

## 7. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde am Lebermetastasenmodell der Ratte der Einfluß einer in-situ Ablation intrahepatischer Tumoren mittels laserinduzierter Thermo-therapie (LITT) auf residuales intrahepatisches Tumorgewebe im Vergleich zur chirurgischen Leberresektion untersucht. Es sollten die Hypothesen überprüft werden, ob die laserinduzierte Thermo-therapie im Gegensatz zur Leberresektion, aufgrund des geringeren Traumas und dem Verzicht auf eine ausgedehnte Entfernung von gesundem Leberparenchym zu keiner Wachstumsbeschleunigung residualen Tumorgewebes führt und, ob die LITT aufgrund des in-situ belassenen, zerstörten Tumorgewebes eine gegen vitales intrahepatisches Tumorgewebe gerichtete zelluläre Immunantwort induziert.

Hierzu erfolgte bei 90 männlichen WAG-Ratten standardisiert die Induktion von jeweils einem Tumor in den linken (entspricht dem Behandlungstumor) und einem in den rechten Leberlappen (entspricht dem Referenz-tumor) mittels Tumorzellsuspensionsverfahren. Der Behandlungstumor im linken Leberlappen diente zur Durchführung des entsprechenden Therapieverfahrens, der Referenz-tumor im rechten Leberlappen blieb unbehandelt und diente der Verlaufsbeobachtung. Nach einer Latenzzeit von sieben Tagen wurden die Tiere in drei Versuchstiergruppen randomisiert: In der Lasergruppe erfolgte eine vollständige Tumorablation des Behandlungstumors im linken Leberlappen mittels laserinduzierter Thermo-therapie (LITT), in der Resektionsgruppe erfolgte eine anatomiegerechte Resektion des Behandlungstumors als Hemihepatektomie links und in der Kontrollgruppe wurde eine „Scheinbehandlung“ durchgeführt. In allen Therapiegruppen erfolgte die Vermeßung der Tumoren. 1, 2, 4, 7, 10 und 21 Tage nach der Behandlung wurden jeweils fünf Versuchstier aus jeder Gruppe relaparotomiert. Es erfolgte die Vermeßung der axialen und radialen Durchmesser der Referenz- und Behandlungstumoren, die Formalin- und Kryoasservierung von Gewebeproben der Referenz- und Behandlungstumoren und die Dokumentation einer peritonealen Aussaat von Tumorzellen (Peritonealkarzinose). Die angefertigten Paraffinschnitte wurden mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) gefärbt und hinsichtlich der morphologischen Strukturen ausgewertet. Der Nachweis der Oberflächenmoleküle CD8, CD54, MHC I und MHC II mittels APAAP-Färbung der Kryostatschnitte wurde gewählt, um den immunologischen Status innerhalb

der Referenztumoren im Anschluß an die verschiedenen Therapieverfahren zu dokumentieren. Die Detektion der BrdU-Inkorporation mittels BrdU-Antikörperreaktion sollte die Proliferationsrate der Referenztumoren bestimmen.

Zur Auswertung der Ergebnisse wurden Varianzanalysen durchgeführt. Die Referenztumoren der Kontrollgruppe zeigten im zeitlichen Verlauf eine kontinuierliche Zunahme ihrer relativen Radien. Dabei begann ein signifikantes Wachstum ab dem 7. postoperativen Tag. Demgegenüber zeigten die Referenztumoren der Resektionsgruppe eine Wachstumsbeschleunigung, denn hier begann eine signifikante Zunahme ihrer relativen Radien schon ab dem 4. postoperativen Tag. Des Weiteren wurden postinterventionell nach chirurgischer Leberresektion vermehrt extrahepatische Tumormanifestationen im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt.

Die Referenztumoren der Lasergruppe zeigten eine Wachstumsverzögerung, da hier eine signifikante Zunahme ihrer relativen Radien erst ab dem 10. Tag begann. Am 4., 7., 10. und 21. Tag waren diese relativen Radienzunahmen im Vergleich zur Kontroll- und Resektionsgruppe signifikant geringer. Des Weiteren war nach laserinduzierter Thermotherapie die Häufigkeit einer peritonealen Metastasen-aussaat im Vergleich zur Resektions- und Kontrollgruppe vermindert. Immunologisch konnte in der Lasergruppe eine vermehrte Expression der Oberflächenmoleküle CD8, CD54, MHC I und MHC II innerhalb der Tumordinvasionsfront der Referenztumoren nachgewiesen werden. Die Proliferationsrate der Residualtumorzellen aller drei Therapiegruppen wiesen keine Unterschiede auf.

Anhand der Arbeit wurden in einem geeigneten in-vivo Referenztumormodell der Ratte die Vorzüge der laserinduzierten Thermotherapie (LITT) auf makroskopischer und immunologischer Ebene im Vergleich zur chirurgischen Leberresektion verdeutlicht. Die vorliegende Studie stellt somit die Grundvoraussetzung dar, die Methode der laserinduzierten Thermotherapie (LITT) auf ihre Einsatzmöglichkeit als potentiell kuratives Therapieverfahren maligner Lebermetastasen kolorektaler Karzinome zu evaluieren.

## Summary

### **The influence of laserinduced thermotherapy (LITT) on the growth of residual intrahepatic tumors compared with liver resection**

The aim of this study was to examine the influence of laserinduced thermotherapy on the growth of residual intrahepatic tumors in rats using a liver metastases animal model, in comparison with surgical resection. It was to verify the hypothesis, if the laserinduced thermotherapy (LITT) in contrast to liver resection will not cause an increased growth of residual tumor parenchyma because of the smaller trauma and the renunciation of a large removal of healthy liver tissue, and if the LITT induces a cellular immune response against the vital intrahepatic tumor tissue because of the destroyed tumor tissue left in-situ.

Therefore tumors were induced both in the left liver lobe (tumor of treatment) and the right liver lobe (tumor of reference) of male WAG rats using a standardized tumor-cell suspension method. The tumor tissue in the left liver lobe was treated by the corresponding procedures, whereas the tumor in the right liver lobe remained untreated and served as a control for follow-up studies. Seven days after the implantation the animals were randomized into three groups of examination: in the group of LITT a complete tumor ablation of the treated tumor in the left liver lobe was carried out by the laserinduced thermotherapy (LITT), in the group of resection an anatomic resection of the tumor as hemihepatektomia left was performed and in the control group a sham treatment was carried out. In all groups of therapy a measuring of the tumors was performed. 1, 2, 4, 7, 10 and 21 days after the treatment five rats of every group were relaparotomized. The size of the axial and radial diameter of the tumors of reference and treatment was measured, formalin- and cryoasservations of tissue samples of the tumors of reference and treatment and the documentations of peritoneal metastasis were made. The paraffin slices were colored by haematoxylin-eosin-coloring (HE) and were analysed by regarding their morphological structures. The detection of the surface molecules CD8, CD54, MHC I and MHC II by APAAP-reaction of the cryostat slices was chosen in order to document the immunological status of the tumors of

reference after the different therapy procedures. The detection of BrdU-incorporation by BrdU-antibody-reaction was necessary to determine the rate of proliferation of the tumors of reference.

To evaluate the results varianz analyses were performed. In the control group the tumors of reference showed a continuous increase in tumor radii in the temporal course. There a significant growth began on the seventh postoperativ day. In contrast, the tumors of reference of the group of resection showed an increased growth rate, since a significant growth increase of their radii began on the fourth postoperative day. Additionally, after surgical liver resection more extrahepatic tumor metastases were found compared with the control group.

The tumors of reference of the group of the laserinduced thermotherapy showed a decreased growth rate, as a significant increase of their radii only began on the tenth day. On the 4<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day this relative increase of radii were significantly smaller compared with the groups of control and resection. Additionally, after laserinduced thermotherapy the spread of extrahepatic metastases was reduced compared with the groups of control and resection. In the group of laserinduced thermotherapy an extended expression of the surface molecules CD8, CD54, MHC I, and MHC II was found in the invasion front of the tumors of reference. The rates of proliferation of the residual tumor cells of all three groups of therapy showed no differences.

This study shows the advantage in macroscopic and immunologic levels of the laserinduced thermotherapy (LITT) using a suitable in-vivo model of reference tumors in rats compared with the liver resection. Therefore the study is the fundamental principle of the evaluation of the method of the laserinduced thermotherapy (LITT) as a curative therapy of malignant liver metastases of colorectal carcinoma.