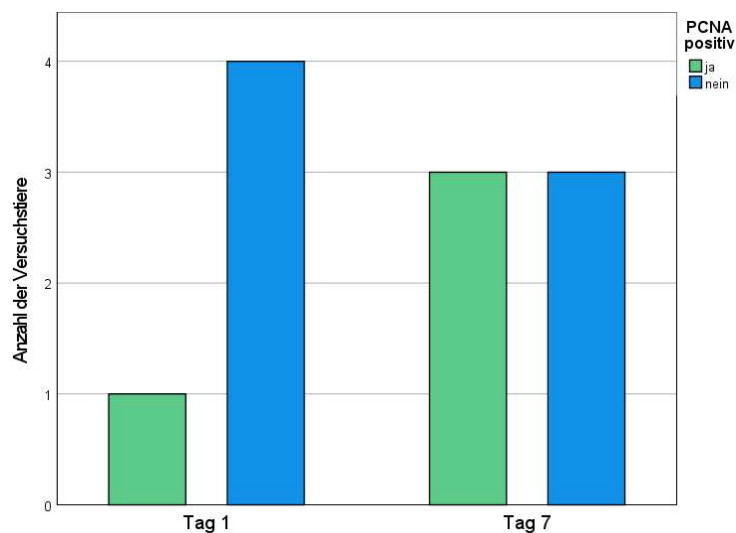


Abbildung 44: Anzahl der Versuchstiere mit PCNA-positiven Signalen im Läsionsbereich. Tag 1 im Vergleich mit Tag 7.

5 DISKUSSION

5.1 BEHANDLUNG VON LEBERMETASTASEN

Die Behandlung von kolorektalen Lebermetastasen richtet sich in der Regel nach den gültigen Leitlinien und wird in interdisziplinären Tumorkonferenzen individuell festgelegt. Eine Resektion der betroffenen Leberanteile stellt nach wie vor die Behandlung der Wahl dar und gilt derzeit als das einzige kurative Verfahren. Bis zu 80 % der Leber können hierbei entfernt werden. Die intraoperative Mortalität beträgt dabei weniger als 5 %. Leider kommen für eine chirurgische Behandlung nur weniger als 20 % der Patienten in Frage. Diese weisen je nach Lokalisation, Art, Anzahl und Größe der Tumore ein 5-Jahres-Überleben von 20 bis 40 % auf [32, 58]. Bei den übrigen Patienten können chirurgische Resektionen aufgrund verschiedener Kontraindikationen nicht durchgeführt werden. Als absolute Kontraindikationen gelten ein Tumolvolumen von über 70 % der Leber, ausgeprägte extrahepatische Metastasierung, akutes Leberversagen, massive Aszites, hepatische Enzephalopathie, Versagen eines anderen Organs, Gerinnungsstörungen, Thrombozytopenie sowie eine aktive Entzündung oder Infektion [74].

In vielen dieser Fälle stellen ablative Verfahren eine geeignete Alternative dar. Bei der Behandlung einer einzelnen Läsion mit einer Größe von maximal 3,5 cm oder bis zu drei Läsionen von jeweils nicht mehr als 3 cm Größe kann mithilfe von lokalen Ablationen ein 5-Jahres Überleben von 64 % erreicht werden [4, 54]. Die Datenlage variiert jedoch erheblich hinsichtlich des Outcomes bei der Anwendung an CRLM. Der Behandlungserfolg von MWA und RFA wird in einem Review mit 50 bis 90 % und das 5-Jahres-Überleben mit 20 bis 60 % angegeben [67]. Die verschiedenen Verfahren können auch in Kombination mit einer Resektion angewendet werden, wenn sich einzelne Läsionen als schlecht zugänglich erweisen [54]. Vor allem die Thermoablation stellt sowohl im kurativen als auch palliativen Kontext ein geeignetes Verfahren zur Behandlung dar. Während bei einer kurativen Ablation nach Möglichkeit alle Tumorzellen erfolgreich behandelt werden sollen, steht unter palliativen Bedingungen in erster Linie eine Reduktion der Tumormasse und der Symptome im Vordergrund [74]. Vor einer Ablation müssen zunächst die Tumorklassifikation und der Zustand des Patienten vollständig erfasst werden [73]. Dabei spielen nicht nur Größe, Anzahl und Gefäßversorgung der Metastasen eine Rolle, sondern auch deren Nähe zu großen Blutgefäßen und Gallenwegen aufgrund der Gefahr einer iatrogenen Okklusion [54]. Erst nach Abwägung sämtlicher Ausgangsbedingungen kann das geeignete Therapieverfahren gewählt werden. Der Vorteil von

lokalen Ablationen ist in Bezug auf das Langzeitüberleben zwar noch nicht abschließend erwiesen, die bisherigen Ergebnisse sind jedoch insgesamt vielversprechend [73].

5.2 MIKROWELLENABLATION

Bei der Mikrowellenablation wird Energie von einem Generator über eine Nadel auf die Umgebung übertragen und Gewebe durch hohe Temperaturen um die Nadelspitze herum verödet [74]. Anders als bei der RFA handelt es sich bei der MWA nicht um einen konstanten elektrischen Stromfluss, sondern um elektromagnetische Wellen, die über den dielektrischen Effekt Reibung zwischen Molekülen verursachen. Durch diese Reibung wird Hitze erzeugt, die das Gewebe koaguliert und die Zellintegrität zerstört [74]. Aufgrund gewisser Vorteile gegenüber der RFA, erfährt die Mikrowellenablation seit einigen Jahren zunehmende Aufmerksamkeit in der klinischen Anwendung. Sie kann perkutan, laparoskopisch oder offen-chirurgisch durchgeführt werden. Die intra- und postinterventionelle Diagnostik erfolgt in der Regel mittels CT oder Ultraschall, vereinzelt auch mittels MRT [27, 74]. Besonders die ultraschall-gestützte MWA zeigt hohe Erfolgsraten [15]. Limitationen bestehen hauptsächlich hinsichtlich der Größe des zu behandelnden Tumors. So wird die Anwendung bei Tumoren mit einem Durchmesser von über 4 cm nicht empfohlen [5, 30]. Für Tumore von intermediärer Größe zwischen 3 und 5 cm Durchmesser ist die Datenlage hinsichtlich der Effektivität aktuell unzureichend. Weitere Studienergebnisse hierzu werden für die nächsten Jahre erwartet [46]. Absolute Kontraindikationen für eine MWA stellen eine Tumorgröße von über 5 cm, mehr als fünf Läsionen oder eine bestehende Aszites dar [74]. Relative Kontraindikationen sind ein direktes Angrenzen des Tumors an sensible Strukturen wie die Gallenblase, große Gallengänge oder große Blutgefäße. Des Weiteren schließen eine aktive Infektion, eine Cholestase, eine Dilatation der Gallengänge oder vorausgegangene anastomosierende Eingriffe die Möglichkeit einer MWA aus [74].

Während bei der RFA Frequenzspektren zwischen 300 und 1000 kHz verwendet werden, wirkt die MWA in Frequenzen von entweder 915 MHz oder 2.45 GHz [74]. Während bei der RFA die Ionen im Gewebe über einen konstanten Stromfluss zwischen zwei Polen zur Oszillation angeregt werden, erzeugt die MWA mit einer singulären Nadel über elektromagnetische Wellen eine starke Reibung zwischen den polaren Wassermolekülen [9]. Die Beeinflussung des Gewebes basiert nicht auf der Konduktion von Hitze, sondern auf einer direkten Anregung der Moleküle und kann daher über eine größere Distanz wirken [6]. Bei Temperaturen zwischen

60°C und 100°C kommt es im Gewebe zu einer sofortigen Koagulation. Vaporisation und Karbonisation treten hingegen erst ab 110°C auf. Um eine erfolgreiche Ablation zu gewährleisten, sollte die Temperatur innerhalb von mindestens fünf Minuten mit 50°C bis 60°C gleichmäßig auf das Gewebe einwirken [22, 47, 74]. Zu hohe Temperaturen sollten hingegen vermieden werden, um keine Vaporisation oder gar Karbonisation zu verursachen. Vaporisation bedeutet in diesem Zusammenhang einen Übergang des Wassers im Gewebe von einer flüssigen in eine gasförmige Phase. Karbonisation hingegen entspricht einem Übergang von Gewebe zu Kohlenstoff, das die lokale Verteilung von Hitze gegebenenfalls vermindert [74].

Nur wenige Studien haben sich bisher mit den genauen Auswirkungen der durch MWA erzeugten Hitze auf das Gewebe und den damit einhergehenden Veränderungen befasst. Eine relevante Zellschädigung kann bereits bei 50°C und einer Behandlungsdauer von weniger als fünf Minuten erreicht werden. Zu einer unmittelbaren Zellnekrose kommt es allerdings erst ab 60°C [40]. Als definitives Ablationsareal kann daher nur der Bereich bezeichnet werden, in dem über eine ausreichende Zeitspanne eine Temperatur von mindestens 60°C erreicht wird. Bei Temperaturen zwischen 60°C und 80°C setzt eine sofortige Denaturierung der Proteine ein und ab 100°C kommt es schließlich zu einer Vaporisation im Gewebe mit einer Reduktion des Wassers aus dem Ablationsbereich [40]. Dieses Phänomen habe nach Lopresto et al. entsprechende Veränderungen hinsichtlich des dielektrischen Effektes und damit der weiteren Hitzeentwicklung im Ablationsbereich zur Folge. Eine Temperaturmessung könne ihrer Meinung nach nur auf den jeweils lokal gemessenen Werten basieren und bilde daher nicht die Temperatur im gesamten Ablationsgebiet ab [40]. Auch nach Gockner et al. trockne das Gewebe bei besonders hohen Temperaturen aus, sodass es zu einer reduzierten Übertragung der Energie an das periphere Ablationsgebiet komme [25]. Andere Studien weisen hingegen darauf hin, dass die MWA nicht durch Vaporisation oder Karbonisation limitiert wird. Die Fortleitung der Energie basiert nach der Meinung vieler Autoren nicht auf direkter Konduktion, sodass eine gleichmäßige Erhitzung über eine weite Distanz auch bei hohen Temperaturen ohne Einschränkung möglich ist [6, 9, 21, 29, 73, 74]. Wir führten unsere Ablationen mit 80°C über eine Zeitspanne von 60 Sekunden durch. Dies bedeutet, dass die gemessene Temperatur für den gesamten abladierten Bereich angenommen werden kann, da es Lopresto et al. zufolge erst ab einer Temperatur von 100°C zu einer Vaporisation und damit zu einer eventuellen Veränderung der dielektrischen Eigenschaften des Gewebes komme. Eine Temperatur von 80°C liegt dieser Theorie entsprechend in einem Bereich, der einerseits eine sofortige Denaturierung und Koagulation gewährleistet und andererseits eine Vaporisation oder Karbonisation vermeidet.

Nach Gravante et al. korrelieren sowohl die abgegebene Energie als auch die Dauer der Ablation in Form einer sigmoidalen Kurve mit dem Durchmesser der Ablation [27]. Demzufolge ändere sich die Wirkung einer Ablation ab einer gewissen Größe bzw. Behandlungsdauer nur noch in geringem Maße. Bisher ist allerdings unklar, ob mit einer längeren Ablation bei geringer Temperatur oder einer kurzen Ablation bei hoher Temperatur eine größere Läsion generiert werden kann. In Bezug auf Geschwindigkeit und Gesamtgröße der Ablation erweist sich die MWA in vielen Fällen zumindest als schneller und damit vorteilhafter gegenüber anderen thermoablativen Verfahren [37]. Eine schnellere Ablation bedeutet eine Reduktion des operativen Zeitaufwandes und der Kosten sowie einen effektiveren Einsatz von Personal und Equipment. Die Belastung der Patienten kann zudem durch eine kürzere Narkosedauer reduziert werden [25, 41]. Viele Untersuchungen bezüglich eines optimalen Verhältnisses von Behandlungsdauer und -temperatur wurden in einem ex vivo-Setting durchgeführt. In manchen in vivo-Studien konnten vergleichbare Ergebnisse sogar nach kürzeren Behandlungszeiten festgestellt werden [27]. Allein aufgrund der gewählten Energie kann jedenfalls keine Aussage über die entstandene Ablation getroffen werden, da der Tumor und das Lebergewebe die Ablation mitunter stark beeinflussen [52, 75]. In Anbetracht der empfohlenen Herstellerangaben, der Limitierung durch die Größe der Rattenleber und der Ergebnisse anderer in vivo-Studien, legten wir eine Temperatur von 80°C und eine Dauer von 60 Sekunden als Versuchsparameter fest. Allerdings kam es durch die Intervention in der Folge zur enormen Größenzunahme der behandelten Bereiche. Die Ursache hierfür war nicht abschließend zu erklären, jedoch liegt aus unserer Sicht ein Einstrom von Flüssigkeit mit resultierendem Ödem nahe. Dong et al. untersuchten die Auswirkungen von MWA auf die gesamte Leber. Sie stellten in diesem Zusammenhang fest, dass das Volumen der Leber postinterventionell innerhalb der ersten drei Tage zunimmt und sich erst nach drei Monaten wieder auf das initiale Volumen reduziert. Die Autoren konnten damit darstellen, dass die Anwendung von MWA abschließend nicht zu einer Verkleinerung des Gesamtvolumens der Leber führt [19].

Verschiedene Verfahren können angewendet werden, um den Erfolg der Ablation positiv zu beeinflussen. Umehara et al. untersuchten eine Möglichkeit, das Volumen der Ablation durch eine Injektion von NaCl zu vergrößern. Sie nutzten dazu eine Perfusion Microwave Electrode (PME), bei der über die Nadelspitze kontinuierlich NaCl in das Gewebe abgegeben wird [68]. Hierdurch könne zum einen über eine Kühlung der Nadel eine zu schnelle Erhitzung und damit Karbonisation des Gewebes vermieden werden. Zum anderen könne die kontinuierliche Ausbreitung der Flüssigkeit den durch Mikrowellen erzeugten dielektrischen Effekt auf ein

größeres Volumen ausweiten. Dies gelte auch für Bereiche, in denen es bereits zu einer Karbonisation gekommen sei [68]. Die Ergebnisse der Autoren stützen die Annahme von Lopresto et al., nach der die Ablation durch einen Verlust von Wasser im Gewebe negativ beeinflusst werde [40]. Umehara et al. konnten mit ihrer Studie zeigen, dass MWA mit begleitender Perfusion zu einer Ausweitung des Ablationsareales führt. Es könne dasselbe Ablationsvolumen wie bei der Anwendung einer gekühlten RFA in der Hälfte der üblichen Behandlungszeit erreicht werden [68]. Noch in 5 cm Entfernung von der Nadelspitze werde der Schaft dabei ausreichend gekühlt, sodass eine perkutane Ablation ohne Verbrennungen der Haut möglich sei. Die Autoren führen zudem an, dass eine befürchtete Streuung des Tumors durch die Injektion aufgrund der schnellen Erhitzung der Flüssigkeit nicht möglich sei [68]. In der erwähnten Studie wurden allerdings nur in vivo- und ex vivo-Verhältnisse sowie eine PME-MWA gegenüber gekühlter RFA verglichen. Ein Vergleich der PME-MWA mit einer regulären MWA wurde nicht durchgeführt. Collettini et al. untersuchten hingegen die PME und die MWA in einem direkten Vergleich. Sie fanden interessanterweise keine Hinweise auf eine Vergrößerung der Ablation durch eine Injektion von NaCl [11]. Da eine MWA nicht auf direktem Stromfluss basiert, könne ihrer Meinung nach eine Injektion von Flüssigkeit auch keine Leiteigenschaften beeinflussen. Die Flüssigkeit absorbiere sogar einen Teil der abgegebenen Energie und reduziere dadurch die Hitzeverteilung. Die MWA mit Injektion führe daher möglicherweise zu kleineren Ablationsarealen [11]. Auch in anderen Studien konnte keine Vergrößerung der Ablation durch eine begleitende Injektion von Flüssigkeiten nachgewiesen werden [86]. Vogl et al. stellten sogar fest, dass eine gezielte Injektion von NaCl in der Lage sei, sensible Strukturen vor der Ablation zu schützen [74]. Damit bleibt weiterhin fraglich, ob eine Injektion von NaCl die Ablation intensiviert oder zu einer Kühlung des Gewebes führt.

Die elliptische Morphologie der Läsion durch eine MWA wird gelegentlich als ein Problem dargestellt, da diese die Vorhersagbarkeit und die Handhabung bei sphärischen Tumoren zum Teil einschränkt [27]. Mit neueren Geräten können heutzutage jedoch weitgehend sphärische Ablationsvolumina erreicht werden [30, 42]. Zudem ermöglicht eine simultane Verwendung mehrerer Nadeln die Anpassung an jegliche Tumormorphologie. Durch eine Überschneidung der einzelnen Energiefelder ist dabei eine Koagulation großer Bereiche in kurzer Zeit möglich [9, 22, 37, 41]. Bei perkutaner Anwendung unter Lokalanästhesie kann zudem durch eine simultane Ablation mehrerer Läsionen die Behandlungsdauer verkürzt und die damit verbundenen Schmerzen verringert werden [22, 32]. Zuletzt führt auch eine Verbesserung der Materialeigenschaften der Nadel zu einer effektiveren Ablation. Neuere Modelle ermöglichen

eine höhere Energieabgabe, indem die Reflektion an der Grenze zwischen Nadeloberfläche und Gewebe reduziert wird [64]. Eine weitere vielversprechende Methode stellt die gepulste MWA dar. Dabei wird durch eine diskontinuierliche Energieabgabe ein gleichmäßiges Temperaturprofil im Gewebe erreicht, das bei gleichem Resultat weniger Schmerzen verursacht [23, 83]. Aufgrund der bislang unklaren Datenlage bezüglich einer Beeinflussung durch andere Verfahren, entschieden wir uns für die Anwendung einer konventionellen MWA. Wir führten die Intervention ohne jegliche Modifizierung des Verfahrens durch, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Wie bei jeder Intervention kann es auch bei der Anwendung der MWA zu Nebenwirkungen und Komplikationen kommen. Die Gesamtheit der Komplikationen wird mit 3 bis 7 % angegeben. Mögliche Nebenwirkungen sind beispielsweise Schmerzen, Fieber, ein Pneumothorax oder Pleuraergüsse. Komplikationen stellen hingegen durch mögliche Stenosen von Gallengängen, Leberabszesse und Kolonperforationen dar [51]. Relativ häufig kommt es zu Nachblutungen, die jedoch nur in weniger als 1 % der Fälle einer Transfusion bedürfen. Da die MWA nicht auf einen Stromfluss im Gewebe angewiesen ist, werden zur Durchführung keine Erdungselektroden benötigt. Somit entfallen damit verbundene Nachteile wie Schmerzen durch Hautreizungen oder Verbrennungen im Bereich der Elektroden. Die Vorbereitung der Intervention wird dadurch vereinfacht und Komplikationen durch ein versehentliches Ablösen der Erdungselektrode oder eine erhöhte Impedanz vermieden. Metallgegenstände wie chirurgische Clips auf Gefäßen oder Schrittmacher stellen bei der MWA keine Kontraindikation dar [9, 22, 42]. Lediglich bei perkutaner MWA kann es zu Verbrennungen der Haut kommen.

Eine Streuung der Metastasen über den Ablationskanal stellt eine weitere schwerwiegende Komplikation dar [73]. Am Ende der Ablation sollte daher der Ablationskanal durch eine langsame Retraktion der Nadel verödet werden, um Nachblutungen zu vermeiden und anhaftende Tumorzellen zu zerstören [73, 74]. Wir führten die Verödung des Ablationskanales im direkten Anschluss an die Behandlung durch. Unmittelbar nach Ablauf der Behandlungszeit von 60 Sekunden wurde die Ablationsnadel über einen Zeitraum von fünf Sekunden gleichmäßig aus dem Gewebe entfernt, während die Energie weiterhin auf das Gewebe einwirkte. Hierdurch konnten wir verletzte Gefäße veröden und das Nachblutungsrisiko entsprechend gering halten. Anschließend wurde mit einem Tupfer für 60 Sekunden leichter Druck auf die Inzision ausgeübt. Bei keinem der Tiere kam es zu einer größeren Blutung.

5.3 VERGLEICH MIT ANDEREN ABLATIONSVERFAHREN

In diversen Studien wurde die Effektivität von MWA mit anderen Behandlungen verglichen. Es existieren allerdings nur wenige direkte Gegenüberstellungen von RFA und MWA, die die beiden am häufigsten angewendeten thermoablativen Verfahren darstellen. Als Vorteil der MWA wird häufig angeführt, dass sie im Gegensatz zur RFA nicht vom sogenannten Heat Sink-Effekt beeinflusst wird [14, 42]. Als Heat Sink-Effekt wird ein Phänomen bezeichnet, durch das auf das Gewebe einwirkende Hitze über die Perfusion umgebender Blutgefäße reduziert wird [29, 54]. Aufgrund einer beschriebenen Unabhängigkeit von diesem Effekt wird die MWA in vielen Studien als das bessere Verfahren dargestellt [30, 70]. Auch in der Nähe von großen Blutgefäßen bleibe Awad et al. zufolge die Morphologie der MWA symmetrisch und die Behandlung zuverlässig [6]. Selbst bei direkter Angrenzung an Blutgefäße mit einem Durchmesser von über 3 mm zeigten mikroskopische Analysen einer Studie eine reguläre Koagulationsnekrose ohne Hinweise auf lebende Zellen [9]. Eine adäquate Ablation konnte sogar in unmittelbarer Nähe zu Gefäßen mit 10 mm Durchmesser nachgewiesen werden [41]. Bei der RFA hingegen beträgt die Rezidivrate 37 % bei 5 mm Abstand zu Blutgefäßen eines Durchmessers über 3 mm [34, 54]. Mikroskopische Analysen wiesen eine Vielzahl lebender Zellen in der Umgebung der Gefäße und einen Endothelschaden nach einer RFA-Behandlung nach [7, 34]. Die hohe Temperatur könne Pua et al. zufolge in seltenen Fällen sogar in großen Gefäßen zu einer Schädigung und Thrombose führen, wenn der Blutfluss entsprechend verlangsamt werde [54]. Im Gegensatz hierzu fanden Leen et al. jedoch keinen Hinweis auf eine Endothelschädigung durch RFA. Zusammen mit Kasper et al. stellen sie den Heat Sink-Effekt sogar als positive Eigenschaft dar, die durch den Abtransport der Hitze das Gefäßendothel schütze und somit den Schaden an den Gefäßwänden reduzieren könne [34, 36]. Nach van Tilborg et al. bestehe auch bei der MWA in direkter Umgebung von Gefäßen die Gefahr einer Gefäßokklusion [71]. Dem widersprechen wiederum die Ergebnisse von Gravante et al.. Sie gehen davon aus, dass es nach MWA selbst dann nicht zu einer Schädigung komme, wenn die Nadelspitze in 1 cm Entfernung zu einem großen Gefäß platziert werde [27]. Sommer et al. fanden hierzu heraus, dass bei einer in vivo durchgeführten MWA die Morphologie der Ablation nach Unterbrechung des Blutflusses zwar gleich bleibe, das Volumen sich jedoch als größer erweise [60]. Dies steht im Kontrast zu der verbreiteten Annahme, nach der die MWA von der Gefäßversorgung unbeeinflusst bleibt. Pillai et al. konnten ebenfalls darstellen, dass der Heat Sink-Effekt das Volumen von MWA negativ beeinflusse, wenn auch signifikant geringer als bei der RFA [53]. Unter Berücksichtigung der bisher vorliegenden Studien muss die Bedeutung des

Heat Sink-Effektes differenziert betrachtet werden. Die Beeinflussung der MWA durch angrenzende Blutgefäße und umgekehrt scheint zwar relativ gering zu sein, wird vereinzelt aber dennoch beschrieben. Da wir unsere Versuche in vivo und ohne Unterbrechung der Blutversorgung durchführten, sind die Auswirkungen der bestehenden Perfusion auf unsere Ablationsvolumina nicht abschließend beurteilbar. Auch die Schädigung von Gallenwegen durch MWA scheint im Vergleich zur RFA ausgeprägter zu sein [71]. So kommt es vermutlich durch die starke Erhitzung des Gallensekretes häufig zu Schäden des Gallengangsepithels. Bei einer Läsion in direkter Nähe zu großen Gallenwegen wird daher die Wahl eines anderen Ablationsverfahrens empfohlen [7, 27].

Als eine besondere Eigenschaft der MWA wird die geringe Abhängigkeit von Gewebeeigenschaften beschrieben [86]. Es gibt mehrere Studien, die der MWA im Vergleich zur RFA hierdurch Vorteile hinsichtlich der Behandlungsgeschwindigkeit und des resultierenden Ablationsvolumens zuschreiben [21, 35, 55]. So werden unter anderem höhere Temperaturen im Gewebe und größere Ablationsareale als bei der RFA erreicht. Die Hitzeabgabe erfolgt im Vergleich wesentlich schneller und konstanter und die Energiedichte rund um die Nadel ist höher [21, 35, 55, 71, 74, 86]. Als ein Grund hierfür wird die oben genannte geringere Beeinflussung bei Karbonisation von Gewebe angegeben, die bei RFA in einer Erhöhung der Impedanz resultiert [21]. Aus den genannten Gründen werden die Ablationen mit MWA im Vergleich zur RFA als vorhersagbarer, zuverlässiger und homogener beschrieben [6, 7, 42]. In einer Studie mit 102 Patienten wurde eine vollständige Tumorabletion durch MWA in 95 % der Fälle nachgewiesen, während dies durch RFA in 93 % der Fälle erreicht werden konnte [55]. Auch in anderen Studien liegt die Rate für eine vollständige Ablation durch MWA jeweils zwischen 89 % und 99 %. In keiner Studie sind die Unterschiede statistisch signifikant [55, 65, 73]. Auch bezüglich des Gesamtüberlebens konnte bislang kein Vorteil durch eine Ablation mit MWA festgestellt werden [14]. Die Frage, ob der oft genannte Vorteil größerer Ablationsvolumina zu einem besseren Outcome führt, ist bisher nicht zu beantworten [21]. Van Tilborg et al. beschreiben sogar eine leichte Überlegenheit der RFA in Bezug auf die Überlebensrate zwischen drei und zwölf Monaten. Mit Nachbehandlungen der Patienten durch ergänzende Ablationen würden sich die Überlebensraten jedoch wieder angleichen [71]. Lucchina et al. berichten über ähnliche Einjahres-Überlebensraten von 89 bis 100 % nach MWA und 59 bis 100 % nach RFA. Nach drei Jahren betragen die Überlebensraten 49 bis 80 % nach MWA und 41 bis 92 % nach RFA [42]. Zwischen beiden Verfahren konnten bisher keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf das Fünfjahresüberleben festgestellt werden [14, 74].

Allerdings gibt es nur wenige Studien, die MWA und RFA in diesem Zusammenhang direkt miteinander vergleichen [14, 55]. Das Erstellen von Reviews wird durch eine ausgeprägte Heterogenität der vorhandenen Arbeiten erschwert [2, 45, 63]. Auch in einer aktuellen Studie mit direktem Vergleich konnte nach wie vor keine eindeutige Überlegenheit eines der beiden Verfahren festgestellt werden [81]. Hinsichtlich des Auftretens von Rezidiven wird ein vermehrtes Tumorwachstum nach RFA beschrieben [13]. Nach einer MWA kommt es lediglich in 2 % und nach RFA in 17 % der Fälle zu einem erneuten Wachstum innerhalb der behandelten Bereiche. Zwar steigt auch nach einer MWA die Rate an Tumorrezidiven in einem längeren Beobachtungszeitraum an, bleibt jedoch auch in der Folge unterhalb der Rate nach einer RFA [14, 46]. Die bei der RFA genannten Nachteile treten bei der MWA jedoch nicht in gleichem Maße auf. Eine adäquate Planung und Erfahrung vorausgesetzt, kann die MWA heutzutage über die bisherigen Grenzen der RFA hinaus sicher eingesetzt werden [51]. Insbesondere bei Tumoren intermediärer Größe zwischen drei und fünf Zentimetern scheint die MWA einen Vorteil zu haben [62].

Als Goldstandard in der Therapie von CRLM gilt nach wie vor die chirurgische Resektion. Als Faktoren, die den Erfolg des Eingriffs fördern, gelten das Fehlen extrahepatischer Erkrankungen, eine geringe Anzahl von Tumoren und die Sicherstellung eines tumorfreien Sicherheitsabstands [78]. Die Fünfjahres-Überlebensraten liegen nach einer R0-Resektion zwischen 25 und 40 %. Beim Vorliegen von Kontraindikationen wird in der Regel auf ablative Verfahren zurückgegriffen [73]. Interessanterweise konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass die Behandlung mit MWA bei geringerer Invasivität zu vergleichbaren Erfolgen wie eine Resektion führt [5, 48, 73, 74]. Diese Ergebnisse sollten jedoch differenziert betrachtet werden, da aufgrund der unterschiedlichen Ausgangsbedingungen hinsichtlich der Patienten ein direkter Vergleich der Überlebensraten schwierig erscheint [58, 71].

5.4 BEWERTUNG IN BILDGEBENDER DIAGNOSTIK

In unserem Versuchsablauf wurden die Volumina der entstandenen Tumoren acht Tage nach der Implantation der Tumorzellen mithilfe von MRT und Ultraschall vermessen. Ein Vergleich der Messwerte beider diagnostischer Verfahren als Streudiagramm macht deutlich, dass MRT und Ultraschall bei der Einschätzung der Tumorumfänge weitgehend übereinstimmen. Die Werte korrelieren mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,801 deutlich miteinander. Die Punkte zeigen dabei eine annähernd lineare Verteilung. In der Messung sind die Daten sowohl der Ein-Tages-Gruppe als auch der Sieben-Tages-Gruppe aufgeführt, deren Versuchsabläufe bis zu diesem Zeitpunkt identisch waren. Der direkte Vergleich von MRT und Ultraschall im Bland-Altman-Plot demonstriert, dass die beiden Verfahren eine hinreichende Genauigkeit aufweisen. Die MRT scheint somit in der Lage zu sein, ähnliche Volumina wie der Ultraschall abzubilden. Eine Gegenüberstellung der Diagnostik mit den Präparaten war aufgrund des Versuchsaufbaus nicht möglich.

Die vorliegende Arbeit untersucht unter anderem, inwieweit die Volumina der behandelten Bereiche mithilfe der Bildgebungsverfahren MRT und Ultraschall erkennbar sind. Dabei soll geprüft werden, ob beide Verfahren die tatsächliche Größe der entstandenen Läsionen zuverlässig wiedergeben können. Unmittelbar nach Ermittlung der Tumorumfänge wurden die Mikrowellenablationen durchgeführt und die Volumina der entstandenen Läsionen zunächst mittels MRT und anschließend mithilfe von Ultraschall vermessen. Die anhand der histologischen Präparate gemessenen Läsionsvolumina dienten dabei als Referenz. In einem direkten Vergleich von MRT und Präparaten fällt eine große Streuung der Volumina von etwa 400 bis 1600 mm³ auf. Dennoch besteht eine deutliche Korrelation der Werte mit einem Koeffizienten von 0,932. Das Streudiagramm zeigt eine annähernd lineare Verteilung und somit eine relative Übereinstimmung der Größenverhältnisse. Anders als bei der Untersuchung der Tumorumfänge ist hier ein Vergleich der Messverfahren mit den Präparaten als Referenz möglich. Im Bland Altman Plot lässt sich eine akzeptable Genauigkeit der Darstellung mittels MRT erkennen. Alle Punkte liegen innerhalb der Toleranzbereiche. Auffällig ist jedoch die relativ große Differenz von 519,17 mm³ mit einer Standardabweichung von 343,49 mm³. Dies zeigt, dass sich die Volumina in der MRT wesentlich größer darstellen. Ähnlich verhält es sich bei der Vermessung mittels Ultraschall. Auch hier besteht eine deutliche Korrelation der Volumina von Ultraschall und Histologie mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,926 mm³. Die Verteilung ist näherungsweise linear und zeigt damit eine relative Übereinstimmung der gemessenen Größenverhältnisse. Im Bland Altman Plot ist von einer hinreichenden

Messgenauigkeit der Ultraschalldiagnostik auszugehen, da alle Werte im Toleranzbereich liegen. Die im Ultraschall gemessenen Volumina sind mit einer durchschnittlichen Differenz von $336,57 \text{ mm}^3$ und einer Standardabweichung von $259,37 \text{ mm}^3$ ebenfalls größer als die histologisch ermittelten Volumina, wenn auch mit einem geringeren Unterschied als bei der Einschätzung in der MRT. Für einen direkten Vergleich von MRT und Ultraschall hinsichtlich der Größe der Läsionsvolumina standen uns nur die Messungen am Tag 1 zur Verfügung. Mit einem Koeffizienten von 0,801 besteht hier ebenfalls eine deutliche Korrelation beider Messverfahren. Der Bland Altman Plot zeigt eine hinreichende Genauigkeit und größere Werte in der MRT. Verglichen mit den Tumorumina, ist die Differenz zwischen MRT und Ultraschall mit $281,69 \text{ mm}^3$ und einer Standardabweichung von $436,14 \text{ mm}^3$ hier wesentlich größer. Sieben Tage nach der Ablation führten wir an einer anderen Versuchsgruppe dieselben Messungen durch. Die Messverfahren waren zu diesem Zeitpunkt nur mittels MRT möglich. Bei der Einstellung im Ultraschall wurde schnell deutlich, dass die Ausdehnung der Läsion besonders ausgeprägt und somit eine Volumetrie unter Einsatz des hochpräzisen Schallkopfes nicht möglich war. Bei den vorliegenden Größenverhältnissen war der Schallkopf hinsichtlich der notwendigen Tiefe derart limitiert, dass letztlich nur die Daten der MRT und der histologischen Präparate zu erheben waren. In einem Vergleich dieser Messwerte besteht eine deutliche Korrelation mit einem Koeffizienten von 0,918. Mithilfe eines Bland Altman Plots erweist sich die MRT auch hier aufgrund einer hinreichenden Genauigkeit als geeignetes Messverfahren. Allerdings ist in diesem Vergleich die bisher größte Differenz von $624,77 \text{ mm}^3$ gegenüber den Präparaten festzustellen. Die Standardabweichung liegt bei $405,69 \text{ mm}^3$. Bei Betrachtung aller Darstellungen wird deutlich, dass MRT und Ultraschall die Tumoren und Läsionen im Vergleich zu den histologischen Messungen regelmäßig größer abbilden. Dabei sind die ermittelten Volumina in der MRT wiederum größer als im Ultraschall. Die Differenz zwischen MRT und den Referenzvolumina innerhalb der 7-Tage-Gruppe ist beachtlich. Am Tag 7 ist der Unterschied zwischen MRT und den Präparaten wesentlich größer als am Tag 1. Die Volumina in der MRT sind annähernd doppelt so groß. Dieser Unterschied ist zwar auffällig, dennoch sollte beachtet werden, dass es sich um zwei unterschiedliche Versuchsgruppen handelt.

In der direkten Gegenüberstellung der Läsionsvolumina der Präparate lässt sich interessanterweise ein anderes Bild erkennen; hier sind die ermittelten Volumina am Tag 7 sogar kleiner als am Tag 1. Dies verdeutlicht nochmals die Diskrepanz zwischen den mithilfe der Bildgebung ermittelten Werten und den Referenzvolumina. Die regelmäßigen Unterschiede

zwischen MRT und Ultraschall sind bemerkenswert. Dies könnte bedeuten, dass die Diagnostik mittels Ultraschall in der Lage ist, die Läsionen präziser darzustellen. Oder aber die MRT kann Veränderungen in weiterer Entfernung vom Zentrum darstellen, die weder mittels Ultraschall, noch makroskopisch oder sogar histologisch abgrenzbar sind. Die Tatsache, dass die 7-Tage-Gruppe aufgrund der massiven Schwellung mithilfe von Ultraschall nicht auswertbar war, ist ungewöhnlich, da im Vergleich zu der 1-Tages-Gruppe kein Unterschied in der Behandlung bestand. Wir erwarteten vielmehr einen Rückgang der vermutlich entzündungsbedingten Hyperämie und damit eine Reduktion des Volumens nach sieben Tagen. In anderen Studien werden weitaus mehr Kontraktionen nach dieser Zeit festgestellt. Ohno et al. beschreiben eine Vergrößerung innerhalb der ersten 12 Stunden, mit einer Plateauphase nach 72 Stunden und schließlich eine erneute Größenreduktion [47]. Bhardwaj et al. zufolge beginne die erste Expansion nach 6 Stunden [7]. In einer Studie von Brace et al. wurde ebenfalls die Kontraktion von Lebergewebe im direkten Anschluss an die Mikrowellenablation untersucht. Der Grad der Kontraktion sei darin von der Energiewahl, dem Gerätetyp, der Behandlungsdauer und dem Gewebetyp abhängig. Vor allem aber sei eine Korrelation zwischen dem Grad der Dehydratation während der Ablation und dem Grad der Kontraktion festzustellen [8]. Allem Anschein nach wird während der MWA das Wasser aus den innersten Bereichen herausgedrückt und führt im mittleren und peripheren Bereich dagegen zu einem vermehrten Vorkommen von Flüssigkeit. Dies könnte bedeuten, dass sich die Kontraktion durch Wasserverdrängung zum Großteil auf die inneren Bereiche bezieht. Zudem erkannten Brace et al. eine darauf folgende Rehydratation im weiteren Verlauf. Dies könnte ein Hinweis auf die von uns beobachtete spätere Volumenausdehnung sein. Allerdings untersuchten die Autoren der *ex vivo*-Studie Lebergewebe ohne das zusätzliche Vorhandensein eines Tumors. Zudem taten sie dies im direkten Anschluss an die Ablation [8]. Dies sind mehrere Faktoren, die sich von unserer Studie unterscheiden. Auch Lee et al. untersuchten den Grad der Kontraktion bzw. der Expansion im direkten Anschluss an Thermoablationen. Sie stellten ebenfalls eine sofortige Kontraktion in Abhängigkeit von Gewebeart und Tumor fest. Im Gegensatz zu Brace et al. wird dort eine signifikant größeren Kontraktion nach einer MWA als nach einer RFA erwähnt [35]. Der Grund hierfür könnte eine höhere Dichte der Nekrose nach einer MWA sein [53].

Die oben genannten Autoren stimmen in ihrer Aussage darin überein, dass der Wassergehalt des Gewebes zum Zeitpunkt der Ablation eine wesentliche Rolle in der späteren Entwicklung des Ablationsvolumens spielt. Hier finden sich mögliche Hinweise auf die Ursache der starken Expansion unserer 7-Tage-Gruppe. In einer Publikation von Gravante et al. erreiche die

Ablation nach zwölf Stunden das größte Volumen. Drei Tage später komme es zu einer vorübergehenden Größenabnahme, bis das ursprüngliche Volumen nach einer Woche schließlich wieder erreicht werde. Nach zwei bis vier Wochen zeige sich eine erneute konstante Kontraktion des Ablationsbereiches um 25 bis 50 % der ursprünglichen Größe [27]. Auch Awad et al. beschreiben eine Kontraktion nach vier Wochen. Sie erklären den Vorgang mit einer sich zum Teil entwickelnden Umwandlung des nekrotischen Gewebes in neues Leberparenchym [6]. Die zeitlichen Veränderungen des Ablationsvolumens haben eine hohe klinische Relevanz für die Darstellung anhand bildgebender Diagnostik. Bei postinterventionellen Untersuchungen ist die Größe der Ablationsvolumina somit abhängig vom Zeitpunkt der bildgebenden Diagnostik [8, 35, 61]. Auch Cornelis et al. propagieren, dass eine zuverlässige Abgrenzung der Ablationszone innerhalb der ersten 24 Stunden gar nicht möglich sei [13]. Nach unseren Beobachtungen findet in den ersten sieben Tagen scheinbar eine enorme Zunahme des Volumens statt. Auch in Hinblick auf andere Studienergebnisse ist daher noch unklar, zu welchem Zeitpunkt eine bildgebende Diagnostik idealerweise stattfinden sollte. Unter Berücksichtigung der genannten Tatsachen stellt sich zusätzlich die Frage, welches diagnostische Verfahren in der Lage ist, Größe und Morphologie einer Ablation zuverlässig darzustellen.

Bereits während der Intervention können bildgebende Verfahren zur genauen Steuerung der Ablation angewendet werden, um Komplikationen zu vermeiden [1]. Im direkten Anschluss an eine Ablation soll die Bildgebung zudem eine Aussage ermöglichen, ob sich Hinweise auf restliche Tumorzellen ergeben. Im Rahmen der Diagnostik muss bei einer erneuten Progression zwischen einer inkompletten initialen Therapie und neuen Tumorzellen innerhalb des Zielorgans unterschieden werden [73]. Ozaki et al. stellten hierzu fest, dass eine histopathologische Untersuchung mittels Biopsie häufig Hinweise auf vitale Tumorzellen innerhalb des Ablationsareales zeige, während in CT und Ultraschall von einer erfolgreichen Behandlung durch eine MWA ausgegangen werde [50]. Wir verwendeten den Zellmarker PCNA, um eine Tumorphilierung festzustellen und konnten tatsächlich mehr positive Signale nach sieben Tagen beobachten. In der MRT war es dagegen nicht möglich, die Proliferation im Vorhinein abzugrenzen. Nach Guan et al. scheine eine Untersuchung mittels CT oder MRT sogar innerhalb der ersten vier Wochen unsicher zu sein, da die reaktive Hyperämie zu diesem Zeitpunkt noch keine Aussage über eine erfolgreiche Therapie zulasse [28]. Wir konnten eine deutliche Zunahme des Volumens in unserer 7-Tage-Gruppe beobachten. Ob es sich dabei

allerdings um ein interstitielles Ödem oder tatsächlich um die oben beschriebene Hyperämie handelt, lässt sich nicht eindeutig feststellen.

Die Computertomographie ist die derzeit am häufigsten verwendete Bildgebung nach Thermoablationen. Laut einer Studie von Cornelis et al. sei eine CT-Diagnostik innerhalb der ersten 24 Stunden allerdings zu ungenau, da die Läsion zu diesem Zeitpunkt noch nicht exakt abgrenzbar zu sein scheine [13]. Eine bessere Diagnostik bestehe nach Pua et al. in einer unmittelbaren CT-Diagnostik mit Kontrastmittelgabe. Dies sei jedoch nur eine Möglichkeit, um zu erkennen, ob der Tumor in seiner gesamten Ausdehnung behandelt werden konnte. Für die Erfolgskontrolle einer effizienten Therapie nach einer Ablation eigne sich diese Technik nicht [54]. Es findet sich zudem der Hinweis, dass eine CT mit Kontrastmittel zwischen ein und vier Wochen nach der Ablation keinen Vorteil bietet, da das nekrotische Gewebe das Kontrastmittel aufgrund fehlender Perfusion nicht ausreichend aufnehmen kann [27]. Die Kontrastmittelaufnahme könnte möglicherweise auch aufgrund einer zu geringen Sensitivität der CT nicht dargestellt werden.

Wir führten unsere postinterventionelle Diagnostik zur Einschätzung der Ablationsvolumina mithilfe der MRT durch, beobachten hierbei aber eine deutliche Überschätzung der Größenverhältnisse im Vergleich zu den histologischen Präparaten. Dies steht mitunter in deutlichem Kontrast zu anderen Studienergebnissen. Wright et al. postulieren beispielsweise eher eine Unterschätzung des Ablationsgebietes in der MRT [79]. Mehrere Studien deuten auf eine gute Beurteilung der Ablation mithilfe der MRT hin [26, 28, 54]. Das Verfahren ist heutzutage flächendeckend verfügbar, stellt jedoch zusammen mit dem Hochfrequenz-Ultraschall ein bisher nur wenig untersuchtes Verfahren in der Diagnostik nach MWA dar. Erste Studien in diesem Zusammenhang stammen aus dem Jahr 2000. Nach kontinuierlichen technischen Optimierungen steht uns mit der MRT heute ein kontrastreiches diagnostisches Verfahren ohne schädigende Strahlung zur Untersuchung der MWA zur Verfügung. Nachteile bestehen andererseits hinsichtlich hoher Kosten, der notwendigen Kooperation der Patienten und der Problematik bei implantierten Herzschrittmachern [17]. Dong et al. fanden in einem Vergleich der in der MRT vermessenen Ablationen mit den anhand der Präparate ermittelten Volumina keine signifikanten Unterschiede. Sie schlussfolgern daraus eine bessere dreidimensionale Visualisierung von Tumor und angrenzendem Gewebe als bei anderen Verfahren. Ihrer Meinung nach eigne sich die MRT in besonderem Maße zur Verlaufskontrolle nach MWA, da sie die Anatomie sehr genau abbilden könne [18]. Méndez Romero et al. beschreiben in ihrer Studie eine große Übereinstimmung von den in der MRT gemessenen

Dimensionen und den makroskopisch nachgewiesenen Verhältnissen. Trotz Hinweisen auf jenseits der Tumorgrenzen festgestellte Mikrometastasen, bezeichnen sie die MRT zur Eingrenzung der Tumor Verhältnisse als geeignet [44]. Pua et al. zufolge sei die MRT durch den leberspezifischen Kontrast sensibler als die CT und damit besser in der Lage, kolorektale Lebermetastasen zu erkennen. Größe, Anzahl und Gefäßversorgung seien gegenüber der CT besser darstellbar [54]. Über die Eingrenzung des Tumors innerhalb des ablatierten Bereiches, kann mittels MRT der Sicherheitsabstand bestimmt werden, der für eine erfolgreiche Behandlung relevant ist [39]. Die T2-gewichtete Sequenz ermöglicht die Erkennung von Resttumoren nach einer Ablation. In einer Studie von Guan et al. werde dies durch den hohen Kontrast zwischen der niedrigen Intensität von koagulierte und damit dehydrierte Gewebe und der hohen Intensität von vitalem Resttumor erklärt. Ergänzt durch Kontrastmittel und eine Darstellung in T1-gewichteter Sequenz werde sogar eine Spezifität von 100 % erreicht [28]. Allerdings bezieht sich die Studie auf die Diagnostik nach der Anwendung von RFA. Gravante et al. grenzen nach einer MWA zwei Zonen in der T2-gewichteten Sequenz ab. Dabei handle es sich um eine niedrige Intensität im Zentrum und ein heterogenes hyperintenses Signal im restlichen Bereich der Läsion. Dies werde auf eine Vergrößerung von Sinusoiden mit einer entsprechenden Signalverstärkung und eine der Dehydratation geschuldeten Zellkontraktion mit Signalabschwächung zurückgeführt [27]. Zur interventionellen Steuerung der Ablation wird die MRT hingegen bislang nicht verwendet. Aufgrund der einfacheren Durchführung und geringeren Kosten hat sich hierfür die Anwendung von Ultraschall etabliert [1]. Die Vorteile liegen zudem in der hohen Verfügbarkeit und der Darstellung in Echtzeit, beispielsweise zur gezielten Platzierung der Ablationsnadel [10]. Die Genauigkeit kann durch eine Kompensation von Atemartefakten zusätzlich erhöht werden und ermöglicht dadurch die Schonung von großen Gefäßen und anderen wichtigen Strukturen [54]. Zur weiteren Optimierung stehen die Anwendung der Dopplerfunktion und die Injektion von Kontrastmittel zur Verfügung [10]. Die Nachteile einer Ultraschalldiagnostik zeigen sich hingegen bei der postablativen Einschätzung des Ablationsgebietes. Nach einer Studie von Abbass et al. können hitzebedingte Gasblasen zu einem Schallschatten führen, der die Einschätzung der Läsion erschwere. Dadurch werde ein verbliebener Resttumor möglicherweise nicht erkannt [1]. Gravante et al. fanden heraus, dass die Gasblasen zu einem signifikanten Überschätzen der Größe des echoreichen Ablationsgebietes führen können [27]. Zusammenfassend scheint eine Ultraschalldiagnostik geeignet für eine interventionelle Überwachung zu sein, bietet jedoch Nachteile bei der Abschätzung der Ablation in der postablativen Kontrolle.

5.5 HISTOLOGIE UND ZELLMARKER

Nach der Einbettung in Formalin stellten wir eine Kontraktion unserer Präparate fest, sodass wir ein entsprechendes Kontraktionsartefakt von 5 % in der weiteren Auswertung berücksichtigten. In der Literatur finden sich Artefakte ähnlicher Größenordnung [56]. Zur quantitativen Auswertung der Gewebeproben wurde die stereologische Methode nach dem Cavalieri-Prinzip angewendet. Dieses Verfahren erlaubt eine Volumenschätzung komplex geformter Gewebe anhand systematisch entnommener, parallel ausgerichteter Schnitte mit bekanntem Abstand. Die Gesamtstruktur wird dabei durch die planimetrische Auswertung der Schnittflächen rekonstruiert [31]. Bei einem konstanten Schnittabstand von 1 mm konnten die Volumina näherungsweise berechnet werden. Die Flächeninhalte brüchiger oder fehlender Schnitte wurden interpoliert. Die Methode wurde aufgrund der irregulären Gewebeformen gewählt, bei denen eine Näherung durch andere geometrische Modelle nicht sinnvoll war.

Der Ablationsbereich lässt sich mikroskopisch in unterschiedliche Zonen gliedern. Je nach Definition und Studie wird das Gewebe direkt um den Stichkanal als eigene Zone betrachtet, bzw. der Zone 1 zugerechnet. Es handelt sich hierbei möglicherweise um eine Karbonisation, deren Ausdehnung bei längerer Dauer der Ablation entsprechend zunimmt [40, 86]. Bei unseren Präparaten stellen sich die Zellen der innersten Zone am Tag 1 unter dem Mikroskop komprimiert und eosinophil dar. Sie sind zirkulär streifig um das Zentrum herum angeordnet und wirken verzerrt. Zellkerne sind vereinzelt nachweisbar, während Zellverbände jedoch nicht klar abgegrenzt werden können. Nach sieben Tagen bietet sich ein ähnliches Bild, nur dass die innerste Zone hier noch homogener erscheint. Innerhalb ihrer zirkulären Anordnung sind vermehrt Risse zu erkennen, sodass das Gesamtbild hier eher aufgelockert wirkt. In einem Review von Gravante et al. werden in der innersten Zone ebenfalls komprimierte und verzerrte Leberzellen mit verdichteten Kernen beschrieben [27]. Diese stellen sich meist hyperchromatisch und verwaschen dar. Zudem liege ein amorphes Zytoplasma bei einer Abnahme des Interzellularraumes und teilweise destruierten Zellwänden vor. Die Lebersinusoide seien ebenfalls mit amorphem Material gefüllt und das umgebende Bindegewebe sei ödematös erweitert. Häufig führen Gasblasen zu einer Kompression des Gewebes [27]. Bei Ozaki et al. sei nach 24 Stunden eine Ausdehnung des hellen nekrotischen Zentrums bis zur hämorrhagischen Zone erkennbar. Von außen komme es dagegen zu einer Einwanderung von neutrophilen Zellen und die nekrotischen bzw. apoptotischen Zellen würden im äußeren Randgebiet zahlreicher [50]. Auch nach 48 Stunden bleibe der zentrale Bereich rund um die Einstichstelle unverändert, bis nach vier Tagen schließlich eine Entzündungsreaktion

nachgewiesen werden könne. Am Rand der ersten Zone sei bereits eine Einwanderung von Lymphozyten und Makrophagen erkennbar [50]. Gockner et al. beschreiben direkt nach durchgeführter Behandlung mit MWA rund um den Ablationskanal diffuse Risse mit Aufhebung der sinusoidalen Struktur sowie fragmentierte Zellkerne und aufgelöstes Zytoplasma [25]. Im äußeren Bereich innerhalb der Zone 1 seien Zellstrukturen hingegen weitgehend erkennbar. Es fänden sich jedoch verwaschene Zellgrenzen und kondensiertes Chromatin der Zellkerne, was mit einer Koagulationsnekrose vereinbar sei [25]. In einer Beschreibung von Ohno et al. erscheinen die Zellen im unmittelbaren Bereich um den Stichkanal herum irregulär und geschuppt, während die übrigen Zellen der innersten Zone entfärbt und verkleinert wirken. Das Chromatin des Kerns sei ebenfalls verändert und kontrahiert. Endothelzellen von Gefäßen oder Gallengängen seien entweder amorph oder nicht vorhanden [47].

In Angrenzung an die zentrale Zone ist bei unseren Präparaten eine zweite Zone erkennenbar, die in der Literatur als Intermediärzone bezeichnet wird [27]. In dieser ist nach einem Tag eine sinusoidale Anordnung klar erkennbar und die Zellen sind tubulär um die Sinus herum angeordnet. Zellkerne sind größtenteils vorhanden und den Zellen gut zuzuordnen. Diese Intermediärzone stellt die größte der drei Zonen dar, wirkt aufgelockert und in ihrer Färbung eher heller als die übrigen Bereiche. Nach sieben Tagen ist die sinusoidale Anordnung dagegen deutlich schlechter erkennbar. Die tubuläre Anordnung ist größtenteils aufgehoben und die Zellen wirken verwaschen und verzogen. Die Zellgrenzen sind nicht mehr deutlich abgrenzbar und die Zellkerne dadurch schlechter zuzuordnen. Insgesamt wirkt die Intermediärzone am Tag 7 komprimierter und dadurch homogener als am Tag 1. In dem oben genannten Review von Gravante et al. seien die Zellwände ebenfalls nur undeutlich abgrenzbar und die Sinusoide enthalten granuläre Trümmer und Reste von Erythrozyten [27]. Die Kupffer-Zellen der Leber stellen sich undeutlich, zellarm und von den übrigen Leberzellen separiert dar. Das umgebende Bindegewebe erscheine ödematös [27]. Bei Ozaki et al. erscheinen die Tumorzellen der Intermediärzone in einem tubulären und siebartigen Muster, während die Leberzellen eine normale trabekuläre Anordnung aufweisen [49]. Bei allen Zellen finden sich zudem hyperchromatische Nuklei. Hieran schließe sich außen eine Zone mit typischer Koagulationsnekrose und Kernverlust an. Erst zwei Tage nach der Behandlung ließe sich eine Veränderung innerhalb der jeweiligen Zonen erkennen [49].

In der äußersten, der sogenannten hämorrhagischen Zone, zeigen sich in unseren Präparaten am Tag 1 intakte und deutlich abgrenzbare Zellstrukturen mit vorhandenen Kernen. Die Anordnungen in typischen Lebersinus sind gut zu erkennen. Am Tag 7 wirkt dieser Bereich eher

ödematös und verwaschen. Zellstrukturen sind schlechter abgrenzbar und die Präparate weisen mehr Risse auf als am Tag 1. Von Gravante et al. werden die Sinusoide als dilatiert und teilweise apoptotisch beschrieben [27]. Zudem habe hier scheinbar eine teilweise DNA Fragmentierung stattgefunden, was ein Hinweis auf einen bereits eingetretenen Zelltod sei. Beginnend mit der Intermediärzone sei eine erhöhte Anzahl apoptotischer Zellen nachweisbar [27]. Bei Ozaki et al. lassen sich in der äußeren Zone nach 48 Stunden zerfallene neutrophile Granulozyten abgrenzen. Nach 72 Stunden sei eine Kontraktion der Ablation erkennbar und nach insgesamt fünf Tagen lasse sich die größte Anzahl an Kupffer-Zellen nachweisen [50]. Sieben Tage nach der Ablation erscheine die äußerste Abgrenzung der Läsion als heller fibröser Rand, der im Verlauf weiter an Breite zunehme. Zudem seien hier polymorphe Histiozyten sowie Ablagerungen von Calcium und Hämosiderin nachweisbar [50]. Cornelis et al. beschreiben den Grenzbereich zwischen nekrotischen und vitalen Zellen genauer: Im Vergleich zu anderen Verfahren weisen die Läsionen nach MWA die schärfsten Grenzen auf. Während sich der Übergangsbereich in anderen Verfahren eher diffus darstelle, sei in der MWA ein klar abgrenzbarer Saum erkennbar [13]. Dieser scheine aus verletzten Zellen zu bestehen, die sich in der Folge regenerieren. Innerhalb des Ablationsgebietes sei bei nahezu allen Zellen ein Zelltod nachweisbar, der sich gegenüber dem vitalen Lebergewebe abgrenzen lasse [13]. Ein Hinweis auf diese scharfe Grenze findet sich auch in einer Publikation von Bhardwaj et al., in der die Autoren innerhalb des Ablationsgebietes keinerlei Hinweise auf lebende Zellen erkennen und der Übergang zu lebenden Zellen klar abgrenzbar sei. Zudem weise eine Infiltration von neutrophilen Granulozyten auf eine akute Entzündungsreaktion an dieser Stelle hin [7].

Wir markierten die Zellen mit unterschiedlichen Markern. Hierdurch ließen sich sowohl Vergleiche zwischen Tag 1 und Tag 7 als auch zwischen den unterschiedlichen Bereichen einer Ablation durchführen. Durch die Anwendung verschiedener Färbungen konnten wir differenzierte Aussagen über bestimmte Zellaktivitäten treffen. Diese bezogen sich mehrheitlich auf Bestandteile der Immunantwort. Der Zellmarker CD3 ist ein Hinweis auf die Aktivität von T-Lymphozyten. Am Tag 7 ist im Läsionsbereich eine annähernd doppelt so hohe Anzahl CD3-positiver Zellen als am Tag 1 erkennbar. Im normalen Lebergewebe ist die Menge CD3-positiver Zellen hingegen sehr niedrig. Dies könnte darauf hindeuten, dass durch die Ablation ein Einstrom der T-Lymphozyten vom Grenzbereich aus in Richtung der Ablation induziert wird. In einem direkten Vergleich der drei Bereiche liegt sowohl am Tag 1 als auch am Tag 7 die jeweils größte Anzahl an T-Lymphozyten in der von uns als Grenzbereich bezeichneten Zone vor (Abbildung 28).

Über den Zellmarker CD68 kann das Vorhandensein von Makrophagen nachgewiesen werden. Es lässt sich im Läsionsbereich am Tag 7 eine erhöhte Anzahl an Makrophagen im Vergleich zu Tag 1 feststellen. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass es hier bereits nach einem Tag zu einer deutlichen Zunahme von Makrophagen, verglichen mit dem umliegenden Lebergewebe, gekommen ist. Im Vergleich ist die Anzahl am Tag 7 sogar nahezu um das sechsfache erhöht. Zu beiden Zeitpunkten liegt auch hier die jeweils höchste Anzahl im Grenzbereich vor, was auf einen möglichen Abbau der Nekrose von außen her hindeuten könnte (Abbildung 28). Eine Markierung der Makrophagen über den Zellmarker CD68 verdeutlicht die Definition als Grenzbereich.

Mithilfe des Markers MPO lassen sich Rückschlüsse auf das Vorliegen von Granulozyten ziehen. Auch diese sind im Läsionsbereich am Tag 7 höher als am Tag 1. Im Grenzbereich verhält es sich bei der Darstellung von MPO interessanterweise deutlich anders als bei den Markern CD3 und CD68. Während am Tag 1 eine relativ große Menge vorliegt, kann am Tag 7 nur eine sehr geringe Anzahl gemessen werden (Abbildung 28). Es hat somit den Anschein, als würden sich die Granulozyten zunächst im Grenzbereich sammeln, um dann sukzessive in den Läsionsbereich einzuströmen. Zumindest deutet dies auf einen frühen Granulozytenanstieg im Grenzbereich hin, auf den danach möglicherweise eine Makrophagen- und T-Lymphozytenaktivierung im Inneren der Läsion folgt. Dies könnte auf eine Entzündungsreaktion hindeuten, die am Tag 7 bereits wieder rückläufig ist. Yamashiki et al. beschreiben diese Entzündungsreaktion histologisch als palisadenförmig angeordnete Riesenzellen zwischen fibrotischem Bindegewebe [80]. Im normalen Lebergewebe sind hingegen keine großen Unterschiede zwischen Tag 1 und Tag 7 erkennbar, wodurch dieses Gewebe nur geringfügig von der Intervention betroffen zu sein scheint. Der Nachweis größerer Mengen MPO-positiver Signale zwischen Ablations- und Lebergewebe lässt die Definition als Grenzbereichs mit erhöhter Granulozyten Aktivität zu.

Der Zellmarker PCNA weist auf eine vorliegende Zellproliferation hin. In einer Gegenüberstellung von Tag 1 und Tag 7 kann am Tag 1 nur bei einem der Versuchstiere ein positives Signal von PCNA festgestellt werden, während bei den übrigen vier Tieren keine lebende Zelle erkennbar ist. Am Tag 7 hingegen lassen bei sechs der Individuen und somit bei der Hälfte der untersuchten Tiere Hinweise auf eine vorliegende Zellproliferation finden. Dies könnte darauf hinweisen, dass nach der Ablation nicht zwingend von einer homogenen Nekrosezone ausgegangen werden kann und ein Überleben vereinzelter Zellen möglich ist. Sowohl im Ablationsbereich, als auch im unbehandelten Lebergewebe lässt sich vereinzelt eine

Zellproliferation nachweisen, sodass auch ein Überleben von Tumorzellen nicht ausgeschlossen werden kann. In anderen Arbeiten wird der Zelltod über weitere Marker nachgewiesen. Bei Yamashiki et al. spricht eine positive Succinyldehydrogenase (SDH)-Reaktion für das Vorhandensein lebender Zellen außerhalb eines fibrotischen Saumes, der damit die Ablationszone begrenzt [80]. Innerhalb dieses Bereiches kann bei allen Zellen das Fehlen von Mitochondrienaktivität und damit der Zelltod festgestellt werden. Dies betrifft auch die Zellen, die in der HE-Färbung als lebend interpretiert werden [80].

Einer der wichtigsten Hinweise auf eine erfolgreiche Behandlung ist der fehlende Nachweis der Na-Ka-ATPase. Das Enzym kann eine intakte Zellaktivität anzeigen und damit einen Hinweis auf lebende Zellen darstellen [50]. Gleichbedeutend ist der Nachweis des mitochondrialen Enzyms Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH), über das lebende von toten Zellen abgegrenzt werden können [9]. Das Enzym ALPase stellt in der Leber ebenfalls einen geeigneten Marker dar, der in allen physiologischen Leberzellen vorkommt. Ein Fehlen dieser Enzymaktivität stelle einen sicheren Hinweis auf den Verlust der Zellfunktion und den damit verbundenen Zelltod dar [49]. Der immunhistochemische Nachweis des Antigens Ki-67 zeigt eine sechsfach erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Langzeitprogression von Tumorzellen innerhalb der Ablation. Ki-67 ist damit ein Hinweis auf lebende Tumorzellen und ein hilfreicher Parameter in der Bewertung des Langzeiterfolges einer Ablationsbehandlung [54, 61]. Eine Caspase-3-Aktivität ist ebenfalls ein früher Hinweis auf eine eingeleitete Apoptose. Sie ist direkt nach der Behandlung nachweisbar und erreicht einen Peak nach zwei Stunden. Im Falle eines Zelltodes kann zudem eine vermehrte Expression von HSP70 nachgewiesen werden [27].

Beim Zelltod handelt es sich um einen dynamischen Prozess zwischen Nekrose und Apoptose, der sich erst im Verlauf entwickelt und daher kurz nach der Ablation, aufgrund noch vorhandener Zellkerne, zunächst zu einer Fehlinterpretation der Histologie verleiten kann [50]. In einer Studie von Ohno et al. lassen die Expansion der äußeren Zone und der dort verstärkte Nachweis einer Caspase-3-Protease auf eine sich entwickelnde Apoptose schließen. Hitze stelle dabei einen der stärksten Stimuli für Apoptose und damit eine Erklärung für die zunehmende Ausdehnung des Bereichs toter Zellen dar [47]. Zusätzlich könne Gravante et al. zufolge eine durch Ruptur von Kapillaren ausgelöste Ischämie zum Zelltod in der hämorrhagischen Außenzone führen [27]. Bisher ist bekannt, dass sich nach einer MWA eine Koagulationsnekrose mit Entzündung und fibrotischen Umbau des Gewebes entwickelt. Allerdings behalten Leber und Tumorzellen dabei ihre ursprüngliche Morphologie. Die Zellen scheinen durch diesen Umstand lediglich fixiert, obwohl ihre Zellaktivität im Grunde zerstört

ist [80]. Die Pathophysiologie hinter diesem Phänomen ist bislang noch unklar, allerdings kann bei den untersuchten Zellen nicht von einer Zellnekrose im üblichen Sinne gesprochen werden. Die ebenfalls stattfindende Apoptose entwickelt sich erst später und eher im Randbereich der Läsion. Es handelt sich bei der MWA damit um eine besondere Art der Zellfixierung [49]. Bei dieser bleiben die Morphologie und das Auslösen einer Immunreaktion erhalten, während die Enzymaktivität gestoppt wird. Man spricht in diesem Zusammenhang, neben Nekrose und Apoptose, von einem sogenannten „Zelltod der dritten Art“ [49]. Bhardwaj et al. liefern eine mögliche Erklärung für die zunächst nur im Randbereich einsetzende Entzündung: Die Fixierung und die Koagulation von Gefäßen verhindere den Autoren zufolge die Übermittlung von Zellsignalen, die normalerweise eine Entzündungskaskade auslösen würden. Gleichzeitig werde die lokale Streuung von Zytokinen minimiert, da größere Gefäße geschützt und diese somit rasch aus dem Gewebe entfernt würden [7]. Zusammenfassend sind die genauen Mechanismen der Zellzerstörung durch MWA bislang nicht vollständig verstanden.

5.6 TUMORREZIDIVE NACH ABLATION

Unsere Behandlungsdauer betrug 60 Sekunden bei einer Temperatur von 80°C. Diese Einstellungen entsprechen laut den Herstellerangaben einem Ablationsvolumen von ca. 524 mm³. Da das größte Tumolvolumen in der MRT mit 139 mm³ bestimmt wurde, war hierdurch von einem ausreichenden Sicherheitsabstand zwischen Tumorrand und Grenze der Ablation auszugehen. In Bezug auf die Rate an Tumorrezidiven nach einer Ablation hat vor allem die Größe des Sicherheitsabstandes eine wichtige Bedeutung [54]. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass ein Nachweis von Tumoren in der Biopsie des Randsaumes mit einem erhöhten Risiko für Rezidive und einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert ist. Ein solcher Nachweis solle Sotirchos et al. zufolge daher äquivalent zu einer unvollständigen Resektion betrachtet und auch behandelt werden. Dies umfasse ggf. erneute Resektionen bzw. Ablationen, adjuvante Chemotherapie und engmaschige Nachkontrollen [61]. Auch nach Wang et al. stelle der Sicherheitsabstand einen der Schlüsselfaktoren in Bezug auf die lokale Tumorkontrolle dar. Mit jeder Vergrößerung des Mindestabstandes um weitere 5 mm, könne das Risiko einer erneuten Tumorbildung um 46 % gesenkt werden. Auch die Größe des zu behandelnden Tumors sei relevant, da mit einer Größenzunahme des Tumors um je 5 mm das Risiko einer Neubildung um jeweils 22 % erhöht sei [78]. Diese Annahme ist eine mögliche Erklärung für die oft beschriebene Limitierung der MWA für Tumoren ab einer bestimmten Größe. Läsionen mit

einem Durchmesser größer als 5 cm führen bei weniger als 30 % der Fälle zu einer vollständigen Ablation und sollten für lokal ablativ Verfahren daher nicht in Betracht gezogen werden [28]. Die besten Behandlungsergebnisse zeigen Ablationen von Tumoren mit einem Durchmesser zwischen 3 und 5 cm und unter Einhaltung eines Sicherheitsabstandes zwischen 5 und 10 mm [13, 40]. Einzig bei einer kombinierten Anwendung von MWA mit ergänzenden Behandlungsverfahren, könnte möglicherweise ein geringerer Sicherheitsabstand ausreichend sein [25]. Nach Vogl et al. könne nur eine im Vergleich zum Tumor deutlich größere Ablation als technisch erfolgreich angesehen werden, da ein zu kleiner Randsaum einen großen Risikofaktor darstelle. Durch einen Sicherheitsabstand über 5 mm sei gewährleistet, dass Mikrometastasen getroffen werden. Ein Abstand von über 10 mm sei hingegen möglicherweise mit einer erhöhten Komplikationsrate verbunden und solle vermieden werden [74]. Nach allgemeiner Datenlage wird ein Sicherheitsabstand von mindestens 10 mm empfohlen, um eine Ablation im Sinne einer R0-Situation zu gewährleisten [20, 21, 29, 53, 54, 76]. Die Ergebnisse aktueller Studien beschreiben einen Sicherheitsabstand von mindestens 5 mm als ein entscheidendes Kriterium für den Ablationserfolg [87]. Möglicherweise kann die Ablationsbehandlung selbst zu einer infiltrativen Streuung von malignen Zellen in das umliegende Leberparenchym führen. Das sich daraus ergebende Risiko einer mikrovaskulären Invasion unterstreicht die Notwendigkeit eines ausreichenden Sicherheitsabstandes [85]. Méndez Romero et al. fanden in diesem Zusammenhang 60 % der Mikrometastasen in einem Bereich bis 10 mm Entfernung vom makroskopisch sichtbaren Tumorrand. Zudem bestehen ihrer Ansicht nach Unsicherheiten bei der Einschätzung der Tumoren bzw. Ablationen mittels CT oder MRT aufgrund von Geräteeinstellungen sowie Atemartefakten. Diese Unsicherheiten sollen daher bei der radiologischen Abgrenzung der Tumor Morphologie einkalkuliert werden [44]. Wang et al. begründen einen Sicherheitsabstand > 10 mm mit weiteren Argumenten: Ihrer Meinung nach seien die Reproduzierbarkeit der Techniken und ein entsprechender Vergleich der bisherigen Studienergebnisse aufgrund der großen Abweichungen der jeweiligen Methoden nicht gegeben [78]. Eine Einschätzung der Effektivität einer Ablation allein mittels Bildgebung sei zu unsicher und der Behandlungserfolg könne nur histologisch bestätigt werden. Ein wesentlicher Fehler vieler Studien liege den Autoren zufolge in der Annahme, dass sich die Spitze der Ablationsnadel genau im Zentrum des Tumors befände. Zudem werde eine mögliche Inkongruenz zwischen Ablations- und Tumor Morphologie nicht beachtet [78]. Von einer Kongruenz sei vor allem bei der MWA aufgrund der ellipsoiden Ablationsform nicht sicher auszugehen und die in vielen Studien angewendeten Berechnungen des notwendigen Sicherheitsabstandes seien daher zu ungenau. Aus diesem Grund empfehlen die Autoren, einen

Sicherheitsabstand von 10 mm, bezogen auf den größten Durchmesser des Tumors, nicht zu unterschreiten [78].

Bei thermoablativen Behandlungen hängt der Erfolg der Intervention von verschiedenen Faktoren wie Tumorgröße, Lokalisation, Perfusion der Leber, Art der Behandlung sowie den Geräteeigenschaften ab [53]. Eine Tumorgröße von über 3 cm Durchmesser stellt beispielsweise bei der RFA in den meisten Studien eine kritische Grenze dar [4, 20, 32, 41]. Nach Van Duijnhoven et al. gelte eine Beachtung der maximal behandelbaren Tumorgröße als wichtigster Faktor für eine effektive Ablation. Die Fehlerrate korreliere direkt mit der Größe der Läsion und ein Rezidiv entstehe durch eine Proliferation von Zellen, die aufgrund der Tumorgröße durch die Ablation nicht mit erfasst werden könnten [70]. Die Darstellung lebender Zellen ist notwendig, um erneutes Tumorwachstum zu erkennen. Zellmarker können entscheidende Hinweise darauf geben, ob die Tumoren erneut ablatiert werden sollten oder ob eine adjuvante Therapie begonnen werden muss, um das Outcome der Patienten zu verbessern [61]. Laut einem Review komme es nach einer Anwendung von MWA zur Behandlung von HCC nach einem Jahr in 13,1 % der Fälle und nach drei Jahren in 21,1 % der Fälle zu einem erneuten Tumorwachstum. In einer der eingeschlossenen Studien scheinen alle Läsionen mit einem Durchmesser von unter 4 cm in der radiologischen Kontrolle zunächst als erfolgreich behandelt, entwickeln im Verlauf jedoch in 17,4 % der Fälle ein erneutes Tumorwachstum [27]. In anderen Studien betragen die Rezidivraten bei einem HCC mit einer Größe von 8 cm hingegen nur 5,3 % bis 7,3 %. Bei Läsionen mit einem mittleren Durchmesser von 1,9 cm könne in 94 %, mit 3,6 cm in 91 % und bei großen Tumoren mit 6,2 cm Durchmesser in 92 % der Fälle eine vollständige Ablation erreicht werden. Eine Ablation mit MWA könne in der Zusammenschau aller Studien in 93 % der Fälle eine vollständige Tumorablation bei der Behandlung von HCC ermöglichen [27]. In einer Studie zur MWA bei der Behandlung von kolorektalen Lebermetastasen werde die Effektivität der Intervention radiologisch zunächst mit 100 % bewertet. Nach einer mittleren Dauer von elf Monaten komme es bei 9,6 % der behandelten Metastasen zu Lokalrezidiven. Dies betreffe somit 26 % der Patienten [32]. Ohno et al. beschreiben interessanterweise sogar ein erhöhtes Tumorwachstum nach MWA. Sie führen dies auf eine lokale Erhöhung von Wachstumsfaktoren sowie die Produktion von Zytokinen bzw. Zytokin-Rezeptoren und eine erhöhte DNA-Synthese in Tumorzellen zurück. Diese Ergebnisse beziehen sich allerdings auf die nicht behandelten Bereiche der Leber [48]. Dennoch sind dies wichtige Erkenntnisse und ggf. Hinweise auf negative Einflussfaktoren von MWA. Insbesondere, wenn eine MWA einen negativen Effekt auf unbehandelte Bereiche mit resultierender Ausbreitung von Tumorgewebe

zur Folge haben könnte. Die MWA stellt nach aktuellem Kenntnisstand dennoch eine geeignete Therapie zur Schonung von umgebenden Lebergewebe, Downstaging im Rahmen einer 2-Stufen-Therapie oder für Patienten mit schlechten Bedingungen für eine Resektion dar. Eine Voraussetzung ist dabei jedoch die regelmäßige Kontrolle des Therapieerfolges [66].

5.7 FAZIT

Sowohl MRT als auch Ultraschall sind in der Lage, den Tumor abzubilden. Die Volumina werden dabei in der MRT größer eingeschätzt als im Ultraschall. Wie präzise die beiden diagnostischen Methoden die tatsächlichen Tumervolumina darstellen, kann mit unseren Ergebnissen nicht abschließend beurteilt werden. Die postablativen Untersuchungen legen jedoch nahe, dass bei beiden Methoden eine Überschätzung möglich ist. Bei der postablativen Eingrenzung der entstandenen Läsion korrelieren die in der MRT gemessenen Volumina mit denen der Präparate, weisen jedoch wesentlich höhere Werte sowie eine breitere Streuung auf. Auch im Ultraschall werden die Volumina zwar größer eingeschätzt, gegenüber der MRT aber etwas genauer abgebildet. Die größten Abweichungen lassen sich nach sieben Tagen feststellen. Hier sind die Werte in der MRT am größten, während bei den Präparaten zu diesem Zeitpunkt eher eine Kontraktion erkennbar ist. Unserer Ansicht nach eignet sich die MRT daher nur eingeschränkt für die Einschätzung der Ablation und somit auch für die Bestimmung des Sicherheitsabstandes. Die Ultraschalldiagnostik scheint die Veränderungen im Gewebe genauer abzubilden, allerdings weisen unsere Ergebnisse auch hier auf Fehleinschätzungen der Volumina hin. Unklar bleibt hingegen, ob durch die Bildgebung eine mögliche Veränderung im Gewebe erkennbar ist, die anhand der Präparate mit unseren Methoden nicht nachgewiesen werden kann.

In der mikroskopischen Auswertung der Präparate beider Versuchsgruppen lassen sich jeweils drei Zonen mit unterschiedlicher Gewebestruktur an beiden Zeitpunkten feststellen. Dabei finden sich in der ersten Zone am Tag 1 komprimierte Zellen, während das Gewebe am Tag 7 rissig erscheint. In der zweiten Zone sind am ersten Tag nach der Ablation noch Zellstrukturen erkennbar, die am Tag 7 wesentlich homogener wirken. In der dritten Zone sind die Zellstrukturen nach einem Tag klar abgrenzbar, während das Gewebe am siebten Tag eher verwaschen erscheint. Am Tag 1 lässt sich zwar eine vermehrte Anzahl an T-Lymphozyten im Läsionsbereich feststellen, die höchste Anzahl liegt jedoch im Grenzbereich vor. Am Tag 7 ist

die Anzahl an T-Lymphozyten im Läsionsbereich fast doppelt so hoch, der Grenzbereich weist aber auch hier den höchsten Wert auf. Bereits nach einem Tag kommt es zu einer deutlichen Zunahme von Makrophagen innerhalb der Läsion und nach sieben Tagen ist die Anzahl im Vergleich sogar sechsmal höher. Auch hier liegt der höchste Wert jeweils im Grenzbereich vor. Im Gegensatz dazu ist die Anzahl der Granulozyten im Grenzbereich nach einem Tag wesentlich höher als nach sieben Tagen. Die Beurteilung einer effektiven Ablation erfordert die Unterscheidung von nekrotischen und potentiell vitalen Zellen. Die Marker CD3, CD68 und MPO können die Definition eines Grenzbereichs unterstützen, ohne jedoch eine exakte Abgrenzung zuzulassen.

Die vorliegende Arbeit unterliegt mehreren Limitationen. In der 7-Tage-Gruppe kam es zu einer starken Hypertrophie des Gewebes und die Tumoren nahmen zum Zeitpunkt der Behandlung fast den gesamten Leberlappen ein. Dadurch erwies sich das Gewebe im Ultraschall als nicht auswertbar. Viele der histologischen Schnitte waren zudem brüchig. Ein weiteres Problem stellte der Temperatursensor am Schaft der Nadel dar, der sich genau 2,5 cm hinter der Spitze befindet. Bei einem zu kleinen Leberlappen konnte die Temperatur unter Umständen nicht genau detektiert und somit reguliert werden. Die relativ kleine Leber der Ratte erwies sich hierfür als nicht optimal. Als ein weiteres Problem erwies sich die lange Untersuchungsdauer in Vollnarkose, durch die zwei der Tiere verstarben und daher für die Auswertung nur zu Beginn der Versuchsreihe zur Verfügung standen. Eine weitere Einschränkung stellt die bei Tierversuchen üblicherweise geringe Anzahl an Versuchsobjekten dar.

Trotz dieser Limitationen konnten wir darstellen, dass sowohl MRT als auch Ultraschall für die postinterventionelle Einschätzung der Ablation nur eingeschränkt geeignet sind. Der für eine erfolgreiche Ablation notwendige Sicherheitsabstand lässt sich hierdurch unter Umständen nicht ausreichend berücksichtigen. Die Markierung von T-Lymphozyten, Granulozyten und Makrophagen kann das Vorliegen eines Grenzbereichs nachweisen, in dem von teils nekrotischen und teils vitalen Zellen ausgegangen werden muss. Mithilfe von PCNA lassen sich im Ablationsbereich am Tag 7 mehr vitale Zellen nachweisen als am Tag 1, sodass vor allem der Zeitpunkt der postinterventionellen Untersuchung relevant zu sein scheint. Die genaue Begrenzung der nekrotischen Zellen als Definition eines effektiven Ablationsareales und deren Korrelat in der Bildgebung sollten in weiteren Studien untersucht werden.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Abbass MA, Ahmad SA, Mahalingam N, Krothapalli KS, Masterson JA, Rao MB, Barthe PG, Mast TD (2019) In vivo ultrasound thermal ablation control using echo decorrelation imaging in rabbit liver and VX2 tumor. *PLoS ONE* 14(12):e0226001
2. Abdalla M, Collings AT, Dirks R, Onkendi E, Nelson D, Ozair A, Miraflor E, Rahman F, Whiteside J, Shah MM, Ayloo S, Abou-Setta A, Sucandy I, Kchaou A, Douglas S, Polanco P, Vreeland T, Buell J, Ansari MT, Pryor AD, Slater BJ, Awad Z, Richardson W, Alseidi A, Jeyarajah DR, Ceppa E (2023) Surgical approach to microwave and radiofrequency liver ablation for hepatocellular carcinoma and colorectal liver metastases less than 5 cm. A systematic review and meta-analysis. *Surg Endosc* 37(5):3340–3353
3. Aldrich JE (2007) Basic physics of ultrasound imaging. *Crit Care Med* 35(5 Suppl):S131-7
4. Amersi FF, McElrath-Garza A, Ahmad A, Zogakis T, Allegra DP, Krasne R, Bilchik AJ (2006) Long-term survival after radiofrequency ablation of complex unresectable liver tumors. *Arch Surg* 141(6):581-7; discussion 587-8
5. Antonio M, Pegoraro F, Rhaïem R, Montalti R, Donadieu A, Tashkandi A, Al-Sadairi AR, Kianmanesh R, Piardi T (2022) Microwave Ablation for Colorectal Liver Metastases: A Systematic Review and Pooled Oncological Analyses. *Cancers (Basel)* 14(5):1305
6. Awad MM, Devgan L, Kamel IR, Torbensen M, Choti MA (2007) Microwave ablation in a hepatic porcine model. Correlation of CT and histopathologic findings. *HPB (Oxford)* 9(5):357–362
7. Bhardwaj N, Strickland AD, Ahmad F, Atanesyan L, West K, Lloyd DM (2009) A comparative histological evaluation of the ablations produced by microwave, cryotherapy and radiofrequency in the liver. *Pathology* 41(2):168–172
8. Brace CL, Diaz TA, Hinshaw JL, Lee FT (2010) Tissue contraction caused by radiofrequency and microwave ablation. A laboratory study in liver and lung. *J Vasc Interv Radiol* 21(8):1280–1286
9. Carrafiello G, Laganà D, Mangini M, Fontana F, Dionigi G, Boni L, Rovera F, Cuffari S, Fugazzola C (2008) Microwave tumors ablation. Principles, clinical applications and review of preliminary experiences. *Int J Surg* 6 Suppl 1:S65-9
10. Cha CH, Lee FT, Gurney JM, Markhardt BK, Warner TF, Kelcz F, Mahvi DM (2000) CT versus sonography for monitoring radiofrequency ablation in a porcine liver. *AJR Am J Roentgenol* 175(3):705–711
11. Collettini F, Rathke H, Schnackenburg B, Thomas A, Albrecht L, Suttmeier B, Jonczyk M, Guettler F, Teichgräber U, Kroncke T, Hamm B, Bucourt M de (2013) Fluid preinjection for microwave ablation in an ex vivo bovine liver model assessed with volumetry in an open MRI system. *Diagn Interv Radiol* 19(5):427–432
12. Coltrera MD (2010) Ultrasound physics in a nutshell. *Otolaryngol Clin North Am* 43(6):1149–1159

13. Cornelis FH, Durack JC, Kimm SY, Wimmer T, Coleman JA, Solomon SB, Srimathveeravalli G (2017) A Comparative Study of Ablation Boundary Sharpness After Percutaneous Radiofrequency, Cryo-, Microwave, and Irreversible Electroporation Ablation in Normal Swine Liver and Kidneys. *Cardiovasc Intervent Radiol* 40(10):1600–1608
14. Correa-Gallego C, Fong Y, Gonen M, D'Angelica MI, Allen PJ, DeMatteo RP, Jarnagin WR, Kingham TP (2014) A retrospective comparison of microwave ablation vs. radiofrequency ablation for colorectal cancer hepatic metastases. *Ann Surg Oncol* 21(13):4278–4283
15. Crespo E, Hermosín A, Villalba Á, Daguer E, Flores J, Periañez J, Martínez-Galdámez M, Santos E (2022) Uncooled TATO microwave system for liver ablation. *Hepat Oncol* 9(4):HEP46
16. Currie S, Hoggard N, Craven IJ., Hadjivassiliou M, Wilkinson ID (2013) Understanding MRI. Basic MR physics for physicians. *Postgrad Med J* 89(1050):209–223
17. Donato H, França M, Candelária I, Caseiro-Alves F (2017) Liver MRI. From basic protocol to advanced techniques. *Eur J Radiol* 93:30–39
18. Dong J, Geng X, Yang Y, Cai X, Hu P, Xia L, Zhang B, Wu P (2018) Dynamic imaging and pathological changes in pig liver after MR-guided microwave ablation. *BMC Cancer* 18(1):397–408
19. Dong L, Cheng Z, Liu F, Yu X, Han Z, Luo Y, Xu H, Chen R, Huang C, Yu J, Liang P (2022) Dynamic changes in liver volume calculated using a three-dimensional visualisation system after microwave ablation of hepatocellular carcinomas. *Med Phys* 49(7):4613–4621
20. Elias D, Viganò L, Orsi F, Scorsetti M, Comito T, Lerut J, Cosola D, Torzilli G (2016) New Perspectives in the Treatment of Colorectal Metastases. *Liver Cancer* 6(1):90–98
21. Facciorusso A, Serviddio G, Muscatiello N (2016) Local ablative treatments for hepatocellular carcinoma. An updated review. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 7(4):477–489
22. Fan W, Li X, Zhang L, Jiang H, Zhang J (2012) Comparison of microwave ablation and multipolar radiofrequency ablation in vivo using two internally cooled probes. *AJR Am J Roentgenol* 198(1):W46-50
23. Filippiadis D, Mazioti A, Velonakis G, Tsochantzis A, Tosoratti N, Kelekis A, Kelekis N (2021) Continuous versus pulsed microwave ablation in the liver. Any difference in intraoperative pain scores? *Ann Gastroenterol* 34(1):80–84
24. Finotti M, D'Amico FE, Romano M, Brizzolari M, Scopelliti M, Zanusi G (2022) Colorectal Liver Metastases: A Literature Review of Viable Surgical Options with a Special Focus on Microwave Liver Thermal Ablation and Mini-Invasive Approach. *J Pers Med* 13(1):33–48
25. Gockner TL, Zelzer S, Mokry T, Gnutzmann D, Bellemann N, Mogler C, Beierfuß A, Köllensperger E, Germann G, Radeleff BA, Stampfl U, Kauczor HU, Pereira PL, Sommer CM (2015) Sphere-enhanced microwave ablation (sMWA) versus bland microwave ablation (bMWA). Technical parameters, specific CT 3D rendering and histopathology. *Cardiovasc Intervent Radiol* 38(2):442–452

26. Gordic S, Corcuera-Solano I, Stueck A, Besa C, Argiriadi P, Guniganti P, King M, Kihira S, Babb J, Thung S, Taouli B (2017) Evaluation of HCC response to locoregional therapy. Validation of MRI-based response criteria versus explant pathology. *J Hepatol* 67(6):1213–1221
27. Gravante G, Ong SL, Metcalfe MS, Strickland A, Dennison AR, Lloyd DM (2008) Hepatic microwave ablation. A review of the histological changes following thermal damage. *Liver Int* 28(7):911–921
28. Guan Y-S, Sun L, Zhou X-P, Li X, Zheng X-H (2004) Hepatocellular carcinoma treated with interventional procedures. CT and MRI follow-up. *World J Gastroenterol* 10(24):3543–3548
29. Haemmerich D, Laeseke PF (2005) Thermal tumour ablation. Devices, clinical applications and future directions. *Int J Hyperthermia* 21(8):755–760
30. Hoffmann R, Rempp H, Erhard L, Blumenstock G, Pereira PL, Claussen CD, Clasen S (2013) Comparison of four microwave ablation devices. An experimental study in ex vivo bovine liver. *Radiology* 268(1):89–97
31. Howard V, Reed MG (2005) Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy, 2. Aufl. Advanced methods. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, New York
32. Ierardi AM, Floridi C, Fontana F, Chini C, Giorlando F, Piacentino F, Brunese L, Pinotti G, Bacuzzi A, Carrafiello G (2013) Microwave ablation of liver metastases to overcome the limitations of radiofrequency ablation. *Radiol Med* 118(6):949–961
33. Joosten J, Ruers T (2007) Local radiofrequency ablation techniques for liver metastases of colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 62(2):153–163
34. Kasper H-U, Bangard C, Gossmann A, Dienes HP, Stippel DL (2010) Pathomorphological changes after radiofrequency ablation in the liver. *Pathol Int* 60(3):149–155
35. Lee JK, Siripongsakun S, Bahrami S, Raman SS, Sayre J, Lu DS (2016) Microwave ablation of liver tumors. Degree of tissue contraction as compared to RF ablation. *Abdom Radiol (NY)* 41(4):659–666
36. Leen E, Horgan PG (2007) Radiofrequency ablation of colorectal liver metastases. *Surg Oncol* 16(1):47–51
37. Li X, An C, Liu F, Cheng Z, Han Z, Yu X, Dong L, Yu J, Liang P (2019) The value of 3D visualization operative planning system in ultrasound-guided percutaneous microwave ablation for large hepatic hemangiomas. A clinical comparative study. *BMC Cancer* 19(1):550
38. Liu Y-E, Zong J, Ren X-C, Lin Q (2019) High-intensity focused ultrasound combined with transcatheter arterial chemoembolization and radiotherapy for advanced hepatocellular carcinoma. A case report. *Medicine (Baltimore)* 98(31):e16660
39. Liu S, Wu J, Ding W, Zhang C, Luo Y, Bai X, Wen K, Han Z, Yu J, Liang P (2022) The tumor ghost on MRI after microwave ablation for hepatocellular carcinoma. A new modality to assess the ablative margin. *Eur J Radiol* 158:110617

40. Lopresto V, Pinto R, Cavagnaro M (2014) Experimental characterisation of the thermal lesion induced by microwave ablation. *Int J Hyperthermia* 30(2):110–118
41. Lubner MG, Brace CL, Hinshaw JL, Lee FT (2010) Microwave tumor ablation. Mechanism of action, clinical results, and devices. *J Vasc Interv Radiol* 21(8 Suppl):S192-203
42. Lucchina N, Tsetis D, Ierardi AM, Giorlando F, Macchi E, Kehagias E, Duka E, Fontana F, Livraghi L, Carrafiello G (2016) Current role of microwave ablation in the treatment of small hepatocellular carcinomas. *Ann Gastroenterol* 29(4):460–465
43. Martins PNA, Neuhaus P (2007) Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver Int* 27(3):384–392
44. Méndez Romero A, Verheij J, Dwarkasing RS, Seppenwoolde Y, Redekop WK, Zondervan PE, Nowak PJCM, Ijzermans JNM, Levendag PC, Heijmen BJM, Verhoef C (2012) Comparison of macroscopic pathology measurements with magnetic resonance imaging and assessment of microscopic pathology extension for colorectal liver metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 82(1):159–166
45. Ng WH, Machado C, Rooney A, Jones R, Rees J, Pathak S (2025) Ablative techniques in colorectal liver metastases. A systematic review, descriptive summary of practice, and recommendations for optimal data reporting. *Eur J Surg Oncol* 51(2):109487
46. Nieuwenhuizen S, Dijkstra M, Puijk RS, Geboers B, Ruarus AH, Schouten EA, Nielsen K, de Vries JJJ, Bruynzeel AME, Scheffer HJ, van den Tol MP, Haasbeek CJA, Meijerink MR (2022) Microwave Ablation, Radiofrequency Ablation, Irreversible Electroporation, and Stereotactic Ablative Body Radiotherapy for Intermediate Size (3-5 cm) Unresectable Colorectal Liver Metastases: a Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Oncol Rep* 24(6):793–808
47. Ohno T, Kawano K, Sasaki A, Aramaki M, Yoshida T, Kitano S (2001) Expansion of an ablated site and induction of apoptosis after microwave coagulation therapy in rat liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 8(4):360–366
48. Ohno T, Kawano K, Yokoyama H, Tahara K, Sasaki A, Aramaki M, Kitano S (2002) Microwave coagulation therapy accelerates growth of cancer in rat liver. *J Hepatol* 36(6):774–779
49. Ozaki T, Tabuse K, Tsuji T, Nakamura Y, Kakudo K, Mori I (2003) Microwave cell death. Enzyme histochemical evaluation for metastatic carcinoma of the liver. *Pathol Int* 53(12):837–845
50. Ozaki T, Mori I, Nakamura M, Utsunomiya H, Tabuse K, Kakudo K (2003) Microwave cell death. Immunohistochemical and enzyme histochemical evaluation. *Pathol Int* 53(10):686–692
51. Ozen M, Raissi D (2022) Current perspectives on microwave ablation of liver lesions in difficult locations. *J Clin Imaging Sci* 12:61
52. Paolucci I, Ruiter SJS, Freedman J, Candinas D, Jong KP de, Weber S, Tinguely P (2022) Volumetric analyses of ablation dimensions in microwave ablation for colorectal liver metastases. *Int J Hyperthermia* 39(1):639–648

53. Pillai K, Akhter J, Chua TC, Shehata M, Alzahrani N, Al-Alem I, Morris DL (2015) Heat sink effect on tumor ablation characteristics as observed in monopolar radiofrequency, bipolar radiofrequency, and microwave, using ex vivo calf liver model. *Medicine (Baltimore)* 94(9):e580
54. Pua BB, Sofocleous CT (2010) Imaging to optimize liver tumor ablation. *Imaging Med* 2(4):433–443
55. Qian G-J, Wang N, Shen Q, Sheng YH, Zhao J-Q, Kuang M, Liu G-J, Wu M-C (2012) Efficacy of microwave versus radiofrequency ablation for treatment of small hepatocellular carcinoma. Experimental and clinical studies. *Eur Radiol* 22(9):1983–1990
56. Rutherford EE, Karanjia ND (2004) The measurement of liver resection margins. *HPB (Oxford)* 6(1):18–20
57. Shriki J (2014) Ultrasound physics. *Crit Care Clin* 30(1):1–24
58. Siperstein AE, Berber E, Ballem N, Parikh RT (2007) Survival after radiofrequency ablation of colorectal liver metastases. 10-year experience. *Ann Surg* 246(4):559-65; discussion 565-7
59. Sofocleous CT, Garg S, Petrovic LM, Gonen M, Petre EN, Klimstra DS, Solomon SB, Brown KT, Brody LA, Covey AM, DeMatteo RP, Schwartz L, Kemeny NE (2012) Ki-67 is a prognostic biomarker of survival after radiofrequency ablation of liver malignancies. *Ann Surg Oncol* 19(13):4262–4269
60. Sommer CM, Koch V, Pap B, Bellemann N, Holzschuh M, Gehrig T, Shevchenko M, Arnegger FU, Nickel F, Mogler C, Zelzer S, Meinzer HP, Stampfl U, Kauczor HU, Radeleff BA (2011) Effect of tissue perfusion on microwave ablation. Experimental in vivo study in porcine kidneys. *J Vasc Interv Radiol* 22(12):1751–1757
61. Sotirchos VS, Petrovic LM, Gönen M, Klimstra DS, Do RKG, Petre EN, Garcia AR, Barlas A, Erinjeri JP, Brown KT, Covey AM, Alago W, Brody LA, DeMatteo RP, Kemeny NE, Solomon SB, Manova-Todorova KO, Sofocleous CT (2016) Colorectal Cancer Liver Metastases. Biopsy of the Ablation Zone and Margins Can Be Used to Predict Oncologic Outcome. *Radiology* 280(3):949–959
62. Sparchez Z, Mocan T, Radu P, Nenu I, Comsa M, Hajjar NA, Mois E, Bartos A, Kacso G, Sparchez M (2020) Microwave ablation in the treatment of liver tumors. A better tool or simply more power? *Med Ultrason* 22(4):451–460
63. Storman D, Swierz MJ, Mitus JW, Pedziwiatr M, Liang N, Wolff R, Bala MM (2024) Microwave coagulation for liver metastases. *Cochrane Database Syst Rev* 3(3):CD010163
64. Strickland AD, Clegg PJ, Cronin NJ, Elabassy M, Lloyd DM (2005) Rapid microwave ablation of large hepatocellular carcinoma in a high-risk patient. *Asian J Surg* 28(2):151–153
65. Sutherland LM, Williams JAR, Padbury RTA, Gotley DC, Stokes B, Maddern GJ (2006) Radiofrequency ablation of liver tumors. A systematic review. *Arch Surg* 141(2):181–190
66. Takahashi H, Berber E (2020) Role of thermal ablation in the management of colorectal liver metastasis. *HepatoBiliary Surg Nutr* 9(1):49–58

67. Tomita K, Matsui Y, Uka M, Umakoshi N, Kawabata T, Munetomo K, Nagata S, Iguchi T, Hiraki T (2022) Evidence on percutaneous radiofrequency and microwave ablation for liver metastases over the last decade. *Jpn J Radiol* 10(40):1035–1045
68. Umehara H, Seki T, Inokuchi R, Tamai T, Kawamura R, Asayama T, Ikeda K, Okazaki K (2012) Microwave coagulation using a perfusion microwave electrode. Preliminary experimental study using ex vivo and in vivo liver. *Exp Ther Med* 3(2):214–220
69. van Duijnhoven FH, Tollenaar RAEM, Terpstra OT, Kuppen PJK (2005) Locoregional therapies of liver metastases in a rat CC531 coloncarcinoma model results in increased resistance to tumour rechallenge. *Clin Exp Metastasis* 22(3):247–253
70. van Duijnhoven FH, Jansen MC, Junggeburst JMC, van Hillegersberg R, Rijken AM, van Coevorden F, van der Sijp JR, van Gulik TM, Slooter GD, Klaase JM, Putter H, Tollenaar RAEM (2006) Factors influencing the local failure rate of radiofrequency ablation of colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 13(5):651–658
71. van Tilborg AAJM, Scheffer HJ, Jong MC de, Vroomen LGPH, Nielsen K, van Kuijk C, van den Tol PMP, Meijerink MR (2016) MWA Versus RFA for Perivascular and Peribiliary CRLM. A Retrospective Patient- and Lesion-Based Analysis of Two Historical Cohorts. *Cardiovasc Intervent Radiol* 39(10):1438–1446
72. Vdovíaková K, Petrovová E, Krešáková L, Maloveská M, Teleky J, Jenčová J, Živčák J, Jenča A (2016) Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research. *Med Sci Monit* 22:4716–4728
73. Vogl TJ, Panahi B, Fischer S, Naguib N, Nour-Eldin N-EA, Gruber T, Trojan J, Bechstein W, Zangos S, Eichler K (2014) Interventionelle Therapie von Lungen- und Lebermetastasen. *Onkologie* 20(8):746–756
74. Vogl TJ, Nour-Eldin N-EA, Hammerstingl RM, Panahi B, Naguib NNN (2017) Mikrowellenablation (MWA). Grundlagen, Technik und Ergebnisse in primären und sekundären Lebertumoren – Übersichtsarbeit. *Rofo* 189(11):1055–1066
75. Vogl TJ, Zitsch M, Albrecht M, D'Angelo T, Basten L, Gruber-Rouh T, Nour-Eldin N-EA, Naguib NNN (2022) Long-term outcomes following percutaneous microwave ablation for colorectal cancer liver metastases. *Int J Hyperthermia* 39(1):788–795
76. Wada Y, Takami Y, Ryu T, Uchino Y, Kugiyama T, Nomura Y, Saitsu H (2022) Predictive Factors for Local Recurrence after Intraoperative Microwave Ablation for Colorectal Liver Metastases. *Cancers (Basel)* 15(1):122
77. Wald LL (2019) Ultimate MRI. *J Magn Reson* 306:139–144
78. Wang X, Sofocleous CT, Erinjeri JP, Petre EN, Gonen M, Do KG, Brown KT, Covey AM, Brody LA, Alago W, Thornton RH, Kemeny NE, Solomon SB (2013) Margin size is an independent predictor of local tumor progression after ablation of colon cancer liver metastases. *Cardiovasc Intervent Radiol* 36(1):166–175

79. Wright AS, Sampson LA, Warner TF, Mahvi DM, Lee FT (2005) Radiofrequency versus microwave ablation in a hepatic porcine model. *Radiology* 236(1):132–139
80. Yamashiki N, Kato T, Bejarano PA, Berho M, Montalvo B, Shebert RT, Goodman ZD, Seki T, Schiff ER, Tzakis AG (2003) Histopathological changes after microwave coagulation therapy for patients with hepatocellular carcinoma. Review of 15 explanted livers. *Am J Gastroenterol* 98(9):2052–2059
81. Yang W, Li X, Tan X (2025) Microwave ablation versus radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. A propensity score matching and inverse probability weighting analysis. *Int J Hyperthermia* 42(1):2524389
82. Yousaf T, Dervenoulas G, Politis M (2018) Advances in MRI Methodology. *Int Rev Neurobiol* 141:31–76
83. Zanus G, Tagliente G, Rossi S, Bonis A, Zambon M, Scopelliti M, Brizzolari M, Grossi U, Romano M, Finotti M (2022) Pulsed Microwave Liver Ablation: An Additional Tool to Treat Hepatocellular Carcinoma 14(3):748
84. Zhang Q, Bian S-Q, Lv W, Kou D, Hu H-L, Guo S-S, Cao Z-S (2019) Observation of efficacy of TACE combined with HIFU on patients with middle-advanced liver cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 23(3 Suppl):239–246
85. Zhang Z, Yu J, Liu S, Dong L, Liu T, Wang H, Han Z, Zhang X, Liang P (2022) Multiparametric liver MRI for predicting early recurrence of hepatocellular carcinoma after microwave ablation. *Cancer Imaging* 22(1):42
86. Zhou W, Liang M, Pan H, Liu X, Jiang Y, Wang Y, Ling L, Ding Q, Wang S (2013) Comparison of ablation zones among different tissues using 2450-MHz cooled-shaft microwave antenna. Results in ex vivo porcine models. *PLoS ONE* 8(8):e71873
87. Zhou J, Qin S, Cui R, Chen Y, Wang Y, Liu G (2025) Outcomes of ultrasound-guided percutaneous ablation of 5 versus ≤ 5 colorectal liver metastases. A propensity score matching study. *Int J Hyperthermia* 42(1):2488128

7 PUBLIKATIONEN UND DANKSAGUNG

7.1 PUBLIKATIONEN

„Comparison of post-interventional diagnostics after microwave ablation of implanted colorectal liver tumors in a rat model“, in Vorbereitung.

7.2 DANKSAGUNG

Allen voran möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. Robert Eisele für die Überlassung des Themas dieser Doktorarbeit bedanken. Herrn Dr. med. Gereon Gäbelein gilt mein besonderer Dank für die hervorragende Betreuung während der gesamten Forschungsarbeit. Bei Herrn Prof. Dr. med. Michael Menger und Herrn Prof. Dr. med. Matthias Laschke bedanke ich mich herzlich für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Ausstattung des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie. Vor allem möchte ich die freundliche Zusammenarbeit mit den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts hervorheben. Mein Dank gilt in diesem Zusammenhang insbesondere Frau Christina Marx für die Aufbereitung der Tumorzellen, Herrn Dr. rer. med. Andreas Müller für die Unterstützung bei der MRT Diagnostik, Frau Dr. med. vet. Christina Körbel für die Hilfe bei der Anwendung der Ultraschalldiagnostik und Frau Janine Becker für die Hilfe bei der Herstellung der histologischen Präparate. Bei Herrn Christian Veith aus dem Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie möchte ich mich für die Unterstützung bei der Auswertung der histologischen Schnitte bedanken. Herrn Patrick Betz danke ich für die äußerst kollegiale Zusammenarbeit während der gesamten Planung und Durchführung der Versuche. Mein besonderer Dank gilt nicht zuletzt Frau Dipl.-Stat. Gudrun Wagenpfeil vom Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik für die fachliche Beratung bei der Auswertung der Ergebnisse. Und schließlich möchte ich mich bei meiner Ehefrau bedanken, die meine Arbeit stets mit wertvollen Ratschlägen begleitete.

8 LEBENSLAUF

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.