

Aus dem
CharitéCentrum für Chirurgische Medizin
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie am Campus Benjamin Franklin
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Martin E. Kreis
(früherer Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Heinz-Johannes Buhr)

Habilitationsschrift

Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Therapieplanung und Effektivitätssteigerung thermischer In-situ-Ablationsverfahren zur Behandlung von Leber-, Lungen- und Schilddrüsentumoren

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Christoph Holmer

geboren am 13.05.1977 in Berlin

Eingereicht: März 2014

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Norbert Hosten

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Thomas Becker

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
1.1. In-situ-Ablationsverfahren.....	3
1.1.1. Technik der Laserinduzierten Thermotherapie.....	4
1.1.2. Technik der Radiofrequenzablation (RFA).....	4
1.2. Klinische Einsatzgebiete von In-situ-Ablationsverfahren	6
1.3. Problemstellung und Zielsetzung	8
2. Eigene Arbeiten	10
2.1. Optische Gewebeparameter für die Dosimetrie der LITT an der Leber	11
2.2. Therapiestudien bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen zur Optimierung der LITT	22
2.3. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Lungentumoren.....	32
2.4. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Schilddrüsentumoren.....	42
2.5. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der Radiofrequenzablation von Schilddrüsentumoren	52
2.6. Experimentelle Untersuchung der Effektivität der RFA im Vergleich zur LITT bei der Behandlung von Schilddrüsentumoren.....	61
3. Diskussion	71
3.1. Bestimmung optischer Gewebeparameter von kolorektalen Lebermetastasen und deren Primärtumoren für die Dosimetrie der LITT	71
3.2. Therapiestudien bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen zur Optimierung der LITT	75
3.3. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Lungentumoren.....	77
3.4. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Schilddrüsentumoren.....	79
3.5. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der Radiofrequenzablation von Schilddrüsentumoren	81
3.6. Experimentelle Untersuchung der Effektivität der RFA im Vergleich zur LITT bei der Behandlung von Schilddrüsentumoren.....	83
4. Zusammenfassung	85
5. Literaturverzeichnis	87
6. Danksagung	97
7. Erklärung	98

1. Einleitung

1.1. In-situ-Ablationsverfahren

In-situ-Ablationsverfahren wurden in den letzten 25 Jahren als alternative Behandlungsmethoden für die Therapie von Tumoren und Metastasen parenchymatöser Organe entwickelt. Hierbei handelt es sich um Verfahren, wie die RFA, die LITT, die Kryotherapie, die selektive interne Radiotherapie (SIRT) oder die Mikrowellenablation [1]. Den Verfahren ist gemeinsam, dass über einen speziellen Applikator Energie in den zu abladierenden Tumor eingebracht wird, die zu einer lokalen Zerstörung des Tumorgewebes unter weitgehender Schonung des umliegenden gesunden Parenchyms führt [2-5]. Von der Vielzahl an Verfahren sind die hyperthermen Ablationstechniken RFA und LITT klinisch am weitesten etabliert [6]. Zudem liegt zu diesen Verfahren eine umfangreiche Evidenzbasis vor. Im engeren Sinne werden deshalb im Folgenden unter dem Begriff „In-situ-Ablationsverfahren“ die hyperthermen Techniken RFA und LITT beschrieben.

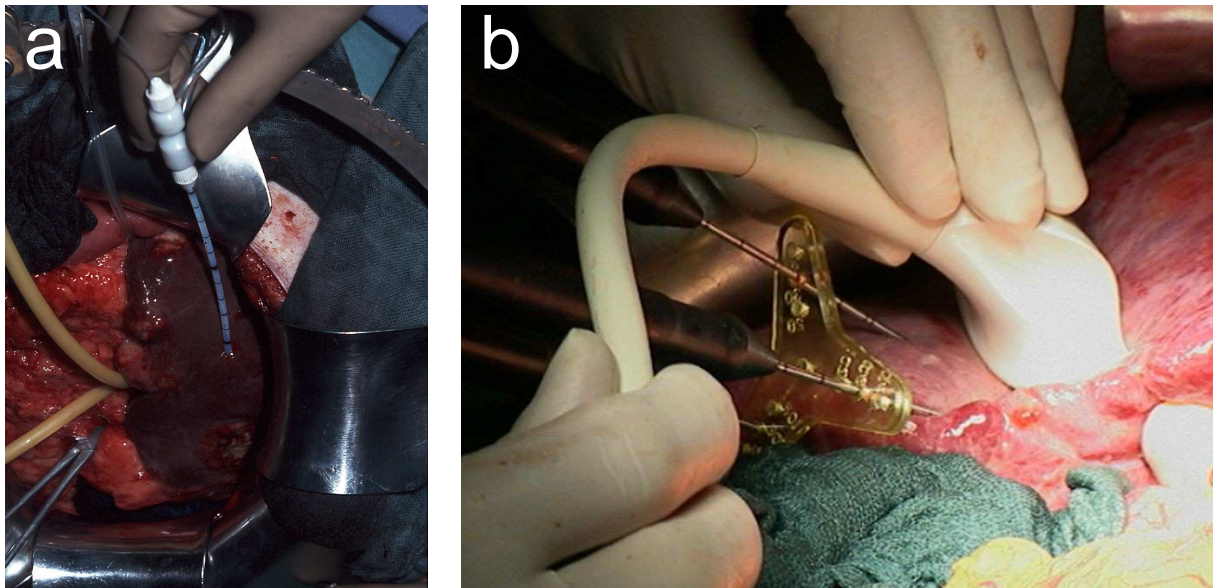


Abbildung 1: a) Offen-chirurgische laserinduzierte Thermoablation (LITT), b) offen-chirurgische multipolare Radiofrequenzablation (RFA) unter sonographischer Kontrolle. Energiezufuhr erfolgt bei der LITT über eine Glasfaser, bei der RFA über ein elektrisches Kabel.

Bei den hyperthermen In-situ-Ablationsverfahren werden Tumore/ Metastasen durch Zufuhr thermischer Energie innerhalb des jeweiligen Organs, also in-situ zerstört. Die hierbei verwendeten nadelförmigen Applikatoren werden direkt in den zu destruierenden Tumor eingebracht (*Abb. 1*). Dies kann sowohl perkutan, als auch offen chirurgisch erfolgen [7,8]. Die im Zielgewebe entstehenden Temperaturen führen zur Ausbildung einer Thermonekrose des Tumorgewebes. In-situ-Ablationsverfahren werden sowohl als Monotherapie, als auch in Kombination mit einer chirurgischen Resektion angewendet, um bei primär inoperabel erscheinenden

Metastasen noch eine vollständige Tumordestruktion erzielen zu können. Erfahrungen an der Leber haben gezeigt, dass beide In-situ-Ablationsverfahren (LITT, RFA) effektiv sind bei einer zugleich geringen Komplikationsrate [7,8]. Die zusätzliche Möglichkeit der minimal-invasiven Anwendung führte zu einer raschen Ausbreitung der In-situ-Ablationsverfahren auf andere parenchymatösen Organe wie z. B. der Lunge [9-11] oder auch der Schilddrüse [12-14]. Allerdings kann im Gegensatz zur chirurgischen Resektion bei den in-situ-Ablationsverfahren keine histologische Untersuchung und somit keine Sicherung der vollständigen Tumorerstörung erfolgen. Der Therapieplanung kommt somit eine besondere Bedeutung zu.

1.1.1. Technik der Laserinduzierten Thermotherapie

Das Prinzip der LITT wurde bereits 1983 beschrieben [8]. Für die LITT werden ein oder mehrere Laserapplikatoren mittels Punktion in den Tumor eingebracht. Das durch den Applikator in das Gewebe abgestrahlte Laserlicht wird absorbiert und führt zu einer lokalen Temperaturerhöhung zwischen 45 und 150 °C und damit zur Gewebekoagulation. Hierdurch entstehen eine sofortige, sowie durch eine Denaturierung von Proteinen verzögerte Gewebenekrose. Bei adäquater Dosierung kann so eine vollständige Tumordestruktion einschließlich des in der chirurgischen Resektion geforderten Sicherheitssaumes erzielt werden.

Für die LITT werden optische Fasern eingesetzt, die geeignet sind, eine hohe Laserenergie in die Zielregion einzubringen. Wegen ihrer großen optischen Eindringtiefe werden Laser des nahen Infrarotlichtes verwendet (Wellenlänge 800 – 1200 nm), wobei klinisch überwiegend Nd:YAG-Laser (Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser) mit einer Wellenlänge von 1064 nm benutzt werden. Je nach Ausdehnung des Tumors kann eine Behandlung durch Einfachapplikation oder auch durch simultane bzw. fraktionierte Mehrfachapplikation erfolgen. Es stehen verschiedene Applikatortypen zur Verfügung, die für unterschiedliche Leistungsbereiche und Tumorgößen optimiert sind [5,15-17].

Auf die Ausbreitung des Laserlichtes im Gewebe nehmen die Wellenlänge des Laserlichtes, die Art und Anzahl der Applikatoren und die Dauer der Laserexposition Einfluss. Im Gegensatz zu diesen externen, vom Anwender beeinflussbaren, Faktoren stehen die spezifischen optischen Parameter des laserbehandelten Gewebes (Absorptionskoeffizient, Streukoeffizient, Anisotropiefaktor, optische Eindringtiefe), welche eine wesentliche Rolle in der Laser-Gewebe-Interaktion spielen und das Läsionsvolumen im Gewebe bestimmen [18].

1.1.2. Technik der Radiofrequenzablation (RFA)

Dem Prinzip der RFA liegt die interstitielle Tumordestruktion durch hochfrequenten Wechselstrom zugrunde. Eine oder mehrere Nadelelektroden (Applikatoren) werden in den Tumor eingebracht. Die Applikation kann je nach Tumorlokalisation, Anzahl

der Tumore, Tumorgroße, anatomischer Situation und weiterer Faktoren perkutan oder offen chirurgisch eingebracht werden. Hochfrequenter Wechselstrom von 375 bis 480 kHz wird über einen Generator eingeleitet und führt über Ionenbewegung zu einer Erhitzung des Zielgewebes. Eine Gewebeerhitzung von 50 - 55 °C über 4 - 6 Minuten führt durch eine irreversible Proteinkoagulation zum Zelltod. Ab 60 °C wird durch eine im Gewebe entstehende Koagulationsnekrose ein sofortiger Zelltod erzielt. Bei Temperaturen von mehr als 100 °C wird Gewebe vaporisiert und karbonisiert [19-22].

Die RFA wurde initial als monopoles System entwickelt. Hierbei wird ein hochfrequentes Spannungsfeld zwischen der punktförmigen Fläche des Applikators und einer großflächigen, am Patienten angebrachten Neutralelektrode hergestellt. Dieses Design führt zu einer hohen Stromdichte in Umgebung des Applikators und damit zur lokalen Gewebeerhitzung. Das genaue Ausmaß der Thermodestruktion ist von einer Vielzahl von Faktoren, wie z.B. Gewebeleitfähigkeit, technischem Design von Generator, Applikator und Neutralelektrode, umgebenden Organen und Strukturen abhängig und schwer vorherzusagen [23,24]. Der unkontrollierte Stromfluss kann zudem zu thermischen Schäden an benachbarten Organstrukturen, zu Hautverbrennungen, verminderter Effektivität und einer daraus resultierenden erhöhten Lokalrezidivrate führen [25].

Eine Weiterentwicklung stellt die bipolare RFA dar, welche die o.g. Probleme der monopolen Technik vermeidet. Bipolare RFA-Applikatoren tragen jeweils eine voneinander isolierte positive und negative Elektrode, zwischen denen der Stromfluss stattfindet (Abb. 2). Der Energieeintrag ist somit über eine kurze Distanz gerichtet und kann genauer kontrolliert werden [26,27].

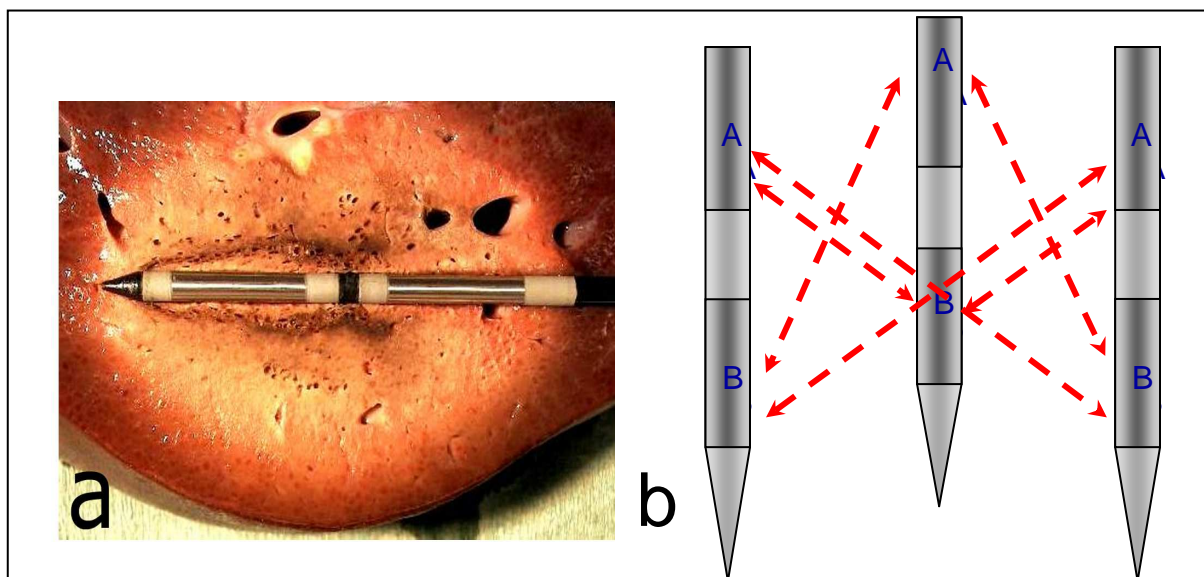


Abbildung 2: a) Thermoläsion einer bipolaren RFA. Makroansicht der Spitze eines bipolaren Applikators mit zwei voneinander isolierten Elektroden. b) Schematische Darstellung der multipolaren RFA. Drei bipolare Applikatoren mit insgesamt sechs einzelnen Elektroden, welche alternierend untereinander verschaltet sind.

Während die bipolare Applikation typische Probleme der monopolen RFA vermeidet, sind für die klinische Anwendung häufig größere Ablationsvolumina erforderlich. Die Technik wurde daher zur Effektivitätssteigerung als multipolare RFA weiterentwickelt. Bei der multipolaren RFA werden mehrere bipolare Applikatoren zeitgleich in oder nahe um den Tumor eingebracht (*Abbildung 2*). Klinisch werden meist drei bipolare Applikatoren verwendet, so dass für die Ablation sechs einzelne Elektroden zur Verfügung stehen. Mit einem speziell für diese Technik entwickelten Generator werden die Elektroden alternierend untereinander verschaltet. Hierbei stehen 15 verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, welche vom Generator automatisch nach der Gewebeimpedanz und damit nach dem Grad der Austrocknung und Karbonisation des Gewebes dynamisch ausgewählt werden. Durch diese Technik wird die Koagulationsnekrose entsprechend der Bio-Heat-Gleichung vergrößert und damit eine höhere Effektivität erreicht. Die einzelnen, sich zwischen den Elektrodenpaaren entwickelnden Koagulationsareale konfluieren zu einer Thermonekrose, die einen Durchmesser von bis zu 90 mm bei einem Volumen von bis zu 52 cm³ erreichen kann [28-30].

1.2. Klinische Einsatzgebiete von In-situ-Ablationsverfahren

Lebermetastasen

Lebermetastasen kolorektaler Karzinome gehören zu den häufigsten Lebertumoren. Die hepatische Metastasierung beeinflusst hierbei wesentlich die Prognose der Patienten. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eines kolorektalen Karzinoms weisen etwa 15 – 25 % der Patienten synchrone Lebermetastasen auf [31-33]. Nach primärer Operation mit kurativer Intention liegt die Rate metachroner Lebermetastasen bei ca. 20 - 50 % [34-36]. Bei ca. 25 % der Patienten mit kolorektalen Tumoren im fortgeschrittenen Stadium ist die Leber der einzige Metastasierungsort [1,37,38]. Unbehandelt liegt die 3-Jahres-Überlebensrate beim Vorliegen hepatischer Metastasen bei 12 % [31].

Bislang ist die chirurgische Resektion von Lebermetastasen das einzige Therapieverfahren mit gesicherter kurativer Zielsetzung. Die Leberteileresektion hat je nach Resektionsausmaß und Erfahrung des operierenden Zentrums eine Operationsletalität von 3 - 5 % bei einer Fünfjahresüberlebensrate von 20 - 40 % [31,39-41]. Unter Berücksichtigung prognoserelevanter Faktoren kommen jedoch nur 6 - 15 % der Patienten für eine chirurgische Resektion in Betracht [40]. Nach potentiell kurativer Leberresektion muss zusätzlich in bis zu 70 % der Patienten mit einem Rezidiv in der Restleber gerechnet werden [39]. Für eine Re-Resektion kommen weniger als 30 % der Patienten in Betracht.

Hieraus ergibt sich für die Mehrzahl der Patienten mit Lebermetastasen kolorektalen Ursprungs die Forderung nach alternativen, parenchymsparenden und wiederholbaren Behandlungsstrategien. In den letzten 25 Jahren wurden hierbei vor

allein die In-situ-Ablationsverfahren als alternative Behandlungsmethoden für die Therapie von Lebermetastasen entwickelt. Insbesondere bei der Behandlung von Lebermetastasen haben die Laserinduzierte Thermotherapie (LITT) und die Radiofrequenzablation (RFA) besondere Verbreitung in der klinischen Anwendung gefunden [42,43].

Lungenmetastasen

Neben der Leber ist vor allem die Lunge Ort einer Metastasierung. Laut Sektionsstatistik haben Patienten mit einem malignen Grundleiden zum Zeitpunkt ihres Todes zu 30 % Lungenmetastasen. Etwa 15 % aller Patienten mit einem kolorektalen Karzinom entwickeln Lungenmetastasen im Anschluss an die primäre Tumorthherapie. Therapeutischer Goldstandard bei der Behandlung von Primärtumoren als auch von Lungenmetastasen ist die chirurgische Resektion. Wegen Anzahl, Dynamik oder Lage der Metastasen können nur etwa ein Drittel der Patienten mit Lungenmetastasen einer chirurgischen Resektion zugeführt werden mit einer 5-Jahresüberlebensrate von nur 15 – 40 % [44-47]. Bei über 70 % der Patienten ist eine kurative Resektion somit nicht möglich. In etwa 50 % der Fälle kommt es trotz radikaler Operation zu einem pulmonalen Tumorprogress. Dies machte die Etablierung alternativer minimal-invasiver Behandlungsoptionen notwendig, wie sie beispielsweise in Form der In-situ-Ablationsverfahren als RFA oder LITT eingesetzt werden. Während diese Verfahren als Alternative zur chirurgischen Resektion bei der Behandlung von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome bereits regelmäßig angewendet werden, kommen sie bei der Therapie von primären Lungentumoren erst seit relativ kurzer Zeit zum Einsatz [9-11,48]. Vorteile der In-situ-Ablationsverfahren sind der minimal-invasive Zugangsweg, die Schonung gesunden Parenchyms sowie die wiederholte Anwendbarkeit.

Schilddrüsentumore

Veränderungen der Schilddrüse gehören infolge alimentären Jodmangels nach wie vor zu den häufigsten Erkrankungen weltweit [49,50]. Etwa in einem Drittel dieser Fälle weist die Schilddrüse allein hyperplastische Veränderungen auf, während die restlichen zwei Drittel der Betroffenen singuläre oder diffuse Noduli tragen. Zunehmendes Alter, weibliches Geschlecht sowie eine vorherige Radiatio im Kopf-Hals-Bereich scheinen neben Jodmangel das Risiko für Schilddrüsenknoten zu erhöhen [51-53]. Bei den in Behandlung befindlichen Patienten wird in über 60 % der Fälle eine Therapieindikation gestellt, die allein in Deutschland zu einem Gesamtvolumen von 100.000 operativen Schilddrüseneingriffen pro Jahr führt, von denen 65 % bei nodulären Veränderungen durchgeführt werden [54]. Die Chirurgie und die Radiojod-Therapie sind die etablierten therapeutischen Verfahren in der Behandlung funktioneller Erkrankungen sowie gutartiger und maligner Läsionen der Schilddrüse [55-58]. Allerdings beinhaltet die Operation peri- und postoperative Risiken wie die Recurrensparese und die Hypokalzämie [59] und entspricht aus

kosmetischen Gründen nicht in jedem Fall dem Patientenwunsch. Weitere Komplikationen sind die Strahlenthyreoiditis, eine chronische Speicheldrüsenentzündungen sowie einer substitutionspflichtige Hypothyreose in 10 – 20 % sowie hohen Rezidivraten mit erneuter Therapieindikation in bis zu 20 % der Fälle [60,61].

Angesichts der hohen Patientenzahl mit therapiebedürftigem Krankheitsbild ist eine weitere, schonende Therapieoption wünschenswert. Die In-situ-Ablationsverfahren (RFA, LITT) sind Gegenstand derzeitiger Untersuchungen als alternative Therapieoptionen bei der Behandlung benigner und maligner Schilddrüsenläsionen [12-14]. Dieser Ansatz wurde bereits weltweit von einigen Arbeitsgruppen verfolgt und in kleineren klinischen Studien zur lokalen Therapie von verschiedenen Schilddrüsenveränderungen bis hin zu Malignomen [57,58,62-65] eingesetzt. Hierbei fehlen jedoch bislang ausreichende Daten zur Dosimetrie der RFA und LITT an der Schilddrüse, deren Kenntnis jedoch wesentliche Voraussetzung für einen sicheren und reproduzierbaren Einsatz der In-situ-Ablationsverfahren an der Schilddrüse ist.

1.3. Problemstellung und Zielsetzung

Sekundär bösartige Neubildungen parenchymatöser Organe infolge einer Metastasierung stellen eine der häufigsten onkologischen Erkrankungen dar und beeinflussen wesentlich die Prognose der betroffenen Patienten. Bislang ist die chirurgische Resektion von parenchymatösen Tumoren das einzige Therapieverfahren mit gesicherter kurativer Zielsetzung. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung kann jedoch aus onkologischen und operationstechnischen Gründen nur eine Minderheit der Patienten einer chirurgischen Therapie zugeführt werden. Zusätzliche Probleme stellen die vom Ausmaß der Parenchymverluste abhängige Komplikationsrate der chirurgischen Therapie sowie das Risiko eines Rezidivs nach erfolgter Resektion dar. Um diesen Problemen entgegenzuwirken wurden in den letzten Jahren In-situ-Ablationsverfahren als Alternative zur chirurgischen Resektion entwickelt, welche perkutan oder offen chirurgisch zur Anwendung kommen können. Hierbei haben vor allem die RFA und die LITT klinische Verbreitung gefunden. Erfahrungen an der Leber haben gezeigt, dass beide In-situ-Ablationsverfahren effektiv sind bei einer zugleich geringen Komplikationsrate. Diese lokalen Verfahren bieten die Möglichkeit die Tumore zu zerstören, ohne das umliegende gesunde Parenchym wesentlich zu beeinflussen und können im Falle eines Rezidivs wiederholt eingesetzt werden. Die zusätzliche Möglichkeit der minimal-invasiven Anwendung führte zu einer raschen Ausbreitung der In-situ-Ablationsverfahren auf andere parenchymatöse Organe wie Lunge, Schilddrüse, Niere, Prostata oder Mamma. Limitiert wird der sichere klinische Einsatz der In-situ-Ablation bislang vorwiegend durch technische und onkologische Kriterien. Hierzu zählen vor allem:

- Die Kenntnis der Lichtausbreitung im Gewebe, um eine Vorhersage über das Ausmaß der entstehenden Thermoläsionen zu treffen und die geeigneten Applikationsparameter für eine vollständige Tumorzerstörung im Vorfeld der Behandlung festlegen zu können.
- Die sichere Induktion ausreichend großer Läsionen mit vollständiger intraläsionärer Zerstörung des Zielgewebes unter Schonung der umliegenden Strukturen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, den genannten Limitationen des klinischen Einsatzes der LITT und RFA durch die experimentelle und klinische Evaluation neuer Applikationsmodi und Planungsmöglichkeiten an der Leber, Lunge und Schilddrüse entgegen zu wirken und damit das Spektrum der Therapiemöglichkeiten für eine sichere und effektive Behandlung auszuweiten. Spezifische Ziele waren hierbei:

- Die Bestimmung der optischen Gewebeparameter für die LITT, um Kenntnisse der Lichtausbreitung im Zielgewebe zu gewinnen.
- Die Untersuchung des Einflusses einer Unterbrechung der Leberperfusion auf die LITT, um effektivitätshemmende Kühleffekten zu reduzieren und die LITT zu optimieren
- Die Evaluation einer Dosis-Wirkungs-Beziehung für die LITT und RFA an der Lunge und Schilddrüse, um so den Leistungsbereich für die Induktion möglichst großer Läsionen unter Schonung umliegender Strukturen zu bestimmen.

2. Eigene Arbeiten

Die hier vorgestellte Arbeit basiert auf folgenden Originalpublikationen. Entsprechend o. g. spezifischer Zielsetzungen sollte hierbei in der ersten Arbeit die Bestimmung der optischen Gewebeparameter von Lebermetastasengewebe erfolgen, um Kenntnisse der Lichtausbreitung im Zielgewebe zu gewinnen. Im Rahmen der zweiten Arbeit galt es, den Einfluss einer Unterbrechung der Leberperfusion auf die LITT in Hinblick auf eine höhere Effektivität bei der Behandlung von Lebertumoren zu untersuchen. In den übrigen vier Arbeiten sollte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die LITT und RFA an der Lunge und der Schilddrüse evaluiert werden, um den optimalen Leistungsbereich der In-situ-Ablationsverfahren zu bestimmen.

2.1. Holmer C, Lehmann KS, Risk J, Roggan A, Germer CT, Reissfelder C, Isbert C, Buhr HJ, Ritz JP.

Colorectal tumors and hepatic metastases differ in their optical properties-relevance for dosimetry in laser-induced interstitial thermotherapy. *Lasers Surg Med.* 2006;38(4):296-304.

2.2. Ritz JP, Lehmann KS, Zurbuchen U, Wacker F, Brehm F, Isbert C, Germer CT, Buhr HJ, **Holmer C**.

Improving laser-induced thermotherapy of liver metastases – effects of arterial microembolization and complete blood flow occlusion. *Eur J Surg Oncol.* 2007;33(5):608-15.

2.3. Ritz JP, Lehmann KS, Mols A, Frericks B, Knappe V, Buhr HJ, **Holmer C**.

Laser-induced thermotherapy for lung tissue--evaluation of two different internally cooled application systems for clinical use. *Lasers Med Sci.* 2008;23(2):195-202.

2.4. Ritz JP, Lehmann KS, Zurbuchen U, Knappe V, Schumann T, Buhr HJ, **Holmer C**.

Ex vivo and in vivo evaluation of laser-induced thermotherapy for nodular thyroid disease. *Lasers Surg Med.* 2009;41(7):479-86.

2.5. Holmer C, Lehmann KS, Knappe V, Zurbuchen U, Frericks B, Schumann T, Buhr HJ, Ritz JP.

Bipolar radiofrequency ablation for nodular thyroid disease – ex vivo and in vivo evaluation of a dose-response relationship. *J Surg Res.* 2011;169(2):234-40.

2.6. Ritz JP, Lehmann KS, Schumann T, Knappe V, Zurbuchen U, Buhr HJ, **Holmer C**.

Effectiveness of various thermal ablation techniques for the treatment of nodular thyroid disease – comparison of laser-induced thermotherapy and bipolar radiofrequency ablation. *Lasers Med Sci.* 2011;26(4):545-52.

2.1. Optische Gewebeparameter für die Dosimetrie der LITT an der Leber

Holmer C, Lehmann KS, Risk J, Roggan A, Germer CT, Reissfelder C, Isbert C, Buhr HJ, Ritz JP. Colorectal tumors and hepatic metastases differ in their optical properties – relevance for dosimetry in laser-induced interstitial thermotherapy. *Lasers Surg Med.* 2006; 38(4):296-304

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20300>

Ein Problem aller thermischen Laseranwendungen ist die fehlende Therapiekontrolle während der Ablation [66,67]. Für eine effektive und sichere Anwendung von Laserlicht ist die Kenntnis der Lichtausbreitung im Gewebe wichtige Voraussetzung. Diese Lichtausbreitung wird im Wesentlichen durch die folgenden, individuell stark variierenden optischen Parameter bestimmt: Absorptionskoeffizient, Streukoeffizient, Anisotropiefaktor, Eindringtiefe [68,69].

Experimentell sollte das optische Verhalten von gesundem Kolongewebe, kolorektalen Karzinomen und deren hepatischen Metastasen im nativen und koagulierten Zustand verglichen werden, um den Einfluss der karzinomatösen Entartung, Metastasierung und thermischen Koagulation auf die optischen Parameter für die LITT zu überprüfen.

Hierzu wurde von Patienten mit einem synchron hepatisch metastasierten Kolonkarzinom insgesamt 90 Gewebeproben gewonnen. Dabei handelte es sich um gesundes Kolon- (n=30), Kolonkarzinom- (n=30) sowie Lebermetastasengewebe (n=30). Die Messungen der optischen Parameter der Gewebeproben erfolgte nach dem Doppel-Ulbrichtkugel-Prinzip im nativen Zustand und nach Thermokoagulation im Wellenlängenbereich von 800 bis 1100 nm in 10 nm-Schritten und wurden mittels der inversen Monte-Carlo-Stimulation ausgewertet.

Die höchste optische Eindringtiefe für alle Gewebearten wurde am Ende des Lichtspektrums erzielt. Bei 1064 nm lag die größte optische Eindringtiefe mit 4,13 mm (gesundes Kolon), 7,47 mm (Kolonkarzinomgewebe) und 4,08 mm (Lebermetastasen), wobei die Werte nach Thermokoagulation signifikant abnahmen. Beim Vergleich gesundes Kolon versus Kolonkarzinom war der Absorptions- und Streukoeffizient im Tumorgewebe stets signifikant niedriger. Hieraus resultierte eine höhere optische Eindringtiefe des Laserlichtes in Kolonkarzinomgewebe als in gesundes Kolon ($p < 0,05$). Im direkten Vergleich zwischen Primärtumor und Lebermetastase zeigte sich keine Übereinstimmung der optischen Parameter. Im nativen Zustand war der Streukoeffizient des Kolonkarzinomgewebes niedriger ($p < 0,05$), der Anisotropiefaktor und die optische Eindringtiefe höher als im Lebermetastasengewebe ($p < 0,05$). Der Absorptionskoeffizient zeigte keinen

statistischen Unterschied. Durch die Gewebekoagulation wurden die nativ nachgewiesenen Unterschiede nivelliert.

Mit dieser Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass es durch die Metastasierung zu einer Veränderung des optischen Verhaltens des Gewebes kommt. In Tumorgewebe wurde eine höhere optische Eindringtiefe erzielt, was einen therapeutischen Vorteil durch ein potentiell größeres Behandlungsvolumen darstellt. Trotz gleicher Histologie zeigten sich keine Übereinstimmungen der optischen Parameter von Primärtumor und Lebermetastase, was auf eine Modifikation durch die Metastasierung hindeutet. Infolge der thermischen Gewebekoagulation kam es zu einer Veränderung der optischen Parameter von gesunden Kolon-, Kolonkarzinom- und Lebermetastasengewebe. Die hieraus resultierende niedrigere optische Eindringtiefe macht deutlich, dass für eine effektive und sichere Dosimetrie der LITT eine Anpassung der Bestrahlungsparameter mit zunehmender Applikationsdauer notwendig ist.

2.2. Therapiestudien bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen zur Optimierung der LITT

Ritz JP, Lehmann KS, Zurbuchen U, Wacker F, Brehm F, Isbert C, Germer CT, Buhr HJ, **Holmer C**. Improving laser-induced thermotherapy of liver metastases – effects of arterial microembolization and complete blood flow occlusion. Eur J Surg Oncology 2007;33(5):296-304

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2007.02.028>

Zur Behandlung auch größer Lebermetastasen wurde eine Optimierung der LITT angestrebt. Tierexperimentelle Arbeiten der eigenen Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass eine Perfusionsunterbrechung während der LITT eine Effektivitätssteigerung im Hinblick auf die Größe des erzielten Koagulationsvolumens mit sich bringt [70,71].

In der folgenden klinischen Arbeit sollte die LITT in Kombination mit einer kompletten oder selektiven Perfusionsunterbrechung hinsichtlich ihrer Effektivität im Vergleich zur normalen Perfusion bei Patienten mit irresektablen hepatischen Metastasen untersucht werden.

Die laserinduzierte Thermotherapie wurde über zwei verschiedene Zugangswege durchgeführt. In Abhängigkeit der Indikationsstellung, Metastasengröße und Metastasenlokalisierung wurde die LITT über einen perkutanen oder offenen Zugang durchgeführt. Zur Wirkungsverstärkung der LITT wurden zwei Verfahren zur Perfusionsunterbrechung eingesetzt: 1. die temporäre arterielle Gefäßembolisation mit Mikrosphären (DSM) oder 2. die komplette Perfusionsunterbrechung durch ein Pringle-Manöver. Das Therapiemonitoring im Rahmen einer perkutanen Behandlung erfolgte mittels MRT, für die offen durchgeführten Laserbehandlungen bediente man sich der intraoperativen Ultraschallkontrolle. Die Läsionen wurden prä- und postinterventionell in ihrem maximalen Durchmesser ausgemessen und die Volumina berechnet.

Bei 56 Patienten wurden 104 Metastasen mit insgesamt 124 Laserapplikationen behandelt. Bei 25 Metastasen (14 Patienten) erfolgte die LITT ohne Perfusionsunterbrechung, bei 37 Metastasen (19 Patienten) erfolgte die LITT perkutan in Kombination mit einer Gefäßembolisation durch Mikrosphären (DSM) und bei 42 Metastasen (23 Patienten) wurde die LITT per Laparotomie mit einem Pringle-Manöver durchgeführt. Die thermischen Läsionsvolumina waren in allen drei Gruppen signifikant höher als die Ausgangsvolumina. Der mittlere Volumenzuwachs betrug ohne Perfusionsunterbrechung $15,5 \pm 9 \text{ cm}^3$, bei der Gefäßembolisation (DSM) $55,9 \pm 22 \text{ cm}^3$ und beim Pringle-Manöver $63,6 \pm 27 \text{ cm}^3$ ($p < 0,05$).

In dieser Arbeit konnte erstmals klinisch gezeigt werden, dass die LITT in Kombination mit einer prätherapeutischen Perfusionsunterbrechung mittels Gefäßembolisation oder Pringle-Manöver zu einer Erhöhung der Läsionsvolumina und verbesserten lokalen Tumorkontrolle führt. Bei gleicher Komplikationsrate im Vergleich zur LITT-Behandlung ohne Unterbrechung der Leberperfusion können auf diesem Wege mit weniger Applikationen bedeutend größere Thermoläsionen erzielt werden.

2.3. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Lungentumoren

Ritz JP, Lehmann KS, Mols A, Frericks B, Knappe V, Buhr HJ, **Holmer C**. Laser-induced thermotherapy for lung tissue – evaluation of two different internally cooled application systems for clinical use. *Lasers Med Sci*. 2008;23(2):195-202

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-007-0472-8>

Das Bronchialkarzinom ist eine der weltweit häufigsten Tumorentitäten. Ferner ist die Lunge neben der Leber zweithäufigster Metastasierungsort mit einer Metastasierungsrate von 20 bis 54 % für Karzinome im Allgemeinen [72,73]. Therapeutischer Goldstandard bei der Behandlung von Primärtumoren als auch von Lungenmetastasen ist die chirurgische Resektion. Bei einem großen Teil der Patienten verbietet sich aufgrund eines fortgeschrittenen Tumorstadiums oder Komorbiditäten eine Operation. Diesen Patienten konnten lange keine lokaltherapeutische Alternative angeboten werden, die bei wesentlich geringerer Invasivität einer zur Resektion vergleichbare Effektivität ermöglichte. Dies machte die Etablierung alternativer minimal-invasiver Behandlungsoptionen notwendig, wie sie beispielsweise in Form der In-situ-Ablationsverfahren als Radiofrequenzablation (RFA) oder als Laserinduzierte Thermotherapie (LITT) eingesetzt wird. Während diese Verfahren als Alternative zur chirurgischen Resektion bei der Behandlung von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome bereits regelmäßig angewendet werden, kommen sie bei der Therapie von Lungentumoren erst seit relativ kurzer Zeit zum Einsatz [9-11,48]. Die Erfahrungen an der Leber belegen, daß thermische In-situ-Ablationsverfahren effektiv und komplikationsarm durchgeführt werden können [74,75]. Die geringe Invasivität und die Schonung von gesundem Parenchym machen die In-situ-Ablation daher auch für die Therapie von primären und sekundären Lungentumoren interessant. Aufgrund des gewebespezifischen Aufbaus der Lunge mit den hohen Anteilen luftgefüllter Hohlräume wurde für die LITT im Vergleich zur RFA ein günstigerer Energietransfer in der Lunge angenommen, weswegen die LITT als zu untersuchendes Verfahren ausgewählt wurde. Mehrere Studien belegten bereits die grundsätzliche technische Machbarkeit der LITT an der Lunge [9,74-76]. Allerdings fehlten bislang klinische oder experimentelle Daten, die den energieabhängigen Effekt des Laserlichtes auf das Lungengewebe untersuchten und im Sinne einer Dosis-Wirkbeziehung evaluierten. Diese Daten sind jedoch Voraussetzung für eine sichere und effektive Anwendung der LITT mit Induktion ausreichend großer Läsionen. Ziel dieser experimentellen Studie war es, anhand von Schweinelungen die Größe von laserinduzierten Thermoläsionen in Abhängigkeit der verwendeten Applikationsdauer- und -leistung zu untersuchen, um so den

Leistungsbereich für die Induktion möglichst großer Läsionen ohne Induktion ausgedehnter Karbonisationen zu bestimmen. Dabei wurden ein offen-chirurgisches sowie ein perkutan-interventionell einzusetzendes Punktionssystem evaluiert.

An insgesamt 27 Lungenfrischpräparaten von Hausschweinen wurden pro Lungenflügel (n=54) jeweils 2 thermische Läsionen (n=108) mittels eines Nd:YAG laser (1064 nm) induziert. Die LITT erfolgte hierbei über ein perkutanes (Gruppe I) sowie ein offenes, intraoperatives Punktionssystem (Gruppe II) in einem Leistungsbereich der Laserenergie zwischen 20 – 32 Watt sowie eine Applikationsdauer zwischen 600 – 1200 Sekunden. Die Läsionen wurden anschließend in Längs- und Querrichtung vermessen und das Volumen anhand der Formel für ein Ellipsoid berechnet.

Die Läsionsvolumina zeigten in beiden Gruppen bei zunehmender applizierter Laserleistung einen plateauförmigen Kurvenverlauf über 25 Watt, wobei das perkutane Punktionssystem bei einer Applikationsdauer von 10 Minuten signifikant größere Läsionsvolumina induzierte, als das offene System. Eine längere Applikationsdauer war bei Verwendung des perkutanen Systems aufgrund einer thermischen Instabilität des Applikators nicht möglich. Außerdem traten in Gruppe I ausgedehnte Karbonisationen bereits ab 22 Watt auf, sodass bei einer Leistung von 20 Watt und einer Applikationsdauer von 10 Minuten das Läsionsvolumen nur 4,74 cm³ betrug. Das offene System erreichte unter Berücksichtigung ausgedehnter Karbonisationen ab 28 Watt sein größtes Läsionsvolumen (10,28 cm³) bei 25 Watt mit einer Applikationsdauer von 20 Minuten.

Mit dieser Arbeit konnten erstmals Daten für eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die LITT an Lungengewebe für zwei klinisch relevante Punktionssysteme gewonnen werden. Sowohl das perkutane als auch das offene, intraoperative Applikationssystem der LITT induziert reproduzierbare, klinisch relevante Läsionen in der Lunge. Für die klinische Anwendung bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen, insbesondere der Einfluss von Perfusion und Ventilation auf die LITT während einer in-vivo-Anwendung sollte hierbei evaluiert werden.

2.4. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Schilddrüsentumoren

Ritz JP, Lehmann KS, Zurbuchen U, Knappe V, Schumann T, Buhr HJ, **Holmer C**. Ex vivo and in vivo evaluation of laser-induced thermotherapy for nodular thyroid disease. *Lasers Surg Med.* 2009;41(7):479-486

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20805>

Knotige Veränderungen der Schilddrüse gehören nach wie vor zu den häufigsten Erkrankungen in der klinischen Praxis [49,50]. Die chirurgische Resektion und die Radiojodtherapie sind die etablierten Behandlungsverfahren zur Therapie funktioneller Erkrankungen sowie gutartiger und bösartiger Läsionen der Schilddrüse [55-58]. Neben diesen beiden etablierten Verfahren sind die In-situ-Ablationsverfahren (RFA, LITT) Gegenstand derzeitiger Untersuchungen als alternative Therapieoptionen bei der Behandlung benigner und maligner Schilddrüsenläsionen [12-14]. Dieser Ansatz wurde bereits weltweit von einigen Arbeitsgruppen verfolgt und in kleineren klinischen Pilotstudien zur lokalen Therapie von verschiedenen Schilddrüsenveränderungen bis hin zu Malignomen [57,58,62-65] eingesetzt. Die in diesen Studien eingesetzten Bestrahlungsparameter variierten aufgrund der bislang fehlenden Daten zur Dosis-Wirkbeziehung des Verfahrens erheblich. Weiterhin wurden die Effekte der Therapie nicht hinsichtlich der erreichten Läsionsgrößen und des histologischen Therapieeffektes ausgewertet, sondern nur die potentiell möglichen Volumenreduktionen verschiedener Noduli [65] vermessen. Voraussetzungen für einen klinischen, sicheren Einsatz der LITT an der Schilddrüse sind der Nachweis einer definitiven Gewebsdestruktion, sowie die Kenntnis der notwendigen Leistungsparameter für eine ausreichend große Koagulationszone ohne Gefährdung der umliegenden thermosensitiven Strukturen wie Nebenschilddrüsen und Nervus laryngeus recurrens.

Da Daten für einen reproduzierbaren Einsatz der LITT an der Schilddrüse bisher nicht veröffentlicht worden sind, war es Ziel der vorliegenden Studie, eine Dosis-Wirkbeziehung für die LITT von Schilddrüsengewebe zu erstellen, um erstmals grundlegende Parameter für eine spätere klinische Anwendung zu ermitteln. Weiterhin sollte die Wirksamkeit der LITT histologisch evaluiert werden, da bisher keine histologischen Effekte der LITT in der Schilddrüse untersucht wurden.

Die Applikationen erfolgten mit einem Nd:YAG-Laser (1064 nm) sowohl ex- als auch in-vivo an Schilddrüsen von Hausschweinen. Im Laserleistungsbereich von 10 bis 20 Watt wurden über eine Applikationszeit von 300 Sekunden die thermischen

Läsionen induziert. Während der Applikation erfolgte die kontinuierliche Temperaturmessung in 5 und 10 mm Abstand vom Applikator. Die entstandenen Thermoläsionen wurden longitudinal und transversal vermessen, das Läsionsvolumen berechnet und histologisch aufgearbeitet.

Die maximal induzierbaren Läsionsvolumina lagen zwischen $0,74 (\pm 0,18) \text{ cm}^3$ bei 10 W Leistung und $3,80 (\pm 0,41) \text{ cm}^3$ bei 20 W Leistung. Die Maximaltemperaturen nach 300 s lagen zwischen $72,9 (\pm 2,9) \text{ }^\circ\text{C}$ (10 W) und $112,9 (\pm 9,2) \text{ }^\circ\text{C}$ (20 W) in 5 mm Entfernung bzw. zwischen $49,5 (\pm 2,2) \text{ }^\circ\text{C}$ (10W) und $73,2 (\pm 6,7) \text{ }^\circ\text{C}$ (20W) in 10 mm Entfernung vom Applikator. Die HE-Färbungen zeigten keine spezifischen postinterventionellen Veränderungen, während mittels der NADPH-Färbung ein Vitalitätsverlust des Parenchyms im Läsionsbereich nachgewiesen werden konnte.

Die vorliegende Arbeit beschreibt erstmalig die Grundlagen der LITT an der Schilddrüse. Es gelang mit der LITT reproduzierbare Thermoläsionen von relevanter Größe in angemessener Applikationszeit in der Schilddrüse zu induzieren. Eine Anwendung in der klinischen Praxis scheint auf Grundlage der erhobenen Daten durchführbar zu sein. Jedoch fehlen derzeit die Ergebnisse aus umfangreicheren Großtierversuchen hinsichtlich der Dosis-Wirk-Beziehungen am perfundierten Organ sowie die Kenntnis der optischen Parameter des Gewebes, die zusammen eine optimale Bestrahlungsplanung ermöglichen können.

2.5. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der Radiofrequenzablation von Schilddrüsentumoren

Holmer C, Lehmann KS, Knappe V, Zurbuchen U, Frericks B, Schumann T, Buhr HJ, Ritz JP. Bipolar radiofrequency ablation for nodular thyroid disease – ex vivo and in vivo evaluation of a dose-response relationship. J Surg Res. 2011;169(2):234-240

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2009.10.009>

Neben der LITT kam in den letzten Jahren zunehmend die RFA als In-situ-Ablationsverfahren bei der Behandlung parenchymatöser Tumoren, so auch an der Schilddrüse, zur Anwendung. Eine Reihe klinischer Studien konnten bereits die grundsätzliche technische Machbarkeit der RFA an der Schilddrüse zeigen [12,13,77]. Allerdings gab es bislang keine experimentellen Daten, welche die energiebezogenen Auswirkungen der RF-Ablation auf Schilddrüsengewebe beschrieben und in Hinblick auf eine Dosis-Wirkungsbeziehung bewerteten. Diese Daten sind jedoch die Voraussetzung für eine sichere und effektive Anwendung der RFA mit der Induktion ausreichend großer Läsionen unter Schonung thermosensibler Strukturen wie den N. recurrens sowie der Nebenschilddrüsen.

Ziel dieser Arbeit war es daher, erstmalig die Größe induzierbarer RF-Läsionen in Schilddrüsengewebe in Relation zur Applikationsdauer und –leistung zu untersuchen, um den optimalen Leistungsbereich der RFA an der Schilddrüse zu bestimmen.

Es erfolgte eine bipolare Radiofrequenzablation sowohl ex- als auch in-vivo an Schilddrüsen von Hausschweinen in einem Leistungsbereich von 10 – 20 Watt. Während der Applikation erfolgte die kontinuierliche Temperaturmessung in 5 und 10 mm Abstand vom Applikator. Die entstandenen Thermoläsionen wurden longitudinal und transversal vermessen und das Läsionsvolumen berechnet. Ferner wurden enzymhistologische Analysen des ablatierten Schilddrüsengewebes zur Evaluation irreversibler Zellschädigungen durchgeführt.

Die induzierbaren Läsionsvolumina lagen zwischen $0.91 \pm 0.71 \text{ cm}^3$ bei 20 W und $2.80 \pm 0.85 \text{ cm}^3$ bei 14 W. Die Maximaltemperaturen nach Ablation lagen zwischen $30.0 \pm 8.6 \text{ °C}$ und $53.5 \pm 8.6 \text{ °C}$ in 5 mm Entfernung und zwischen $44.0 \pm 9.7 \text{ °C}$ und $61.6 \pm 13.9 \text{ °C}$ in 10 mm Entfernung vom Applikator. Die enzymhistologischen Untersuchungen zeigten einen vollständigen Verlust der NADPH-Dehydrogenase als Zeichen einer irreversiblen Zellschädigung im Läsionsbereich.

Zusammenfassend zeigte unsere Studie erstmalig eine Dosis-Wirkungsbeziehung für die RFA an der Schilddrüse. Mögliche Energiemengen und Applikationszeiten

konnten für eine sichere thermische Schädigung von Schilddrüsengewebe bestimmt werden. In der experimentellen Situation zeigten unsere Messungen eine gute Reproduzierbarkeit, wobei jedoch weitere Einflussfaktoren bei einer klinischen Anwendung zu erwarten sind. Insbesondere haben bei einer in-vivo Ablation Kühleffekte infolge der Organperfusion einen erheblichen Einfluss auf die induzierbaren Läsionsvolumina, wie man aus Daten an der Leber weiß [26]. Dieser Einflussfaktor muss durch den Vergleich der ex-vivo mit den noch zu erhebenden in-vivo Daten weiter evaluiert werden. Eine Anwendung in der klinischen Praxis scheint auf der Grundlage unsere Daten prinzipiell möglich zu sein, jedoch fehlen bislang weitere in-vivo Daten in Bezug auf eine Dosis-Wirkungsbeziehung in perfundierten Organen, die für eine sichere und optimale Therapie erforderlich sind.

2.6. Experimentelle Untersuchung der Effektivität der RFA im Vergleich zur LITT bei der Behandlung von Schilddrüsentumoren

Ritz JP, Lehmann KS, Schumann T, Knappe V, Zurbuchen U, Buhr HJ, Holmer C. Effectiveness of various thermal ablation techniques for the treatment of nodular thyroid disease – comparison of laser-induced thermotherapy and bipolar radiofrequency ablation. Lasers Med Sci. 2011;26(4):545-552

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-011-0907-0>

Wie bereits unter 2.5. und 2.6. dargestellt sind sowohl die LITT [42-44] als auch die RFA [46-48] Gegenstand derzeitiger Untersuchungen als minimal-invasive Therapieoptionen bei der Behandlung benigner und maligner Schilddrüsenläsionen. Für eine sichere und effektive Anwendung in der klinischen Praxis fehlen jedoch weitere experimentelle Daten, insbesondere gab es bislang noch keine Studien, welche beide Ablationsverfahren hinsichtlich ihrer Effektivität miteinander verglichen haben bzw. einen sicheren Vorteil für das eine oder andere Verfahren zeigen konnten.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die LITT und die RFA in Hinblick auf ihre Effektivität an der Schilddrüse miteinander zu vergleichen. Ein Vergleich der beiden Ablationsverfahren ist hierbei prinzipiell schwierig, da die LITT und RFA auf unterschiedlichen Technologien mit verschiedenen Energiequellen und Absorptionsraten beruhen. In diesem Zusammenhang spielen eine Vielzahl von Faktoren, wie Applikatorgeometrie, Gewebeeigenschaften, Eindringtiefe, Absorption und Ausbreitung im Gewebe, die Anzahl der Applikatoren, etc. eine wichtige Rolle. In unserer Vergleichsstudie haben wir daher den Parameter gewählt, welcher am leichtesten durch den klinisch tätigen Arzt beeinflusst werden kann, nämlich die Ausgangsleistung des Laser- bzw. RF-Generators.

Die thermischen Läsionen wurden wiederum in Schilddrüsen von Hausschweinen ex-vivo in einem Leistungsbereich zwischen 10 und 20 W induziert. Die induzierbaren Läsionsvolumina der LITT lagen zwischen $0.74 \pm 0.18 \text{ cm}^3$ bei 10 W und $3.80 \pm 0.41 \text{ cm}^3$ bei 20 W mit einem Maximum von $5.13 \pm 0.16 \text{ cm}^3$ bei 18 W. Im Vergleich hierzu lagen die induzierbaren Läsionen der RFA zwischen $2.43 \pm 0.68 \text{ cm}^3$ bei 10 W und $0.91 \pm 0.71 \text{ cm}^3$ bei 20 W mit einem Maximum von $2.80 \pm 0.85 \text{ cm}^3$ bei 14 W.

Unsere Arbeit verglich erstmalig die LITT und die RFA hinsichtlich ihrer Wirksamkeit an Schilddrüsengewebe. In diesem experimentellen Ansatz konnten größere

Läsionsvolumina mit der LITT erzielt werden. Darüber hinaus ist ein Vorteil der LITT das Fehlen von Impedanzproblemen im Vergleich zur RFA, zum Nachteil einer allerdings manuell aufwendigeren Punktion bei der LITT. Inwieweit sich allerdings die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse in der Praxis im Rahmen einer in-vivo Anwendung bestätigen, bleibt abzuwarten.

3. Diskussion

3.1. Bestimmung optischer Gewebeparameter von kolorektalen Lebermetastasen und deren Primärtumoren für die Dosimetrie der LITT

Optische Gewebeparameter unterliegen in Abhängigkeit von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes, mit dem das Gewebe durchstrahlt wird, einer erheblichen Varianz [78]. Darüber hinaus stehen in der Literatur für humanes Lebermetastasengewebe bzw. für kolorektale Primärtumoren nur unzureichende Daten über die optischen Parameter zur Verfügung [79]. In der hier durchgeführten Arbeit erfolgte die Bestimmung der optischen Parameter von Lebermetastasengewebe und Gewebe kolorektaler Karzinome bei drei ausgewählten Wellenlängen, die für die LITT relevant sind (850, 980, 1064 nm, Dioden-Laser, Neodym:YAG-Laser). Um die Möglichkeiten zur Bestimmung von optischen Parametern zu vereinfachen, sollten in einem weiteren Versuchsansatz die Unterschiede bzw. Übereinstimmungen von Lebermetastasen und deren kolorektalen Primärtumoren verglichen werden.

Da Ravikumar bereits zeigen konnte, dass durch eine Thermokoagulation selbst Veränderungen der optischen Parameter entstehen [69], wurden darüber hinaus im gleichen experimentellen Ansatz die Veränderungen der optischen Parameter vor und nach vollständiger Thermokoagulation des Zielgewebes untersucht.

Die optischen Parameter wurden unter Anwendung eines Messplatzes nach dem Prinzip des „Doppel-Ulbrichkugel-Systems“ bestimmt. Der Messplatz besteht aus einer monochromatischen Lichtquelle und einer mit hochreflektierendem Material beschichteten Ulbrichkugel, die mit Photodetektoren versehen ist. Das Doppel-Ulbrichkugel-System kann als Messverfahren mit der höchsten Präzision angesehen werden [78,80]. Berücksichtigt werden muss bei diesem methodischen Ansatz, dass die optischen Parameter in-vitro bestimmt werden. Dabei sind vor allem Unterschiede zur in-vivo Situation durch die Absorptionseigenschaften und Oxygenierung des Blutes zu erwarten [78]. Mit diesem System wurden eine Reihe von Untersuchungen zur Messung der optischen Eigenschaften von biologischem Gewebe durchgeführt [78,81,82].

Bei der Bestimmung der optischen Parameter von Metastasengewebe der Leber im nicht koagulierten Gewebezustand zeigten sich zwischen 850 nm und 1064 nm mit zunehmender Wellenlänge ein signifikanter Abfall des Absorptionskoeffizienten und des Streukoeffizienten bei einer nur geringen Veränderung des Anisotropiefaktors. Hieraus resultierte eine Zunahme der optischen Eindringtiefe. Der Bereich der geringsten Absorption und der höchsten Eindringtiefe korrelieren direkt

miteinander und lagen damit in dem von Parrish 1981 als „optisches Fenster von biologischen Gewebe“ bezeichneten Wellenlängenbereich [83].

Betrachtet man die Werte der hier gemessenen optischen Parameter von Metastasengewebe mit Werten von gesundem Lebergewebe aus Vorversuchen der eigenen Arbeitsgruppe [84], zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen benignem und malignem Gewebe. Für den klinischen Einsatz ist der Vergleich der optischen Eindringtiefe von Bedeutung. Dieser war bei allen drei untersuchten Wellenlängen im Tumorgewebe um durchschnittlich 33 % größer als im gesunden Gewebe. Bei 850 nm resultierte eine um 0,51 mm, bei 980 nm eine um 0,52 mm und bei 1064 nm sogar eine um 1,24 mm höhere optische Eindringtiefe [84]. Van Hillegersberg berichtete beim Vergleich der optischen Parameter von gesundem und tumorösen Rattenlebergewebe bei 633 nm gleichfalls über eine erhöhte Absorption im gesunden Gewebe. Der Absorptionskoeffizient betrug in seiner Studie $0,38 \text{ mm}^{-1}$ im gesunden und $0,14 \text{ mm}^{-1}$ im Tumorgewebe. Ebenso fand van Hillegersberg eine um 60 % erhöhte Eindringtiefe in tumorösen Rattenlebergewebe [85,86]. Als vergleichbare Untersuchung steht weiterhin die Studie von Nakamura zur Verfügung, in der die optische Eindringtiefe von gesunder und metastatisch veränderter humaner Leber bei 410, 630 und 670 nm bestimmt wurde [87]. Hier war eine um durchschnittlich 1,3 mm höhere Eindringtiefe in das Tumorgewebe nachweisbar.

Eine mögliche Erklärung für diese Ergebnisse kann im unterschiedlichen Gehalt an Wasser, Hämoglobin, Zellbestandteilen, Chromophoren, Mitochondrien und der unterschiedlichen Gewebezusammensetzung gesehen werden. Schon vom makroskopischen Aspekt erscheint das Gewebe kolorektaler Metastasen weisslich-blass, was auf einen niedrigeren Anteil an Chromophoren als im gesunden Lebergewebe hinweist. Beauvoit fand im Tumorgewebe einen signifikant geringeren Anteil an Hämoglobin, mitochondrialer Cytochromoxidase, Mitochondrien und DNA-Gehalt. Gleichzeitig konnte er aufzeigen, dass Absorption, Streuung und die hieraus resultierende optische Eindringtiefe im Gewebe wesentlich durch den Anteil an diesen Faktoren beeinflusst wird [88,89]. Die höhere optische Eindringtiefe in Tumorgewebe spricht für eine Tumorselektivität interstitieller Laseranwendungen. Hierdurch können im Tumorgewebe größere Mengen an Lichtenergie in das Gewebe eingebracht und somit größere Läsionsvolumina erzielt werden.

Um zu vergleichen, welche Unterschiede in den optischen Parametern zwischen Lebermetastasen und kolorektalen Primärtumoren bestehen, erfolgte die Bestimmung beider Parameter bei Patienten mit synchron hepatisch metastasierten Kolonkarzinomen. Dabei zeigte sich, dass es mit ansteigender Wellenlänge sowohl bei Kolonkarzinom- als auch bei Lebermetastasengewebe zur Abnahme des Absorptions- und Streuungskoeffizienten kam. Der Anisotropiefaktor und die optische Eindringtiefe nahmen hingegen mit steigender Wellenlänge bei beiden Gewebearten signifikant zu. Die höchste Eindringtiefe (7,45 mm) und niedrigste Absorption fanden sich im Kolonkarzinomgewebe wiederum bei 1064 nm. Quantitativ zeigten die

optischen Eigenschaften des Primärtumors und der Lebermetastasen somit ein analoges Verhalten mit zunehmender Wellenlänge. Beim Vergleich der absoluten Werte zwischen nativem Primärtumor- und Lebermetastasengewebe traten dagegen signifikante Unterschiede auf. Der Absorptionskoeffizient und der Streukoeffizient waren im Kolonkarzinom stets niedriger, während der Anisotropiefaktor und die optische Eindringtiefe stets höher als im Lebermetastasengewebe waren. Wir haben mit diesen Untersuchungen erstmalig nachweisen können, dass die optischen Parameter im Laufe des Metastasierungsprozesses verändert werden. Die Unterschiede werden offenbar vorwiegend durch streuende Faktoren verursacht und können daher in einem unterschiedlichen Gehalt an Gefäßen, Zellzahl und brechenden Zellbestandteilen eine mögliche Erklärung finden, wie sie Nakamura in seinen Untersuchungen nachgewiesen hat [87].

Für die Erstellung einer Dosimetrie war es weiterhin von Bedeutung, Informationen über den Einfluss der thermischen Koagulation auf die optischen Parameter zu gewinnen. Daher erfolgte nach Vermessung der optischen Parameter im nativen Zustand eine weitere Messung des Gewebes nach vollständiger thermischer Koagulation. Sowohl für das Lebermetastasengewebe als auch für das Gewebe der kolorektalen Primärtumore traten qualitativ vergleichbare Veränderungen durch die Thermokoagulation auf. Der Absorptionskoeffizient wurde durch den Einfluss der Koagulation nicht beeinflusst. Pickering fand bei der Koagulation von Rattenleber eine Reduktion um 30% [90]. Der Streukoeffizient wies in unseren Versuchen durch die Koagulation der Gewebeprobe eine Zunahme von 4 % für das Lebergewebe und 36 % für das Kolongewebe auf. Essenpreis und Pickering berichteten in ihren tierexperimentellen Studien über Zunahmen um 25 % [90,91]. Eine wesentliche Ursache für die Veränderungen des Streukoeffizienten kann im thermisch induzierten Aufbrechen von Disulfidbrücken und damit in der Veränderung der Protein-Tertiärstruktur gesehen werden, wie sie von Mirza beschrieben wurde [92]. Hieraus resultierte eine Erhöhung der Streuzentrendichte und somit eine Veränderung des Streuverhaltens.

Der Anisotropiefaktor zeigte nach Koagulation eine signifikante Abnahme. Dieses Verhalten wird in der Literatur widersprüchlich beschrieben. Essenpreis fand bei 1064 nm einen Anstieg von 0,870 auf 0,855, Pickering dagegen eine Abnahme von 0,920 auf 0,839 [90,91]. Nach Roggan ist diese Veränderung wellenlängenabhängig. In seinen Untersuchungen verringerte sich der Anisotropiefaktor durch Koagulation unterhalb einer Wellenlänge von 1400 nm, während oberhalb von 1400 nm eine leichte Zunahme zu verzeichnen war [93]. Diese thermisch induzierten Unterschiede des Anisotropiefaktors sind ebenso wie die Veränderungen des Streukoeffizienten durch Strukturveränderungen von Proteinen und den daraus resultierenden Veränderungen des wellenlängenabhängigen Brechungsindex erklärbar.

Die Untersuchungen des Koagulationseinflusses auf die optische Eindringtiefe zeigte insgesamt eine signifikante Abnahme nach Koagulation von bis zu 51% im Kolongewebe und 33% im Lebergewebe. Verfügbare Angaben zur optischen Eindringtiefe bei gesundem Lebergewebe finden sich lediglich bei Essenpreis, der über eine Abnahme um 26% nach Koagulation berichtete [91]. Diese Abnahme der optischen Eindringtiefe muss im Wesentlichen auf die starke Veränderung des Streuverhaltens zurückgeführt werden, da die geringe Veränderung der Absorption durch die Koagulation diesem entgegenwirkt und zu einer Zunahme der Eindringtiefe führen würde.

Während im nativen Gewebe noch signifikante Unterschiede beim direkten Vergleich zwischen Primärtumor und Lebermetastase zu finden waren, konnten in unserem Versuchsansatz für das koagulierte Gewebe dieser beiden Entitäten keine Unterschiede mehr für den Absorptions- und Streukoeffizienten sowie für die optische Eindringtiefe nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass durch die thermische Gewebekoagulation die Proteine denaturiert und der spezifische Gewebeaufbau soweit zerstört wird, dass die Unterschiede der optischen Parameter nivelliert werden. Vergleichbare Daten in der Literatur zum Verhalten der optischen Parameter von Primärtumor und Metastasengewebe nach Koagulation liegen nicht vor, da diese Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit erstmalig erfolgten.

Mit dieser Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass es durch die Metastasierung zu einer Veränderung des optischen Verhaltens des Gewebes kommt. In Tumorgewebe wurde eine höhere optische Eindringtiefe erzielt, was einen therapeutischen Vorteil durch ein potentiell größeres Behandlungsvolumen darstellt. Trotz gleicher Histologie zeigten sich keine Übereinstimmungen der optischen Parameter von Primärtumor und Lebermetastase, was auf eine Modifikation durch die Metastasierung hindeutet. Infolge der thermischen Gewebekoagulation kam es zu einer Veränderung der optischen Parameter von gesundem Kolon-, Kolonkarzinom- und Lebermetastasengewebe. Die hieraus resultierende niedrigere optische Eindringtiefe macht deutlich, dass für eine effektive und sichere Dosimetrie der LITT eine Anpassung der Bestrahlungsparameter mit zunehmender Applikationsdauer notwendig ist.

3.2. Therapiestudien bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen zur Optimierung der LITT

Zur Behandlung auch größerer Lebermetastasen wurde eine Optimierung der LITT angestrebt. Tierexperimentelle Arbeiten der eigenen Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass eine Perfusionsunterbrechung während der LITT eine Effektivitätssteigerung im Hinblick auf die Größe der erzielten Läsionsvolumina mit sich bringt [70,94].

In der hier durchgeführten klinischen Arbeit sollte die LITT in Kombination mit einer kompletten oder selektiven Perfusionsunterbrechung hinsichtlich ihrer Effektivität im Vergleich zur normalen Perfusion bei Patienten mit irresektablen hepatischen Metastasen untersucht werden. Insbesondere sollte hierbei der Frage nachgegangen werden, ob die experimentell beobachteten positiven Effekte auch unter klinischen Aspekten nachvollziehbar sind.

In Hinblick auf die Beurteilung der Effektivität der Blutflussunterbrechung bestätigte diese Studie die Ergebnisse der vorausgegangenen experimentellen Untersuchungen: Die LITT führt in Kombination mit einer prätherapeutischen Perfusionsunterbrechung mittels Gefäßembolisation oder Pringle-Manöver zu einer Erhöhung der Läsionsvolumina und verbesserten lokalen Tumorkontrolle auch im klinischen Einsatz. Bei der Berechnung der postinterventionellen thermischen Läsionsvolumina zeigte sich in allen drei Gruppen ein signifikant höheres Volumen als das Ausgangsvolumen der Metastase, wobei die LITT in Kombination mit einem Pringle-Mannöver das größte Läsionsvolumen erzielen konnte im Vergleich zur LITT ohne Gefäßunterbrechung sowie in Kombination mit Stärkemikrosphären. Yamasaki untersuchte den Einfluss einer Ballonokklusion der Arteria hepatica während der RFA von Patienten mit hepatozellulärem Karzinom auf die Größe der Thermoläsionen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Okklusion eine signifikante Steigerung des größten Läsionsdurchmessers von 35,5 mm auf 47,6 mm erzielen konnte [95]. Miyamoto beschrieb nach kompletter Perfusionsunterbrechung durch einen arteriellen und venösen Ballonkatheter bei 4 Patienten einen maximalen Läsionsdurchmesser von 56,5 mm [96]. Diese Daten machen deutlich, dass eine Perfusionsunterbrechung während der LITT eine enorme Effizienzsteigerung zur Folge hat.

Hinsichtlich ihrer Komplikationsrate können In-situ-Ablationsverfahren als sicher eingestuft werden. In einer Übersichtsarbeit von über 3800 mittels RFA behandelten Patienten beschrieb Mulier eine Major-Komplikationsrate von 9 % und eine Letalität von 0,5 % [97]. Bei bislang etwas 1500 in der Literatur beschriebenen Patienten, die durch eine LITT behandelt wurden, fanden sich ähnliche Ergebnisse mit einer Minor-Morbidität von 15 – 20 %, einer Major-Morbidität von unter 2 % und einer Letalität von 0,3 % [98,99]. Diese Daten spiegeln sich in den Ergebnissen unserer Studie wider, in der wir eine Gesamt-Komplikationsrate von 21,4 % zu verzeichnen hatten.

Patienten nach offener LITT wiesen mit 26,1 % eine höhere Morbidität auf, als Patienten nach perkutaner Ablation mit Applikation von Stärkemikrosphären mit 15,7 %, wobei die Kombination der LITT mit einer selektiven Perfusionsunterbrechung mittels DSM zu keiner Erhöhung der Komplikationsrate geführt hat. Die interventionelle Platzierung eines Therapiekatheters in der Arteria hepatica und die Applikation der Stärkemirkosphären verlief für die Patienten technisch einwandfrei und ohne nachweisbare Probleme. Der Verschluss der Leberarterie ist bei einigen Patienten mit einem dumpfen Druckgefühl im Oberbauch assoziiert [100,101]. Durch die komplette Unterbrechung der Blutzufuhr im Rahmen des Pringle-Manövers ist ein erhöhtes Schädigungsrisiko für thermosensitive Strukturen wie Blutgefäße und größere Gallengänge denkbar. Weder in unseren Ergebnissen noch in anderen bislang vorliegenden klinischen Studien kann dieses Risiko allerdings sicher belegt werden [95,96,102].

Klinisch ist es somit möglich, die Effektivität der LITT durch eine prätherapeutische Perfusionsunterbrechung mittels Gefäßembolisation oder Pringle-Manöver zu steigern, um eine Erhöhung der Läsionsvolumina sowie eine verbesserte, lokale Tumorkontrolle zu erzielen. Bei gleicher Komplikationsrate im Vergleich zur LITT-Behandlung ohne Unterbrechung der Leberperfusion können auf diesem Wege mit weniger Applikationen bedeutend größere Thermoläsionen erzielt werden. Inwieweit die Perfusionsunterbrechung die Langzeitergebnisse nach einer In-situ-Ablation beeinflusst, lässt sich gegenwärtig nicht beantworten.

3.3. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermoablation von Lungentumoren

Während die LITT und RFA als Alternative zur chirurgischen Resektion bei der Behandlung von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome bereits regelmäßig angewendet werden, kommen sie bei der Therapie von Lungentumoren erst seit relativ kurzer Zeit zum Einsatz [9-11,48]. Allerdings fehlten bislang klinische oder experimentelle Daten die den energieabhängigen Effekt des Laserlichtes auf das Lungengewebe untersuchten und im Sinne einer Dosis-Wirkbeziehung evaluierten. Diese Daten sind jedoch Voraussetzung für eine sichere und effektive Anwendung der LITT mit Induktion ausreichend großer Läsionen. Im Vergleich zur RFA wurde für die LITT ein günstigerer Energietransfer in der Lunge angenommen, weswegen die LITT in der vorliegenden Arbeit als zu untersuchendes Verfahren ausgewählt wurde. Ziel dieser experimentellen Studie sollte sein, anhand von Schweinelungen die Größe von laserinduzierten Thermoablationen in Abhängigkeit der verwendeten Applikationsdauer und -leistung zu untersuchen, um so den Leistungsbereich für die Induktion möglichst großer Läsionen zu bestimmen. Hierbei wurden ein offen-chirurgisches sowie ein perkutan-interventionell einzusetzendes Punktionssystem der LITT evaluiert. Ferner sollten in der vorliegenden Arbeit zur Verifizierung der ex-vivo-Daten an Hausschweinen in-vivo-Versuche zur Evaluation der Laserinduzierten Thermoablation unter normalen Lungenperfusions- und Ventilationsbedingungen durchgeführt werden. Dafür wurden die Versuchsbedingungen gewählt, unter denen sich im ex-vivo-Ansatz die höchste Effektivität zeigte.

Die mit den beiden Punktionssystemen ex-vivo erzielten Läsionsvolumina zeigten bei zunehmender Laserleistung einen plateauförmigen Kurvenverlauf oberhalb einer Laserleistung von 25 Watt. Dieser Plateau-Effekt ist analog zu dem, welcher ex-vivo an der Leber beschrieben ist [103]. Vergleicht man die vorliegenden Ergebnisse mit denen von ex-vivo Studien an der Leber zeigt sich ferner, dass die Läsionsvolumina in der Leber in Bezug auf die eingesetzte Energie größer sind [104,105]. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass das Lungengewebe im Vergleich zur Leber während der ex-vivo-Versuche erheblich schrumpft.

Lee erzielte in einer ex-vivo Studie an Rinderlungen mittels RFA maximale Läsionsdurchmesser von 34 ± 6 mm bei einer Applikationsdauer der HF-Energie von 5 Minuten [106]. In der vorliegenden Studie beliefen sich die maximalen Durchmesser der LITT bei einer Laserleistung von 20 Watt und einer Applikationsdauer von 10 Minuten auf $24,6 \pm 1,21$ mm (transversal) und $32,2 \pm 2,39$ mm (axial) mit dem perkutanen Punktionssystem, während bei der offen-chirurgischen Anwendung Durchmesser von $24,6 \pm 1,21$ mm (transversal) und $32,2 \pm 2,39$ mm (axial) bei einer Applikationszeit von 20 Minuten und einer Laserleistung von 25 Watt erreicht wurden. In Anbetracht eines erforderlichen Sicherheitsraumes

von 1 cm, wären die erzielten Läsionsvolumina nur für kleine Tumoren geeignet. Eine Metastase von 1 cm im Durchmesser beispielsweise würde für eine sichere und vollständige Thermoablation einen Läsionsdurchmesser von 3 cm benötigen. In der vorliegenden Arbeit wurden allerdings nur Singlepunktionen durchgeführt. Die in der Klinik an der Leber zur Anwendung kommenden Multipunktionen sind mit deutlich größeren Läsionsvolumina assoziiert [104,107]. So zeigen Erfahrungen an der Leber, dass es prinzipiell auch an der Lunge möglich sein sollte, große Läsionen mittels der LITT induzieren zu können.

Die möglichen Auswirkungen von Perfusion und Ventilation auf die LITT konnten in diesen ex-vivo-Versuchen nicht geklärt werden, weshalb in der vorliegenden Arbeit zudem in-vivo-Versuche an Hausschweinen mittels des offen-chirurgischen Punktionssystems an der ventilierten und perfundierten Lunge erfolgten. Hierbei zeigten sich die erzielten Thermoläsionen signifikant kleiner als ex-vivo. Eine Erklärung hierfür sind die durch die Perfusion und Ventilation bedingten Kühleffekte auf das Lungengewebe. Unsere enzymhistologischen Untersuchungen zeigten jedoch einen vollständigen Verlust der NADP-Dehydrogenase-Aktivität im Bereich der Thermoläsionen als Zeichen einer irreversiblen Zellschädigung. Vitale Zellen wurden in der Übergangszone der Thermoläsion zum thermisch nicht alterierten Lungengewebe sowie in der Nähe größerer Blutgefäße gefunden. Demzufolge unterliegen die Zellen in der unmittelbaren Umgebung größerer Gefäße einer Protektion. Einer klinischen Anwendung der LITT an der Lunge sollten weitere Untersuchungen zur Evaluierung der durch Ventilation und Perfusion bedingten Kühleffekte vorangestellt werden. Diese Daten könnten dann in ein Dosimetriemodell einfließen [108].

Mit den erhobenen Daten gelang es erstmals eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die LITT an Lungengewebe für zwei klinisch relevante Punktionssysteme zu erstellen. Sowohl das perkutane als auch das offene, intraoperative Applikationssystem der LITT induziert reproduzierbare, klinisch relevante Läsionen in der Lunge. Für die klinische Anwendung bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen, insbesondere der Einfluss von Perfusion und Ventilation auf die LITT während einer in-vivo-Anwendung gehört hierbei weiter evaluiert.

3.4. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der laserinduzierten Thermotherapie von Schilddrüsentumoren

In den vorhergehenden Arbeiten lag der Fokus auf der Therapieoptimierung der LITT und RFA bei der Behandlung von Leber- und Lungentumoren. In den letzten Jahren kamen beide In-situ-Ablationsverfahren auch bei der Behandlung anderer parenchymatöser Tumore zur Anwendung. So sind die LITT und RFA Gegenstand derzeitiger Untersuchungen als alternative Therapieoptionen bei der Behandlung benigner und maligner Schilddrüsenläsionen [12-14]. Dieser Ansatz wurde bereits weltweit von einigen Arbeitsgruppen verfolgt und in kleineren klinischen Pilotstudien zur lokalen Therapie von verschiedenen Schilddrüsenveränderungen bis hin zu Malignomen [57,58,62-65] eingesetzt. Daten für einen reproduzierbaren Einsatz der LITT an der Schilddrüse wurden bislang nicht veröffentlicht. Ziel der vorliegenden Studie sollte daher sein, eine Dosis-Wirkungsbeziehung für die LITT von Schilddrüsengewebe ex-vivo zu erstellen, um erstmals grundlegende Parameter für eine spätere klinische Anwendung zu ermitteln. Ferner sollte zum Nachweis einer irreversiblen Zellschädigung des Schilddrüsengewebes sowie Evaluierung der thermischen Schädigung die LITT unter in-vivo-Bedingungen an Hausschweinen durchgeführt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass es möglich ist, mit der LITT reproduzierbare Thermoläsionen von relevanter Größe in angemessener Applikationszeit in der Schilddrüse zu induzieren.

Für die longitudinal erzielten Läsionsdurchmesser stellte sich etwas oberhalb der aktiven Applikatorlänge ein Plateaueffekt ein, der das erreichbare Maximum auf 22 mm begrenzte. Dieser Effekt ist für die LITT bekannt und führt dazu, dass, bei gleichem Applikator, die maximal erzielbaren Läsionsvolumina entscheidend durch die transversale Ausdehnung bestimmt werden [103].

Die transversal erzielten Durchmesser zeigten in unserem Aufbau ebenfalls einen Plateaueffekt. Der hier dargestellte Effekt entspricht jedoch nicht einer Charakteristik des verwendeten Applikators oder des Verfahrens an sich, sondern zeigte eine Limitierung des gewählten Organmodells. Ab einer Laserleistung von 16 Watt kam es regelhaft zur vollständigen Organkoagulation in transversaler Richtung, womit kein größeres Koagulationsvolumen erreichbar war. Ob sich an größeren Organen ebenfalls bereits in diesem Leistungsbereich ein Plateaueffekt für die erreichbaren Läsionsvolumina ergibt, kann im vorliegenden Aufbau nicht gezeigt werden.

Aus der Anwendung der LITT zur Ablation von Lebermetastasen liegen jedoch Erfahrungen vor, die unter Verwendung längerer Applikatoren, auch am perfundierten Organ die Induktion erheblich größerer Koagulationsnekrosen zeigen [53]. Diese Ergebnisse lassen sich jedoch nicht vollständig auf eine Anwendung an

der Schilddrüse übertragen, da sich in-vivo die Perfusionsverhältnisse, sowie die optischen Eigenschaften der verschiedenen Organparenchyme unterscheiden. Während die optischen Eigenschaften, die für die Eindringtiefe des Laserlichts in das Gewebe entscheidend sind, für das Leberparenchym im relevanten Wellenlängenbereich bekannt sind [109], sind diese Daten für das Schilddrüsengewebe bisher nicht publiziert.

Aufgrund eines Wärmeabtransportes durch den Blutstrom ist klinisch bei gleicher Applikatorart ein höherer notwendiger Energieeintrag anzunehmen [15]. Jedoch muss die Dosimetrie so ausgelegt werden, dass die Schonung des gesunden Organparenchyms sowie der neurovaskulären Strukturen der Umgebung Berücksichtigung finden. Hierfür ist die Temperatursausbreitung im Gewebe von entscheidender Bedeutung. Die in unserer Arbeit dargestellten Maximaltemperaturen in 5 mm Entfernung von der Laserapplikatorachse lagen nach 300 Sekunden zwischen 95°C und 113°C. Ein definitiver Zelltod ist in diesem Temperaturbereich aufgrund entstehender Zellmembrandefekte sicher. In 10 mm Entfernung konnten Temperaturen von maximal 73°C erreicht werden, welche zur Denaturierung von Gewebsproteinen führen. Dossing postuliert einen Mindestabstand von 15 mm zu den der Schilddrüse benachbarten neurovaskulären Strukturen [110], wobei unklar bleibt, ob sich die Angabe auf den Abstand zum Applikator oder zur Zirkumferenz der zu behandelnden Läsion bezieht. Da im Vergleich zu dem gemessenen ex-vivo-Temperaturverlauf die Temperaturgradienten bei gleichen Leistungsparametern in-vivo durch Perfusionseffekte deutlich flacher ausfallen, muss eine genaue Temperaturmessung an den empfindlichen neurovaskulären Strukturen am Großtiermodell erfolgen.

Mit der vorliegenden Studie konnten die zum klinischen Einsatz der LITT an der Schilddrüse notwendigen Grundlagen geschaffen werden. Es konnte demonstriert werden, dass sich mit der LITT reproduzierbare Thermoläsionen im Schilddrüsenparenchym induzieren lassen. Eine Anwendung in der klinischen Praxis scheint auf Grundlage der erhobenen Daten durchführbar zu sein. Es fehlen jedoch derzeit die Ergebnisse aus umfangreicheren Großtierversuchen hinsichtlich der Dosis-Wirk-Beziehungen am perfundierten Organ sowie die Kenntnis der optischen Parameter des Gewebes, die zusammen eine optimale Bestrahlungsplanung ermöglichen werden.

3.5. Untersuchungen zur Dosimetrie und Therapieplanung bei der Radiofrequenzablation von Schilddrüsentumoren

Neben der LITT kam zunehmend auch die RFA als In-situ-Ablationsverfahren bei der Behandlung parenchymatöser Tumoren, so auch an der Schilddrüse, zur Anwendung. Eine Reihe klinischer Studien konnten bereits die grundsätzliche technische Machbarkeit der RFA an der Schilddrüse zeigen [12,13,77]. Allerdings gab es bislang keine experimentellen Daten, welche die energiebezogenen Auswirkungen der RF-Ablation auf Schilddrüsengewebe beschrieben und in Hinblick auf eine Dosis-Wirkungsbeziehung bewerteten. Ziel dieser Arbeit war es daher, erstmalig die Größe induzierbarer RF-Läsionen in Schilddrüsengewebe in Relation zur Applikationsdauer und -leistung zu untersuchen, um den optimalen Leistungsbereich der RFA an der Schilddrüse zu bestimmen. Ferner sollte zum Nachweis einer irreversiblen Zellschädigung des Schilddrüsengewebes sowie Evaluierung der thermischen Schädigung die RFA unter in-vivo-Bedingungen an Hausschweinen durchgeführt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass es möglich ist, mit der RFA reproduzierbare Thermoläsionen von relevanter Größe in der Schilddrüse zu induzieren.

Für die longitudinal erzielten Läsionsdurchmesser stellte sich etwas oberhalb der aktiven Applikatorlänge von 15 mm ein Plateau-effekt ein, der das erreichbare Maximum auf 18 mm begrenzte. Die transversal erzielten Durchmesser zeigten in unserem Aufbau ebenfalls einen Plateau-effekt. In unserem Versuchsaufbau konnten die größten Läsionsvolumina der RFA bei einer gegebenen Leistung von 14 Watt erzielt werden. Erfahrungen an der Leber haben gezeigt, dass mit der RFA wesentlich größere Läsionsvolumina mit längerer Applikatoren auch unter Perfusionsbedingungen induziert werden können [26]. Diese Ergebnisse lassen sich jedoch nicht vollständig auf eine Anwendung an der Schilddrüse übertragen, da sich in vivo die Perfusionsverhältnisse, sowie die elektrischen Gewebeeigenschaften beider Organparenchyme unterscheiden. Während die relevanten Parameter für einen guten Energietransfer zur Induktion größerer Läsionsvolumina für das Leberparenchym bekannt sind [27], sind diese Daten für das Schilddrüsenparenchym bisher nicht publiziert. Allerdings sind aufgrund eines Wärmeabtransportes durch den Blutstrom im klinischen Einsatz bei gleicher Applikatorart ein höherer notwendiger Energieeintrag anzunehmen [111]. Jedoch muss die Dosimetrie so ausgelegt werden, dass die Schonung des gesunden Organparenchyms, sowie der neurovaskulären Strukturen der Umgebung Berücksichtigung finden. Hierfür ist die Temperaturentstreuung im Gewebe von entscheidender Bedeutung. Das biologische Prinzip der thermischen Ablation ist, dass eine Temperaturerhöhung auf $\geq 42,5$ ° C eine zytotoxische Wirkung zur Folge hat [112].

Die in unserer Arbeit dargestellten Maximaltemperaturen in 5 mm Entfernung von der Applikatorachse lagen zwischen 44°C und 61°C. Ein definitiver Zelltod ist in diesem Temperaturbereich aufgrund entstehender Zellmembrandefekte sicher. In 10 mm Entfernung konnten Temperaturen von maximal 53°C erreicht werden. Dossing postuliert einen Mindestabstand von 15 mm zu den der Schilddrüse benachbarten neurovaskulären Strukturen [110]. Nach unseren Daten sollte ein Mindestabstand von 10 mm von der HF-Applikatorachse ausreichend sein, da im Vergleich zu dem gemessenen ex-vivo-Temperaturverlauf, die Temperaturgradienten bei gleichen Leistungsparametern in-vivo durch Perfusionseffekte deutlich flacher ausfallen. Darüber hinaus zeigten die enzymhistologischen Untersuchungen in unserer Arbeit normale NADPH-Dehydrogenase-Aktivitäten im Übergangsbereich zu thermisch nicht alterierten Gewebe, was für vitale Zellen spricht. Auf der anderen Seite zeigte sich ein vollständiger Verlust der NADPH-Dehydrogenase-Aktivität als Zeichen der irreversiblen Zellschädigung innerhalb der thermischen Läsion. Um den minimalen Abstand zum Applikator definitiv bestimmen zu können, muss jedoch analog zur LITT eine genaue Temperaturmessung an den empfindlichen neurovaskulären Strukturen erfolgen.

Für einen klinischen Einsatz der RFA an der Schilddrüse konnten mit den erhobenen Daten die notwendigen Grundlagen geschaffen werden. Es konnte erstmalig demonstriert werden, dass sich mittels RFA reproduzierbare Thermoläsionen im Schilddrüsenparenchym induzieren lassen. In der experimentellen Situation zeigen unsere Messungen eine große Konstanz der Ergebnisse, jedoch sind bei einer klinischen Anwendung weitere Einflussgrößen zu erwarten. Insbesondere die durch die Organperfusion induzierten Kühleffekte haben einen erheblichen Einfluss auf die zu erwartenden Läsionsvolumina in-vivo [113] und müssen durch den Vergleich der ex-vivo-Daten und den noch zu gewinnenden in-vivo-Daten weiter analysiert werden.

3.6. Experimentelle Untersuchung der Effektivität der RFA im Vergleich zur LITT bei der Behandlung von Schilddrüsentumoren

In den vorherigen Arbeiten konnten notwendige Grundlagen für den Einsatz der LITT und der RFA an der Schilddrüse geschaffen werden, ohne dass bislang ein sicherer Vorteil für das eine oder andere In-situ-Ablationsverfahren gefunden werden konnte. Ziel dieser Arbeit war es daher, die LITT und die RFA in Hinblick auf ihre Effektivität an der Schilddrüse miteinander zu vergleichen. Ein Vergleich der beiden Ablationsverfahren ist hierbei prinzipiell schwierig, da die LITT und RFA auf unterschiedlichen Technologien mit verschiedenen Energiequellen und – absorptionsraten beruhen. In diesem Zusammenhang spielen eine Vielzahl von Faktoren, wie Applikatorgeometrie, Gewebeeigenschaften, Eindringtiefe, Absorption und Ausbreitung im Gewebe, die Anzahl der Applikatoren, etc. eine wichtige Rolle. In unserer Vergleichsstudie haben wir daher den Parameter gewählt, welcher am leichtesten durch den klinisch tätigen Arzt beeinflusst werden kann, nämlich die Ausgangsleistung des Laser- bzw. RF-Generators. In unserem Versuchsaufbau war die LITT bei einer Laserleistung von 16 Watt am effektivsten, die RFA bei einer Leistung von 14 Watt. Beim Vergleich beider Ablationsverfahren bei ihren jeweils besten Effektivitätsindizes waren die mit der LITT erzielbaren Läsionsvolumina signifikant größer als bei der RFA. Auch in-vivo waren die Läsionsvolumina der LITT bei gleicher Ausgangsleistung größer im Vergleich zur RFA, wobei infolge der aus Versuchen an der Leber bekannten Kühleffekte die Läsionsvolumina insgesamt in-vivo kleiner waren als ex-vivo [113]. Die kleineren Läsionsvolumina bei der RFA im Vergleich zur LITT beruhen am ehesten auf dem rasch ansteigenden, elektrischen Gewebewiderstand (Impedanz), wodurch eine Reduktion des Stromflusses und eine Minderung der applizierten Energie resultiert. Diese Limitation ist zumindest von Daten an der Leber her bekannt [114,115]. Die Induktion größerer Läsionsvolumina mit der RFA würde eine langsamere Zunahme des elektrischen Gewebewiderstandes erforderlich machen. Dieses würde eine geringere Ausgangsleistung bei einer längeren Applikationsdauer bedürfen. Insbesondere eine längere Applikationszeit scheint aber für eine klinische Anwendung weniger gut geeignet zu sein. Im Gegensatz zur RFA ist die LITT unabhängig von der Impedanz [108]. Dies ist einer der grundlegenden Unterschiede beider Ablationsverfahren. Obwohl die Energie bei der LITT unabhängig von der Impedanz appliziert wird, resultiert hieraus nicht ein unbegrenzter Anstieg der Läsionsvolumina, vielmehr kommt es auch hier zu einem Plateau-Effekt, welcher bereits aus Versuchen an der Leber bekannt ist [108,114,115]. Ein weiterer wesentlicher Einflussfaktor war das nur begrenzt zur Verfügung stehende Organvolumen in unserem Versuchsaufbau. Eine höhere Laserleistung hatte daher keine größeren Läsionsvolumina zur Folge, da kein weiteres Parenchym verfügbar war. Es ist daher an der Schilddrüse nicht möglich,

den aus der Leber bekannten Plateau-Effekt auch an der Schilddrüse zu demonstrieren. Ein Nachteil der LITT im Vergleich zur RFA ist die manuell aufwendigere Punktion durch die Notwendigkeit des Einführen des Applikators über eine koaxiale Hülle in Seldinger-Technik [5,103,104].

Unsere Arbeit verglich erstmalig die LITT und die RFA hinsichtlich ihrer Wirksamkeit an Schilddrüsengewebe. In diesem experimentellen Ansatz konnten größere Läsionsvolumina mit der LITT erzielt werden. Darüber hinaus ist ein Vorteil der LITT das Fehlen von Impedanzproblemen im Vergleich zur RFA, zum Nachteil einer allerdings manuell aufwendigeren Punktion bei der LITT. Inwieweit sich allerdings die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse in der Praxis im Rahmen einer in-vivo Anwendung bestätigen, bleibt abzuwarten.

4. Zusammenfassung

Die chirurgische Resektion von Leber- und Lungentumoren ist das einzige Therapieverfahren mit gesicherter kurativer Zielsetzung. Allerdings kann nur eine Minderheit der Patienten einer chirurgischen Therapie zugeführt werden. Bei In-situ-Ablationsverfahren wie der Laserinduzierte Thermoablation (LITT) und der Radiofrequenzablation (RFA) werden Tumoren mit einem nadelförmigen Applikator punktiert und mittels thermischer Energie in-situ zerstört. Limitiert wird der sichere klinische Einsatz der Ablationsverfahren bislang durch die fehlende Kenntnis der Lichtausbreitung im Gewebe, um eine Vorhersage über das Ausmaß der entstehenden Thermoläsionen zu treffen und die geeigneten Applikationsparameter für eine vollständige Tumorerstörung im Vorfeld der Behandlung festlegen zu können. Ferner ist aus onkologischen Gründen die Induktion ausreichend großer Läsionen mit vollständiger Tumordestruktion erforderlich. Ziel dieser Habilitationsarbeit war es daher, den genannten Limitationen der LITT und RFA durch die experimentelle und klinische Evaluation neuer Applikationsmodi und Planungsmöglichkeiten an der Leber, Lunge und Schilddrüse entgegen zu wirken und damit das Spektrum der Therapiemöglichkeiten auszuweiten.

Der erste Schritt bestand in der Evaluation der optischen Gewebeparameter kolorektaler Lebermetastasen und deren Primärtumoren im nativen und koagulierten Zustand von Patienten mit einem synchron hepatisch metastasierten Kolonkarzinom. Trotz gleicher Histologie zeigten sich keine Übereinstimmungen der optischen Parameter von Primärtumor und Lebermetastase, was auf eine Modifikation durch die Metastasierung hindeutet. Ferner kam es infolge der thermischen Gewebekoagulation zu einer Veränderung der optischen Parameter von Kolonkarzinom- und Lebermetastasengewebe. Mit diesem Projektteil konnten erstmalig die optischen Gewebeparameter kolorektaler Lebermetastasen und deren Primärtumoren vorgelegt werden. Die Daten machen deutlich, dass für eine effektive Anwendung der LITT eine Anpassung der Bestrahlungsparameter mit zunehmender Applikationsdauer erforderlich ist.

Zur Behandlung auch größerer Lebermetastasen wurde im zweiten Arbeitsschritt eine Optimierung der LITT angestrebt. Hierbei wurde die LITT in Kombination mit einer Unterbrechung der Leberperfusion hinsichtlich ihrer Effektivität im Vergleich zur normalen Perfusion bei Patienten mit irresektablen, hepatischen Metastasen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die LITT in Kombination mit einer Perfusionsunterbrechung zu einer Erhöhung der Läsionsvolumina führt. Bei gleicher Komplikationsrate im Vergleich zur LITT ohne Perfusionsunterbrechung können auf diesem Wege bedeutend größere Thermoläsionen erzielt werden.

Die geringe Invasivität machen die In-situ-Ablationsverfahren auch für die Therapie von Tumoren anderer parenchymatöser Organe, wie der Lunge und der Schilddrüse, interessant. In einem weiteren Arbeitsschritt wurde die LITT zunächst an der Lunge

evaluiert. Hierbei wurde die an Schweinelungen ex-vivo mittels eines perkutanen als auch offenen Punktionssystems induzierten Thermoläsionen in Abhängigkeit der verwendeten Applikationsdauer und -leistung untersucht, um so den Leistungsbereich für die Induktion möglichst großer Läsionen zu bestimmen. Es konnten erstmals Daten für eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die LITT an Lungengewebe gewonnen werden. Sowohl das perkutane als auch das offene Applikationssystem der LITT induziert reproduzierbare, klinisch relevante Läsionen in der Lunge.

In den letzten hier dargestellten Arbeiten galt es, die LITT sowie die RFA in Hinblick auf die Größe induzierbarer Läsionen in Relation zur Applikationsdauer und -leistung an der Schilddrüse zu evaluieren. Die vorliegenden Arbeiten beschreiben erstmalig die Grundlagen der LITT sowie der RFA an der Schilddrüse. Es gelang mit beiden Ablationsverfahren reproduzierbare Thermoläsionen von relevanter Größe in der Schilddrüse zu induzieren. Zudem wurden beide Ablationsverfahren erstmalig hinsichtlich ihrer Effektivität miteinander verglichen. Ein Vergleich beider Verfahren ist hierbei prinzipiell schwierig, da die LITT und RFA auf unterschiedlichen Technologien mit verschiedenen Energiequellen und -absorptionsraten beruhen. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass in unserem experimentellen Ansatz mit der LITT größere Läsionsvolumina zu erzielen sind. Wesentlicher Vorteil der LITT gegenüber der RFA ist hierbei das Fehlen von Impedanzproblemen, zum Nachteil einer manuell aufwendigeren Punktion.

Im Ergebnis konnten wir mit der in dieser Arbeit erfolgten experimentellen und klinischen Evaluation neuer Applikationsmodi und Planungsmöglichkeiten Lösungswege aufzeigen, die geeignet sind, den bisherigen Limitationen im Einsatz der LITT und RFA entgegen zu wirken. Durch die im Rahmen dieser Arbeit erfolgte Bestimmung der optischen Gewebeparameter von Lebermetastasen und deren kolorektalen Primärtumoren wurden die Grundlagen für die Entwicklung und erste Evaluation eines Dosimetrie-Modells für die LITT an der Leber geschaffen, wodurch es möglich ist, die Applikationsparameter für eine sichere und vollständige Tumorzellzerstörung prätherapeutisch zu ermitteln. Die Kombination der LITT mit einer Unterbrechung der Leberperfusion bietet darüber hinaus die Möglichkeit, den effektivitätshemmenden Kühleffekten der Leberdurchblutung zu reduzieren und somit die onkologische Effektivität zu verbessern. Durch die Untersuchungen zur Dosimetrie der LITT und RFA an der Lunge sowie der Schilddrüse wurden zudem wesentliche Grundlagen für eine klinische Ausweitung der In-situ-Ablationsverfahren auf weitere parenchymatöse Organe neben der Leber geschaffen. Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen, in denen insbesondere der Einfluss von Perfusion und Ventilation auf die In-situ-Ablationsverfahren während einer in-vivo-Anwendung evaluiert werden sollten.

5. Literaturverzeichnis

1. Barber FD, Mavligit G, Kurzrock R. Hepatic arterial infusion chemotherapy for metastatic colorectal cancer: a concise overview. *Cancer Treat Rev.* 2004; 30: 425-36.
2. Decadt B, Siriwardena AK Radiofrequency ablation of liver tumors – systematic review. *Lancet Oncol* 2004; 5: 550-563
3. Germer CT, Buhr HJ, Isbert C. Nichtoperative Ablation: Möglichkeiten und Grenzen der Ablationsverfahren zur Behandlung von Lebermetastasen unter kurativer Intention. *Chirurg* 2005; 76: 556-563
4. Lencioni R, Cioni D, Goletti O, Bartolozzi C Radiofrequency thermal ablation of liver tumors: state of the art. *Cancer J Sci* 2000; 6: 304-312
5. Ritz JP, Isbert C, Roggan A, Buhr HJ, Germer CT Laser-induced thermotherapy of liver metastases. *Front Radiat Ther Oncol* 2004; 38: 106-121
6. Habash RWY, Bansal R, Krewski D, Alhafid HT. Thermal therapy, Part III: ablation techniques. *Crit Rev Biomed Eng* 2007; 35:37–121
7. Hammill CW, Billingsley KG, Cassera MA, Wolf RF, Ujiki MB, Hansen PD. Outcome after laparoscopic radiofrequency ablation of technically resectable colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2011; 18:1947–1954
8. Bown SG. Phototherapy in tumors. *World J Surg* 1983; 7:700–709
9. Hosten N, Stier A, Weigel C, Kirsch M, Puls R, Nerger U, Jahn D, Stroszczyński C, Heidecke CD, Speck U. Laser-induced thermotherapy (LITT) of lung metastases: description of a miniaturized applicator, optimization, and initial treatment of patients. *Fortschr Roentgenstr* 2003; 175:393–400
10. Gazelle GS, Goldberg SN, Solbiati L, Livraghi T (2000) Tumor ablation with radio-frequency energy. *Radiology* 2000; 217:633–646
11. Steinke K, Habicht JM, Thomsen S, Soler M, Jacob AL. CTguided radiofrequency ablation of a pulmonary metastasis followed by surgical resection. *Cardiovasc Interv Radiol* 2002; 25:543–546
12. Papini E, Bizzarri G, Pacella CM. Percutaneous laser ablation of benign and malignant thyroid nodules. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008 Oct;15(5):434-9.
13. Barbaro D, Orsini P, Lapi P, Pasquini C, Tuco A, Righini A, Lemmi P. Percutaneous laser ablation in the treatment of toxic and pretoxic nodular goiter. *Endocr Pract* 2007; 13(1):30-36.

14. Papini E, Guglielmi R, Bizzarri G, Graziano F, Bianchini A, Brufani C, Pacella S, Valle D, Pacella CM. Treatment of benign cold thyroid nodules: a randomized clinical trial of percutaneous laser ablation versus levothyroxine therapy or follow-up. *Thyroid* 2007; 17(3):229-235.
15. Germer CT, Roggan A, Ritz JP, Isbert C, Albrecht D, Muller G, Buhr HJ. Optical properties of native and coagulated human liver tissue and liver metastases in the near infrared range. *Lasers Surg Med* 1998; 23:194–203
16. Albrecht D, Germer CT, Isbert C, Ritz JP, Roggan A, Muller G, Buhr HJ. Interstitial laser coagulation: evaluation of the effect of normal liver blood perfusion and the application mode on lesion size. *Lasers Surg Med* 1998; 23:40–47
17. Vogl TJ, Straub R, Eichler K, Sollner O, Mack MG. Colorectal carcinoma metastases in liver: laser-induced interstitial thermotherapy--local tumor control rate and survival data. *Radiology* 2004; 230:450–458
18. Ritz JP, Isbert C, Roggan A, Germer CT, Albrecht D, Buhr HJ. Thermal laser dosimetry in treatment of liver tumors--correlation of optical tissue parameters with in vivo temperature distribution in VX-2 tumors and healthy liver tissue]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1998; 115:1445–1447
19. Wong SL, Mangu PB, Choti MA, Crocenzi TS, Dodd GD, Dorfman GS, Eng C, Fong Y, Giusti AF, Lu D, Marsland TA, Michelson R, Poston GJ, Schrag D, Seidenfeld J, Benson AB (2010) American Society of Clinical Oncology 2009 clinical evidence review on radiofrequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer. *J Clin Oncol* 28:493–508
20. Curley SA (2001) Radiofrequency ablation of malignant liver tumors. *Oncologist* 6:14–23
21. Goldberg SN, Gazelle GS, Mueller PR (2000) Thermal ablation therapy for focal malignancy: a unified approach to underlying principles, techniques, and diagnostic imaging guidance. *AJR Am J Roentgenol* 174:323–331
22. Lencioni R, Crocetti L (2007) Radiofrequency ablation of liver cancer. *Tech Vasc Interv Radiol* 10:38–46
23. Pereira PL, Trübenbach J, Schmidt D (2003) [Radiofrequency ablation: basic principles, techniques and challenges]. *Rofo* 175:20–27
24. Goldberg SN, Gazelle GS (2001) Radiofrequency tissue ablation: physical principles and techniques for increasing coagulation necrosis. *Hepatology* 48:359–367
25. Mulier S, Ni Y, Jamart J, Ruers T, Marchal G, Michel L (2005) Local recurrence after hepatic radiofrequency coagulation: multivariate meta-analysis and review of contributing factors. *Ann Surg* 242:158–171

26. Ritz J-P, Lehmann KS, Isbert C, Reissfelder C, Albrecht T, Stein T, Buhr HJ. In-vivo evaluation of a novel bipolar radiofrequency device for interstitial thermotherapy of liver tumors during normal and interrupted hepatic perfusion. *J Surg Res* 2006; 133:176–184
27. Zurbuchen U, Frericks B, Roggan A, Lehmann K, Bössenroth D, Buhr H-J, Ritz J-P. Ex vivo evaluation of a bipolar application concept for radiofrequency ablation. *Anticancer Res* 2009; 29:1309–1314
28. Frericks BB, Ritz JP, Roggan A, Wolf KJ, Albrecht T. Multipolar radiofrequency ablation of hepatic tumors: initial experience. *Radiology* 2005; 237:1056–1062
29. Ritz JP, Lehmann KS, Reissfelder C, Albrecht T, Frericks B, Zurbuchen U, Buhr HJ. Bipolar radiofrequency ablation of liver metastases during laparotomy. First clinical experiences with a new multipolar ablation concept. *Int J Colorectal Dis* 2006; 21:25–32
30. Snoeren N, van Hillegersberg R. Radiofrequency ablation for liver tumors: going multipolar? *Expert Rev Med Devices* 2011; 8:1–2
31. Chua TC, Morris DL (2012) Therapeutic potential of surgery for metastatic colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 47:258–268
32. Grundmann RT, Hermanek P, Merkel S, Germer C-T, Grundmann RT, Hauss J, Henne-Bruns D, Herfarth K, Hermanek P, Hopt UT, Junginger T, Klar E, Klempnauer J, Knapp WH, Kraus M, Lang H, Link K-H, Löhe F, Merkel S, et al. Diagnosis and treatment of colorectal liver metastases - workflow. *Zentralbl Chir* 2008; 133:267–284
33. Manfredi S, Lepage C, Hatem C, Coatmeur O, Faivre J, Bouvier A-M. Epidemiology and management of liver metastases from colorectal cancer. *Ann Surg* 2006; 244:254–259
34. Bennett JJ, Cao D, Posner MC. Determinants of unresectability and outcome of patients with occult colorectal hepatic metastases. *J Surg Oncol* 2005; 92: 64-69
35. Steele G Jr, Bleday R, Mayer RJ, Lindblad A, Petrelli N, Weaver D. A prospective evaluation of hepatic resection for colorectal carcinoma metastases to the liver: Gastrointestinal Tumor Study Group Protocol 6584. *J Clin Oncol*. 1991; 9: 1105-1112
36. Taylor I. Liver metastases from colorectal cancer: lesson from past and present clinical studies. *Br J Surg*. 1996; 83: 456-460
37. Weiss L. Haematogenous metastatic patterns in colonic carcinoma: an analysis of 1541 necropsies. *J Pathol* 1986; 150:195–203.
38. Lee YT. Regional management of liver metastases. I. *Cancer Invest* 1983;1:237–57

39. Brouquet A, Andreou A, Vauthey J-N. The management of solitary colorectal liver metastases. *Surgeon* 2011; 9:265–272
40. Cummings LC, Payes JD, Cooper GS. Survival after hepatic resection in metastatic colorectal cancer: a population-based study. *Cancer* 2007; 109:718–726
41. Loss M, Jung EM, Scherer MN, Farkas SA, Schlitt HJ. Surgical treatment of liver metastases]. *Chirurg* 2010; 81:533–541
42. Vogl TJ, Mack M, Eichler K, Lehnert T, Nabil M. Effect of laser-induced thermotherapy on liver metastases. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2006 May;6(5):769-74
43. Ritz JP, Lehmann KS, Reissfelder C, Albrecht T, Frericks B, Zurbuchen U, Buhr HJ. Bipolar radiofrequency ablation of liver metastases during laparotomy. First clinical experiences with a new multipolar ablation concept. *Int J Colorectal Dis.* 2006;21(1):25-32
44. Rena O, Papalia E, Oliaro A, Filosso P, Ruffini E, Maggi G, Casadio C. Pulmonary metastases from epithelial tumours: late results of surgical treatment. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006; 30: 217-22.
45. Pfannschmidt J, Klode J, Muley T, Hoffmann H, Dienemann H. Pulmonary resection for metastatic osteosarcomas: a retrospective analysis of 21 patients. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 54:120-3
46. Ashley AC, Deschamps C, Alberts SR. Impact of prognostic factors on clinical outcome after resection of colorectal pulmonary metastases. *Clin Colorectal Cancer.* 2006; 6:32-7
47. Vogt-Moykopf, I., Krysa, S., Buelzebruck, H., and Schirren, J. Surgery for pulmonary metastases. The Heidelberg experience. *Chest. Surg. Clin. N. Am* 1994; 4: 85-112
48. Vogl TJ, Mack MG, Straub R, Engelmann K, Zangos S, Eichler K. Interventional MR-guided laser-induced thermotherapy in oncologic cases. State of the art. *Radiologe* 1999; 39:764–771
49. Thamm M, Ellert U, Thierfelder W, Liesenkotter KP, Volzke H. Iodine intake in Germany. Results of iodine monitoring in the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2007; 50(5-6):744-749
50. Aghini-Lombardi F, Antonangeli L, Martino E, Vitti P, Maccherini D, Leoli F, Rago T, Grasso L, Valeriano R, Balestrieri A, Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescopagano survey. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(2):561-56

51. Gharib H. Changing concepts in the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1997; 26: 777–800.
52. Leech JV, Smith LW & Clute HM. Aberrant thyroid glands. *The American Journal of Pathology* 1928; 4: 481–492.
53. Rojeski MT & Gharib H. Nodular thyroid disease: evaluation and management. *The New England Journal of Medicine* 1985; 313: 428–436.
54. Klauber J, Robra BP, Schellschmidt H. *Krankenhaus Report* 2006. Volume 1: Schattauer; 2006.
55. Pelizzo MR, Toniato A, Piotto A, Pagetta C, Ide EC, Boschini IM, Bernante P. The surgical treatment of the nodular goiter. *Ann Ital Chir.* 2008 Jan-Feb;79(1):13-6. Italian.
56. Heck A, Cappelen T, Folling I. Large goiter--diagnosis and treatment]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2007; 127(9):1196-1200.
57. Dietlein M, Dederichs B, Kobe C, Theissen P, Schmidt M, Schicha H. Therapy for non-toxic multinodular goiter: radioiodine therapy as attractive alternative to surgery. *Nuklearmedizin* 2006; 45:21-34.
58. Dederichs B, Dietlein M, Jenniches-Kloth B, Schmidt M, Theissen P, Schicha H. Radioiodine therapy of Graves' hyperthyroidism in patients without pre-existing ophthalmopathy: can glucocorticoids prevent the development of new ophthalmopathy? . *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; 2006:366-370.
59. al-Suliman NN, Rytto NF, Qvist N, Blichert-Toft M, Graversen HP. Experience in a specialist thyroid surgery unit: a demographic study, surgical complications, and outcome. *Eur J Surg* 1997; 163(1):13-20
60. Dederichs B, Dietlein M, Jenniches-Kloth B, Schmidt M, Theissen P, Schicha H. Radioiodine therapy of Graves' hyperthyroidism in patients without pre-existing ophthalmopathy: can glucocorticoids prevent the development of new ophthalmopathy? . *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; 2006:366-370
61. Dunkelmann S. Die Radioiodtherapie gutartiger Schilddrüsenerkrankungen: Funktionelle Autonomie. *Der Nuklearmediziner* 2005(28):104-107
62. Dossing H, Bennedbaek FN, Hegedus L. Effect of ultrasound-guided interstitial laser photocoagulation on benign solitary solid cold thyroid nodules - a randomised study. *Eur J Endocrinol* 2005; 152(3):341-345.
63. Papini E, Guglielmi R, Bizzarri G, Pacella CM. Ultrasound-guided laser thermal ablation for treatment of benign thyroid nodules. *Endocr Pract* 2004; 10(3):276-283.

64. Cakir B, Topaloglu O, Gul K, Agac T, Aydin C, Dirikoc A, Ersoy RU, Gumus M, Yazicioglu K, Yalcin B, Demirkazik A, Icli F, Ceyhan K. Ultrasound-guided percutaneous laser ablation treatment in inoperable aggressive course anaplastic thyroid carcinoma: the introduction of a novel alternative palliative therapy--second experience in the literature. *J Endocrinol Invest* 2007; 30(7):624-625.
65. Gambelunghe G, Fatone C, Ranchelli A, Fanelli C, Lucidi P, Cavaliere A, Avenia N, d'Ajello M, Santeusano F, De Feo P. A randomized controlled trial to evaluate the efficacy of ultrasound-guided laser photocoagulation for treatment of benign thyroid nodules. *J Endocrinol Invest* 2006; 29(9):RC23-26.
66. Jeong WK, Baek JH, Rhim H, Kim YS, Kwak MS, Jeong HJ, Lee D. Radiofrequency ablation of benign thyroid nodules: safety and imaging follow-up in 236 patients. *Eur Radiol* 2008; 18(6): 1244 – 1250
67. Spiezia S, Garberoglio R, Milone F, Ramundo V, Caiazzo C, Assanti AP, Deandrea M, Limone PP, Macchia PE, Lombardi G, Colao A, Faggiano A. Thyroid nodules and related symptoms are stably controlled two years after radiofrequency thermal ablation. *Thyroid* 2009; 19(3): 219 – 225].
68. Heisterkamp J, van Hillegersberg R, Ijzermans JN. Interstitial laser coagulation for hepatic tumours. *Br J Surg* 1999 ; 86: 293 – 304
69. Ravikumar TS. Interstitial therapies for liver tumors. *Surg Oncol Clin North Am* 1996; 2: 365 – 377
70. Ritz JP, Roggan A, Schuppan D, Rühl M, Buhr HJ, Germer CT. Enhancement of the immune response to residual intrahepatic tumor tissue by laser-induced thermotherapy (LITT) compared to hepatic resection. *Isbert C, Lasers Surg Med.* 2004;35(4):284-92
71. Goldberg SN Radiofrequency tumor ablation: principles and techniques. *Eur J Ultrasound* 2001; 13: 129-147
72. Greelish JP, Friedberg JS. Secondary pulmonary malignancy. *Surg Clin North Am* 2000; 80:633–657
73. Yoneda KY, Louie S, Shelton DK. Approach to pulmonary metastases. *Curr Opin Pulm Med* 2000; 6:356–363
74. Vogl TJ, Straub R, Eichler K, Woitaschek D, Mack MG. Malignant liver tumors treated with mr imaging-guided laserinduced thermotherapy: experience with complications in 899 patients (2,520 lesions). *Radiology* 2000; 22:367–377
75. Vogl TJ, Straub R, Zangos S, Mack MG, Eichler K. MR-guided laser-induced thermotherapy (LITT) of liver umours: experimental and clinical data. *Int J Hyperthermia* 2004; 20(7):713–724

76. Izzo F, Barnett CC Jr, Curley SA. Radiofrequency ablation of primary and metastatic malignant liver tumors. *Adv Surg* 2001; 35:225–250
77. Ferrari C, Reschini E, Paracchi A. Treatment of the autonomous thyroid nodule: a review. *Eur J Endocrinol* 1996; 135(4):383-390.
78. Cheong WF, Prael SA, Welch AJ. A review of the optical properties of biological tissues. *IEEE J Quant Electron* 1990; 26: 2166–2185
79. Zhu D, Luo Q, Cen J. Effects of dehydration on the optical properties of in vitro porcine liver. *Lasers Surg Med* 2003; 33: 226-231
80. Terenji A, Willmann S, Osterholz J, Hering P, Schwarzmaier HJ. Measurement of the Coagulation Dynamics of Bovine Liver Using the Modified Microscopic Beer-Lambert Law. *Lasers Surg Med* 2005; 36: 365 – 370
81. Jacques SL. Laser-tissue interactions; photochemical, photothermal and photomechanical. *Surg Clin N Am* 1992; 72: 531 – 558
82. Marchesini R, Pignoli E, Tomatis S, Fumagalli S, Sichirollo AE, Di Palma S, Dal Fante M, Spinelli P, Croce AC, Bottiroli G. Ex vivo optical properties of human colon tissue. *Lasers Surg Med* 1994; 15: 351-357
83. Parrish JA. New concepts in therapeutic photomedicine: photochemistry, optical targeting and the therapeutic window. *J Invest Dermatol* 1981; 77: 45-50
84. Ritz JP, Roggan A, Germer CT, Isbert C, Müller G, Buhr HJ. Continuous changes in the optical properties of liver tissue during laser-induced interstitial thermotherapy. *Lasers Surg Med* 2001; 28: 307-312
85. Van Hillegersberg R, Pickering JW, Aalders M, Beek JF. Optical properties of rat liver and tumor at 633 nm and 1064 nm: photofrin enhances scattering. *Lasers Surg Med* 1993; 13: 31-39
86. Van Hillegersberg R, Pickering JW, Aalders M, Beek JF. Optical properties of rat liver and tumor at 633 nm and 1064 nm: photofrin enhances scattering. *Lasers Surg Med* 1993; 13: 31-39
87. Nakamura S, Niskiwaki Y, Suzuki S, Sakaguchi S, Yamashita Y, Ohta K. Light attenuation of human liver and hepatic tumors after surgical resection. *Lasers Surg Med* 1990; 10: 12 – 15
88. Beauvoit B, Evans SM, Jenkins TW, Miller EE, Chance B. Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors. *Analyt Biochem* 1995; 226: 167-174
89. Beauvoit B, Kitai T, Chance B. Contribution of the mitochondrial compartment to the optical properties of the rat liver: a theoretical and practical approach. *Biophys J* 1994; 67: 2501-2510

90. Pickering JW, Prael SA, Van Wieringen N, Beek JF, Sterenberg HJCM, Van Gemert MJC, Double-integrating sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Appl Opt* 1993; 32: 399-412
91. Essenpreis M. Thermally induced changes in optical properties of biological tissues. PhD Dissertation, University College, London. 1992
92. Mirza UA, Cohen SL, Chait BT. Heat-induced conformational changes in proteins studied by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 1993; 65: 1-6
93. Roggan A, Schädel D, Netz U, Ritz JP, Germer CT, Müller G. The effect of preparation technique on the optical parameters of biological tissue. *Appl Phys B* 1999;69 445-453
94. Germer, C.T., Isbert C., Albrecht D., Roggan A., Pelz J., Ritz J.P., Müller G., Buhr H.J. Laser-induced Thermotherapy combined with hepatic arterial embolization in the treatment of liver tumors in a rat model *Ann of surgery* 1999; 230: 55-62.
95. Yamasaki T, Kimura T, Kurokawa F, Aoyama K, Tajima K, Yokoyama Y, Takami T, Omori K, Kawaguchi K, Tsuchiya M, Terai S, Sakaida I, Okita K. Percutaneous radiofrequency ablation with cooled electrodes combined with hepatic arterial balloon occlusion in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2005; 40: 171-178
96. Miyamoto M, Tsuji K, Sakurai Y, Nishimori H, Kang JH, Mitsui S, Maguchi H. Percutaneous radiofrequency ablation for unresectable large hepatic tumours during hepatic blood flow occlusion in four patients. *Clin Radiol* 2004; 59: 812-818
97. Mulier S, Ni Y, Miao Y, Rosiere A, Khoury A, Marchal G, Michel L. Size and geometry of hepatic radiofrequency lesions. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 867-878
98. Vogl TJ, Straub R, Eichler K, Woitaschek D, Mack MG. Malignant liver tumors treated with MR imaging-guided laser-induced thermotherapy: experience with complications in 899 patients (2,520 lesions). *Radiology* 2002; 225: 367-377
99. Eggermont A, Steller P, Sugarbaker P Laparotomy enhances intraperitoneal tumor growth and abrogates the antitumor effects of interleukin 2 and lymphokine activated killer cells. *Surgery* 1987; 102: 71-78
100. Kemeny N, Fata F. Hepatic-arterial chemotherapy. *Lancet Oncol.* 2001; 2: 418-428

101. Link KH, Sunelaitis E, Kornmann M, Schatz M, Gansauge F, Leder G, Formetini A, Staib L, Pillasch J, Beger HG. Regional chemotherapy of nonresectable colorectal liver metastases with mitoxantrone, 5-fluorouracil, folinic acid, and mitomycin C may prolong survival. *Cancer* 2001; 92: 2746-2753
102. Rossi S, Garbagnati F, Lencioni R, Allgaier HP, Marchiano A, Fornari F, Quaretti P, Tolla GD, Ambrosi C, Mazzaferro V, Blum HE, Bartolozzi C. Percutaneous radio-frequency thermal ablation of nonresectable hepatocellular carcinoma after occlusion of tumor blood supply. *Radiology* 2000; 217: 119-126
103. Germer CT, Isbert C, Ritz JP, Roggan A. Die laserinduzierte thermotherapie (LITT) zur Behandlung maligner Lebertumore. In: Müller GJ, Berlien HP (eds) Fortschritte in der Lasermedizin. Ecomed Verlag 2000, Landsberg, p. 21
104. Albrecht D, Germer CT, Roggan A, Isbert C, Ritz JP, Buhr HJ. Laser-induced thermotherapy. Technical prerequisites for the treatment of malignant liver tumors. *Chirurg* 1998; 69:930–937
105. Filler TJ, Bremer C, Peuker ET, Bankert J, Kreft G, Reimer P. Pathomorphology of laser-induced interstitial tumor-thermotherapy in the liver. *Radiologe* 2001; 41:181–186
106. Lee JM, Youk JH, Kim YK, Han YM, Chung GH, Lee SY, Kim CS. Radio-frequency thermal ablation with hypertonic saline solution injection of the lung: ex vivo and in vivo feasibility studies. *Eur Radiol* 2003; 13(11):2540–2547
107. Menovsky T, Beek JF, van Germert MJC, Roux FX, Bown SG. Interstitial laser thermotherapy in neurosurgery: a review. *Acta Neurochir* 1996 138:1019–1026
108. Knappe V, Mols A. Laser therapy in the lung: biophysical background. *Radiologe* 2004; 44:677–683
109. Ritz JP, Roggan A, Isbert C, Müller G, Buhr HJ, Germer CT. Optical Properties of Native and Coagulated Porcine Liver Tissue Between 400 and 2400 nm. *Lasers Surg and Med* 2001; 29: 205-212
110. Dossing H, Bennedbaek FN, Hegedus L. Ultrasound-guided interstitial laser photocoagulation of an autonomous thyroid nodule: the introduction of a novel alternative. *Thyroid* 2003; 13(9): 885 – 888
111. Patterson EJ, Scudamore CH, Owen DA, Nagy AG, Buczkowski AK. Radiofrequency ablation of porcine liver in vivo: effects of blood flow and treatment time on lesion size. *Ann Surg* 1998; 227: 559 - 565.

112. Matsuda H, Sugimachi K, Kuwano H, Mori M. Hyperthermia, tissue microcirculation, and temporarily increased thermosensitivity in VX2 carcinoma in rabbit liver. *Cancer Res* 1989; 49(10): 2777–2872
113. Lehmann KS, Ritz JP, Valdeig S, Knappe V, Schenk A, Weihusen A, Rieder C, Holmer C, Zurbuchen U, Hoffmann P, Peitgen HO, Buhr HJ, Frericks BB. Ex situ quantification of the cooling effect of liver vessels on radiofrequency ablation. *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 475 - 481.
114. Goldberg SN, Gazelle GS, Solbiati L, Rittman WJ, Mueller PR. Radiofrequency tissue ablation: increased lesion diameter with a perfusion electrode. *Acad Radiol* 1996; 3(8): 636 - 644.
115. Rossi S, Di Stasi M, Buscarini E, Quaretti P, Garbagnati F, Squassante L, Paties CT, Silverman DE, Buscarini L. Percutaneous RF interstitial thermal ablation in the treatment of hepatic cancer.. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167(3): 759 – 768

6. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die mir auf meinem akademischen Weg zur Seite gestanden haben und damit zum Gelingen dieser Habilitation beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Heinz-Johannes Buhr, der mich über all die Jahre unterstützt hat. Als mein Chef hat er mich chirurgisch geprägt und war für mich jederzeit ansprechbar. Bedanken möchte ich mich ebenfalls für seine stetige Diskussionsbereitschaft bei der Manuskriptbearbeitung. Herrn Prof. Dr. Martin Kreis danke ich herzlich für den sehr guten klinischen Einstieg und die Unterstützung der Habilitation.

Mein herzlicher Dank gilt den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe in-situ-Ablation. Besonders danken möchte ich hierbei Herrn Prof. Dr. Jörg-Peter Ritz, der die Arbeitsgruppe über viele Jahre geleitet und dieses Projekt geprägt hat. Als steter Ansporn hat er meine wissenschaftliche Arbeit erst ermöglicht und mit kritischer Aufmerksamkeit stets innovativ vorangetrieben. Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Kai Lehmann, der stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und mich tatkräftig unterstützt hat.

Des Weiteren geht mein Dank an die gesamte Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie der Charité, Campus Benjamin Franklin. Ohne die ärztlichen Mitarbeiter wäre eine solche Arbeit nicht zu bewerkstelligen. Auch allen Mitarbeitern unseres chirurgischen Forschungslabors sei ausdrücklich gedankt.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Meinen Eltern danke ich für die fortwährende Unterstützung. Von ganzem Herzen danke ich aber meiner Frau Simone sowie meinen Kindern Julian und Marie-Luise, ohne deren Rückhalt, liebevolle Unterstützung und verständnisvolle Geduld eine solche Arbeit nicht zu bewältigen wäre.

7. Erklärung

§ 4 Abs 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften, sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 01. März 2014

Dr. med. Christoph Holmer