

4 Diskussion

Ein bisher ungeklärtes Problem bei der laserinduzierten Thermotherapie stellt der Einfluss der hepatische Blutperfusion dar. Durch die kontinuierliche arterio/portalenöse Perfusion des Gewebes wird insbesondere in Bereichen mit ansteigendem Gefäßdurchmesser und hoher Gefäßdichte ein undefinierter Anteil der interstitiell eingebrachten Energie (Wärme) nach zentral abgeleitet (33). Die Geschwindigkeit des Wärmetransfers zwischen Gewebe und Blutgefäßsystem wird vor allem durch die Beschaffenheit der Blutgefäße bestimmt. Dabei spielt die Anzahl, die Länge, die Größe und der Durchmesser der Blutgefäße sowie die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes eine wichtige Rolle (90). CREZEE beschrieb den Zusammenhang zwischen der Tumorperfusion und Erwärmung des Tumorgewebes unter systemischer Hyperthermie. Dabei gilt, daß die Wärmeinduktion im Tumor von der Gefäßdichte im Tumor abhängig ist. Je gefäßreicher ein Tumor ist, desto leichter ist die Wärmeinduktion im Tumor und in Analogie dazu „kühlt“ das Tumorgewebe mit hoher Gefäßdichte nach Hyperthermie schneller ab. Dieser Temperaturtransfer ist bei großem Gefäßendurchmesser bzw. Gefäßen mit einer hohen Strömungsgeschwindigkeit besonders stark ausgeprägt und um so schneller, je größer der Temperaturgradient zwischen Tumorgewebe und Blut ist (22,44). Bei der LITT wird der von zentral nach peripher nachweisbare perfusionsabhängige Temperaturgradient als „Cooling Effekt“ (25). Je größer die Tumore sind, desto höher ist der Gefäßreichtum (75). Problematisch dabei ist, daß maligne Tumore insbesondere in der Peripherie eine hohe Tumorzellproliferation aufweisen, wohin gegen im Tumorzentrum häufiger sogenannte Tumorspontannekrosen nach zu weisen sind. Experimentell konnte gezeigt werden, daß lokale Tumorrezidive nach unvollständiger LITT einerseits in der Übergangszone von metastatischem zu normalem Gewebe (extraläsionär) andererseits aber auch innerhalb des Koagulationsvolumens (intraläsionär) entstehen können. Dabei nehmen die Rezidive histologisch ihren Ursprung in stark perfundierten Gewebeabschnitten (Periportalfelder/Zentralvenen), was die Bedeutung des „Cooling Effektes“ bei der Rezidiventstehung unterstreicht (42).

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Gewebepfusion ist die differente Blutversorgung von metastatischem und gesundem hepatischem Gewebe. Neben

der arteriellen Versorgung über die A. hepatica wird das Lebergewebe zu etwa 2/3 von dem venösen Blut der V. porta perfundiert (19,48). Dagegen werden Lebermetastasen fast ausschließlich arteriell über Äste der A. hepatica versorgt (1,83). Experimentelle Daten zeigen nach selektiver Okklusion der A. hepatica eine Reduktion der Tumorgewebeperfusion um 70% (1,49,74), wobei die Perfusion des gesunden Lebergewebes nur geringfügig beeinträchtigt wird (2). Nach selektiver Okklusion der Vena portae resultiert dagegen lediglich eine Reduktion der Tumorgewebeperfusion um 30% (1,74). Diese pathophysiologischen Tatsachen bilden die Grundlage für Überlegungen, die Effektivität der LITT, durch eine Kombination mit einer spezifischen temporären Perfusionsunterbrechung zu steigern.

Eine Möglichkeit der Perfusionsunterbrechung im Tumor- und Lebergewebe stellt das sogenannte „Pringle-Manöver“ dar. Dabei wird das gesamte Lig. hepatoduodenale mit allen beinhaltenden Strukturen (Vena portae, A. hepatica und Ductus choledochus) durch ein Torniqué passager angeschlungen und okkludiert. Eine kontinuierliche Okklusion kann in der humanen Leberchirurgie bis zu 120 Minuten toleriert werden (7), ein intermittierendes Pringle-Manöver wurde von Sakamoto et al sogar über 300 Minuten durchgeführt, ohne dass es zu Leberteilnekrosen kam (65).

Tierexperimentelle Arbeiten von MÖLLER et al. und STURESSON et al. konnten übereinstimmend zeigen, daß die Kombination von LITT mit einem Pringle-Manöver in-vivo zu einem um bis zu 47% vergrößerten Koagulationsvolumens führt. MÖLLER et al. erreichten bei Kombinationstherapie mit LITT (blanke Quarzfaser, 3 W, 25 Minuten) und Pringle-Manöver bei experimentellen Lebermetastasen der Ratte signifikant höhere Temperaturmaxima am Tumorrand als mit der Monotherapie LITT (55°C versus 45°C). Entsprechend waren die induzierten Läsionsvolumina mit 17 mm vs. 23 mm bei der Kombinationstherapie signifikant größer als bei der Monotherapie (55,56). Unklar ist dabei, welcher Anteil bei diesem Effekt der passageren Okklusion der A. hepatica und/oder welcher Anteil der passageren Okklusion der V. porta zugeschrieben werden muß. Eine weitere Möglichkeit der passageren Okklusion der A. hepatica ist die Mikroembolisation des kapillären Tumorbettes mittels i. a. Applikation von Stärkemikrosphären (DSM=Degradable Starch Microspheres; Spherex®) (36) A. hepatica. Diese Substanz besteht aus Stärkepartikeln mit einem mittleren

Durchmesser von 60 μm und verursacht durch Okklusion der Endstrombahn eine Minderung des Blutflusses (80). Da die Stärkemikosphären von der körpereigenen α -Amylase mit einer Halbwertszeit von 6-10 Minuten vollständig abgebaut werden, ist die Mikroembolisation nach ca. 90 Minuten voll reversibel (85,86). Die Substanz kann über einen intraarteriellen Katheter lokoregionär in die A. hepatica appliziert werden (80). Versuche, die Mikroembolisation als Monotherapie zur Behandlung kolorektaler Lebermetastasen zu nutzen, waren nicht befriedigend (20). Dagegen erscheint die Überprüfung einer Kombinationstherapie eines thermischen in-situ Ablationsverfahren mit einer i. a. Applikation von Stärkemikosphären hinsichtlich der Therapie von soliden Lebertumoren als vielversprechend.

4.1 Zielsetzung der Arbeit

Ziele der vorliegenden tierexperimentellen Studie waren die tierexperimentelle Durchführung einer Kombination von laserinduzierter Thermotherapie (LITT) mit folgenden Varianten einer temporären Perfusionsunterbrechung der Leber:

1. Vollständige Okklusion des Lig. hepatoduodenale (Pringel Manöver)
2. Selektive Okklusion der A. hepatica
3. Selektive Okklusion der V. porta
4. Passagere, selektive Okklusion der A. hepatica durch i. a. Applikation von DSM [Spherex®].

Unter diesen Kombinationstherapien sollten folgende Parameter in-vivo und ex-vivo evaluiert werden:

1. Die Temperaturentwicklung am Tumorrand
2. Das Tumor-/Läsionsvolumen
3. Tumorprogression und Regression
4. Histopathologische Merkmale

Die Zielsetzungen der experimentellen Studie konnten naturgemäß nicht an menschlichen Lebertumoren überprüft werden, so dass ein geeignetes in-vivo Tumormodell gewählt werden mußte. Zum einen sollten bei diesem Modell die technischen Voraussetzungen für eine LITT gewährleistet sein, zum anderen sollte das Tumormodell über die nötige Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit verfügen. Außerdem sollte der metastatische Tumor in seinen tumorbiologischen Eigenschaften denen humaner kolorektaler Lebermetastasen entsprechen (62). Das in verschiedenen Vorversuchen der Arbeitsgruppe etablierte CC-531-Lebermetastasenmodell der Ratte ist ein unilokulär wachsendes Adenokarzinom, welches diese Voraussetzungen in fast idealer Weise erfüllte.

Um im Zielgewebe (Tumor) den bestmöglichen Energietransfer zu erzielen, wurde für die Durchführung der laserinduzierten Thermotheapie ein Nd-YAG Laser gewählt, welcher in Bezug auf die Behandlung kolorektaler Lebermetastasen eine günstige Wellenlänge ($\lambda=1064$ nm) und damit optimale optische Eindringtiefe besitzt (34,63,64). Zusätzlich kam zur Reduktion des Temperaturgradienten an der Energiequelle ein in der eigenen Arbeitsgruppe entwickeltes diffus abstrahlendes Applikationssystem (Diffuser Tip) zur Anwendung (4,64). Um darüber hinaus einen möglichen additiven Effekt einer Kombinationstherapie von LITT mit einer temporärer Gefäßokklusion untersuchen zu können, war es notwendig in Vorversuchen, suboptimale Applikationsparameter der LITT in Bezug auf das standardisierte Tumormodell zu evaluieren (Punkt 2.2.4.1). Als suboptimale Energieparameter erwiesen sich die Applikation von 1200 Joule bei einer Applikationszeit von 600 Sekunden und einer Energie von 2 Watt. Diese Energie wurde entsprechend in allen Folgeversuchen appliziert. Auf diese Weise konnte eine Effizienzsteigerung der LITT durch Kombination mit einer selektiven passageren Gefäßokklusion evaluiert werden. Zusätzlich zu den 5 Versuchsgruppen mit Kombinationstherapie (LITT plus passagerer Gefäßokklusion, Gruppen III-VII), wurden zum Ausschluß eines prädominanten Effektes der Stärkemikrosphären (DSM) sowie zum Vergleich der Befunde mit dem natürlichen Verlauf des CC531 Tumors die Kontrollgruppen I und II gebildet. Um makroskopisch und histologisch Früh- und Späteffekten innerhalb der Gruppen zu detektieren, erfolgte zusätzlich eine Unterteilung der Versuchsgruppen (Gruppe I-VII) in 3 Untergruppen (A, B, C, entsprechend der Beurteilung nach 24 Stunden, 7 und 21 Tagen).

Da die physiologische Nekrose der Tumore teilweise schwer von der induzierten Koagulationsnekrose zu unterscheiden war, mußte eine Definition der Tumor-/Läsionsvolumina geschaffen werden, die eine Beurteilung über die Effizienz der verschiedenen Therapien erlaubt.

Des weiteren bestand das Problem, dass in den Gruppen I und II keine direkten auswertbaren Koagulationsnekrosen zu erzielen waren, da diese beiden Gruppen als Kontrolle dienten und keine LITT zur Anwendung kam. Aus diesem Grund wurde als Tumor-/Läsionsvolumen das Gewebe zusammengefaßt, welches nicht dem gesunden Lebergewebe entsprach, unabhängig davon, ob die posttherapeutische Läsion kleiner, gleich groß oder größer als der zu behandelnde Tumor war.

Da in der Literatur über die pharmakodynamischen Eigenschaften der Stärkemikrosphären in Tumor- und Lebergewebe nur ungenügende Daten erhältlich waren, wurden vor den Hauptversuchen zum einen die prozentuale Reduktion der Gewebepfusion und zum anderen die Dauer der Gefäßokklusion der Stärkemikrosphären selektiv für das Tumor- und Lebergewebe ermittelt. Bei den eigenen Vorversuchen zeigte sich, dass die Mikroembolisation im Tumorgewebe mehr als eine Stunde anhält, so dass diese Zeit für die LITT genügend lang ist.

Zur histologischen Auswertung wurde die Hämatoxylin-Eosin-Färbung der formalinfixierten Schnittpräparate gewählt, um einen charakteristischen Eindruck über die mögliche Veränderung der Morphologie der Läsion und des Leberparenchyms im zeitlichen Verlauf zu erkennen.

Korrelierend erfolgte die Dedektion der in-vivo 5-Brom-2-deoxy-uridin (BrdU)-Expression unter Verwendung eines monoklonalen Anti-BrdU-Antikörpers und eines Enzym gekoppelten Sekundärantikörpers, um eine Aussage über den Effekt der Therapieverfahren auf die postinterventionelle Proliferationsrate der Tumorzellen im Bereich der Invasionsfront und intratumorös sowie der Hepatozyten im Leberparenchym treffen zu können

Im folgenden werden die erzielten Ergebnisse einzeln diskutiert.

4.2 Die Temperaturentwicklung am Tumorrand

In den eigenen Versuchen stieg die Temperatur bei der Gruppe III bis auf durchschnittlich 42,7 °C am Ende der Applikation an, was einer Temperaturerhöhung im Tumor von Beginn der Laserung von 15,8 °C bedeutete.

Bei einer vollständigen Unterbrechung der Blutversorgung (Gruppe V) resultierte der höchste Anstieg des Temperaturmaximums, nämlich auf 49,8 °C, was einer Temperaturerhöhung von 23,3 °C entspricht.

Bei der selektiven Unterbrechung der A. hepatica stieg das Temperaturmaximum auf 45,2 °C, bei der selektiven Unterbrechung der Vena portae auf 47,6 °C. Dies entspricht im Verhältnis zur Gruppe III eine Erhöhung des Temperaturanstiegs um 33% bzw. 43,5%. Somit zeigte sich, dass durch die Reduktion des „cooling effects“ ein signifikanter Anstieg der induzierten Temperaturen zu erreichen ist.

Bei der Gruppe IV konnte ein Temperaturanstieg auf lediglich 43,9 °C gemessen werden. Dies entspricht im Verhältnis zur Gruppe III einer Steigerung von nur 1,2 °C. Diese Ergebnisse blieben weit unter den Erwartungen, allerdings fand die Temperaturmessung am Tumor-Leber-Übergang statt, wo die venöse Blutversorgung wieder eine größere Rolle spielt. Dies erklärt auch die Tatsache, dass die Maximaltemperaturen in der Gruppe VII größer sind als die der Gruppe VI. Die eigenen Vorversuche zeigen aber, dass die embolisierende Wirkung der Stärkemikrosphären viel länger im Tumorgewebe wirkt. Diese Ergebnisse werden auch von SHIBASAKI et al. bestätigt (73). Die Autoren beobachteten nach i.a. Applikation von DSM eine vollständige Reversibilität der Perfusion im gesunden Lebergewebe nach 36 Minuten, im Tumorgewebe allerdings erst nach 70 Minuten. Ob die Messung der Temperatur im Zentrum des Tumorgewebes - dem Gebiet der größeren arteriellen Versorgung - bei der Gruppe IV und der Gruppe V größere Temperaturanstiege ergeben hätte bleibt Spekulation.

Dass die maximal erreichbare Temperatur bei der Gruppe IV 1,3 °C unter dem Temperaturmaximum der Gruppe V liegt, wird am ehesten durch die Beobachtungen der Vorversuche erklärt. So zeigte die Messung der Perfusion nach i.a. Gabe von DSM, dass der Blutfluss nach 15 Minuten, also am Ende der Laserapplikation, im Tumorgewebe verglichen mit der Ausgangsperfusion wieder zu 10%, im Lebergewebe zu 45% bestand. So ergab sich im Gegensatz zur

Gruppe V am Ende der Applikation keine vollständige Stase im kapillären System mehr, so dass wieder ein geringer „cooling effect“ eintrat.

4.3 Das Tumor-/Läsionsvolumen

Aufgrund der gewählten Versuchsbedingungen waren die Tumoren aller Gruppen zum Zeitpunkt der Intervention mit durchschnittlich 615 mm^3 gleich groß. 24 Stunden postinterventionell kam es in den Gruppen I, II, III und IV nicht zu einer signifikanten Veränderung der Tumor-/Läsionsvolumina. In den Gruppen V, VI und VII stiegen die Tumor-/Läsionsvolumina durchschnittlich mit 4095 mm^3 , 3283 mm^3 und 1095 mm^3 signifikant an. Im Beobachtungszeitraum von 21 Tagen nahmen die durchschnittlichen Tumor-/Läsionsvolumina der Gruppen I, II, III und VII signifikant zu, die der Gruppen IV, V und VI signifikant ab.

Eine Verkleinerung des Tumor-/Läsionsvolumens bei erfolgreicher LITT wurde bei anderen Autoren ebenfalls beobachtet. MATTHEWSON et al. beobachteten bei Ratten nach einer LITT in einer gesunden Leber nach 60 Tagen eine Größenabnahme der induzierten Läsion von maximal 16 mm auf 2 mm (52). ISBERT induzierte mittels LITT in gesunden Hasenlebern Läsionen und beschrieb, dass sich diese nach 28 Tagen um 41,25% verkleinerten (41). Die Verkleinerung beruht dabei auf den pathophysiologischen Gesetzen beim Abbau von nekrotisiertem Gewebe (39).

Zu einer Vergrößerung der Läsion kam es in den eigenen Versuchen bei drei Gruppen:

Das durchschnittliche Tumor-/Läsionsvolumen der Kontrollgruppen (Gruppe I und II) sowie der Gruppe III vergrößerte sich signifikant im Beobachtungszeitraum von 21 Tagen. Aufgrund der gewählten technischen Voraussetzungen der suboptimalen Therapie war die Größenzunahme der Gruppe III auch zu erwarten, allerdings konnte vergleichend mit der Gruppe I eine signifikante Wachstumsreduktion beobachtet werden. MÖLLER et al. konnten zeigen, dass eine suboptimale laserinduzierte Thermotheapie (44°C über 30 Minuten) im Vergleich zur „Scheinbehandlung“ zu einer etwa 50%igen Reduzierung des Tumorwachstums führt (56). Es wird dabei diskutiert, ob bei der LITT die verstärkte Expression von immunologisch relevanten Molekülen eine positive Wirkung gegen bestehende vitale Resttumore haben könnte (12,23).

Auch in der Gruppe II war vergleichend mit der Gruppe I eine signifikante Wachstumsreduktion zu erkennen. Diese Ergebnisse können durch die Untersuchungen von TEDER et al. erklärt werden. Die Autoren zeigten, dass die alleinige i.a. Applikation von DSM zu einer Senkung von energiereichen Phosphaten sowie der DNA-Synthese im Tumor führt, die Syntheseleistung und der Energiestatus der Leber dabei gleichzeitig unbeeinflusst bleibt (85).

In der Gruppe VI kam es 24 Stunden postinterventionell nicht zu einer signifikanten Veränderung der durchschnittlichen Tumor-/Läsionsvolumina. Im Laufe von 21 Tagen kam es zu einer signifikanten Reduktion des durchschnittlichen Tumor-/Läsionsvolumens, was auf einen vollständigen Tumorregress hinweist. In den Gruppen V, VI und VII konnte hingegen 24 Stunden postinterventionell, verglichen mit den präinterventionellen Läsionen, eine signifikante Zunahme der durchschnittlichen Tumor-/Läsionsvolumina beobachtet werden. Diese Beobachtung machten auch mehrere andere Autoren. ALBRECHT et al. konnten in der gesunden Schweineleber während der Unterbrechung der hepatischen Perfusion bei einer Einzelapplikation eine signifikante Steigerung des akuten Läsionsvolumens von $2,5 \text{ cm}^3$ auf $3,6 \text{ cm}^3$, also um ca. 40 %, erreichen (4). MÖLLER et al. erzielte während eines Pringle-Maneuvers akute Läsionsvolumina die um den Faktor 2 größer waren (55).

Die eigenen Ergebnisse sowie die Daten der Literatur demonstrieren, dass der durch die Blutperfusion hervorgerufene Kühleffekt eine signifikante Einflussgröße auf das induzierbare Läsionsvolumen darstellt. Es scheint dabei, als würden die maximal induzierbaren Temperaturen mit der Größe der Läsionsvolumina korrelieren.

Im zeitlichen Verlauf konnte in den Gruppen V, VI und VII zwar durchschnittlich eine signifikante Abnahme des Tumor-/Läsionsvolumens beobachtet werden, allerdings zeigten einzelne Läsionen der jeweiligen Gruppen eine Größenzunahme. Diese Daten zeigen, dass der Verlauf der Tumor-/Läsionsvolumina nur Hinweise auf das Tumorwachstumverhalten geben kann. Beweisen kann dies allerdings erst die histologische Analyse der behandelten Tumoren.

4.4 Histopathologische Merkmale

Bei der histopathologischen Untersuchung zeigte der unbehandelte Tumor etwa die gleichen Eigenschaften und Merkmale wie eine humane kolorektale Metastase. In der Kontrollgruppe II zeigten sich in der HE-Färbung fokal im Bereich des Tumors irregulär verteilt, indirekte Anzeichen des irreversiblen Zellschadens. Die BrdU-Expression ließ sich postinterventionell nur fokal im Bereich peripherer Tumoranteile nachweisen. Die Präparate der Gruppe III zeigten Zentral deutliche Zeichen der hyperthermischen Zellschädigung. Peripher konnten jedoch deutlich vitale Regionen nachgewiesen werden. Lediglich in der Gruppe IV zeigte der gesamte Tumor kein vitales Gewebe mehr. Im zeitlichen Verlauf konnte zwischen Leber und Tumorgewebe im Bereich der Übergangzone ein bindegewebiger Saum nachgewiesen werden. Dieses Phänomen konnte auch in den Präparaten der Gruppen V, VI und VII nachgewiesen werden. Allerdings zeigten sich in allen drei Gruppen in einigen Präparaten vitale Tumorzellen.

In den Versuchen von ISBERT et al. zum Regenerationsverhalten laserinduzierter hepatischer Läsionen im zeitlichen Verlauf ließen sich 72-96 Stunden nach Laserapplikation im Bereich der Übergangzone mit der Proliferation von Fibroblasten, Gallengängen und Endothelien zu Beginn einer mesenchymalen Organisation erkennen (41). Auch in den eigenen Versuchen konnte bei einer histologisch gesicherten vollständigen Zerstörung des Tumorgewebes das gleiche Regenerationsverhalten beobachtet werden. Es konnten bei den Versuchen ebenso die vier verschiedenen Phasen der Wundheilung nach HOFSTÄDTER beobachtet werden. Es ließen sich dabei die exudative Phase unmittelbar nach der Laserapplikation, die resorptive Phase 24 Stunden nach der Laserapplikation, die proliferative Phase 7 Tage nach Laserapplikation und die regenerative Phase 21 Tage nach der Laserapplikation beobachten (39). Allerdings zeigte sich, dass dieses Regenerationsverhalten nur dann auftrat, wenn die Läsion an das gesunde Lebergewebe angrenzte. Grenzte die Läsion an nicht hyperthermiertes Tumorgewebe, so sind die bindegewebigen Veränderungen nicht zu beobachten gewesen.

In der Gruppe III wurden die Parameter so gewählt, dass nur eine suboptimale Thermo-therapie auf die Tumoren einwirkte. Man konnte aber deutlich erkennen,

dass die Proliferationsrate am Tumorrand deutlich geringer war als am unbehandelten Tumor, obwohl die Morphologie dieser Tumorzellen normal erschien. Über die möglichen Gründe wurde schon anhand der Arbeit von Börner diskutiert. Es fiel bei der histologischen Analyse jedoch auf, dass in der Zentralzone dieser Gruppe im Bereich von größeren Gefäßen noch viele vital erscheinende Tumorzellen vorhanden waren. MATTHEWSON et al. und weitere Autoren erklärten diese Phänomene mit dem cooling-effect dieser Gefäße (52). Erstaunlicherweise zeigten sich vitale Tumorzellen auch in den Gruppen V, VI und VIII. In den Gruppen VI und VII könnte dies durch die Tatsache erklärt werden, dass nur die A. hepatica respektive die V. portae verschlossen waren. In der Gruppe V waren jedoch beide Gefäße während der gesamten Intervention verschlossen. Daher resultierten die höchsten Temperaturmaxima und die größten Tumor-/Läsionsvolumina. Trotzdem waren auch in dieser Gruppe vereinzelt vitale Zellen zu erkennen. Es scheint also, als ob unter den gegebenen Versuchsbedingungen keine optimale Therapie zu erzielen sei. Betrachtet man aber vergleichend die Präparate der Gruppe IV, so sind in allen Fällen in der gesamten Läsion keine vitalen Tumorzellen mehr zu erkennen. Somit stellt sich natürlich die Frage, warum bei geringeren Temperaturmaxima und damit kleineren Tumor-/Läsionsvolumina in dieser Gruppe ein vollständiger Tumorregress zu erzielen war, während dies in der Gruppe V nicht möglich war. Da die Versuchsparameter ansonsten gleich waren, kann als Erklärung nur die Dauer der Perfusionsminderung angesehen werden, da das Mikroembolisat sehr viel länger embolisierend wirkte als die okkludierende Wirkung des Pringle-Manövers. Diese Theorie kann auch durch die Beobachtung bestärkt werden, dass auch nach der alleinigen i.a. Applikation von DSM eine deutliche Schädigung des Tumorgewebes erzielt werden konnte. Gleichzeitig blieben die Hepatozyten unbeeinflusst. Die mögliche additive Wirkung der länger andauernden Hypoxie mit der Hyperthermie kann, wie später ausführlich diskutiert wird, mit der Abnahme energiereicher Phosphate erklärt werden.

4.5 Tumorprogression und Regression

In der Gruppe I kam es bei allen Tieren histologisch zu einem Tumorprogress. In den Gruppen II und III traten jeweils bei 14 Tieren ein Tumorprogress auf. In der Gruppe IV zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein Tumorrezidiv und in den Gruppen V, VI und VII kam es bei 4, 5 und 7 Tieren zu einem Tumorrezidiv.

Da die Tumore der Gruppe I nicht, und die Gruppe III nur suboptimal therapiert wurden ist die Anzahl der Rezidive nicht verwunderlich. Die Ergebnisse der Gruppe II verdeutlichen, dass eine alleinige passagere Mikroembolisation der Leber nicht zu einer vollständigen Zerstörung der Metastasen führt, jedoch durch die Perfusionsunterbrechung die Tumorzellen stark geschädigt werden.

Erstaunlicherweise konnte nur in der Gruppe IV bei allen Versuchstieren histologisch ein vollständiger Tumorregress beobachtet werden, obwohl in dieser Gruppe die niedrigsten Temperaturmaxima und die kleinsten Tumor-/Läsionsvolumina erzielt wurden. Zu beachten ist jedoch, dass in allen Gruppen die Temperaturmessungen nur an dem Tumor/Leber-Übergang erfolgten. MATTHEWSON et al. sowie WHELAN et al. beobachteten während der laserinduzierten Thermotheapie an Rattenlebern eine nicht-uniforme Temperaturverteilung im Gewebe (96). Insbesondere zeigte sich bei einem Temperaturmaximum von 55°C eine Temperaturdifferenz von bis zu 10°C in der unmittelbaren Umgebung von intrahepatischen Blutgefäßen. In den entsprechenden Bereichen entstanden Areale, in denen die irreversiblen Zellschäden deutlich weniger ausgeprägt waren (52). Demzufolge unterliegen die Zellen der unmittelbaren Umgebung größerer Gefäße einer Protektion. Diese Beobachtungen konnten auch in den eigenen Versuchen gezeigt werden. Allerdings konnte diese Protektion in den Gruppen V, VI und VII trotz Reduktion bzw. Elimination der Gewebepfusion nicht vollständig aufgehoben werden. Erklärt wird dieses Phänomen wahrscheinlich über die Dauer der Intervention, da bei der Kinetik des Zelltods während der Hyperthermie nicht nur die induzierbaren Temperaturmaxima eine Rolle spielen, sondern auch die Zeit, in welcher die Temperatur einwirken kann. So resümierte BHUYAN in seiner Übersichtsarbeit, dass in Abhängigkeit verschiedener Tumorzelltypen eine induzierte Temperatur von 43°C zwischen 30 und 150 Minuten einwirken muss, um 90 % der Tumorzellen irreversibel zu schädigen. Bei einer Temperatur von

45°C sind es zwischen 13 und 85 Minuten (10). Diese Beobachtung machte auch MÖLLER et al., der bei einer LITT an einem Rattentumormodell bei einer Temperatur von 43°C über 30 Minuten eine vollständige Zerstörung der Tumore, bei einer Temperatur von 46°C über lediglich 10 Minuten jedoch bei 2 von 8 Tieren ein Tumorrezidiv beobachtete (55). Somit ist erklärbar, dass es in den eigenen Versuchen auch in der Gruppe V trotz maximal induzierbaren Temperaturen von mehr als 47°C zu Tumorrezidiven kam. Die Applikation dauerte lediglich 10 Minuten. Theoretisch hätte es also auch in der Gruppe IV zu Rezidiven kommen müssen, da die induzierten Temperaturen noch geringer waren. Dass dies nicht der Fall war, ist demnach der Kombination der LITT mit den Mikrosphären zuzuschreiben. Ob über die Verminderung des Kühleffektes des Blutflusses während der LITT hinaus eine *hypoxiebedingte Steigerung der Thermosensitivität* der Tumorzellen durch die Unterbrechung der hepatischen Perfusion resultiert, ist derzeit jedoch spekulativ. Bekanntermaßen führt eine Hypoxie, verbunden mit einem Absinken des pH-Wertes und Energiestatus der Zelle, zu einer erhöhten Thermosensitivität (51,57). Dabei nimmt die Thermosensitivität mit der Größe eines Tumors zu (47).

WANG et al. konnten in einem Rattentumormodell zeigen, dass erst eine 2 Stunden dauernde Unterbrechung des arteriellen Blutstroms der Leber zu einem deutlichen Abfall der Energieträger der Tumorzellen (Adenosin-triphosphat, Uridintriphosphat und Guanodin-5'-Triphosphat) und deren DNA-Spiegel führte, während durch eine Unterbrechung von 30 Minuten dieser Effekt nicht induziert werden konnte (95). In den Experimenten von STURESSON et al. betrug die komplette Abklemmzeit der hepatischen Blutperfusion nie mehr als 30 Minuten. Folglich konnten die Autoren auch keine Steigerung der Thermosensitivität beobachten (78). Ähnlich verhält es sich in den eigenen Versuchen, in denen in der Gruppe IV trotz kleinerer Tumor-/Läsionsvolumina die wenigsten Tumorrezidive zu erkennen waren. So betrug die Perfusionsreduktion der Gruppen V, VI und VII nie mehr als 30 Minuten, die embolisierende Wirkung der Stärkemikrosphären der Gruppe IV allerdings mehr als 70 Minuten. Die hypoxische Wirkung der Mikroembolisation mittels Stärkemikrosphären wird auch durch die Beobachtung gestützt, dass es in der Gruppe II vergleichend mit der Gruppe I zu einer signifikanten Wachstumsverzögerung des Tumorgewebes kam.

Insgesamt können die eigenen Daten nicht ohne weiteres mit den Daten der Literatur verglichen werden, da bei den genannten Autoren die LITT während der Perfusionsminderung nur in der gesunden Leber erforscht wurde. Die Perfusionsverhältnisse im gesunden Lebergewebe und im Tumorgewebe unterscheiden sich wie oben beschrieben jedoch wesentlich, so dass diese Studie erstmals die Effektivitätssteigerung der laserinduzierten Thermotherapie während der Reduktion der Leber- und Tumorperfusion im Lebermetastasenmodell aufzeigt.

4.6 Schlußfolgerung

Zusammenfassend ergeben sich für die verschiedenen Variationen der Kombinationstherapie von LITT mit passagerer Gefäßokklusion folgende Schlussfolgerungen:

- Die Temperaturentwicklung am Tumorrand steigt nach i. a. Applikation von Stärkemikrosphären (Gruppe IV) sowie nach Pringle-Manöver (Gruppe V) im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Gefäßokklusion (Gruppe III) signifikant an.
- Das Koagulationsvolumen ist nach Pringle-Manöver signifikant größer als in allen anderen Versuchsgruppen und das Koagulationsvolumen nach i. a. Applikation von Stärkemikrosphären ist im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Gefäßokklusion unverändert.
- Nach i. a. Applikation von Stärkemikrosphären sowie nach Pringle-Manöver kommt es im Vergleich zu allen anderen Gruppen zu einer fast vollständigen Tumorregression
- Nach i. a. Applikation von Stärkemikrosphären ist histopathologisch eine vollständige auf das Tumorgewebe beschränkte Koagulationsnekrose erkennbar. Insbesondere in Bereichen mit hoher Perfusionsdichte (Portalfeld) zeigen sich im Gegensatz zur Kontrollgruppe ohne Gefäßokklusion keine vitalen Tumorzellen mehr.

Die vorliegende tierexperimentelle Studie stellt die Grundvoraussetzung dar, die laserinduzierten Thermotherapie in Kombination mit einer passageren Gefäßokklusion im klinischen Einsatz zu erproben, da durch diese Modifikation möglicherweise auch klinisch die Effektivität der Methode steigerbar ist.