

## **5 Material und Methoden**

### **5.1 Untersuchungen: Phase 1 bis Phase 3**

#### **Phase 1:**

In-vitro-Untersuchung am Putenbrustgewebe mit dem bipolaren HFITT-Applikator mit integriertem Kühlsystem (CelonProSurge ENT™).

Ziel dieser Untersuchung ist die Evaluierung von Leistungsparametern, mit denen bei möglichst geringer Einwirkungszeit eine möglichst große Koagulationszone erzielt wird.

Zusätzlich sollen durch Thermomessungen Temperaturverläufe in definierten radialen Abständen (10 mm und 5 mm) zu den Elektroden eruiert werden.

Die Putenbrust-Präparate sollen dann histologisch untersucht werden.

#### **Phase 2:**

a. Untersuchung an humanem Tonsillengewebe mit dem bipolaren HFITT-Applikator mit integriertem Kühlsystem (CelonProSurge ENT®).

Ziel dieser Untersuchung ist es, die für eine komplette Koagulation einer humanen Tonsille erforderliche Leistung und Applikationsdauer zu evaluieren.

b. Histologische Untersuchung von mit dem bipolaren HFITT-Applikator ohne integriertem Kühlsystem (CelonProSurge® MICRO) behandeltem humanen Tonsillengewebe.

**Phase 3:**

Voruntersuchungen zum klinischen Einsatz mit einem bipolaren HFITT-Applikator ohne integriertes Kühlsystem am Hundekadaver.

Aufgrund der anatomischen Übereinstimmungen des caninen mit dem humanen Oropharynx, auch hinsichtlich der den Oropharynx umgebenden Strukturen, wird ein Kopf-Halspräparat eines verstorbenen Schäferhundes seziiert.

Ziel ist es, sich die anatomischen Relationen zu veranschaulichen und nach Koagulation der Tonsilla palatina zu überprüfen, ob im Bereich der Hals-Gefäß-Nervenscheide Koagulationsläsionen zu finden sind.

## 5.2 Der bipolare HFITT-Applikator mit integriertem Kühlsystem (CelonProSurge *ENT*<sup>TM</sup>)

Bei dem von der Firma Celon AG medical instruments in Zusammenarbeit mit der LMTB (Laser- und Medizin-Technologie GmbH, Berlin) entwickelten HFITT-Applikator handelt es sich um einen Dipol-Applikator, der in coaxialer Technik aufgebaut ist. Dabei sind die Aktiv- und die Neutral-Elektrode durch eine Isolatorschicht, bestehend aus einem Kunststoff mit einer Temperaturbeständigkeit von über 200 °C, getrennt, direkt in die Nadelspitze integriert. Der Hochfrequenzstrom fließt somit isoliert im Spitzenbereich der Nadel, ein Abfluss zur Neutral-Elektrode durch den Körper des Patienten – wie bei der monopolaren Technik – findet nicht statt. Somit können Verbrennungen im Bereich der Neutral-Elektrode vermieden werden. Beim Einsatz von HFITT-Applikatoren wird das Gewebe in direktem Kontakt zu den Elektroden auf Temperaturen bis 100 °C erwärmt, was zur Verdampfung von Gewebeflüssigkeit in diesem Bereich führt. Die Austrocknung des Gewebes führt zu einem so starken Absinken der Stromstärke, dass keine weitere Gewebserwärmung mehr erreicht werden kann und somit das Koagulationsvolumen sich frühzeitig begrenzt.

Durch das zusätzlich in den CelonProSurge *ENT*<sup>TM</sup> (Nadeldurchmesser: 3 mm, aktive Länge: 15 mm) eingeschlossene Kühlsystem mit einem Zu- und Ablaufkanal wird über ein Infusionssystem destilliertes Wasser gespült, wodurch ein frühzeitiges Austrocknen des elektrodennahen Gewebes verhindert wird. Dieses würde wie oben angeführt als Isolator wirken und zum Zusammenbruch des Stromflusses führen. Eine weitere Größenzunahme des Koagulationsvolumens wäre damit verhindert. Dieses Kühlsystem ermöglicht auch die Applikation hoher Leistungen (30 bis 60 Watt).



*Abbildung 11: CelonProSurge ENT™*



*Abbildung 12: Nadelspitze des CelonProSurge ENT™*

*Die aktive Länge der Spitze der Nadel beträgt 15 mm, der Durchmesser 3 mm.*

### 5.3 Der bipolare HFITT-Applikator ohne integriertes Kühlsystem (CelonProSurge<sup>®</sup> MICRO)

Dieser HFITT-Applikator ist in seinem äußeren Aufbau mit dem CelonProSurge ENT<sup>™</sup> vergleichbar, ist jedoch nicht mit einem integrierten Kühlsystem ausgestattet. Dadurch können geringere Nadeldurchmesser (1,3 mm) realisiert werden. Er wird vorzugsweise zur Koagulation kleinerer Bereiche eingesetzt, da die erzielten Koagulationsvolumina geringer sind. Das Gewebe in der Nähe der ungekühlten Elektrode kann auf über 100°C erhitzt werden, sodass es nach einer gewissen Applikationszeit durch Verdampfen der Gewebsflüssigkeit zu einer Austrocknung kommt. Da diese Zone als elektrischer Isolator wirkt, kommt es zu einem Abfall der Stromstärke, es kann keine weitere Gewebeerwärmung erreicht werden. Dies erklärt die frühzeitige Limitierung der Koagulationsvolumina.

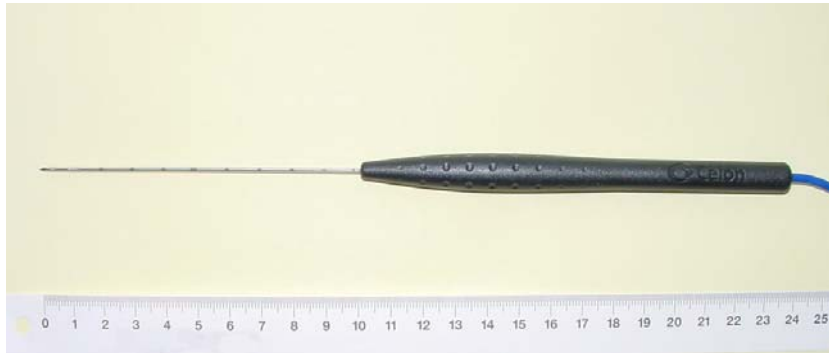


Abbildung 13: Bipolarer HFITT-Applikator ohne integriertes Kühlsystem (CelonProSurge<sup>®</sup> MICRO)

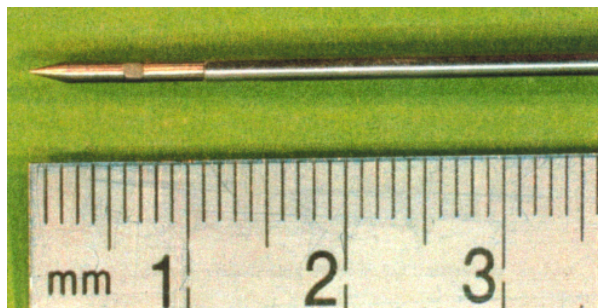


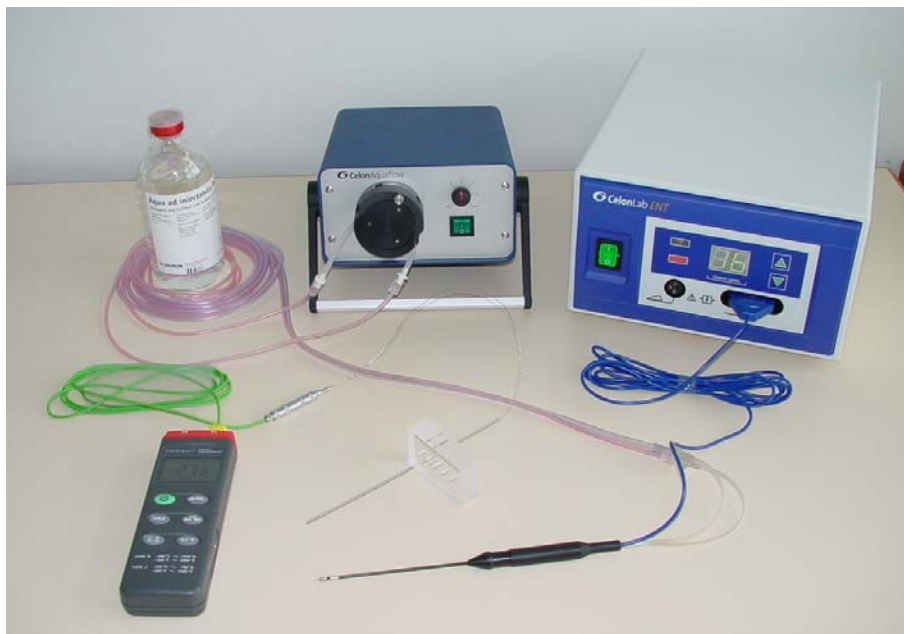
Abbildung 14: Nadelspitze des CelonProSurge<sup>®</sup> MICRO

Die aktive Länge der Spitze der Nadel beträgt 10 mm, der Durchmesser 1,3 mm.

#### 5.4 Aufbau des Messplatzes für die Phasen 1 und 2

Um reproduzierbare Messungen vorweisen zu können, wurden folgende für die Untersuchungen der Phasen 1 und 2 notwendigen Geräte aufgebaut (s. *Abbildung 15*):

- ein bipolarer HFITT-Applikator vom Typ CelonProSurge ENT™ (Celon AG medical instruments)
- ein bipolarer HFITT-Applikator vom Typ CelonProSurge MICRO™ (Celon AG medical instruments)
- ein Hochfrequenzgenerator vom Typ CelonLab ENT (Celon AG medical instruments)
- ein Digitalthermometer der Firma Voltcraft (Typ 302 K/J , Thermoelement Ni-Cr-Ni)
- eine Peristaltikpumpe vom Typ CelonAquaflow (Celon AG medical instruments)
- Aqua ad iniectabilia (in einem Infusionssystem)
- ein speziell für diese Messungen angefertigter „Abstandshalter“
- Gewebe (Phase 1: Putenbrust, Phase 2: Human-Tonsille, Phase 3: Hund)



*Abbildung 16: Übersichtsbild Versuchsaufbau*

## Hochfrequenzgenerator **CelonLab ENT**

Das Leistungssteuergerät **CelonLab ENT** besitzt einen bipolaren Ausgang mit einer maximalen Ausgangsleistung von 25 W, der speziell für den Anschluss von bipolaren HFITT-Applikatoren ausgelegt ist. Eine Neutralelektrode (Rückleitelektrode) ist nicht notwendig.

Die Leistungssteuereinheit besitzt eine akustische Anzeige des Koagulationsstatus. Der bei konventionellen Hochfrequenz-Generatoren üblicherweise festfrequente Warnton „Generator aktiv“ ist beim **CelonLab ENT** so ausgelegt, dass seine Frequenz proportional zur Lastimpedanz ist. Das ermöglicht die akustische Überwachung des Koagulationsstatus, da dieser in direktem Zusammenhang mit der Impedanz steht. Steigt die Impedanz über einen bestimmten Grenzwert, was bedeutet, dass der Koagulationsprozess beendet ist, wird dies zusätzlich durch ein Takten des Tones angezeigt.

Durch ein zweistelliges LED-Display wird die aktuelle Einstellung der verfügbaren RF-Leistung in 1 W-Schritten angezeigt. Die angezeigte Leistung entspricht der tatsächlich durch den Applikator in das Gewebe abgegebenen Leistung nur im sogenannten Anpassungsfall, der bei einer Lastimpedanz von ca. 100 Ohm vorliegt. Die Lastimpedanz ist starken Schwankungen unterworfen, da sie von der Einstichtiefe des Applikators, von der Gewebeart, der Gewebetemperatur, dem Koagulationsgrad und dem Ausmaß der Gewebeaustrocknung abhängt. Weicht die Impedanz vom Anpassungsfall ab, dann wird eine geringere als die angezeigte Leistung abgegeben. Bei extremem Anstieg der Impedanz nach dem Verkochen des die Elektroden umgebenden Zellwassers sinkt die Leistung sehr stark ab, so dass ein Karbonisieren des Gewebes nicht möglich ist.



Abbildung 17: Hochfrequenzgenerator (CelonLab ENT)

### Digitalthermometer (VoltCraft Typ 302 K/J Thermometer, Thermoelement Ni-Cr-Ni)

Zur Ermittlung der Temperaturen im zu untersuchenden Gewebe (Bestimmung der Ausgangstemperatur vor Beginn einer HF-Applikation, Temperaturverlauf während der Koagulation) wird ein Thermometer mit digitaler Anzeige der Firma VoltCraft in Verbindung mit einem Ni-Cr-Ni-Thermoelement der Firma Philips verwendet.



*Abbildung 18: Digitalthermometer*

*(VoltCraft Typ 302 K/J, Thermoelement Ni-Cr-Ni in definiertem Abstand zu den Applikatorelektroden)*



## Schlauchpumpe CelonAquaflow

Durch die Schlauchpumpe CelonAquaflow wird die gleichmäßige Durchspülung des CelonProSurge ENT™ mit Aqua ad iniectionem als Kühlflüssigkeit gewährleistet. Die optimale Spülrate für den CelonProSurge® ENT beträgt 30 ml/min. Die Temperatur des Wassers ist Raumtemperatur (ca. 23 °C).

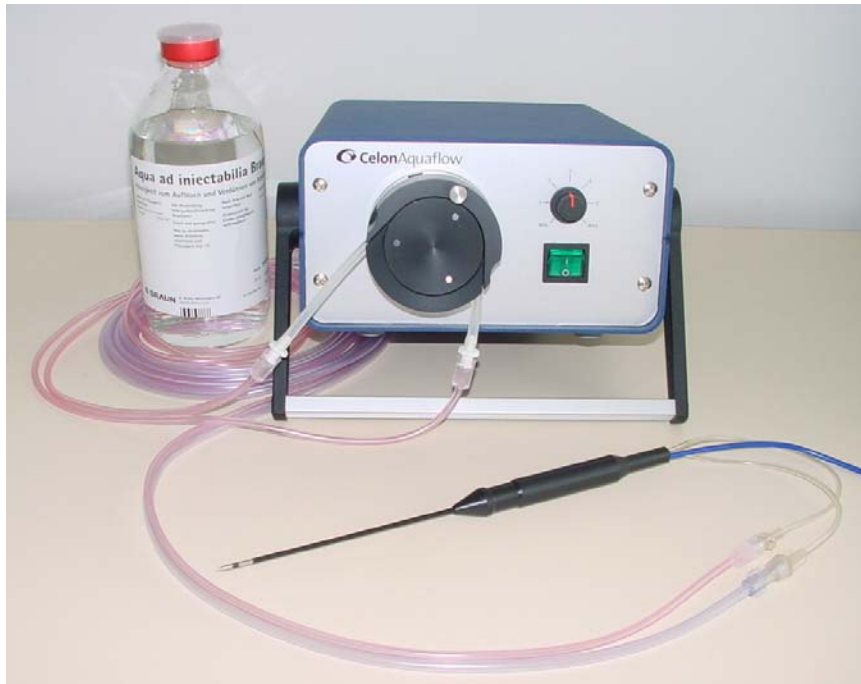


Abbildung 19: Schlauchpumpe CelonAquaflow

Die Schlauchpumpe **CelonAquaFlow** ist eine Rollenpumpe. Durch die Rollen am sich drehenden Pumpenkopf wird der eingelegte Schlauch so zusammengepresst, dass die darin befindliche Flüssigkeit transportiert wird, ohne selbst in Kontakt mit der Mechanik der Pumpe zu kommen. Sterile Flüssigkeiten bleiben auf diese Weise steril, wenn ein steriler Schlaucheinsatz verwendet wird.

### Ein Abstandshalter (speziell für diese Messung angefertigt)

Um einen definierten Abstand zwischen HFITT-Applikator und dem Thermoelement während der jeweils durchgeführten Messung zu gewährleisten, wurde aus Acrylglas ein spezieller Abstandshalter angefertigt.

Er weist zentral die Durchtrittsstelle für den HFITT-Applikator auf, daneben beidseitig im Abstand von 5 mm und 10 mm die Durchtrittsstellen für das Thermoelement.

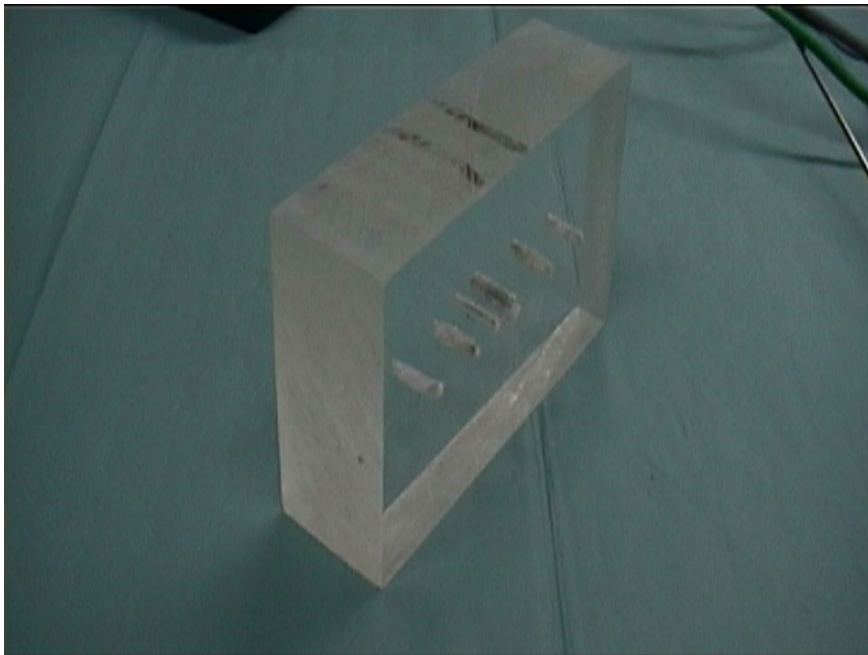


Abbildung 20: Abstandshalter (speziell für diese Messung angefertigt)

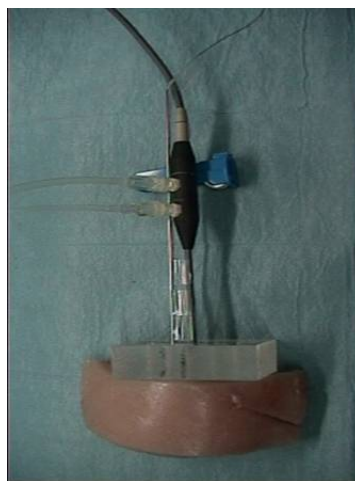


Abbildung 21: Abstandshalter, links die Thermo-sonde, rechts der Celon ProSurge ENT™

## **Mikroskop**

Zur exakten Bestimmung der axialen und radialen Koagulationsausbreitung nach der HF-Applikation (Volumenbestimmung) wird das nekrotisierte Gewebe nach dem Auftrennen entlang des Einstichkanals unter einem Zeiss Stereo-Mikroskop vermessen.

## 5.5 Versuchsdurchführung

### Phase 1

Um den Leistungsbereich und die Zeitspanne für die nachfolgenden Untersuchungen festlegen zu können, sind einige Messungen mit dem CelonProSurge ENT™ am Putenbrust-Modell durchgeführt worden.

Der Messaufbau entsprach dem in Kapitel 5.3 beschriebenen.

Um einerseits die genaue Starttemperatur festzulegen und andererseits den exakten Verlauf der Temperatur während der Koagulation verfolgen zu können, wurde mittels eines Thermoelements die Temperaturverteilung in einem Abstand von 5 mm und 10 mm zum Einstichkanal gemessen.

Die Einstichtiefe sowie der Abstand des Applikators und des Thermoelements waren durch die Verwendung des „Abstandhalters“ definiert.



Abbildung 22: HFITT-Applikator, Thermoelement und Abstandhalter in Putenbrust. Gut sichtbare ellipsoide Koagulationszone.

Mit definiert eingestellter Leistung und Applikationszeit wurde die HF-Koagulation vorgenommen.

Temperaturmessungen wurden nach jeweils 30 Sekunden vorgenommen.

Nach Beendigung der Messungen wurde der Generator ausgeschaltet und der CelonProSurge ENT™ aus dem Gewebe entfernt. Anschließend wurde das Präparat längs des Einstichkanals aufgeschnitten und die Koagulationszone unter dem Mikroskop ausgemessen.



*Abbildung 23: Einstichstelle und Koagulationszone in Putenbrust (radialer Schnitt)*

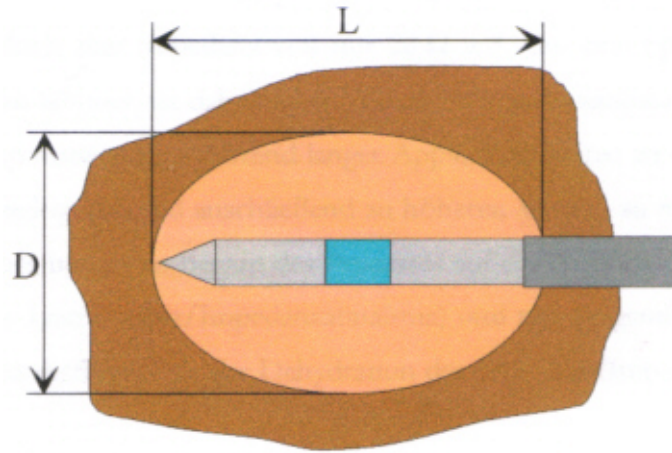


*Abbildung 24: Koagulationsnekrose in Putenbrust (radialer Schnitt)*

Bestimmt wurde die Koagulationszone quantitativ in ihrer axialen und radialen Ausdehnung.

Die Berechnung des Volumens der thermisch erzeugten Läsionen erfolgte mit Hilfe der Formel für die Bestimmung des Volumens für Rotationsellipsoide:

$$V = \pi/6 \times L \times D^2 \quad (L = \text{axiale Länge, } D = \text{Durchmesser})$$



*Abbildung 25: Prinzip der Volumenbestimmung der Koagulationszone*

*Zur Veranschaulichung obiger Formel sind die Maßgrößen zur Volumenbestimmung einer typischen Koagulation nach der Anwendung einer bipolaren HFITT-Nadel dargestellt.*

## **Phase 2**

Der Versuchsaufbau entspricht dem in Phase 1.

### **Phase 2 a**

Nach Einbringen des CelonProSurge ENT™ in ein kurz zuvor entnommenes humanes Tonsillengewebe wurde dieses mit einer HF-Leistung von 16 Watt über eine Zeitdauer von 180 Sekunden koagulierte. Sowohl makroskopische als auch mikroskopische Untersuchungen zeigten die Koagulationsbereiche in der humanen Tonsille.

Es wurden Tonsillen mit einer Mindestgröße von 25 x 15 mm verwendet.

Histologie: Zur histologischen Aufbereitung des behandelten Gewebes wurden von der LMTB die notwendigen Instrumentarien zur Verfügung gestellt. In flüssigem Stickstoff wurde das Tonsillengewebe schockgefroren, respektive unmittelbar nach der Koagulation in Paraffin eingebettet.

### **Phase 2 b**

Es werden humane Tonsillen nach Koagulation mit dem Applikator CelonProSurge MICRO® histologisch untersucht.



### Phase 3

Ein aus Altersgründen verstorbener Schäferhund wurde bei  $-40^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren und 10 Tage später bei einer Umgebungstemperatur von  $27^{\circ}\text{C}$  der experimentellen Untersuchung unterzogen.

In die Tonsillae palatinae (beidseitig) wurde der HF-Applikator mit einem Nadeldurchmesser vom 1,3 mm (ohne integriertes Kühlsystem) eingeführt und diese mit HF-Strom koaguliert.

#### Interstitielle Thermotheapie unter Verwendung des bipolaren HF-Applikators am Hund in vitro:

Ein Applikator von 1,3 mm Durchmesser wird in die linke Tonsille zentral eingeführt. Es folgt eine HF-Applikation von oben nach unten mit 16 Watt Leistung für die Dauer von 180 Sekunden (diese Parameter wurden aus der Phase 2 übernommen, wo eine HF-Applikation mit 16 Watt über 180 Sekunden eine vollständige Koagulation der Tonsille bewirkt hatte).

In die rechte Tonsille wird in gleicher Art und Weise ein Applikator eingeführt. Der Strom wird solange appliziert, bis sich makroskopisch eine durchkoagulierte Zone markiert.

Daraufhin wurde eine modifizierte Neck-Dissection mit Unterkieferspaltung zur makroskopischen und histologischen Begutachtung der Hals-Gefäß-Nervenscheide auf etwaige Thermoschäden durchgeführt.

#### Modifizierte Neck-Dissection mit Unterkieferspaltung am Hund als Präparat:

Nach seitlicher Lagerung des Hundes mit rekliniertem Kopf erfolgt das Abrasieren des Fells auf der rechten Seite. Es wird eine Hautinzision von der Clavikula bis zum Processus mastoideus angelegt. Nach Durchtrennung der oberflächlichen Halsfaszie (Fascia colli superficialis) stellt sich die Vena jugularis interna dar.

Glandula  
submandibularis



Abbildung 26: Glandula submandibularis des Hundes



Es wird die vordere Wand des Musculus sternocleidomastoideus in seinem Verlauf freigelegt und die oberflächliche Halsfaszie durchtrennt und schließlich entfernt.

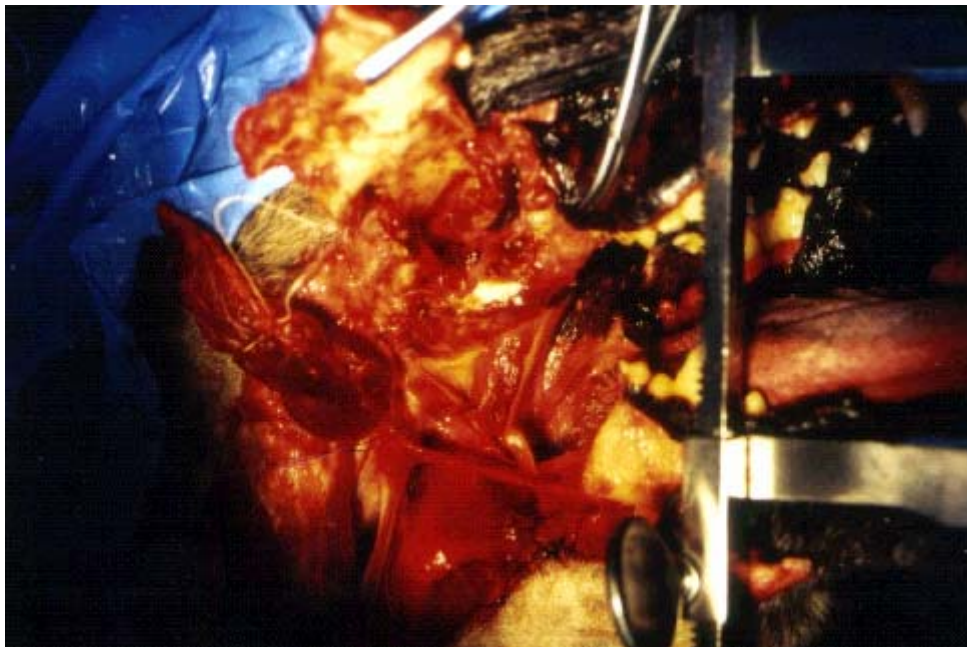
Nach Untertunnelung des Musculus sternocleidomastoideus wird die Arteria carotis communis und der Nervus vages dargestellt.

Es folgt die Auslösung des Fettgewebes aus dem Gebiet zwischen der Arteria carotis communis und dem Musculus digastricus venter posterior.

Die Glandula parotis wird freipräpariert, der untere Parotispol wird vom Musculus digastricus venter posterior abgelöst. Durch Hakenzug wird dieser nach cranial gezogen, so daß der Nervus hypoglossus dargestellt werden kann.

Nun erfolgt die Durchtrennung des Musculus masseter an seiner Ansatzstelle am unteren Rand der Mandibula; von dort wird die Articulatio temporomandibularis erreicht.

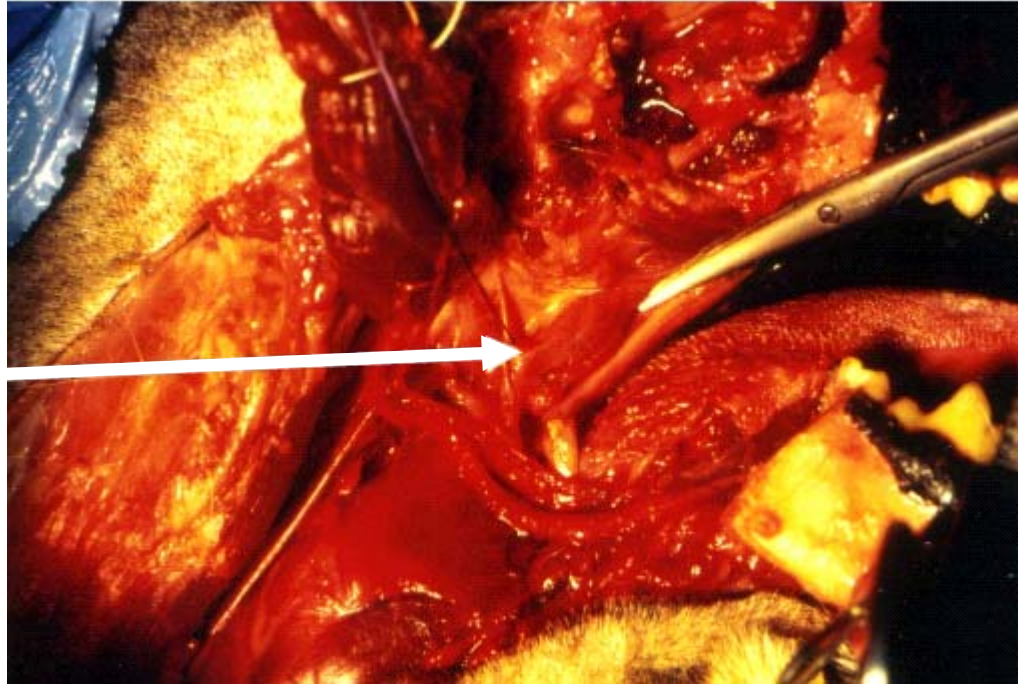
Es wird eine Osteotomie unter Schonung des Nervus hypoglossus und der Arteria carotis interna vorgenommen.



*Abbildung 27: Unterkieferresektion*

Der Unterkiefer wird nach der Inzision der Mundschleimhaut und des Musculus mylohyoideus nach lateral geschwenkt. Nach dem Einsetzen eines Mundsperrers von enoral zeigen sich die Tonsillae palatinae. Diese haben eine Größe von 2,5 mal 1 cm.

Tonsilla  
palatina



*Abbildung 28: Tonsilla palatina des Hundes*

Gleiches Vorgehen erfolgt auf der rechten Seite.

Tonsillektomie mit Entfernung des Nervus hypoglossus und der Arteria carotis internes:

Beide Tonsillen werde zur histologischen Aufarbeitung durch eine schonende Tonsillektomie entnommen. Gemeinsam mit dem Nervus hypoglossus wird die Arteria carotis interna im Bereich der Tonsillenloge als Blockpräparat zu histologischen Untersuchung exzidiert.

Am Ende der Applikation werden die Tonsillen entlang des Stichkanals der bipolaren Nadel aufgeschnitten, in axialer und radialer Achse zum Stichkanal mit Hilfe eines Mikroskops vermessen und anschließend in 3,7%-igen Formalin fixiert

Die makroskopische und histomorphologische Beurteilung der Gewebeveränderung erfolgt mit folgenden Methoden:

- Makroskopische Vermessung der entstandenen hyperthermischen Gewebläsionen
- Berechnung des Volumens der hyperthermisch erzeugten Läsionen
- Lichtmikroskopie von Paraffinschnitten nach Hämatoxylin-Eosin-Färbung der Präparate