

4. Ergebnisse

4.1. Ex-vivo-Versuchsreihe

4.1.1. Makroskopischer Aspekt

In allen Versuchen konnten makroskopisch eindeutig erkennbare Koagulationsläsionen erzeugt werden. Die Läsionen hoben sich unmittelbar nach Laserapplikation gut von dem umgebenden Gewebe ab, sowohl in der bräunlichen Farbe, als auch in der festeren Konsistenz. Es grenzte sich im Randbereich der Läsion ein wenige Millimeter breiter Randsaum ab, dessen Übergang zu dem nicht beeinflussten Gewebe undeutlich war (Abbildung 5). Die Pleura über dem behandelten Areal war trocken und wellig, bisweilen nabelförmig eingezogen, aber immer, auch bei den eher oberflächennah gelegenen Läsionen, in der Kontinuität intakt.

Die Gefäße waren meist ebenfalls nekrotisch, der Gefäßinhalt, gerade bei kleineren Gefäßen, war oftmals geschwärzt. Größere knorpelhaltige Bronchien erwiesen sich als unbeeinflusst, sie erschienen nicht nekrotisch.

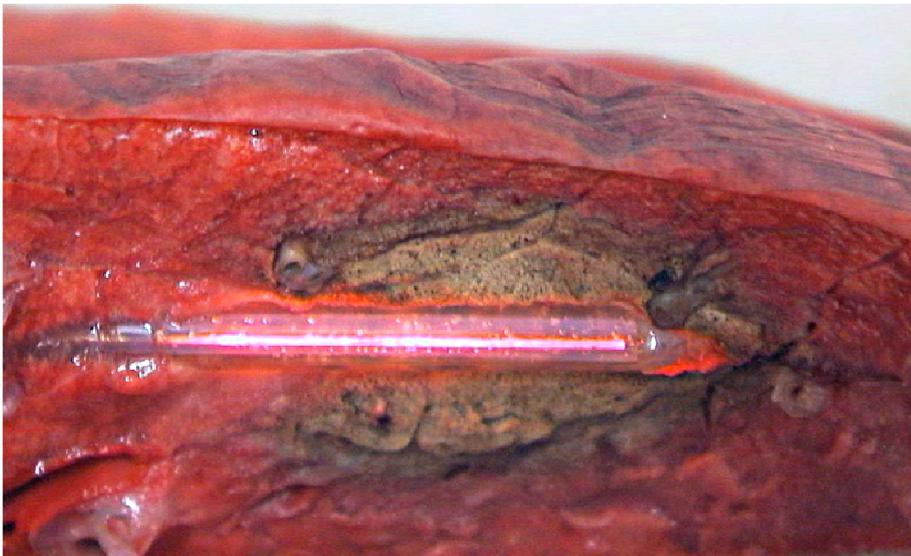


Abbildung 5: axiale aufgeschnittene Läsion (Leistung: 28 Watt, Applikationszeit: 20 Minuten) mit intraoperativem Punktionssystem

Karbonisationen fanden sich bei höheren Leistungen innerhalb der Läsionen in unterschiedlichem Ausmaß. Sehr ausgedehnte Karbonisationen imponierten als Substanzdefekte mit glänzend schwarzer, außerordentlich fester Wandung. In der Versuchsreihe mit dem intraoperativen Punktionssystem traten Karbonisationen vor allem ab einem Leistungsbereich von 28 Watt auf. Unter Verwendung des perkutanen Punktionssystems traten diese reproduzierbar schon ab 22 Watt auf, häufig war das Kathetermaterial ebenfalls geschwärzt. In zwei von drei Messungen wurde die thermische Zerstörschwelle bei 28 Watt erreicht (Abbildung 6), was zum Abbruch dieser Messungen führte.



Abbildung 6: ausgedehnte Karbonisation unter Verwendung des perkutanen Punktionssystems (10 Minuten, 28 Watt). Das Punktionssystem wurde bei dieser Messung zerstört, erkennbar an der ausgetretenen Spülflüssigkeit und der abgelöstem Katheterspitze in der Karbonisationshöhle

4.1.2. Läsionsvolumina und deren Einflussgrößen

4.1.2.1. Intraoperatives Punktionssystem

Leistung (Watt)

In der Darstellung der Ergebnisse für das intraoperative Punktionssystem bei konstanter Applikationszeit und Erhöhung der applizierten Leistung (Watt) (Abbildung 7, Tabellen 3 bis 5) zeigte sich ein plateauartiger Verlauf der Dosis-Wirkbeziehung. Die Steigerung der Leistung von 20 Watt auf 22 Watt bewirkte eine nicht signifikante Zunahme des Läsionsvolumens (bei 15 Minuten von $3,46 \text{ cm}^3 \pm 0,57 \text{ cm}^3$, diametraler Durchmesser $17,6 \text{ mm} \pm 1,95 \text{ mm}$) (20 Watt) auf $4,59 \text{ cm}^3 \pm 1,21 \text{ cm}^3$, diametraler Durchmesser $19,4 \text{ mm} \pm 2,70 \text{ mm}$ (22 Watt)), die Steigerung von 22 Watt auf 25 Watt bewirkte in allen 3 Zeitstufen ein signifikant größeres Läsionsvolumen (bei 15 Minuten Steigerung des Läsionsvolumens auf $6,96 \text{ cm}^3 \pm 0,88 \text{ cm}^3$, diametraler Durchmesser $21,8 \text{ mm} \pm 1,10 \text{ mm}$). Bei den darauffolgenden Leistungsstufen war keine signifikante Veränderung des Läsionsvolumens zu sehen, regelhaft bei 28 Watt gab es gegenüber dem Volumen bei 25 Watt eine nicht signifikante Einbusse an induzierbarem Volumen. Das größte Volumen wurde bei einer Applikationsdauer von 20 Minuten und einer Leistung von 32 Watt erzielt: $11,03 \text{ cm}^3 \pm 2,54 \text{ cm}^3$, diametraler Durchmesser $25,6 \text{ mm} \pm 2,51 \text{ mm}$.

Energie

In der Abhängigkeit der Läsionsvolumina von der applizierten Energie (Joule) (Abbildung 8) zeigte sich unter Zuhilfenahme der Lowess-Methode, dass in dem untersuchten Energiebereich kein Plateau auftrat.

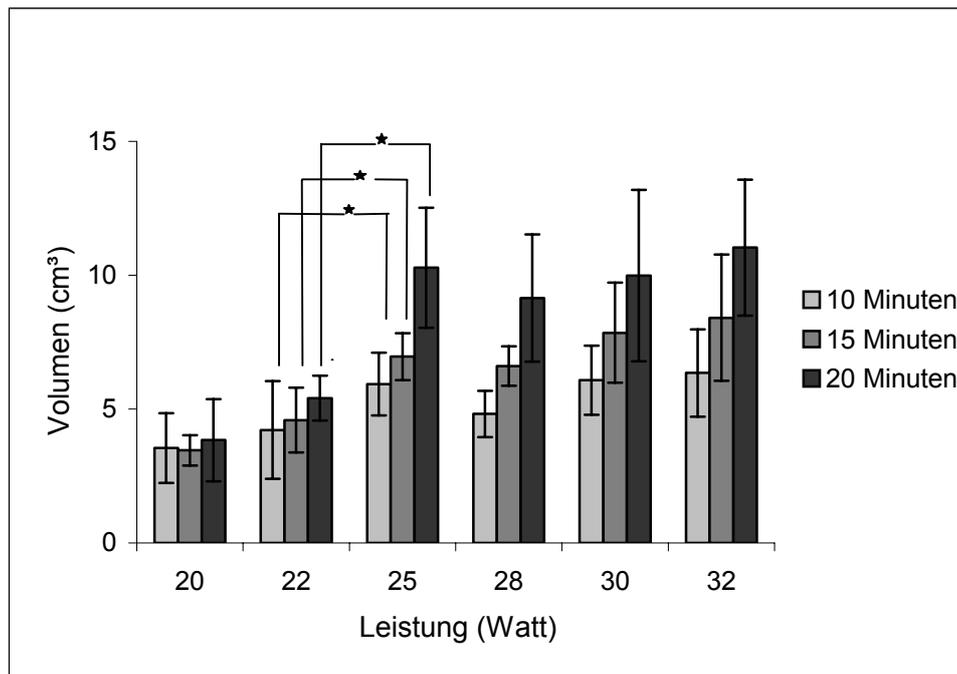


Abbildung 7: Darstellung der Läsionsvolumina in Abhängigkeit von der Leistung aufgetrennt nach der Applikationsdauer für das intraoperative Punktionssystem. Darstellung der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen.

Applikationsdauer

Die Verlängerung der Applikationsdauer (Minuten) (Abbildung 9) bewirkte bei den Leistungsstufen 20 Watt und 22 Watt keine wesentliche Größenzunahme der Läsion, bei höheren Leistungsstufen war die Größenzunahme deutlich. Signifikant größere Läsionsvolumina ließen sich durch eine Steigerung der Applikationsdauer von 15 Minuten auf 20 Minuten bei 25 Watt erzielen ($6,96 \text{ cm}^3 \pm 0,88 \text{ cm}^3$ vs. $10,28 \text{ cm}^3 \pm 2,24 \text{ cm}^3$), bei 28 Watt lieferte auch die Steigerung von 10 Minuten auf 15 Minuten ein signifikant größeres Volumen (28 Watt, 10 Minuten: $4,82 \text{ cm}^3 \pm 0,87 \text{ cm}^3$, 15 Minuten: $6,61 \text{ cm}^3 \pm 0,74 \text{ cm}^3$, 20 Minuten: $9,15 \text{ cm}^3 \pm 2,38 \text{ cm}^3$).

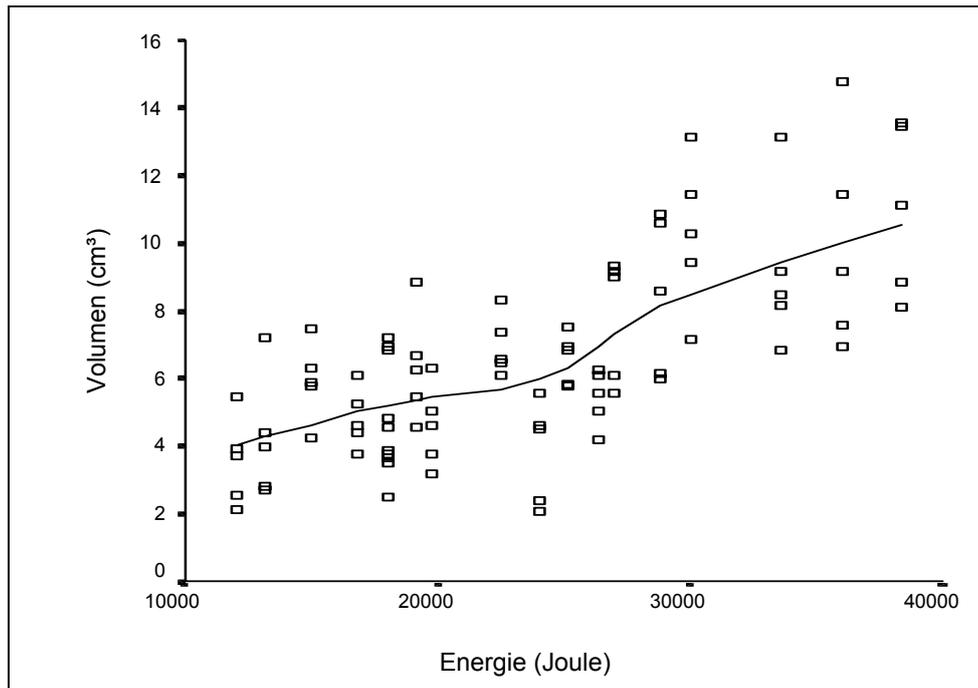


Abbildung 8: Läsionsvolumina in Abhängigkeit von der applizierten Energie. Darstellung der Einzelwerte für das intraoperative Punktionsystem. Regressionsanalyse als Lowess-Funktion.

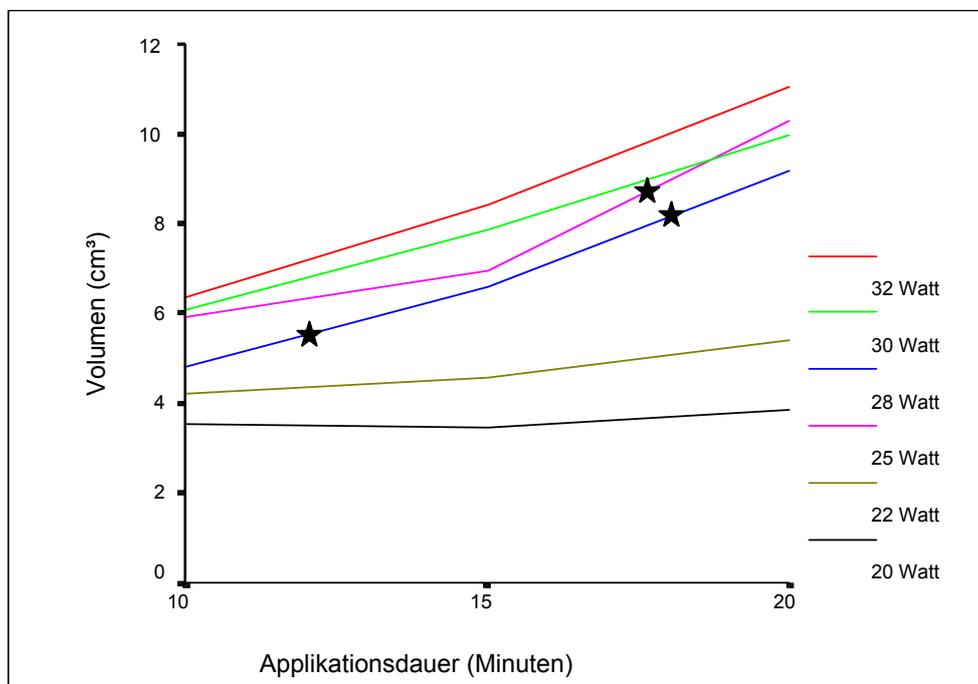


Abbildung 9: Darstellung der Läsionsvolumina (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Applikationsdauer, aufgetrennt nach verschiedenen Leistungsstufen. Intraoperatives Punktionsystem. Sternchen kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede.

Tabelle 3: Intraoperatives Punktionssystem, Applikationsdauer: 10 Minuten

Leistung (W)	Volumen (cm³)	Durchmesser axial (mm)	Durchmesser diametral (mm)
20	3,55 ± 1,30	21,2 ± 3,38	17,6 ± 1,67
22	4,22 ± 1,82	20,6 ± 1,52	19,4 ± 3,51
25	5,93 ± 1,17	28,2 ± 4,87	20,2 ± 3,11
28	4,82 ± 0,87	22,4 ± 2,07	20,2 ± 1,10
30	6,08 ± 1,29	25,8 ± 3,90	21,2 ± 2,28
32	6,35 ± 1,63	28,2 ± 3,63	20,6 ± 1,52

Tabelle 4: Intraoperatives Punktionssystem, Applikationsdauer: 15 Minuten

Leistung (W)	Volumen (cm³)	Durchmesser axial (mm)	Durchmesser diametral (mm)
20	3,46 ± 0,57	21,4 ± 2,61	17,6 ± 1,95
22	4,59 ± 1,21	23,2 ± 3,11	19,4 ± 2,70
25	6,96 ± 0,88	28,0 ± 2,92	21,8 ± 1,10
28	6,61 ± 0,74	26,4 ± 4,22	22,0 ± 0,95
30	7,85 ± 1,87	29,6 ± 4,39	22,4 ± 2,07
32	8,41 ± 2,36	28,6 ± 5,98	23,6 ± 1,82

Tabelle 5: Intraoperatives Punktionssystem, Applikationsdauer: 20 Minuten

Leistung (W)	Volumen (cm³)	Durchmesser axial (mm)	Durchmesser diametral (mm)
20	3,84 ± 1,53	20,4 ± 1,67	18,6 ± 3,58
22	5,41 ± 0,84	24,2 ± 1,79	20,6 ± 1,14
25	10,28 ± 2,24	32,2 ± 2,39	24,6 ± 2,70
28	9,15 ± 2,38	29 ± 3,24	24,4 ± 2,30
30	9,98 ± 3,20	32,8 ± 2,77	23,8 ± 2,77
32	11,03 ± 2,54	34,6 ± 4,22	25,6 ± 2,51

4.1.2.2. Perkutanes Punktionssystem

Mit dem perkutanen Punktionssystem konnten ebenfalls deutlich sichtbare Läsionen induziert werden, die Ergebnisse wurden in Abbildung 10 (Tabelle 6) wiedergegeben. Die größten Läsionsvolumina wurden bei einer Leistung von 28 Watt erzielt ($12,54 \text{ cm}^3 \pm 1,33 \text{ cm}^3$, diametraler Durchmesser $24,7 \text{ mm} \pm 1,15 \text{ mm}$). Bei 20 Watt war ein mittleres Läsionsvolumen von $4,74 \text{ cm}^3 \pm 0,91 \text{ cm}^3$ zu erreichen, eine signifikante Steigerung des Läsionsvolumens ergab sich bei einer Erhöhung der Leistung auf 22 Watt ($11,80 \text{ cm}^3 \pm 0,92 \text{ cm}^3$).

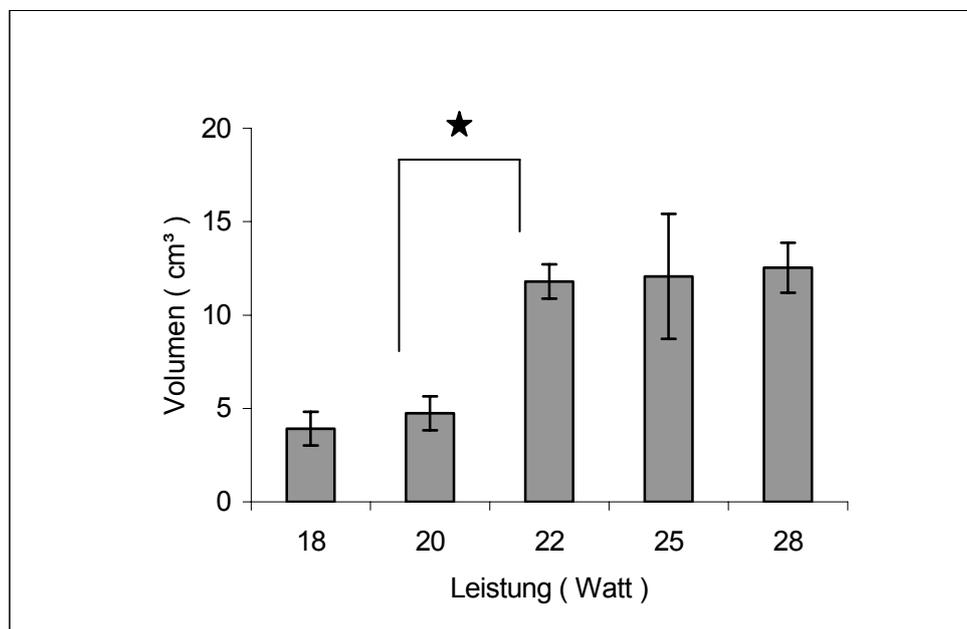


Abbildung 10: Darstellung der Läsionsvolumina in Abhängigkeit von der applizierten Leistung für das perkutane Punktionssystem. Darstellung der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen.

Der Unterschied zwischen den Punktionssystemen wurde für die übereinstimmenden Parameter in Abbildung 11 wiedergegeben. Die Volumina waren unter Verwendung des perkutanen Punktionssystems in allen 4 Leistungsstufen größer, bei 22 Watt, 25 Watt und 28 Watt war der Unterschied signifikant. Trotz weitaus größerer Läsionsvolumina ($12,07 \text{ cm}^3 \pm 3,34 \text{ cm}^3$ vs. $5,93 \text{ cm}^3 \pm 1,17 \text{ cm}^3$ bei 25 Watt) wurde aufgrund der Instabilität des Systems auf weitere Messungen verzichtet.

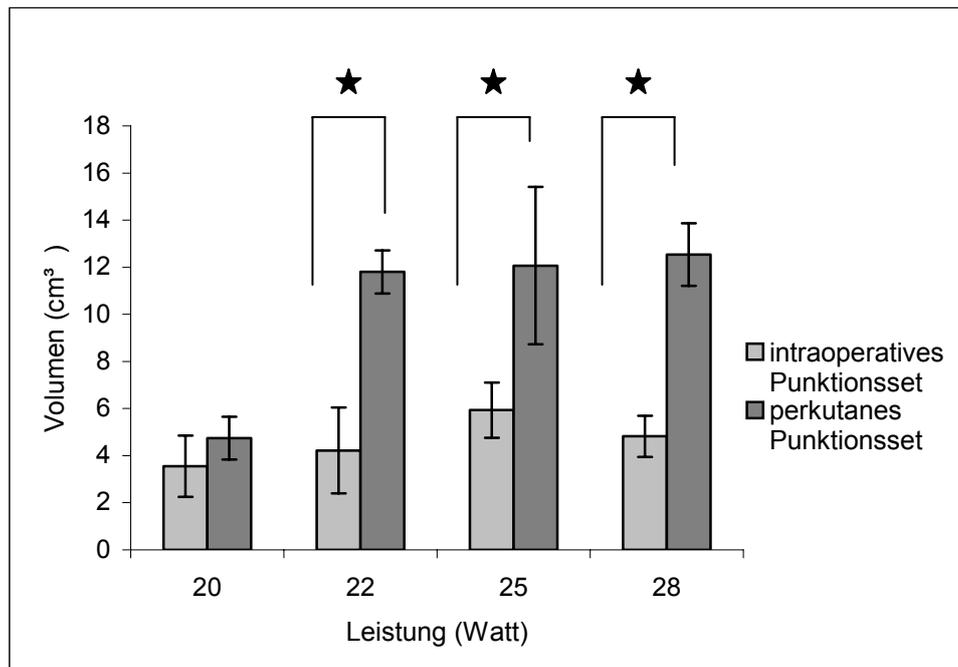


Abbildung 11: Vergleichende Darstellung der induzierten Läsionsvolumina in Abhängigkeit von der applizierten Leistung für die verwendeten Punktionssysteme bei einer Applikationsdauer von 10 Minuten. Darstellung der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen.

Tabelle 6: Perkutanes Punktionssystem, Applikationsdauer: 10 Minuten

Leistung (W)	Volumen (cm ³)	Durchmesser axial (mm)	Durchmesser diametral (mm)
18	3,91 ± 0,91	20,6 ± 0,81	19,0 ± 1,14
20	4,74 ± 0,91	23,4 ± 1,67	19,6 ± 1,67
22	11,80 ± 0,92	31,6 ± 3,36	26,0 ± 3,67
25	12,07 ± 3,34	36,4 ± 2,70	25,0 ± 2,92
28	12,54 ± 1,33	39,3 ± 2,52	24,7 ± 1,15

4.2. Ergebnisse der Tierversuchsreihe

4.2.1. Evaluation des Tiermodells

Sowohl die Narkose und die Intubation der Tiere als auch die Thorakotomie erwiesen sich als problemlos durchführbar.

Punktionsstelle

Der linke Oberlappen war bei gegebener Inzisionshöhe am leichtesten zu luxieren, mit dem rechten Mittellappen gelang dieses Manöver ebenfalls. Der linke Oberlappen besaß das deutlich größte Volumen und war für die Punktionen am geeignetsten (Abbildung 12).



Abbildung 12: luxierter Lungenlappen

Applikator

Die Verwendung des Diffusor-Tip-Applikators (aktive Länge: 7 mm) stellte sich aufgrund der Notwendigkeit eines langen Punktionskanals in den kleinen Lungenlappen als ungeeignet heraus. Fehlpunktionen bei denen die Lunge durchstoßen wurde, traten

mit dem Diffusor-Tip-Applikator aufgrund der Größenverhältnissen häufiger auf. Solche Fehlpunktionen konnten zwar korrigiert werden, damit stieg aber die Gefahr ausgedehnter Blutungskomplikationen. Die Verwendung der Bare-Fiber war sicherer, da die benötigte Punktionstiefe kleiner war.

Punktionstechnik

Die Punktion der Lunge mit der Verweilkanüle war aufgrund der sehr weichen Konsistenz der Rattenlunge ebenfalls mit einer hohen Fehlpunktionsrate behaftet: Die Verweilkanüle benötigte durch das Herausziehen des Mandrins und das Einführen der Faser zusätzliche Arbeitsschritte, die zu einer Dislokation und damit Durchstechung der Lunge führen konnten. Wesentlich sicherer in der Anwendung war der Modus der direkten Punktion. Hierbei wurde mit einer Kanüle vorsichtig die Pleura viszeralis durchstoßen, das Einführen der Faser in das Lungengewebe erfolgte durch diese vorpunktierte Stelle direkt, das heißt ohne weitere Hilfsmittel.

Makroskopischer Aspekt

Bei allen 10 Tierversuchen war die Läsion gut abgrenzbar (Abbildung 13). Es ließen sich innerhalb der Läsionen 3 Zonen ausmachen: Zentral fand sich ein sehr unterschiedlich stark ausgeprägter Substanzdefekt, der teilweise nur der Ausdehnung des Stichkanals entsprach und teilweise durch Vaporisation des Gewebes einige Millimeter darüber hinaus reichte. In den meisten Fällen war dieser Defekt von einer karbonisierten Zone ausgekleidet, die sich zum einen durch die tiefschwarze Färbung auszeichnete, zum anderen durch eine sehr feste Konsistenz. Umgebend fand sich die Zone der Koagulationsnekrose. Diese war wesentlich dunkler als in der Ex-vivo-Versuchsreihe. Die Konsistenz der Koagulationszone war weicher als die der karbonisierten Stellen und fester als die des ungeschädigten Lungenparenchyms. Ein hämorrhagischer Randsaum war aufgrund der Größenverhältnisse nicht auszumachen.



Abbildung 13: luxierte Lunge unmittelbar nach Laserapplikation

Bei oberflächennahen Punktionen kam es teilweise zur Vaporisation ganzer Gewebesäume, was zu flachen Läsionskonfigurationen führte. Das Läsionsvolumen schwankte aufgrund der Variabilität der zur Oberfläche senkrechten Achse erheblich ($0,006 \text{ cm}^3$ bis $0,05 \text{ cm}^3$). Der Mittelwert der Volumina betrug $0,025 \text{ cm}^3$, die Standardabweichung $0,017 \text{ cm}^3$, die zugrundeliegenden Durchmesser zeigten eine Schwankungsbreite von $0,1 \text{ cm}$ bis $0,7 \text{ cm}$.

Aufgrund der geringen Gruppengröße wurde auf eine detaillierte Auswertung der Einflußfaktoren auf die Läsionsgröße verzichtet. Wie aus der untenstehenden Tabelle 7 zu entnehmen war die Läsionsgröße im Rattenversuch nicht von der applizierten **Energie** abhängig. Die größte Läsion ($0,05 \text{ cm}^3$, Tier 7) fand sich bei der niedrigsten applizierten Energie, die kleinste Läsion ($0,006 \text{ cm}^3$, Tier 6) bei der höchsten applizierten Energie. Eine fast ebenso kleine Läsion ($0,007 \text{ cm}^3$, Tier 9) fand sich wiederum im niedrigsten Energiebereich.

Die Läsionsgröße zeigte ebenfalls keine Abhängigkeit von der **Applikationsdauer**. In beiden Versuchen, bei denen mit einer **Ausgangsleistung** von 3 Watt gelasert wurde (Tier 4, Tier 6) waren die Läsionen sehr klein.

Die beiden einzigen Läsionen, die keine Karbonisation zeigten (Tier 4, Tier 5), sind mit kleinen **Leistungsdichten** erzeugt worden.

Tabelle 7: tabellarische Dokumentation der makroskopischen Auswertung

Tier	Applikator	Leistung (W)	Zeit (s)	Energie (J)	Durchmesser (cm)	Volumen (cm ³)	Karbonisation
1	bare-fiber	2	120	240	0,7 x 0,4 x 0,1	0,015	ja
2	bare-fiber	2	180	360	0,7 x 0,4 x 0,3	0,044	ja
3	Mikrodom	2	90	180	0,6 x 0,4 x 0,2	0,025	ja
4	Mikrodom	3	60	180	0,7 x 0,3 x 0,1	0,011	nein
5	Mikrodom	2	120	240	0,3 x 0,3 x 0,4	0,019	nein
6	bare-fiber	3	180	540	0,6 x 0,2 x 0,1	0,006	ja
7	bare-fiber	2	60	120	0,6 x 0,4 x 0,4	0,05	ja
8	Mikrodom	2	180	360	0,6 x 0,5 x 0,3	0,047	ja
9	bare-fiber	2	60	120	0,9 x 0,3 x 0,05	0,007	ja
10	bare-fiber	2	120	240	0,5 x 0,4 x 0,3	0,031	ja

Komplikationen

Die Narkose der Tiere, die Intubation und die Eröffnung des Thoraxraumes erwiesen sich als komplikationslos. Kleinere Blutungen bei Durchführung der Thorakotomie konnten jeweils sofort durch leichte Kompression gestoppt werden. Die Stichkanäle der interstitiellen Laserapplikation waren die größte Blutungsquelle, deren Blutaustritt durch die Laserapplikation rasch gestoppt wurde. Die Stichkanäle, die aus Fehlpunktionen resultierten, waren am problematischsten, da keine Blutstillung durch die Laserapplikation stattfand. Die Blutungen imponierten als blutig-schaumige Fistelungen, die in den meisten Fällen bei vorsichtiger Kompression der Einstichstelle sistierten. Ein Tier (Tier 8) musste aufgrund eines hohen Blutverlustes intraoperativ getötet werden. Bei allen anderen Tieren konnte die weitere Operation komplikationslos beendet werden, vor Verschluss des Thorax zeigte keines der Tiere einen Anhalt für Fistelungen

oder Blutungsquellen. Die Tiere zeigten alle nach Beendigung der Operation eine selbständige und regelmäßige Atmung. Das mögliche Vorliegen von Pneumothoraces konnte nicht beurteilt werden, da bei der anschließenden Eröffnung des Thoraxraumes beide Lungen kollabierten.

4.2.2. Auswertung der Schnittpräparate

Es ließ sich in den Schnittpräparaten der direkt postinterventionell entnommenen und mittels Hämatoxylin-Eosin und Elastika/van Gieson angefärbten Rattenlungen ein zonaler Aufbau finden, der sich von innen nach außen folgendermaßen zusammensetzte: Als innerste Zone zeigte sich die Zone des Substanzdefektes, umgeben von einer klar erkennbaren Karbonisationszone. Daran anschließend befand sich die Nekrosezone, die von dem normalen, ungeschädigten Lungenparenchym regelhaft von einer Übergangszone getrennt war.

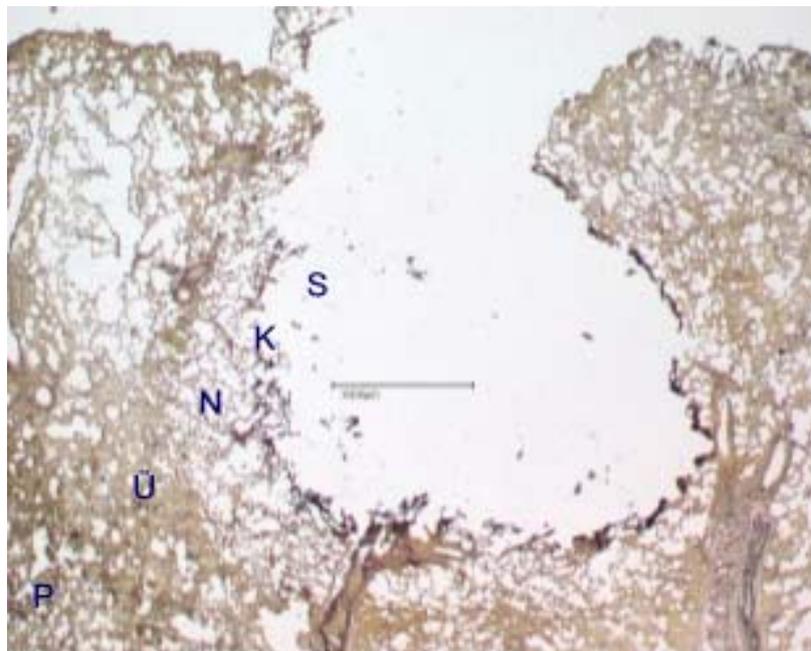


Abbildung 14: Elastika/van Gieson-Färbung, Rattenlunge direkt postinterventionell nach LITT, Übersichtsvergrößerung 1:20. S = Substanzdefekt, K = Karbonisationszone, N = Nekrosezone, Ü = Übergangszone, P = ungeschädigtes Lungenparenchym. Linie innerhalb des Substanzdefektes zeigt 1000µm an.

Die Zone des Substanzdefektes war in einigen Präparaten (Abbildung 14) klar als zentrale Kavität auszumachen, in anderen ließ sich der Stichkanal nur innerhalb der Karbonisationszone vermuten.

Die Karbonisationszone war charakterisiert durch dunkle, grobschollige, völlig homogene Strukturen, die keinerlei parenchymatöse oder zelluläre Strukturmerkmale enthielten (Abbildung 15).

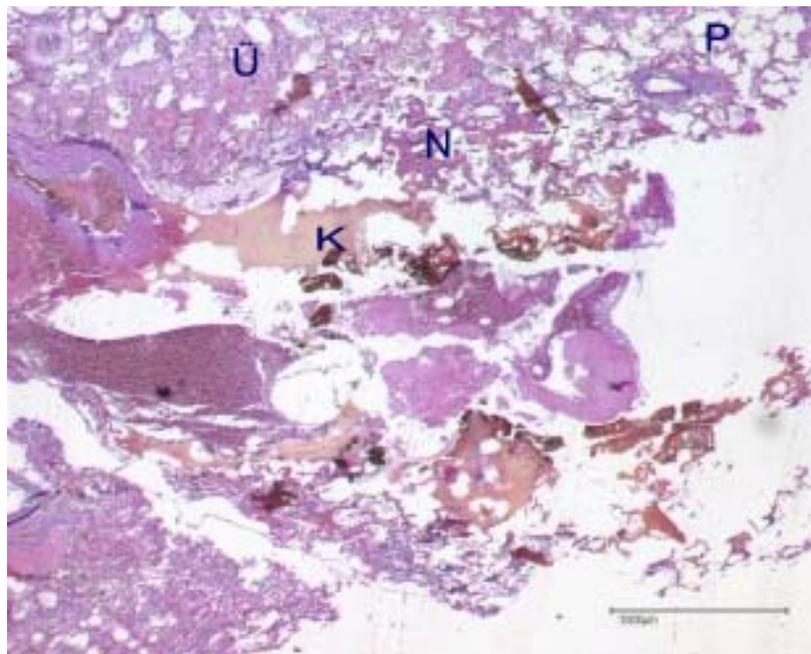


Abbildung 15: H&E-Färbung, Rattenlunge direkt postinterventionell nach LITT, Übersichtsvergrößerung 1:20. K = Karbonisationszone, N = Nekrosezone, Ü = Übergangszone, P = normales Lungenparenchym. Hier besonders deutliche Darstellung der grobscholligen Karbonisationsstrukturen. Linie am rechten unteren Rand zeigt 1000µm an.

Die Nekrosezone bestand aus vollständig verdichteten, konfluierenden Arealen, angefüllt mit Zelldebris und eosinophilen verdämmerten Zellschatten mit pyknotischen und karyorhektischen Kernen. Die Übergangszone (Abbildung 16) zeigte ein alveoläres und interstitielles Ödem mit einer unterschiedlich stark ausgeprägten Hyperämie, teilweise bestanden zusätzlich Hämorrhagien. Die vollständige Verdichtung der Nekrosezone löste sich in der Übergangszone zentrifugal zunehmend zu der alveolären

Struktur des normalen Lungenparenchyms auf. Die zellulären Veränderungen beinhalteten in der Übergangszone eine Hyperplasie der Pneumatozyten und eine im Gegensatz zur Nekrosezone leichtere Eosinophilie der Zellen und ebenfalls leicht ausgeprägten Zellkernveränderungen.

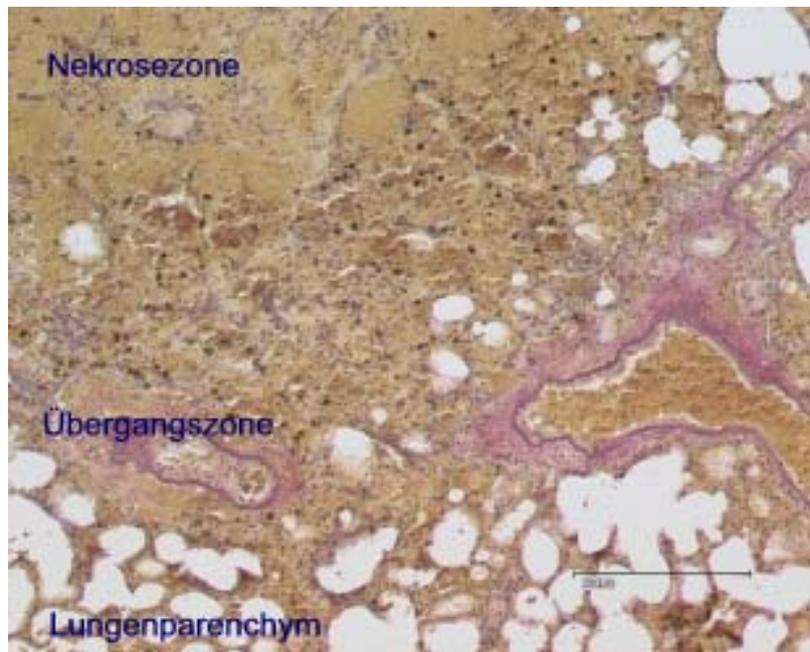


Abbildung 16: Elastika/ van Gieson-Färbung Rattenlunge direkt postinterventionell nach LITT, Vergrößerung 1:100. Deutliche Darstellung der Übergangszone und der Gefäße. Linie am rechten unteren Rand zeigt 200 µm an.

In den Gefäßen war ein Intimaödem mit hochgradiger Einengung des Gefäßlumens sowie eine Blutstauung zu beobachten, eine Thrombosierung derartig veränderter Gefäße wäre bei einem Überleben der Tiere zu erwarten. Im Gegensatz zu der Nekrosezone konnten die Zellen der Übergangszone nicht als sicher letal geschädigt gewertet werden.

Die makroskopische Vermessung der Läsionen entsprach unter Einhaltung der räumlichen Ausrichtung genau der histologischen Vermessung der Nekrosezone. In allen Fällen deckten sich die Angaben des Pathologen mit den protokollierten Ergebnissen unmittelbar nach Herausnahme der Organe.