

Aus der Chirurgischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. vet. Ulrike Matis)

und der Urologischen Klinik der Fakultät für Klinische Medizin, Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg
(Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. Peter Alken)

Arbeit angefertigt unter Leitung von Herrn Priv. Doz. Dr. med. Axel Häcker

**„Experimentelle Untersuchungen
zur nichtinvasiven Gewebeablation durch
hochenergetischen fokussierten Ultraschall (HIFU)“**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Kristina Peters

aus
Augsburg

München 2007

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ. Prof. Dr. Erwin Peter Märtlbauer
Berichterstatter: Univ. Prof. Dr. Ulrike Matis
und
Prof. Dr. Maurice Stephan Michel
und
Priv. Doz. Dr. Axel Häcker
Korreferent: Univ. Prof. Dr. Wolfgang Schmahl

Tag der Promotion: 09. 02. 2007

Meinen Eltern

„Der höchste Lohn für unsere Bemühungen ist nicht das,
was wir dafür bekommen, sondern das,
was wir dadurch werden.“

John Ruskin

1. EINLEITUNG	1
1.1. ÜBERBLICK	1
1.2. AUFGABENSTELLUNG	4
2. LITERATURÜBERSICHT.....	5
2.1. GRUNDLAGEN	5
2.2. HIFU UND FUS.....	6
2.2.1. Die Erzeugung von HIFU	6
2.2.2. Das Prinzip der Ultraschallchirurgie	9
2.3. WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN ULTRASCHALL UND BIOLOGISCHEM GEWEBE	10
2.3.1. Thermische Effekte	11
2.3.2. Mechanische Effekte, Kavitationen und nichtlineare Effekte	12
2.3.3. Einfluss des Gewebes der Vorlaufstrecke	14
2.4. ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN, EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN UND KLINISCHE STUDIEN ZU HIFU	14
2.4.1. Rückblick	14
2.4.2. Experimentelle Untersuchungen und klinische Studien	15
2.5. VOR- UND NACHTEILE VON HIFU	19
2.5.1. Metastasierungsraten	19
2.5.2. Anwendungsmöglichkeiten des HIFU	20
2.5.3. Therapiedauer	20
2.5.4. Therapieüberwachung	21
2.5.5. Patientenbezogene Vor- und Nachteile	21
2.5.6. Fazit	22
3. MATERIAL UND METHODEN	24
3.1. DAS MODELL DER ISOLIERTEN PERFUNDIERTEN SCHWEINENIERE.....	24
3.1.1. Beschreibung des Modells	25
3.1.2. Versuchsaufbau	26
3.1.3. Zusätzliche Vorbereitungen für die MRT-Messungen	27
3.1.4. Verfahren zur Validierung des Modells.....	27
3.1.4.1. Mikroangiographie	28
3.1.4.2. Histologie	28
3.1.4.3. Doppler-Ultraschall	28
3.1.4.4. MRT	29
3.2. DER SINGLE-ELEMENT-TRANSDUCER (SET).....	29
3.2.1. Geräte	29
3.2.2. Versuchsaufbau	31
3.2.3. Variation der Parameter	31
3.2.4. Parameterermittlung für Komplexläsionen.....	32
3.2.5. Auswertung	33
3.3. DER TRIPLE-ELEMENT-TRANSDUCER (TET)	33
3.3.1. Beschallungsanlage.....	34
3.3.2. Versuchsaufbau	35
3.3.3. Testreihen.....	36
3.3.4. Auswertung	37
3.4. HISTOLOGIE.....	37
3.4.1. Aufbereitung der Proben	37
3.4.1.1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung	37
3.4.1.2. NADH- (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) Färbung.....	38
3.4.2. Beurteilung.....	38

3.5. ABSORPTIONSMESSUNGEN AN BRUST- UND BAUCHSEITENWAND	38
3.5.1. Beschallungsanlage	38
3.5.2. Versuchsaufbau	39
3.5.2.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage.....	39
3.5.2.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung	39
3.5.3. Messreihen	40
3.5.3.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage.....	40
3.5.3.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung	41
3.5.4. Auswertung	41
3.6. MRT-MESSUNGEN	42
3.6.1. HIFU-Beschallung	42
3.6.2. MRT-Versuchsaufbau	43
3.6.3. MRT-Messungen	45
3.6.4. Auswertung	46
3.6.4.1. Makroskopie.....	46
3.6.4.2. MR-Bildausmessung	46
3.7. MIKROANGIOGRAPHIE	46
3.7.1. Vorbereitung der Nieren	46
3.7.2. Angiographische Aufnahmen	47
3.8. ULTRASCHALLPHANTOM	48
3.8.1. Eigenschaften des Ultraschallphantoms	48
3.8.2. Versuchsaufbau	48
3.9. STATISTIK	49
4. ERGEBNISSE	50
4.1. DAS MODELL DER ISOLIERTEN PERFUNDIERTEN SCHWEINENIERE	50
4.1.1. Mikroangiographie	50
4.1.2. Histologie	51
4.1.3. Doppler-Ultraschall	54
4.1.4. Magnetresonanztomographie (MRT)	55
4.2. DER SINGLE-ELEMENT-TRANSDUCER (SET)	56
4.2.1. Variation der Beschallungsparameter	56
4.2.1.1. Einfluss der applizierten Ultraschalleistung.....	57
4.2.1.2. Einfluss der Pulsdauer	57
4.2.1.3. Einfluss der applizierten Gesamtenergie	58
4.2.1.4. Einfluss der Perfusion	59
4.2.1.5. Einfluss der Gewebetemperatur	60
4.2.1.6. Einfluss der Gewebsspannung.....	60
4.2.2. Ermittlung der geeigneten Parameter für eine Komplexläsion	61
4.2.3. Histologie	63
4.2.3.1. HE-Färbung.....	63
4.2.3.2. NADH-Färbung.....	64
4.3. DER TRIPLE-ELEMENT-TRANSDUCER (TET)	66
4.3.1. Morphologie der Läsionen	66
4.3.2. Läsionsgröße und Einflussfaktoren	68
4.4. ABSORPTIONSMESSUNGEN AN BRUST- UND BAUCHSEITENWAND	70
4.4.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage	70
4.4.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung	71
4.5. MRT-MESSUNGEN	72
4.5.1. Makroskopie der HIFU-Läsionen	72
4.5.2. Darstellbarkeit der HIFU-Läsionen im MRT	73
4.5.3. Vergleich von Makroskopie und MRT-Bildern	75

4.6. MIKROANGIOGRAPHIE	76
4.7. ULTRASCHALLPHANTOM.....	78
5. DISKUSSION	81
5.1. DAS MODELL DER ISOLIERTEN PERFUNDIERTEN SCHWEINENIERE.....	81
5.2. DER SINGLE-ELEMENT-TRANSDUCER (SET).....	83
5.3. DER TRIPLE-ELEMENT-TRANSDUCER (TET)	92
5.4. ABSORPTIONSMESSUNGEN AN BRUST- UND BAUCHSEITENWAND.....	94
5.5. MRT-MESSUNGEN	97
5.6. MIKROANGIOGRAPHIE	101
5.7. ULTRASCHALLPHANTOM.....	102
5.8. LIMITATIONEN UND AUSBLICK	104
6. ZUSAMMENFASSUNG	106
7. SUMMARY.....	108
8. LITERATURVERZEICHNIS	110
9. TABELLENVERZEICHNIS	126
10. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	127
11. HERSTELLERVERZEICHNIS.....	130
12. ANHÄNGE	131
13. DANKSAGUNG.....	133
14. LEBENS LAUF	135

Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
°C	Grad Celsius
°K	Grad Kelvin
η	akustischer Wirkungsgrad
α	Abschwächungskoeffizient
μm	Mikrometer
3D	3-dimensional
A.	Arterie
Aa.	Arterien
Abb.	Abbildung
Abschn.	Abschnitt
APS	Ammoniumpersulfat
BPH	benigne Prostatahyperplasie
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratmeter
cm^3	Kubikmeter
CT	Computertomographie/Computertomograph
dB	Dezibel
DKFZ	Deutsches Krebsforschungszentrum
FUS	focused ultrasound surgery/fokussierte Ultraschallchirurgie
g	Gramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIFU	high intensity focused ultrasound/hochenergetischer fokussierter Ultraschall
HF	Hochfrequenz
J	Joule
kg	Kilogramm
KO	Körperoberfläche
kV	Kilovolt
kW	Kilowatt
l	Liter
L	gemessene Länge
LITT	Laser induzierte Thermotherapie
m^2	Quadratmeter
mAs	Milliamperesekunde
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRI	magnet resonance imaging
MRT	Magnetresonanztomographie/Magnetresonanztomograph
ms	Millisekunde
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (reduzierte Form)
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
P_{abs}	absorbierte Energie

P _{ac}	akustische Energie
P _{el}	elektrische Energie
PSA	prostataspezifisches Antigen
RFA	Radiofrequenzablation
s	Sekunde
SE	spin echo
SET	Single-Element-Transducer
Tab.	Tabelle
TEMED	Tetramethylethylendiamin
TET	Triple-Element-Transducer
TSE	turbo spin echo
TURP	transurethrale Resektion der Prostata
V.	Vene
VE	vollentmineralisiert
Vergr.	Vergrößerung
vgl.	vergleiche
VIBE	volume interpolated breathhold examination
W	Watt

1. Einleitung

1.1. Überblick

Mit der zunehmenden Lebenserwartung unserer Haustiere durch die stetige Verbesserung der medizinischen Versorgung wird der praktizierende Tierarzt verstärkt mit dem Erkrankungsspektrum geriatrischer Patienten konfrontiert. Neben verschiedenen altersbedingten Organerkrankungen nehmen Tumorerkrankungen dabei einen entscheidenden Stellenwert ein. So entwickelt jeder vierte Hund und jede sechste Katze im Laufe ihres Lebens wenigstens eine Tumorart und noch immer sterben fast 50% aller Hunde, die älter als 10 Jahre sind, an damit verbundenen Komplikationen (ESVONC, 2006). Gleichzeitig ist die Bereitschaft und der Wunsch seitens der Tierbesitzer zur Behandlung von Krebserkrankungen so hoch wie nie. Daher hat die noch junge Wissenschaft der klinischen Onkologie in der Veterinärmedizin im letzten Jahrzehnt einen enormen Interessensaufschwung erlebt. Eine Weiterentwicklung und Verfeinerung bestehender Therapieformen und die Aufnahme innovativer Verfahren sollten daher zentraler Schwerpunkt der veterinärmedizinischen Onkologie sein. Eine fachübergreifende Kooperation mit erfahrenen Forschungseinrichtungen der Humanmedizin kann hierbei für beide Seiten nur von Vorteil sein. Denn auch die humanmedizinische Onkologie entwickelt sich rapide weiter, da trotz großer Fortschritte in Früherkennung und Behandlung die jährliche Zahl an Krebsneuerkrankungen allein in Deutschland bei über 400.000 Menschen liegt (GEKID, 2006). Insbesondere bei älteren, immunsupprimierten und polymorbiden Patienten ergibt sich jedoch eine Vielzahl von Problemen bezüglich der konventionellen chirurgischen Therapie. Daher besteht ein Bedarf an alternativen Behandlungsoptionen, die eine geringere Morbidität besitzen.

Insbesondere Nierentumoren werden heutzutage durch hochqualitative Bildgebung zunehmend im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen diagnostiziert. In bis zu 83% der Fälle geschieht dies inzidentell noch vor dem Auftreten klinischer Symptome (Jayson & Sanders, 1998; Siemer *et al.*, 2000). Seit den 1960er Jahren ist die offene radikale Nephrektomie der Goldstandard in der Behandlung von Nierentumoren (Robson *et al.*, 1969). Da bei frühzeitiger Diagnose der Durchmesser der Raumforderungen noch gering (i.d.R. kleiner als 4 cm) und die Lokalisation randständig ist, erscheinen vor dem Hintergrund moderner Operationstechniken invasive offen-chirurgische Therapieverfahren jedoch überholt (Uzzo & Novick, 2001; Roigas & Deger, 2004). Insbesondere bei Patienten mit renaler Insuffizienz,

bereits erfolgter kontralateraler Nephrektomie, eingeschränkter Op-Fähigkeit seitens der Anästhesie, allgemeiner Ablehnung eines chirurgischen Eingriffs und auch bei Kindern mit multiplen Tumoren (z.B. Hippel-Lindau-Syndrom) ist die Nephrektomie nur bedingt oder gar nicht möglich. Als Reaktion darauf wurden in geeigneten Fällen organerhaltende Nierentumorexzisionen durchgeführt, deren krebspezifische Zehnjahresüberlebensrate mittlerweile 92% beträgt (Fergany *et al.*, 2000). Die Einführung lokal gewebedestruierender Verfahren in die operative Onkologie stellte den nächsten logischen Schritt hin zu echter minimalinvasiver Therapie dar. Hierbei wird das Tumorgewebe perkutan thermisch ablatiert, d.h. destruiert, nicht jedoch mechanisch entfernt. Das dem Tumor benachbarte Gewebe wird dabei geschont. Der Abbau des Ablationsvolumens erfolgt im Anschluss durch körpereigene Reparationsmechanismen. Die derzeit gängigsten Verfahren sind die Radiofrequenztherapie (RFA), die Kryotherapie, die laserinduzierte Thermoerapie (LITT) und die Behandlung mit hochenergetischem fokussiertem Ultraschall (HIFU). Die interstitielle Applikation von hochfrequentem Wechselstrom wird als Radiofrequenztherapie (RFA) bezeichnet. Die angestrebten Temperaturen von mehr als 45°C im Tumorgewebe werden über eine perkutan eingeführte, zumeist gekühlte Elektrode erreicht (Pavlovich *et al.*, 2002; Gervais *et al.*, 2005). Die RFA ist die momentan meist genutzte thermische Ablationsform. Die älteste und am besten erforschte thermische Ablationstechnik, die Kryotherapie, hingegen beruht auf einer kälteinduzierten Gewebenekrose, die durch wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen erzielt werden kann. Auch hier wird die Kryosonde perkutan eingeführt und muss eine Mindesttemperatur von ca. -20°C erreicht werden (Gill *et al.*, 1998; Shingleton & Sewell, 2001). Die Erfahrungen der laserinduzierten Thermoerapie (LITT) beschränken sich hauptsächlich auf Lebertumoren (Vogl *et al.*, 2004; Mack *et al.*, 2005), jedoch rückt auch die Behandlung von Nierentumoren zunehmend in das Interesse der Forschung (de Jode *et al.*, 1999; Häcker *et al.*, 2005). Bei diesem Verfahren wird wiederum die Lasersonde perkutan bis in das Zentrum des Tumors vorgeschoben und bis in zytotoxische Temperaturbereiche erhitzt. Bei allen drei genannten Therapieformen besteht jedoch – trotz ihres minimalinvasiven Charakters – die theoretische Gefahr einer Tumorzellverschleppung über den Stichkanal der Sonde und problematischer Blutungen durch akzidentielle Punktierung größerer Gefäße (Herts & Baker, 1995).

Einzig die HIFU-Therapie erfüllt die Vision einer völlig nichtinvasiven Therapiemodalität. Hierbei werden Ultraschallwellen hoher Intensität in das Gewebe der sog. Vorlaufstrecke (d.h. zwischen Ultraschallquelle und Tumor) eingestrahlt, welches sie ohne Wirkung

passieren. Erst im Zielbereich treffen sie in einem Fokus zusammen, wo die akustische Leistung als thermische und mechanische Leistung an das Tumorgewebe abgegeben wird. Da hierdurch Temperaturen von über 65°C erreicht werden, führt dies innerhalb von Sekundenbruchteilen zum sofortigen irreversiblen Zelluntergang durch Koagulation und Denaturierung der Zellproteine. Dabei ist der Temperaturgradient zwischen Fokusbereich und umliegendem Gewebe so steil, dass scharf vom unbehandelten Gewebe abgegrenzte Ablationszonen erzielt werden (Chen *et al.*, 1993a). Dieser Vorgang ist nicht tumorspezifisch, sondern kann für verschiedenste Tumorarten angewendet werden. Da es sich bei den Ultraschallwellen nicht um ionisierende Strahlung handelt, kann die Behandlung bei Bedarf beliebig oft wiederholt werden. Neben dem kurativen Ansatz ist daher ebenso ein palliativer zur Verbesserung der Lebensqualität möglich.

Erste Untersuchungen mit fokussiertem Ultraschall wurden bereits in den 1950er Jahren durchgeführt und über die Jahrzehnte nie ganz aus den Augen verloren (Fry, 1954; Fry *et al.*, 1954; Lele, 1967; Linke *et al.*, 1973; Peron *et al.*, 1983). Jedoch flammte das Interesse erst mit der Etablierung zuverlässiger bildgebender Techniken wie der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie (MRT) in den 1990er Jahren wieder auf. Seither untersuchen Forschergruppen weltweit die Anwendbarkeit von HIFU zur Behandlung von Neoplasien der verschiedensten Organsysteme (ter Haar *et al.*, 1989; Madersbacher *et al.*, 1995; Vaezy *et al.*, 2000; Wu, 2006). Trotz aller Fortschritte hat die HIFU-Therapie jedoch ihren experimentellen Charakter behalten (Illing *et al.*, 2005).

1.2. Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, Wirkungsmechanismen der fokussierten Ultraschallchirurgie unter standardisierten experimentellen Bedingungen zu überprüfen. Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

1. Ist das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere geeignet, standardisiert Untersuchungen mit HIFU durchzuführen und sind die Ergebnisse valide?
2. Welche makroskopischen und mikroskopischen Effekte hat HIFU auf porcines Nierengewebe?
3. Werden nachweislich alle Zellen des Zielvolumens irreversibel geschädigt?
4. Ist eine Steuerung der Läsionsgröße über eine Variation der Ultraschallparameter (elektrische Leistung, Pulsdauer und Behandlungsintervall) möglich?
5. Welchen Einfluss haben die Gewebeparameter (Organtemperatur, Perfusion und Gewebsspannung) auf die Läsionsgröße?
6. Ist es möglich, konstant homogene Läsionsareale von klinisch relevanter Größe zu erzeugen?
7. Auf welche Weise interagieren dabei die Einzelläsionen miteinander?
8. Welche Vor- und Nachteile haben bauartlich verschiedene HIFU-Systeme?
9. Welchen Einfluss hat die Zusammensetzung des Gewebes der Vorlaufstrecke auf die Ablationseffizienz?
10. Ist das abladierte Gewebevolumen zuverlässig durch die MRT morphologisch erfass- und vermessbar?
11. Ändert sich das Perfusionsmuster des abladierten Gewebeareals?
12. Welche Auswirkungen hat die HIFU-Beschallung auf die parenchymalen Blutgefäße?
13. Ist eine räumliche und zeitliche Visualisierung der Entstehung von HIFU-Läsionen in einem transparenten gewebeähnlichen Ultraschallphantom möglich?

2. Literaturübersicht

2.1. Grundlagen

Ein Verständnis der physikalischen Eigenschaften des Ultraschalls ist Voraussetzung für eine überlegte und erfolgreiche klinische Anwendung. Dieser Abschnitt soll daher einen kurzen Überblick über die wichtigsten physikalischen Prinzipien und Kenngrößen des Ultraschalls geben.

Unter Ultraschall versteht man generell mechanische Vibrationen oberhalb der menschlichen Hörgrenze (>16 kHz). Ultraschall wird durch das Anlegen einer hochfrequenten Wechselspannung an piezoelektrisches Material erzeugt. Dieses oszilliert in der Folge in der gleichen Frequenz, die der zugeführte Stromfluss aufweist. Die entstandene Ultraschallwelle kann verschiedenste Gewebe durchlaufen und verursacht wechselnde Zyklen erhöhten und erniedrigten Druckes (Kompression und Expansion). Innerhalb von Wasser und Weichteilgewebe breitet sich der Schall als Longitudinalwelle aus.

Für die Anwendung steht ein breites Spektrum verschiedenster Frequenzen zur Verfügung. So wird niederfrequenter Ultraschall hauptsächlich industriell zur Reinigung, Wasseraufbereitung oder für Schweißarbeiten eingesetzt (Mason, 1998). Diagnostischer Ultraschall, der weltweit eine bedeutende Rolle im klinischen Alltag spielt, bewegt sich in Frequenzbereichen zwischen 1–20 MHz. Während bei der diagnostischen Anwendung Wechselwirkungen mechanischer oder thermischer Art mit dem Körpergewebe vermieden werden, sind sie in der therapeutischen Nutzung des Ultraschalls von entscheidender Bedeutung. So werden mechanische Effekte zur Lithotripsie und in abgeschwächter Form in der Physiotherapie zur Behandlung von Entzündungszuständen eingesetzt. Die thermischen Effekte finden ebenfalls in der Physiotherapie und mit zunehmendem Interesse auch in der Onkologie Verwendung. Hierbei werden in der Regel Frequenzen zwischen 0,8 und 3,5 MHz appliziert.

2.2. HIFU und FUS

Durch die Fokussierung von Ultraschallwellen hoher Leistung auf einen einzigen Punkt lassen sich die so generierten großen akustischen Energiewerte gezielt dazu nutzen, hohe Temperaturen zu erzeugen. Die scharfe Bündelung von Ultraschallwellen ermöglicht es, Gewebe so präzise zu zerstören, dass die Übergangszone zwischen zerstörtem und intaktem Gewebe nur einige Zellschichten beträgt und damit die gleiche Genauigkeit wie die chirurgische Schnitttechnik aufweist (ter Haar, 1995). Aufgrund dieser räumlichen Präzision wird das Verfahren auch fokussierte Ultraschallchirurgie (FUS, engl. „focused ultrasound surgery“) genannt. Der hierbei applizierte hochenergetische fokussierte Ultraschall wird HIFU (high intensity focused ultrasound) abgekürzt.

2.2.1. Die Erzeugung von HIFU

Um die benötigten, sehr hohen Schalleistungen erzeugen zu können, müssen in den Wandlern für therapeutischen Ultraschall spezielle Piezokeramiken (z.B. Bleizirkonat-Titanat) verwendet werden. Diese Keramiken können nicht nur in Eigenresonanz, sondern auch mit höheren Frequenzen betrieben werden. Die Frequenz der Wandler liegt zwischen 0,5 und 10 MHz und richtet sich nach der gewünschten Eindringtiefe in das Gewebe, da sich die Wellenlänge gegensinnig zur Frequenz ändert. So können z.B. transrektale Applikatoren zur Behandlung der Prostata mit einer höheren Frequenz betrieben werden, als extrakorporale Applikatoren zur Behandlung abdominaler Organe, da sich das Zielvolumen näher am Wandler befindet. Generell werden HIFU-Wandler mit einer elektrischen Leistung von bis zu mehreren 100 W betrieben, um im Gewebe Fokusintensitäten von mehreren kW/cm^2 erzeugen zu können. Die Fokussierung der Ultraschallwellen kann auf verschiedene Arten erfolgen (vgl. Abb. 1).

Die einfachste Art der Fokussierung stellen geformte, sphärische Piezokeramiken dar, die den Schall direkt bündeln. Der Fokus einer solchen Quelle liegt in der Zentralachse, nahe dem Krümmungsmittelpunkt des Kugelausschnittes. Mit dieser Methode können scharf definierte Behandlungsbereiche erzielt werden, jedoch besteht keine Flexibilität in Bezug auf die Tiefe des Fokuspunktes im Gewebe (z.B. Foster *et al.*, 1993; Damianou & Hynynen, 1994; Vaezy *et al.*, 2000).

In der Crossed Beam Technik werden mehrere kleine plane oder sphärische Piezokeramiken derart räumlich angeordnet, dass eine Kreuzung der Einzelstrahlen im Fokuspunkt erfolgt. Dies erlaubt eine größere Flexibilität bezüglich der Behandlungstiefe und des Behandlungsvolumens. Jedoch reduziert die Vergrößerung des Applikators die Ankopplungsfähigkeit (z.B. Vallancien *et al.*, 1993; Chauhan *et al.*, 2001).

Durch die Verwendung akustischer Linsen in Kombination mit planen Ultraschallwandlern können verschiedenste Fokusdistanzen und -größen realisiert werden. Die Linsen bestehen üblicherweise aus Materialien, die eine höhere Schallausbreitungsgeschwindigkeit als Wasser aufweisen (z.B. verschiedene Kunststoffe und Aluminium) und sind konkav geformt. Ein Nachteil der Linsensysteme liegt in der Schallabsorption durch das Linsenmaterial (z.B. Yang *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1993a; Wu *et al.*, 2001).

Eine weitere Möglichkeit der Fokussierung stellt die Verwendung eines paraboloiden Reflektors dar. Hierbei wird der Ultraschall von einem zylinderförmigen Piezoelement erzeugt, das im Zentrum eines Hohlspiegels positioniert ist. Dieser bündelt die erzeugten Ultraschallwellen auf seiner Zentralachse im Zielfokus. Mit dieser Technik können sehr hohe Intensitätswerte im Gewebe erzielt werden. Eine Einschränkung stellt die relative Größe des Applikators dar (z.B. Köhrmann *et al.*, 2002b).

Die höchste Flexibilität bieten die Phased Array Ultraschallwandler. Diese bestehen aus vielen einzelnen Piezokeramiken, die, mit eigener Phase und Amplitude, getrennt voneinander betrieben werden können. Dies bietet mehrere Vorteile gegenüber den zuvor genannten Wandlertypen, deren Schallfeldgeometrie unveränderlich ist. So kann die Fokusgröße individuell und optimal an das zu abladierende Tumervolumen angepasst und bei Bedarf während der Behandlung nachjustiert werden. Die getrennte Ansteuerung der Einzelelemente ermöglicht weiterhin eine Korrektur der Fokusverschiebung durch Gewebegrenzschichten entlang des Schallweges. Diese Korrektur erfolgt rein elektronisch, d.h. eine Bewegung des Wandlers selbst ist nicht nötig. Ein Nachteil dieses Wandlertyps ist allerdings, dass sehr große Aperturdurchmesser nötig sind, um die erforderlichen Intensitätswerte im Zielvolumen zu erreichen. Dies hat zur Folge, dass die Ankopplungsfenster entsprechend groß sein müssen, was deren Anzahl deutlich einschränkt. Weiterhin steigen dadurch auch Baukomplexität und Herstellungskosten (z.B. Fan & Hynynen, 1995; Curiel *et al.*, 2002; Hynynen *et al.*, 2004).

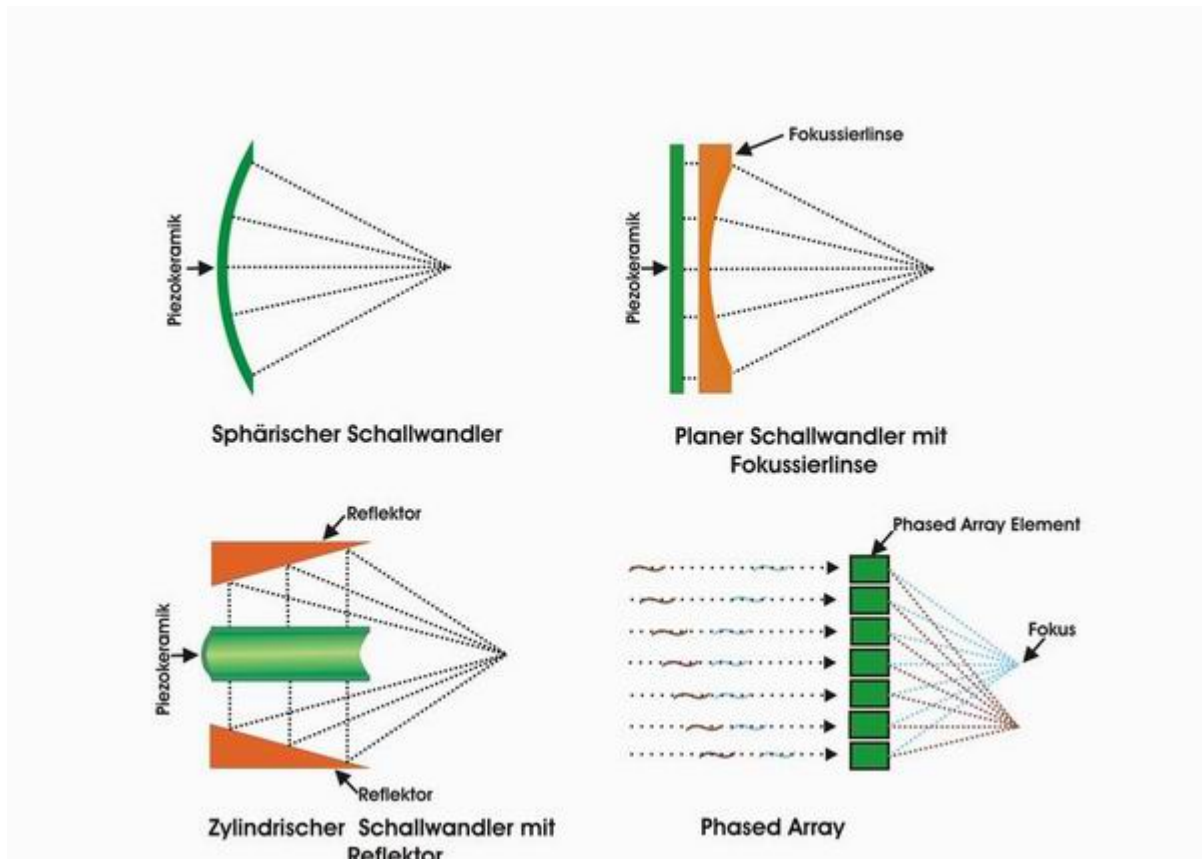


Abb. 1: Schematischer Aufbau von HIFU-Ultraschallwandlern für die Erzeugung hochenergetischer fokussierter Ultraschallfelder (Jenne *et al.*, 2003)

Die wichtigsten Eigenschaften der Ultraschallwandler sollen im Folgenden als Übersicht dargestellt werden (ter Haar, 1986; Fry, 1993).

- Aperturdurchmesser: Eine Verkleinerung bewirkt bei gleicher Fokusdistanz eine stärkere Oberflächenbelastung der Haut.
- Aperturwinkel: Eine Vergrößerung führt zu einer größeren Fokusdistanz (Brennweite)
- Fokusbreite: Diese definiert sich als Halbintensitätsstrahlbreite -6 dB-Isobare bei halbem axialem Druck des Fokusbereiches. Ihr Wert entspricht etwa dem Wert einer Wellenlänge.
- Fokuslänge: Diese stellt die axiale Ausdehnung des Fokusbereiches dar. Ihr Wert entspricht etwa dem achtfachen Wert einer Wellenlänge.
- Frequenz: Diese hat Einfluss auf die Fokusaushenungen (je höher die Frequenz, desto kleiner der Fokus), die Eindringtiefe (je höher die Frequenz, desto geringer die Wellenlänge) und den Grad der Absorption im Gewebe (je höher die Frequenz, desto höher die Absorption). Ihr Wert liegt in einem Bereich zwischen 0,5 und 10 MHz.

2.2.2. Das Prinzip der Ultraschallchirurgie

Bei der extrakorporalen Anwendung von HIFU werden hochenergetische fokussierte Ultraschallwellen über die intakte Haut in den Körper eingekoppelt. Sie durchlaufen das Gewebe bis zum Zielfokus (die sog. Vorlaufstrecke) ohne dieses zu schädigen. Durch die hohe Energie im Schallfokus wird das Gewebe innerhalb von Sekundenbruchteilen zerstört. Der koagulierte Bereich wird als Thermoläsion (kurz Läsion) bezeichnet. Dieser ist i.d.R. längsoval und besitzt die Form eines Rotationsellipsoids. Die Größe variiert je nach HIFU-System und applizierter akustischer Leistung, überschreitet eine Länge von 15 mm und eine Breite von 5 mm bislang jedoch nicht, sondern weist meist sogar nur etwa die Größe eines Reiskorns auf. Da das zu zerstörende Tumervolumen i.d.R. deutlich größer ist, als das in einer einzelnen Beschallung zerstörbare Areal, muss es durch ein Raster von aneinander gereihten zahlreichen Einzelbeschallungen lückenlos abgedeckt und zerstört werden (s. Abb. 2). Die Sicherheit für das umliegende Gewebe konnte sowohl histologisch (Chen *et al.*, 1993a), als auch durch Temperaturmessungen (Malcolm & ter Haar, 1996) bewiesen werden.

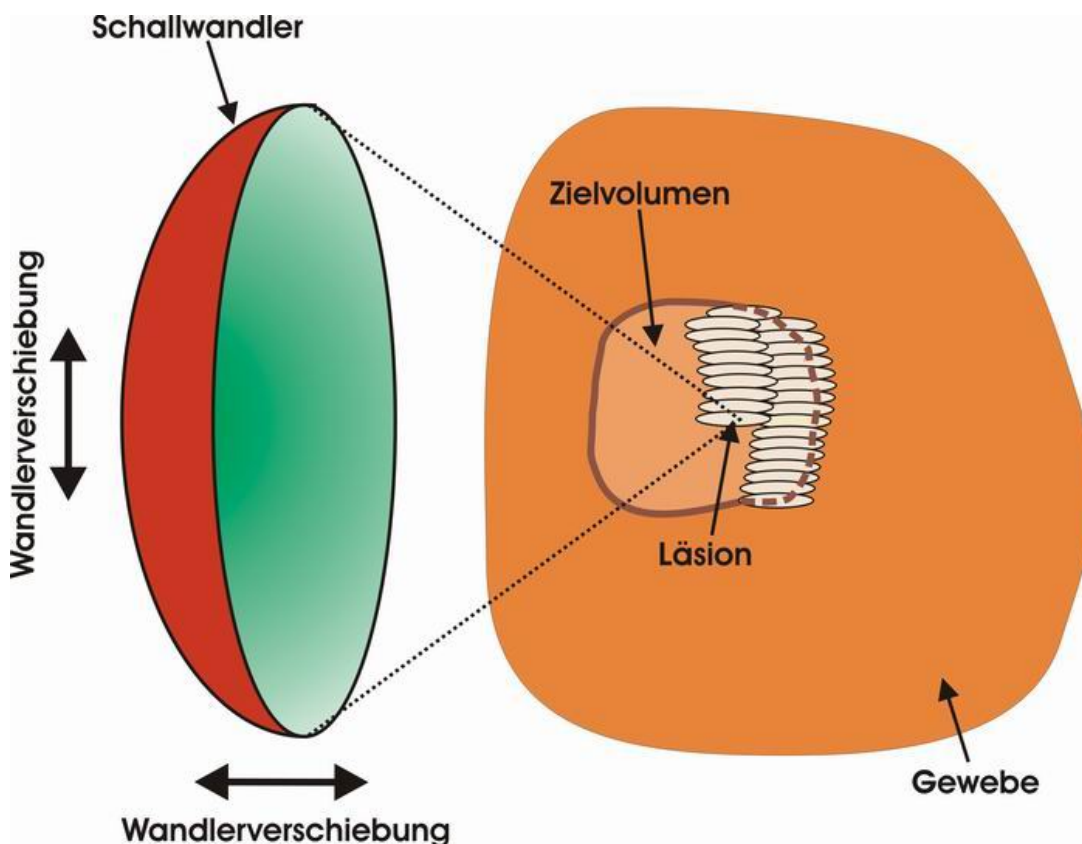


Abb. 2: Prinzip der FUS: Therapieraster einzelner Läsionen zur lückenlosen Abdeckung des Zielvolumens (Jenne *et al.*, 2003)

Der Ablauf der Therapie folgt i.d.R. einem festgelegten Schema. Nach der Lagerung des Patienten wird die optimale Positionierung des HIFU-Schallkopfes für das jeweilige therapeutische Ziel ermittelt. Wichtig ist hierbei eine stabile Ankopplung des Schallkopfes an die Haut des Patienten, um einen Verlust von akustischer Energie und eine unerwünschte Erwärmung bzw. Verbrennung der Haut zu verhindern. Durch hochauflösende Bildgebung (diagnostischer Ultraschall, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie) wird die Positionierung bestätigt und ein Therapieplan erstellt. Anhand dieses Planes wird mit vorher festgelegten Beschallungsparametern (Schallintensität, Beschallungszeit und Behandlungsintervall) behandelt und das Ablationsareal entweder zeitgleich oder direkt im Anschluss an die Therapie dargestellt, quantifiziert und mit dem geplanten Zielvolumen verglichen. Trotz großer Fortschritte bleibt eine zuverlässige Bildgebung bis heute eine große Einschränkung der FUS (Damianou, 2004).

2.3. Wechselwirkungen zwischen Ultraschall und biologischem Gewebe

Eine Aufgabe der Therapieplanung im Rahmen der FUS ist die Bestimmung der notwendigen Ultraschalleistung. Um diese bestimmen zu können, müssen die akustischen Parameter des zu beschallenden Gewebes bekannt sein. In Tab. 1 sind die wichtigsten akustischen Parameter für verschiedene Gewebearten wiedergegeben. Bei Wechselwirkungen zwischen Ultraschallwellen und biologischem Gewebe können thermische und mechanische Effekte, sowie Kavitationen und nichtlineare Effekte auftreten. Als Reaktion auf die Behandlung bildet sich im Gewebe eine homogene Koagulationsnekrose aus (Wu *et al.*, 2001), die in der Folge nach entzündlichen Prozessen durch Granulationsgewebe ersetzt wird (Chen *et al.*, 1993a). Bereits 2 Wochen nach der Behandlung bildet sich peripher proliferatives Ersatzgewebe, das im weiteren Verlauf graduell durch fibrotisches Narbengewebe ersetzt wird und damit eine Verringerung des ursprünglichen Volumens bewirkt (Kennedy, 2005).

Gewebe	Geschwindigkeit	Dichte	Impedanz	Dämpfung
	m/s	kg/m ³	10 ⁶ kg/m ² s	Np/m
Brust	1450–1570	1020	1,49	6–13
Fett	1400–1490	921	1,29–1,37	5–9
Haut	1498	1200	1,80	14–66
Hirn	1516–1575	1030–1044	1,56–1,62	4–29
Knochen	1500–3700	1380–1810	3,75–7,38	150–350
Leber	1540–1640	1060	1,7–1,74	9,2–16,2
Lunge	470–658	400	0,188–0,263	430–480
Muskel	1508–1630	1070–1270	1,61–2,07	4,4–v15
Niere	1564–1640	1040	1,62–1,71	3–10
Sehne	1750	1110–1120	1,9–2,1	30–70
Wasser	1483	998	1,48	25×10 ⁻³

Tab. 1: Akustische Eigenschaften von Säugetiergewebe bei 37°C und 1 MHz. Zum Vergleich sind die akustischen Parameter von Wasser bei 20°C angegeben (Wilzbach Divković, 2005)

2.3.1. Thermische Effekte

Ultraschallwellen werden in biologischem Gewebe absorbiert und die akustische Energie in Wärme umgewandelt. Der Temperaturanstieg führt zu einer Dysbalance des thermischen Gleichgewichts. Ein Wärmeverlust erfolgt hauptsächlich durch Konduktion in das umliegende Gewebe und Konvektion durch den vorbeiströmenden Blutfluss. Die zelluläre Homöostase kann bei geringen Temperaturerhöhungen bis 40°C noch aufrechterhalten werden. Bereits moderate Erhöhungen bis 45°C lassen Zellen empfänglicher für andere Noxen, wie z.B. Chemotherapeutika oder Radiatio, werden (Overgaard & Overgaard, 1987). Bei 46°C treten nach 60 min (Larson *et al.*, 1996), bei 50°C bereits nach 4–6 min (Goldberg *et al.*, 1996), irreversible Zellschäden auf. Generell lässt sich sagen, dass ein Temperaturanstieg von nur 1°C die erforderliche Behandlungszeit halbiert (Sapareto & Dewey, 1984). Übersteigt die

Temperaturexposition des Gewebes eine gewisse Grenze (ca. 65°C) erfolgt so nahezu augenblicklich eine Koagulation der Zellproteine, die zu irreversiblen Schäden von Enzymen und Nukleinsäurekomplexen führt (Thomsen, 1991). Zellen, die derartige thermale Schädigungen erfahren, bilden i.d.R. in den folgenden Tagen eine Koagulationsnekrose aus. Temperaturen über 105°C jedoch führen zu einer Verkochung und Vaporisation des Gewebewassers und einer Karbonisation des Gewebes. Diese Prozesse wirken sich für gewöhnlich nachteilig auf den Ablationsprozess aus, da sie die Energieübertragung auf das Gewebe verlangsamen und erniedrigen (Goldberg *et al.*, 1996). Daher ist es entscheidend, im Zielvolumen Temperaturen zwischen 65 und 100°C zuverlässig zu erreichen.

2.3.2. Mechanische Effekte, Kavitationen und nichtlineare Effekte

Unter Kavitation versteht man die Entstehung und Aktivität von Hohlräumen (Blasen) als Reaktion auf ein Ultraschallfeld (s. Abb. 3). Man unterscheidet zwischen stabilen und transienten Kavitationen. Stabile Kavitationen sind bereits im Gewebe vorhandene Gasbläschen, die im Ultraschallfeld schon bei geringen Amplituden zu erzwungenen Schwingungen angeregt werden. Der negative Teil der akustischen Druckwelle löst weiteres Gas aus dem Zellwasser, welches zum Hohlraum hin diffundiert. Da die Diffusionsrate proportional zur Größe des Hohlraumes zunimmt, wird in der Überdruckphase weniger Gas zurück in Lösung gebracht und die Blase wächst. Der alternierende Druckwechsel des Ultraschallfeldes lässt diese Gasblasen oszillieren und akustische Energie im Wechsel absorbieren und wieder abgeben. Weiterhin können Gasblasen Mikroströme in ihrer Umgebung hervorrufen, die potentiell zellschädigend sind (Hynynen, 1990). Transiente Kavitationen entstehen meist bei höheren Amplituden, wenn die sog. Kavitationsschwelle überschritten wird. Die Blasen beginnen sich im Oszillieren zu destabilisieren und fallen letzten Endes im sog. Blasen kollaps in sich zusammen. Die dabei entstehenden Scherwellen üben großen mechanischen Stress auf das umliegende Gewebe aus und führen nicht selten zu mikroskopisch und z.T. makroskopisch sichtbaren Substanzdefekten und Gewebelöchern (sog. Kavitäten). Beim Blasen kollaps werden außerdem große Energiewerte freigesetzt und somit sehr hohe lokale Temperaturen ($\sim 10^3\text{K}$) erreicht (ter Haar, 2001). Dies kann zur Bildung chemisch aktiver freier Radikale führen, die toxisch auf das Gewebe einwirken. Während der HIFU-Beschallung können unkontrollierte Kavitationen zu Abberationen von Form, Größe und Lokalisation der induzierten Thermoläsionen führen und sollten daher

vermieden werden (Chapelon *et al.*, 2000). Die Vorhersagbarkeit akustischer Kavitationen ist bis dato nur mit hohem technischem Aufwand und nur sehr bedingt möglich. Ergebnisse aus In-vivo-Versuchen von Hynynen *et al.* deuten zwar an, dass räumliche Spitzenintensitätswerte von etwa 3000 W/cm^2 (bei einer Frequenz von 1,7 MHz) als Schwellenwert für die Bildung von Kavitationen angenommen werden können, doch sind die Bedingungen, die zum Auftreten akustischer Kavitationen führen, bis heute nicht abschließend geklärt (Hynynen, 1991). Mit zunehmender applizierter Energie treten zusätzlich sog. nichtlineare Effekte auf, da die Schallgeschwindigkeit ebenfalls zunimmt. Dadurch steilt sich die Wellenfront auf, bewegt sich im Druckmaximum schneller fort als im Druckminimum und nimmt eine Sägezahnform an. Für die Ausbildung dieser nichtlinearen Effekte sind mehrere Faktoren verantwortlich: der Intensitätswert, die zurückzulegende Entfernung, Viskosität und Dichte des Mediums und die verwendete Frequenz. Eine Erhöhung eines dieser Parameter zieht eine Erhöhung der nichtlinearen Effekte und höherharmonische Frequenzen nach sich, die leichter vom Gewebe absorbiert werden (Watkin *et al.*, 1996b). In der Konsequenz steigt die Temperatur lokal stärker an und könnte so zur Steigerung des ablativen Erfolgs genutzt werden (Wilzbach Divković, 2005). Andererseits sinkt mit steigender Temperatur die Kavitationsschwelle und könnte zu unerwünschten Deformationen der Thermoläsionen führen.



Abb. 3: Stroboskopische Aufnahme von Kavitationsbläschen (Debus *et al.*, 1999)

2.3.3. Einfluss des Gewebes der Vorlaufstrecke

Gewebegrenzschichten und Gewebeinhomogenitäten auf dem Weg der Ultraschallwellen vom Wandler bis zum Zielfokus können diese abschwächen oder ablenken und das Ablationsergebnis so verschlechtern. So werden Schallwellen beim Durchtritt durch jedes Medium, das die Kriterien einer idealen Homogenität nicht vollständig erfüllt, zu einem gewissen Anteil absorbiert und in Wärme umgewandelt (Marberger *et al.*, 2005). Unterschiedliche prozentuale Anteile an Protein- und Lipidgehalt führen zu z.T. großen Impedanzunterschieden zwischen verschiedenen Gewebearten. Als Konsequenz kommt es an Grenzflächen zu Reflexion und Brechung von Ultraschallwellen. Diese Impedanzsprünge führen zu einem Energieverlust durch Aufweitung des Ultraschallstrahls und unter Umständen zu Läsionen an unerwünschten Stellen (Fry, 1993). Besonders deutlich treten diese beiden Erscheinungen bei Weichteil-Knochen- und Weichteil-Luft-Grenzen zu Tage, denn Impedanzsprung und Absorption machen es schwierig bis unmöglich, Organe hinter Knochen oder luftgefüllten Kompartimenten diagnostisch und therapeutisch mit Ultraschall zu erreichen (Cittadini & Martinoli, 1995). Durch starke Absorption können sogar thermische Schäden am Knochengewebe (Kennedy *et al.*, 2003a) bzw. Schädigungen benachbarter luftgefüllter Organe (Chapelon *et al.*, 1992a; Vaughan *et al.*, 1994) auftreten. Auch scheinen Gewebegrenzflächen einen Ort mit erhöhter Kavitationswahrscheinlichkeit darzustellen (Damianou, 2004). Diese Gegebenheiten müssen bei der Therapieplanung berücksichtigt werden und schränken die Zahl der therapierbaren Organsysteme ein. Doch technische Weiterentwicklungen bei Echoenzephalographie und transkranialem Doppler-Ultraschall lassen hoffen, dass in naher Zukunft auch Knochengewebe durchdrungen werden kann (Cittadini & Martinoli, 1995). Erste Erfolge in diesem Bereich wurden bereits publiziert (Wu *et al.*, 2001; Hynynen *et al.*, 2006).

2.4. Anwendungsmöglichkeiten, experimentelle Untersuchungen und klinische Studien zu HIFU

2.4.1. Rückblick

Die ersten Untersuchungen bezüglich der Potentiale des HIFU wurden 1942 von Lynn *et al.* veröffentlicht (Lynn *et al.*, 1942). Ihnen gelang es zwar, tiefer gelegene Läsionen in Gehirnen

von Hunden und Affen zu induzieren, jedoch stellte sich die geschlossene Schädeldecke als unüberbrückbares Hindernis heraus. Dennoch konzentrierte sich das Hauptinteresse in den 1950er Jahren auf die Behandlung neurologischer Erkrankungen wie des Morbus Parkinson. Fry et al. waren mit ihrer Apparatur in der Lage, an ausgewählten Lokalisationen im Gehirn von Versuchstieren gut abgegrenzte und reproduzierbare Läsionen zu erzeugen, ohne das darüber liegende Gewebe sichtbar zu schädigen (Fry *et al.*, 1954). Zwischen 1958 und 1960 wurden in den USA rund 50 Morbus-Parkinson-Patienten mit HIFU behandelt (Fry & Fry, 1960). Obwohl die Behandlung erfolgreich war, war eine Kraniotomie nötig und der Erfolg nur kurzzeitig. Zeitgleich wurde eine medikamentöse Therapie für Morbus Parkinson eingeführt, so dass eine derart invasive Therapie nicht mehr zu rechtfertigen war und der fokussierte Ultraschall zurück in die Laboratorien relegiert wurde. Von dort aus folgten grundlegende Untersuchungen zu Dosimetrie, Läsionsentstehung und ihren Abhängigkeiten sowie den Wechselwirkungen mit biologischem Gewebe (Aström *et al.*, 1961; Basauri & Lele, 1962; Takeuchi, 1965). Zwar wurde die Technologie nie vollständig aufgegeben und weitere Untersuchungen bezüglich verschiedenster Anwendungsmöglichkeiten von fokussiertem Ultraschall durchgeführt (Purnell *et al.*, 1964; Linke *et al.*, 1973; Fry & Johnson, 1978; Lizzi *et al.*, 1984), jedoch kam echtes Interesse erst in den 1990er Jahren wieder auf, als das Potential zur Behandlung von Neoplasien erkannt wurde. Seither verbreitert sich das Spektrum der möglichen Anwendungen zusehends.

2.4.2. Experimentelle Untersuchungen und klinische Studien

Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die wichtigsten Untersuchungsbereiche der letzten zwei Jahrzehnte gegeben werden.

Prostata

Der erste klinische Anwendungsbereich waren gutartige (benigne Prostatahyperplasie BPH) und bösartige (Prostatakarzinom) Neoplasien der Prostata (Gelet *et al.*, 1993; Bihrlé *et al.*, 1994; Madersbacher *et al.*, 1994; Mulligan *et al.*, 1997; Nakamura *et al.*, 1997; Chaussy & Thuroff, 2001; Curiel *et al.*, 2002; Uchida *et al.*, 2006). Die Ankopplung erfolgt hierbei transrektal bzw. perineal. Wie bei neuen Techniken üblich, gab es eine Lernkurve bezüglich der Anwendung, der technische Verbesserungen folgten. So wurden die klinischen Resultate und das Sicherheitsprofil über das letzte Jahrzehnt stetig verbessert. Madersbacher et al.

stellten jedoch in einer 4-Jahres-Studie fest, dass von 98 behandelten BPH Patienten 43,8% eine zweite Behandlung bzw. eine transurethrale Resektion der Prostata (TURP) innerhalb von 4 Jahren benötigten (Madersbacher *et al.*, 2000). Die hauptsächliche Einschränkung der Therapie scheint zu sein, dass die Prostata nur unvollständig desobturiert wird und die Symptome weiterhin bestehen bleiben (ter Haar, 2001). So scheint es zum jetzigen Zeitpunkt unwahrscheinlich, dass sich die HIFU-Therapie als echte Alternative zur TURP bei der Behandlung der BPH durchsetzen wird (Kennedy *et al.*, 2003b). Andererseits weist die HIFU-Behandlung eine weit geringere Morbidität auf als eine TURP und kann sowohl wiederholt, als auch mit anderen Therapiemodalitäten kombiniert werden (Blana *et al.*, 2004). Daher ist ein Einsatz zur Behandlung des Prostatakarzinoms von größerem Interesse. Insbesondere für Patienten, die nicht operationsfähig sind, keinen operativen Eingriff wünschen oder ein lokales Tumorrezidiv aufweisen, ist die HIFU-Therapie eine vielversprechende Alternative. Neuere Kurzzeitstudien zeigen eine negative Biopsierate bei 87% und keine Erhöhung des PSA- (prostataspezifisches Antigen) Wertes bei 84% von 2000 behandelten Patienten nach einem Jahr (Chaussy *et al.*, 2002). So könnte sich die HIFU-Therapie in den kommenden Jahren zunehmend für genannte Patienten etablieren.

Leber

Da die Leber häufig Lokalisation von Metastasen ist und es sich um ein großes, gut zugängliches parenchymatöses Organ handelt, bestand von Anfang an großes Interesse, Neoplasien der Leber mit HIFU zu behandeln. In zahlreichen Tierstudien wurde die Wirkung fokussierter Ultraschallwellen auf gesundes und tumortragendes Lebergewebe untersucht (ter Haar *et al.*, 1991; Sibille *et al.*, 1993b; Prat *et al.*, 1995). Doch trotz der großen Zahl an Untersuchungen im Tierversuch gibt es erst in neuester Zeit auch klinische Studien. So konnten in China bereits 55 Patienten (Wu *et al.*, 2004a) und in Großbritannien 22 Patienten (Illing *et al.*, 2005) mit z.T. inoperablen Hepatokarzinomen bzw. Lebermetastasen behandelt werden. Die Ergebnisse sind viel versprechend, jedoch fehlen bislang Daten bezüglich tumorfreier Überlebensraten. Eine Einschränkung scheint die lange Therapiedauer (z.T. mehrere Stunden) darzustellen, die jedoch durch eine Kombination mit transarterieller Embolisation u.a. gelöst werden könnte (Wu *et al.*, 2005). Insgesamt überzeugt die HIFU-Therapie durch geringere Morbiditäts- und Mortalitätsraten gegenüber der konventionellen chirurgischen Intervention.

Brust

Das invasive Mammakarzinom ist das häufigste Krebsleiden bei Frauen mit einem Lebensrisiko von 1:10 (Landis *et al.*, 1999). Die meisten Frauen können heutzutage zwar brusterhaltend operiert werden, jedoch ist zur Verbesserung der Prognose zusätzlich eine adjuvante Radiatio, Chemotherapie und/oder Hormontherapie notwendig. Da es jedoch auch Patientinnen gibt, die aus medizinischen Gründen nicht operiert werden können oder wollen und die weibliche Mamma durch ihre exponierte anatomische Lokalisation optimale Ankopplungseigenschaften aufweist, rückte die Behandlung des Mammakarzinoms durch HIFU in den Blickpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Während in Europa und den USA bisher 12 Patientinnen in klinischen Studien behandelt wurden (Huber *et al.*, 2001; Hynynen *et al.*, 2001), konnten in Asien bereits 48 Frauen einer HIFU-Therapie unterzogen werden (Wu *et al.*, 2003a). In allen drei Studien zeigte sich, dass HIFU sicher durchführbar war. Die vollständige Tumorremissionsrate betrug bis zu 80%. Langzeitstudien fehlen jedoch bis dato.

Niere

Die Therapie des Nierenzellkarzinoms mittels HIFU geriet bereits Anfang der 1990er Jahre ins Visier des wissenschaftlichen Interesses. Neben Ex-vivo- und tierexperimentellen Studien (Adams *et al.*, 1996; Watkin *et al.*, 1997; Köhrmann *et al.*, 2002b) wurden auch erste klinische Versuche der Ablation von Nierengewebe vor Nephrektomien unternommen (Vallancien *et al.*, 1993; Häcker *et al.*, 2006), um die Qualität von Ankopplung, Bildgebung und Behandlungsparametern zu untersuchen. Es zeigte sich, dass sich Nierengewebe grundsätzlich sehr gut abladieren lässt und die Technologie sicher und einfach handhabbar ist. Eine erste Behandlung eines Patienten mit einem multilokalen Nierentumor in einer Einzelniere von Köhrmann *et al.* an tumortragenden Nieren zeigten jedoch, dass der obere Pol der Niere durch Abschirmung von Rippenknochen nicht erreichbar war (Köhrmann *et al.*, 2002a). Die neuesten Untersuchungen aus China beschreiben die Behandlung von insgesamt 13 Patienten mit Nierenzellkarzinomen in fortgeschrittenem Stadium (Wu *et al.*, 2003b) und kamen zu dem Ergebnis, dass HIFU sich zur Behandlung von Nierentumoren eignet. Häcker *et al.* aus Mannheim behandelten 6 Patienten, beurteilten die Ergebnisse jedoch kritischer, da in keinem Fall eine vollständige Ablation des Tumorgewebes gelang (Häcker *et al.*, 2005). Insgesamt scheint das Nierengewebe schwieriger erreichbar zu sein als z.B. Lebergewebe so dass weitere Studien zur Verbesserung der Technologie unumgänglich sind (Illing *et al.*, 2005), zumal bei allen Studien bislang Langzeitergebnisse bezüglich tumorfreien Überlebensraten fehlen.

Andere Organsysteme

Weitere Studien zur Behandlung von Neoplasien gibt es zu zahlreichen Organsystemen. Allerdings sind diese i.d.R. präklinisch oder weisen nur sehr geringe Patientenzahlen auf. So wurde geprüft, ob Osteosarkome (Wu *et al.*, 2002), Endothelkarzinome der Harnblase (Vallancien *et al.*, 1996; Watkin *et al.*, 1996a), Ösophaguskarzinome (Melodelima *et al.*, 2004b) und Schilddrüsenkarzinome (Esnault *et al.*, 2004) für eine HIFU-Therapie geeignet sind. Neueste Ergebnisse von Hynynen *et al.* nähren darüber hinaus die Hoffnung, HIFU in naher Zukunft auch zur Beschallung von Neoplasien des Gehirns einsetzen zu können (Hynynen *et al.*, 2006). In der Ophthalmologie wurden Untersuchungen zur Therapie des Glaukoms mit HIFU durchgeführt. So konnte der intraokuläre Druck bei 70% von 880 behandelten Augen erfolgreich gesenkt werden. Nach 6 Monaten betrug die Erfolgsrate noch 50% (Silverman *et al.*, 1991), doch hat die Laserbehandlung ein breiteres Anwendungsfeld in der Ophthalmologie gefunden (Kennedy *et al.*, 2003b). Die wichtigste gynäkologische Anwendung ist die Ablation uteriner Myome (Vaezy *et al.*, 2000; Chan *et al.*, 2002; Tempany *et al.*, 2003). Auch hier fehlen jedoch Langzeitstudien mit größerer Patientenzahl. Für die Neonatologie bzw. pränatale Medizin könnten die Ergebnisse von Untersuchungen bezüglich der intrauterinen Behandlung fetaler Tumoren, Gefäßanastomosen und persistierendem Ductus arteriosus in Zukunft von Interesse sein (Denbow *et al.*, 2000; Paek *et al.*, 2003). Auch für die Kardiologie bietet sich möglicherweise die Option, die Valvulotomie und Valvuloplastik (Lee *et al.*, 2000; Otsuka *et al.*, 2005) bzw. Plaque Entfernung in Koronararterien (Steffen *et al.*, 1994) mittels HIFU durchzuführen. Doch auch hier sind die Erkenntnisse bisher noch grundlegender Natur. Bezüglich der Verödung von Blutgefäßen hingegen ist der Kenntnisstand schon um einiges weiter fortgeschritten. So konnten Hynynen *et al.* (Hynynen *et al.*, 1996) und Rivens *et al.* (Rivens *et al.*, 1999) verlässlich renale bzw. femorale Arterien okkludieren. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden Varizenverödung, Okklusion nutritiver Tumorgefäße und Hämostase bei Polytraumapatienten bzw. bei chirurgischen Eingriffen (Vaezy *et al.*, 2001a; Zderic *et al.*, 2006) als Anwendungsbereich vorgeschlagen. Weitere Erkenntnisse werden in den kommenden Jahren folgen.

2.5. Vor- und Nachteile von HIFU

Im Folgenden soll ein Überblick über die Vor- und Nachteile des hochenergetischen fokussierten Ultraschalls und seiner Anwendung gegeben werden.

2.5.1. Metastasierungsraten

Lange Zeit wurde die theoretische Möglichkeit der Tumorzellverschleppung durch die mechanischen Effekte des fokussierten Ultraschalls in der Literatur diskutiert (Fry & Johnson, 1978). Studien der neueren Zeit bezüglich dieses Themas konnten jedoch beweisen, dass die Metastasierungsrate durch eine Behandlung mit HIFU nicht erhöht wird (Goss & Fry, 1984; Yang *et al.*, 1991; Chapelon *et al.*, 1992b; Oosterhof *et al.*, 1997). Darüber hinaus konnte von mehreren Gruppen sogar ein hemmender Einfluss auf das Wachstum bereits bestehender Metastasen bzw. eine Verminderung der Neuentwicklung von Metastasen (Gleser, 2002; den Brok *et al.*, 2004; Kramer *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2004b) oder sogar eine Regression bestehender Metastasen beobachtet werden (Kennedy, 2005). Als Ursache für diese Phänomene wird eine Aktivierung der körpereigenen Antitumorimmunität vermutet. Durch die mechanischen Effekte werden nach dieser Theorie Tumorzellen derart rupturiert, dass Bruchstücke der Zellen als spezifische Antigene fungieren können. Beobachtungen von Wu *et al.* zeigten einen signifikanten Anstieg der CD4-Lymphozytenpopulation nach der HIFU-Therapie von Osteosarkomen bzw. Nierenzellkarzinomen, die Hinweis auf eine aktivierte systemische zelluläre Immunantwort sein könnten (Wu *et al.*, 2004b). Erste Hinweise auf dieses Phänomen lieferten Wagai und Kaketa bereits 1970, als sie von Versuchen an tumortragenden Ratten berichteten, die nach einer Behandlung mit HIFU signifikante Resistenzraten gegen eine erneute Tumorbeimpfung aufwiesen (Wagai & Kaketa, 1970). Wu *et al.* konnten darüber hinaus zeigen, dass Karzinomzellen ihre malignen Charakteristika wie Invasivität, unreguliertes Wachstum, Metastasenbildung und Immortalität nach der HIFU-Behandlung verloren hatten (Wu *et al.*, 2003a). Dies könnte sich als ein großer Vorteil gegenüber der konventionellen Chirurgie erweisen, bei der oftmals nach Resektion des eigentlichen Tumors ein überschießendes Wachstum von Metastasen beobachtet werden kann. Ursächlich könnten hierbei die Freisetzung von Wachstumsfaktoren, eine Dysbalance pro- und antiangiogenetischer Faktoren oder die generelle Immunsuppression nach dem chirurgischen Eingriff beteiligt sein (Vallejo *et al.*, 2003; Kennedy, 2005).

2.5.2. Anwendungsmöglichkeiten des HIFU

Da die FUS kein tumorspezifisches Verfahren darstellt, ist die Zahl der Indikationen entsprechend hoch (vgl. Abschn. 2.4.). Allerdings ergeben sich aus den physikalischen Eigenschaften des Ultraschalls gewisse Einschränkungen. So können Organsysteme, die luft- oder gasgefüllt sind (Lunge, Magen, Darm), und solche, die von Knochen (Thoraxorgane) oder luft- oder gasgefüllten Organen bedeckt sind (Gallenblase, Pankreas, Teile des Ösophagus), bisher nicht erreicht werden. Auch kann die Absorption an den genannten Grenzflächen zu unerwünschten Schäden benachbarter Organe führen (Yang *et al.*, 1991; Chapelon *et al.*, 1992a; Vaughan *et al.*, 1994; Esnault *et al.*, 2004). Bei unzureichender Ankopplung führt ein ähnlicher Mechanismus zu Rötungen und Verbrennungen der äußeren Haut (Vallancien *et al.*, 1993; Wu *et al.*, 2003a; Häcker *et al.*, 2006). Ein weiteres Problem stellt in diesem Rahmen die Verschiebung der abdominalen Organe durch die Atembewegung dar. Diese können sich innerhalb eines Atemzyklus bis zu 20 mm verlagern (Davies *et al.*, 1994) und so die Effizienz und Sicherheit des Verfahrens deutlich einschränken. Eine Lösung dieses Problems kann nur eine verlässliche Online-Bildgebung bieten, die eine direkte Kontrolle der Fokuslokalisierung gewährleistet. Idealerweise könnte zusätzlich eine automatische Nachjustierung zum Ausgleich der Atemamplitude in das Behandlungssystem integriert werden (Pernot *et al.*, 2004), jedoch ist diese Technik noch nicht ausgereift. Bezüglich der Knochenproblematik gibt es, wie oben beschrieben, erste technische Weiterentwicklungen, die dieses Hindernis in absehbarer Zukunft lösen könnten (Hynynen *et al.*, 2006).

2.5.3. Therapiedauer

Eine wichtige Einschränkung der FUS ist zum jetzigen Zeitpunkt eine mitunter sehr lange Behandlungsdauer (bei großen Tumoren mehrere Stunden). Da der Patient über die gesamte Dauer der Therapie in der vorgegebenen Position verharren muss, stellt dies eine nicht unerhebliche Belastung dar. Bei kleinen oberflächlichen Tumoren entspricht der Zeitaufwand zwar in etwa dem der konventionellen Chirurgie, jedoch sind andere minimalinvasive Therapieformen, wie die RFA, deutlich schneller. Weitere technische Entwicklungen sind diesbezüglich unabdingbar. Eine Verkürzung der Therapiedauer könnte unter anderem durch eine Verbesserung der Phased-array-Technik oder spezielle Zerstreuungslinsen und

konsekutiv einer Vergrößerung der Einzelläsion erreicht werden (Hynynen *et al.*, 2004; Wilzbach Divković, 2005). Des Weiteren wird die Möglichkeit untersucht, die akustischen Eigenschaften des Gewebes mit Hilfe von fluorkohlenwasserstoffhaltigen Ultraschallkontrastmitteln derart zu ändern, dass der Energieeintrag effizienter und der Therapieverlauf beschleunigt werden kann (Umemura *et al.*, 2002; Miller & Dou, 2004; Yu *et al.*, 2004). Auch völlig innovative Lösungsversuche, wie die Entwicklung von Dual-Frequenz-Wandlern, lassen gespannt in die Zukunft blicken (He *et al.*, 2006).

2.5.4. Therapieüberwachung

Für eine Übersicht über Bedeutung und Einschränkungen der Bildgebung zur Therapieplanung, -überwachung und -kontrolle sei auf Kapitel 5.5 verwiesen.

2.5.5. Patientenbezogene Vor- und Nachteile

Einen großen Vorteil der HIFU-Therapie stellen geringe Morbiditäts- und Mortalitätsraten dar. Als Nebenwirkungen der Behandlung wurden vorübergehende lokale Schmerzen, leichtes Fieber und temporäre Hautirritationen bzw. -verbrennungen beschrieben (Vallancien *et al.*, 1996; Visioli *et al.*, 1999; Hynynen *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2003; Häcker *et al.*, 2006). Dennoch stimmen die klinischen Studien bislang darin überein, dass die extrakorporale und transrektale HIFU-Therapie sicher ist und von den Patienten gut angenommen wird. Schwere Blutungen, die die schwerwiegendste Komplikation der konventionellen Chirurgie darstellen, können durch die Applikation von HIFU vermieden werden. Weiterhin ist es von Vorteil, dass die HIFU-Behandlung am sedierten Patienten, ohne Allgemeinanästhesie durchgeführt werden kann und damit die Narkoserisiken reduziert werden können. Durch den vollkommen nichtinvasiven Charakter der Behandlung ist außerdem die Infektionsgefahr minimal und die kosmetischen Ergebnisse bezüglich Narbenbildung exzellent. Die Wundheilung und damit die Rekonvaleszenz erfolgen schneller und nur geringe Dosen an Analgetika werden benötigt (Huber *et al.*, 2001). Nicht unerwähnt sollte jedoch bleiben, dass die Kriterien eines kurativen Ansatzes bislang nicht immer erfüllt werden konnten (Wu *et al.*, 2003b; Häcker *et al.*, 2005). Jedoch stellt gerade die Wiederholbarkeit der Anwendung zugleich einen großen Vorteil der Methode dar, denn da es sich nicht um ionisierende

Strahlung handelt, treten keine Kumulationseffekte auf. Ein palliativer Therapieansatz ist ebenso denkbar und gegebenenfalls sinnvoll. So kann die Lebensqualität durch eine deutliche Milderung der klinischen Symptome, die durch das lokale Tumorwachstum verursacht werden, stark verbessert werden.

2.5.6. Fazit

Trotz der großen Zahl von Untersuchungen steht HIFU zum jetzigen Zeitpunkt als klinische Therapiemodalität am Anfang seiner Etablierung. Durch wachsendes Interesse und zunehmende kommerzielle Verfügbarkeit sollten breit angelegte klinische Studien zu den zahlreichen Applikationsmöglichkeiten in den kommenden Jahren notwendige Daten zu Effizienz und Praktikabilität liefern. Technische Verbesserungen der Behandlungsgeräte und auch der Therapieüberwachung werden mit dem fortschreitenden Kenntnisstand einhergehen. Durch die geringe Morbiditäts- und Mortalitätsrate könnte sich die HIFU-Therapie so in wenigen Jahren als echte Alternative zur palliativen und kurativen Chirurgie in der Human- und auch in der Veterinärmedizin erweisen und die Vision einer vollkommen nichtinvasiven Tumorthherapie erfüllen.

Vorteile der HIFU-Therapie
vollständig nichtinvasive Therapie
geringe Morbidität und Mortalität
Organfunktion weiterhin gegeben
geringer/kein Blutverlust
großer therapeutischer Spielraum
kurze Rekonvaleszenz
hervorragende kosmetische Ergebnisse
Echtzeitkontrolle des Therapiefortschrittes möglich
Therapie ist ohne Kumulationseffekt wiederholbar
Palliativer Ansatz möglich
Metastasierungsrate gleich bleibend oder kleiner
möglicherweise Aktivierung tumorspezifischer Immunabwehr

Tab. 2: Vorteile der HIFU-Therapie

Einschränkungen der HIFU-Therapie
Therapiedauer (noch) vergleichsweise lang
bestimmte Organsysteme können (noch) nicht erreicht werden
Thermometrie mittels MRT (noch) teuer und technisch aufwendig
Nebenwirkungen: lokale Schmerzen, Hauttoxizität, Ödem
kurative Kriterien (noch) nicht immer erfüllt
evtl. mehrere Behandlungen notwendig

Tab. 3: Einschränkungen der HIFU-Therapie

3. Material und Methoden

3.1. Das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere

Alle Versuche wurden am Modell der isolierten perfundierten Schweineniere (Köhrmann *et al.*, 1994) durchgeführt. Die Vorteile dieses etablierten Modells sind die ähnlichen physiologischen Nierenparameter von Mensch und Schwein (vgl. Tab. 4) und die einfache und nahezu unbegrenzte Verfügbarkeit der Nieren, die von Schlachtschweinen gewonnen wurden. Diese waren zum Zeitpunkt der Schlachtung durchschnittlich sieben Monate alt und wogen zwischen 90 und 120 kg. Aufzucht- und Mastbedingungen waren vergleichbar.

Kenngröße	Mensch	Schwein	Einheit
Nierengewicht	300(#)	200 – 280(+)	g
Nierengröße	6–7 x 11–13(\$)	7,6 x 15,2	cm
effektiver renaler Blutfluss	693(#)	517(*)	ml x min ⁻¹ x m ⁻² KO
Nierendurchblutung	1800(#)	1005(*)	l/24 h
Anteil am Herzzeitvolumen	20–25(#)	20(\$)	%
Primärharn	180(#)	140(*)	l/24 h
Harmenge	1,5(#)	2–4(*)	l/24 h
Dichte des Harns	1,008 – 1,020(\$)	1,005 – 1,025(*)	
Inulin-clearance	72 ± 10(#)	70 ± 10(*)	ml x min ⁻¹ x m ⁻² KO
endogene Kreatinin-clearance	58 – 81(\$)	90 ± 15(*)	ml x min ⁻¹ x m ⁻² KO
Filtrationsfraktion	20(#)	24(*)	%
Nephrene in beiden Nieren	2(#)	2(*)	Millionen

Tab. 4: Wichtige Kenngrößen der Niere von Mensch und Schwein (*) (Kolb, 1989), (#) (Schmidt & Thews, 1995), (\$) (Hautmann & Huland, 2000), (+) (Nickel *et al.*, 1982), (§) (Dahme & Weiss, 1999)

3.1.1. Beschreibung des Modells

Die Schweinenieren wurden morgens zwischen 7 und 8 Uhr direkt vom städtischen Schlachthof (Fleischversorgungszentrum Mannheim GmbH) bezogen. 10–15 min nach Tötung des jeweiligen Schweins (warme Ischämie) konnte mit der Präparation der Nieren direkt vor Ort begonnen werden. Bei der Entnahme der Organe wurde darauf geachtet, Nierengefäße und Harnleiter möglichst lang am Organ zu belassen, was essentiell für eine effektive Präparation war. Zur Kanulierung der Arterie, Vene und des Harnleiters wurden Teilabschnitte von Infusionsverlängerungen (Riplast²⁰) verwendet (Außendurchmesser: 4,1 mm, Innendurchmesser: 3 mm), die zuvor mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt und verschlossen wurden, um eine Lufteinschleppung zu verhindern (s. Abb. 5). Aus demselben Grund fanden alle Schritte der Präparation in einem mit Wasser gefüllten Behälter statt. Vor Beginn der Präparation wurden die Nieren zunächst äußerlich auf pathologische Veränderungen, wie Zysten und Entzündungen, sowie auf Einschnitte untersucht, die im positiven Fall zum Verwerfen des Organs führten. Zu allererst wurde dann die A. renalis mobilisiert, stumpf freipräpariert und möglichst nah an ihrer Abzweigung der Aorta abdominalis eröffnet. Die oben beschriebene Kanüle wurde bis kurz vor die Aufzweigung der Nierenarterie in die beiden Aa. interlobares eingeführt und mit einer Ligatur fixiert (Vicryl 1, Johnson+Johnson¹¹). Im Anschluss daran wurden auch die V. renalis und der Ureter stumpf freipräpariert und die Fettkapsel der Niere entfernt, um eine bessere Handhabung des Organs zu gewährleisten. Unmittelbar danach wurde die Niere über die Kanüle in der Nierenarterie per Hand mit einer Infusionsspritze (50 ml) mit gekühlter physiologischer Kochsalzlösung perfundiert. Diese Druckperfusion wurde so lange durchgeführt, bis die Spüllösung klar aus der Vene hervortrat (ca. 500 ml). Dann wurde die Kanüle wieder verschlossen und die Niere in einem mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Behälter in einer elektrisch betriebenen Kühlbox (Powerchill 28l Deluxe, Coleman Europe⁶) bei +4°C in den Laborraum transportiert. Dort wurden V. renalis und Ureter auf gleiche Weise wie zuvor die Arterie kanuliert und mit einer Ligatur fixiert (s. Abb. 4). Die Nieren wurden bis zum eigentlichen Versuchsbeginn in einem mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Behälter in einem handelsüblichen Kühlschrank bei +4°C gelagert (kalte Ischämie).

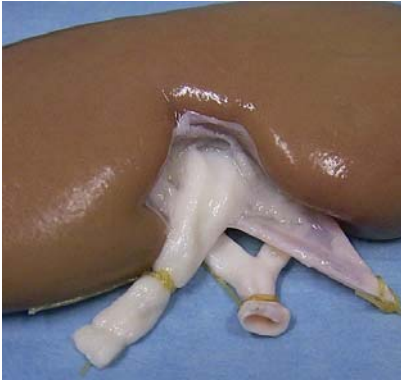


Abb. 4: Präparierte Nierengefäße und Ureter



Abb. 5: Anschlussstück für Gefäße des Nierenmodells

3.1.2. Versuchsaufbau

Die so vorbereiteten Nieren wurden über einen Perfusor (Vario Pumpsystem, IstaTec¹⁰) mit physiologischer Kochsalzlösung (Zimmertemperatur ca. 20°C) perfundiert. Zum Ausgleich der sinusförmigen Druckschwankungen durch den mechanischen Pumpenantrieb war der Niere und dem Perfusor ein Windkessel zwischengeschaltet, der einen kontinuierlichen Fluss des Perfusats gewährleistete. Die Perfusionsrate betrug 100±10 ml/min. Die Verbindung zwischen Perfusor und Nierenarterie wurde mittels einer Infusionsschlauchverlängerung hergestellt. Dieser Verbindung war über einen Dreiwegehahn eine Wassersäule zwischengeschaltet, um den Perfusionsdruck kontrolliert zwischen 100 und 120 cm H₂O zu halten. Die Kanülen von Vene und Harnleiter wurden über Infusionsschlauchverlängerungen in ein separates Gefäß geleitet, um das abfließende Volumen des Eluats überprüfen zu können. Die Niere selbst wurde in einem Wasserbecken gelagert, dessen Temperatur über einen Thermostat (Storz Medical²⁷) bei 37°C kontrolliert gehalten wurde.

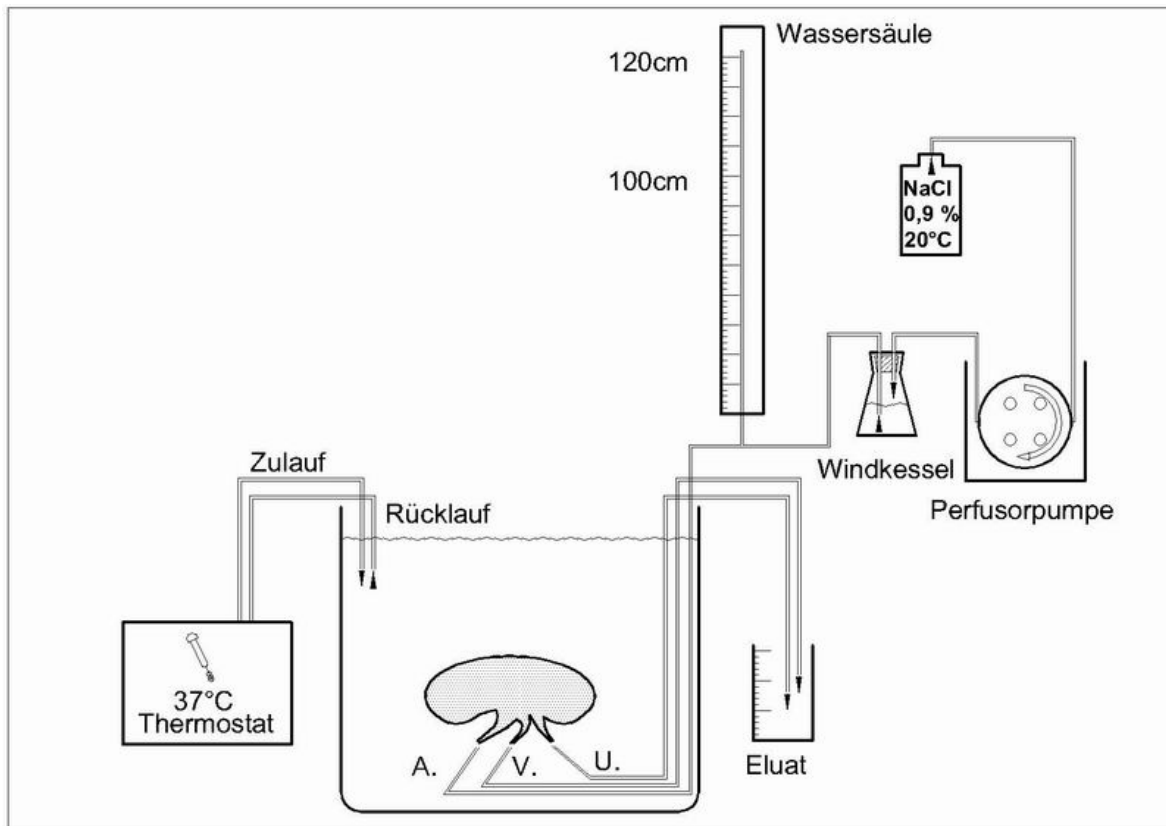


Abb. 6: Schematische Darstellung des Modells der isolierten perfundierten Schweineniere (A. = A. renalis; V. = V. renalis; U. = Ureter)

3.1.3. Zusätzliche Vorbereitungen für die MRT-Messungen

Da bereits kleinste Mikrothromben zu sichtbaren Perfusionsausfällen auf den MRT- (Magnetresonanztomographie) Bildern führten, wurden die Vorbereitungen für diese Versuche wie folgt erweitert: Die Perfusion per Hand erfolgte mit 1000 ml gekühlter 0,9%iger Kochsalzlösung. Nach der Perfusion wurden Vene und Harnleiter ligiert und 25 ml physiologischer Kochsalzlösung mit 12500 I.E. Heparin (Liquemin N5000, Roche²¹) in die Niere injiziert.

3.1.4. Verfahren zur Validierung des Modells

Erstes Untersuchungsziel war es, das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere zu validieren und seine Standardisierbarkeit zu sichern. Folgende Verfahren wurden hierfür angewandt:

Mikroangiographie – Histologie – Doppler-Ultraschall – Magnetresonanztomographie.

Analog zur Vorbereitung bei HIFU-Ablation wurden die verwendeten Nieren 30 min in 37°C warmem Wasser gelagert und in dieser Zeit mit 20°C warmer physiologischer Kochsalzlösung perfundiert. Die Perfusionsrate betrug 100 ± 10 ml/min und der Perfusionsdruck 100–120 cm Wassersäule. Gewebeproben wurden direkt im Anschluss an die Vorbehandlung entnommen. Auch weitergehende Behandlungen schlossen sich direkt an.

3.1.4.1. Mikroangiographie

Ziel der mikroangiographischen Untersuchung war es, die Unversehrtheit des renalen Gefäßnetzes der perfundierten Niere zu überprüfen. Hierbei wurden 5 Nieren verwendet. Das Vorgehen und Verfahren ist in Abschnitt 3.7. beschrieben.

3.1.4.2. Histologie

Ziel der histologischen Untersuchung war es, die perfundierten Nieren mikrostrukturell auf Unversehrtheit zu überprüfen. Im Anschluss an die Vorbehandlung wurden ca. 3 x 2 cm große und 1 cm dicke Gewebeproben entnommen und für die HE-Färbung in 4 %igem Formaldehyd für mindestens 3 Tage fixiert. Für die NADH-Färbung wurden die Gewebeproben sofort in flüssigem Stickstoff bei -196°C tiefgefroren. Für beide Färbeverfahren wurden je 5 Nieren verwendet. Das genaue Vorgehen zur weiteren Vorbereitung der Gewebeproben, des Schneidens und der Färbeverfahren (HE und NADH) ist in Abschnitt 3.4. beschrieben.

3.1.4.3. Doppler-Ultraschall

Ziel der Untersuchungen des Nierenmodells mittels Doppler-Ultraschall war es, die Regelmäßigkeit der Perfusion im Nierenparenchym und den großen Nierengefäßen im Hilusbereich zu überprüfen. Zu diesem Zweck wurden insgesamt 5 Nieren in 37°C warmer physiologischer Kochsalzlösung (0,9%) gelagert und mit 21°C warmer physiologischer Kochsalzlösung bei einer Perfusionsrate von 100 ml/min perfundiert. Jede Niere wurde an 5 bis 8 unterschiedlichen Stellen des Parenchyms und des Hilusbereichs geschallt. Zum Einsatz kam hierfür das SONOLINE Elegra Gerät (Siemens Medical Solutions²⁵) mit einem

7,5 MHz Schallkopf. Es wurden zunächst morphologische B-Mode-Bilder erstellt und im gleichen Untersuchungsbereich die Perfusion mittels zugeschaltetem Doppler-Mode untersucht.

3.1.4.4. MRT

Die Messungen im MRT fanden in Kooperation mit Herrn Dr. J. Jenne, Herrn Dr. F. Risse und Frau Dr. G. Wilzbach Divković der Abteilung Innovative Krebsdiagnostik und -therapie des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) in Heidelberg statt. Zunächst wurden T1- und T2-gewichtete morphologische Bilder akquiriert und anschließend Kontrastmittel gestützte Perfusionsmessungen an insgesamt 20 Nieren durchgeführt. Die genaue Beschreibung des Versuchsaufbaus, sowie der durchgeführten Messungen ist in Abschnitt 3.6. beschrieben.

3.2. Der Single-Element-Transducer (SET)

3.2.1. Geräte

Für die Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes wurde ein experimenteller HIFU-Ultraschallwandler (Storz Medical²⁷) verwendet (Köhrmann *et al.*, 2002b). Bei diesem Prototyp wurden die Ultraschallwellen von einem zylinderförmigen Piezoelement erzeugt und durch einen Paraboloidreflektor mit einer Brennweite von 100 mm fokussiert (s. Abb. 9). Die Frequenz des erzeugten Ultraschallfeldes betrug 1,04 MHz, die Apertur des Schallkopfes 10 cm und die Fokusgröße (-6dB) 32 x 4 mm. Bei der maximalen elektrischen Leistung von 400 W und einem Wirkungsgrad von 0,7 ergibt sich eine räumlich gemittelte Intensität (I_{SAL}) des Ultraschallfeldes von 8.500 W/cm². In den Schallkopf integriert war eine diagnostische Ultraschallsonde (B-Mode). Hierdurch konnte der Fokuspunkt präzise innerhalb der Nierenrinde positioniert werden. Außerdem konnte die diagnostische Sonde den Gewebeeffekt direkt im Anschluss an die Behandlung visualisieren. Ein echtes Online-monitoring im Sinne einer Echtzeitvisualisierung des Ablationsprozesses war hingegen nicht möglich. Der Schallkopf war an einer mechanischen 3-Achsen-Verstellmimik befestigt und wurde kontrolliert über Mikrometerschrauben in x-, y- und z-Richtung bewegt

(vgl. Abb. 7). Die Ansteuerung des Ultraschallwandlers erfolgte über einen handelsüblichen PC und eine spezielle Software (Storz Medical²⁷). Möglich waren die Einstellung von Behandlungsmodus (Einzel-, Dauer- und Mehrfachbeschallung), elektrischer Leistung (10–470 W_{el}), Pulsdauer (200–9000 ms), Pulsanzahl (1–9000) und dem Pulsintervall (7–9 s). Darüber hinaus wurden Gesamtpulszahl und Gesamtenergie angezeigt (vgl. Abb. 8).

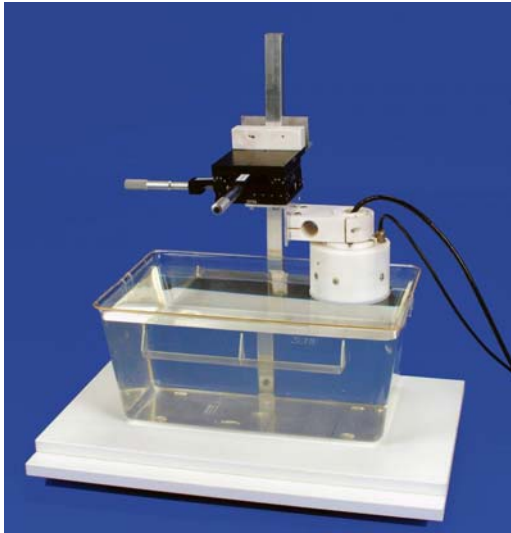


Abb. 7: SET-Behandlungskopf und Verstellmimik



Abb. 8: SET-Bedienelement

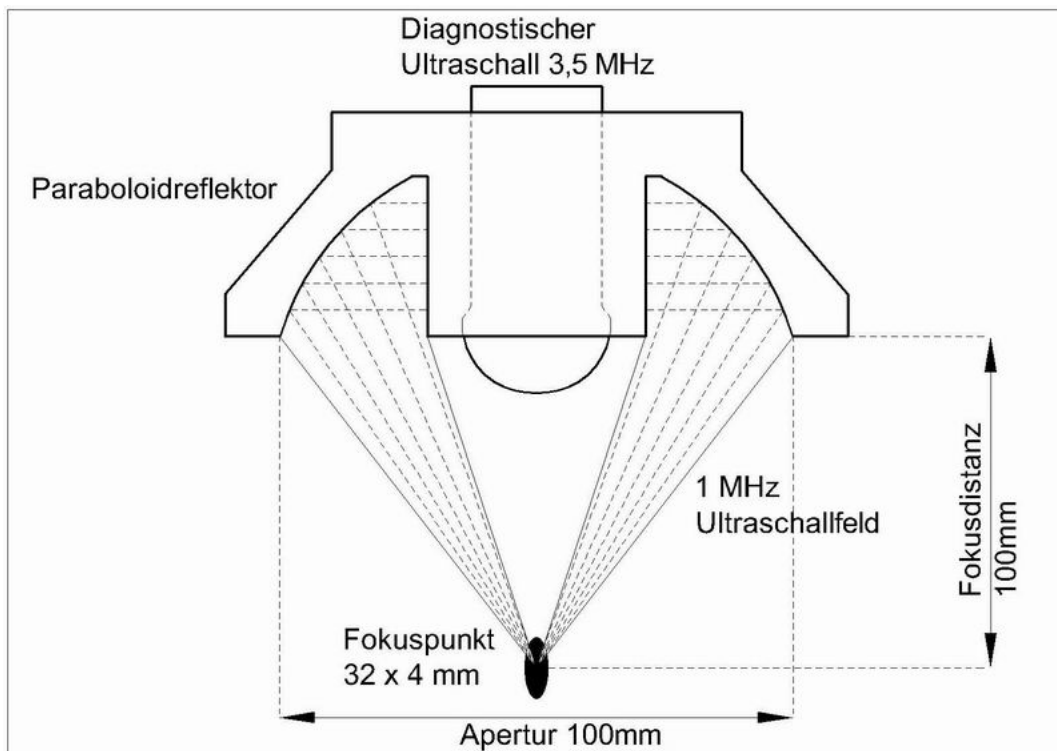


Abb. 9: Schematische Darstellung des SET

3.2.2. Versuchsaufbau

Bei den Versuchen mit dem einteiligen Ultraschallwandler wurde die perfundierte Niere (vgl. Abschn. 3.1.) in einem Wasserbassin in 40 Liter klarem, entgastem und auf 37°C temperiertem Wasser auf einer Absorberplatte aus Silikonkautschuk (RTV-2, Wacker-Chemie²⁸) gelagert und mit Gummibändern fixiert. Der Ultraschallwandler wurde ca. 10 cm darüber, ebenfalls im Wasserbad, positioniert. Die endgültige Position wurde dann mittels der Verstellmimik und der diagnostischen B-Mode-Ultraschalleinheit zentral im Nierenparenchym hergestellt. Die Entgasung des Wassers sollte das Auftreten von Gasbläschen verhindern, die zur Streuung und Absorption des Ultraschallfeldes führen könnten.

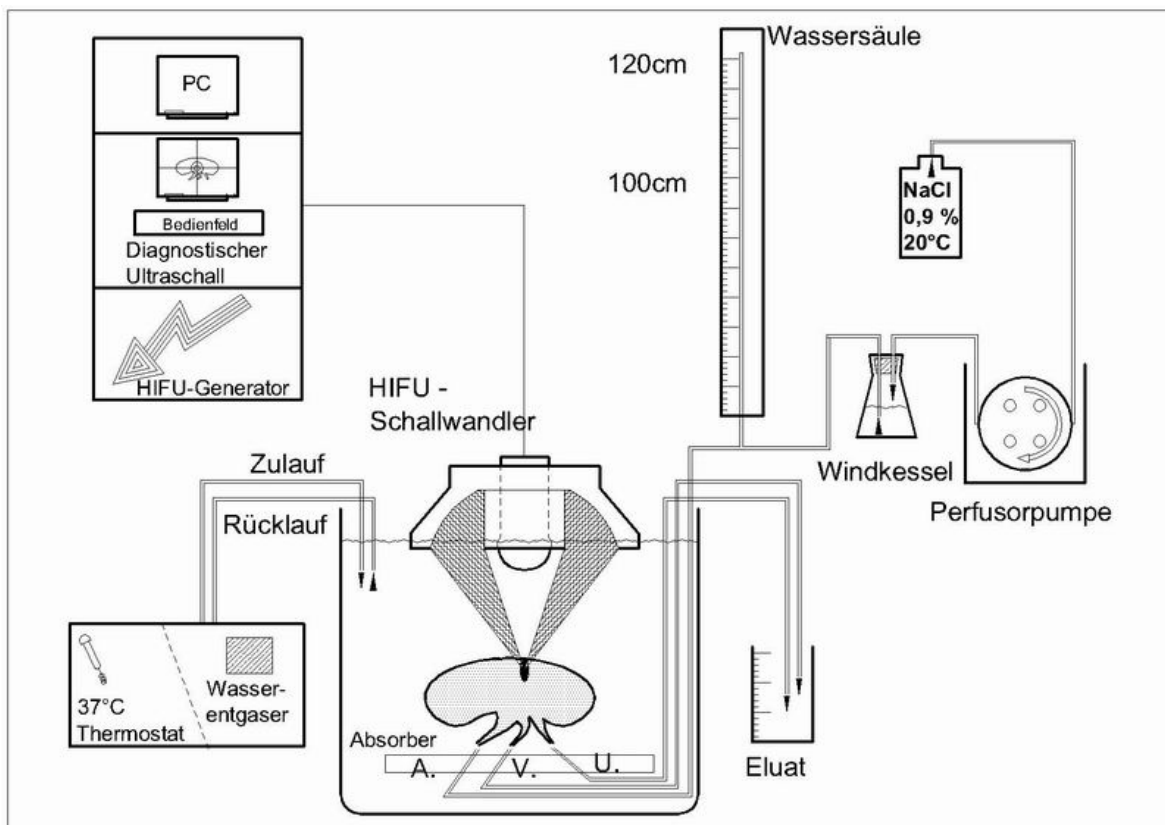


Abb. 10: Schematischer Versuchsaufbau der HIFU-Beschallung mit dem SET (A. = A. renalis; V. = V. renalis; U. = Ureter)

3.2.3. Variation der Parameter

Um den Einfluss von elektrischer Leistung (Watt) und Pulsdauer (Sekunden) sowie Temperatur und Perfusion der Niere und deren Gewebsspannung auf die Größe der erzeugten

Läsionen zu quantifizieren, wurden in 4 Behandlungsgruppen an 100 Nieren insgesamt 1144 Läsionen erzeugt. In jeder der Behandlungsgruppen wurden elektrische Leistung (100, 200, 300, 400 W) und Pulsdauer (1, 2, 4, 8 s) in gleicher Weise variiert. Das Behandlungsintervall, d.h. die Wartezeit zwischen zwei Beschallungen, wurde analog zu Malcolm und ter Haar konstant bei 60 Sekunden gehalten, um Einflüsse durch Interaktion zwischen den Einzelläsionen auszuschließen (Malcolm & ter Haar, 1996). Aus demselben Grund wurde der Abstand zwischen den Läsionen 10 mm groß gewählt. Die Läsionen wurden in 3 bis 4 Reihen pro Niere angeordnet. Die Enden jeder Reihe wurden jeweils mit einer sichtbaren, an der Nierenoberfläche liegenden Markerläsion gekennzeichnet, um später exakt entlang der Läsionslinien schneiden zu können.

Folgende Versuchsgruppen wurden gebildet:

- Gruppe 1: Organtemperatur 10°C; keine Perfusion
- Gruppe 2: Organtemperatur 37°C; Perfusion
- Gruppe 3: Organtemperatur 37°C; keine Perfusion
- Gruppe 4: Organtemperatur 37°C; Perfusion bis Versuchsbeginn

Die Temperatur des Perfusionsmediums betrug nur Zimmertemperatur (ca. 20°C), um die Kühlungseffekte zu forcieren. Gruppe 4 wurde gebildet, da bei den nicht perfundierten Nieren der Gruppen 1 und 3 das Organewebe weicher als bei den perfundierten Nieren von Gruppe 2 war. Um Einflüsse durch Unterschiede in der Gewebsspannung zu untersuchen, wurden die Nieren der Gruppe 4 daher 30 min lang perfundiert und die Gefäße direkt vor Beginn der Ablation legiert.

3.2.4. Parameterermittlung für Komplexläsionen

Um die Erzeugung komplexer, aus Einzelläsionen aufgebauter, Läsionen zu untersuchen, wurden an insgesamt 33 Nieren 79 Komplexläsionen aus 972 Einzelläsionen erzeugt. Im ersten Schritt wurde eine Einstellung der veränderlichen Parameter (elektrische Leistung und Pulsdauer) anhand der Ergebnisse der vorangegangenen Versuchsreihe ausgewählt. Kriterien für die Wahl waren konstant reproduzierbare Einzelläsionen von gleichmäßiger Form und Größe. Die ausgewählten Parameter waren 300 W elektrische Leistung und 4 s Pulsdauer. Die Einzelläsionen wurden in einem Abstand von 4 mm nebeneinander platziert, da sich bei dieser

Einstellung in der vorangegangenen Versuchsreihe eine mittlere Läsionsbreite von 3,8 mm ergeben hatte.

Ausgehend davon folgten die weiteren Schritte:

- Schritt 2: Variation des Abstandes der Einzelläsionen zueinander (2; 2,5; 3; 4; 5 mm)
- Schritt 3: Variation der Pulsdauer (2; 3; 4; 4,5 s)
- Schritt 4: Variation der elektrischen Leistung (260, 280, 300, 400 W)
- Schritt 5: Variation des Behandlungsintervalls (10, 20, 30 s)

Die Nieren wurden hierbei mit physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur perfundiert. Die Gewebstemperatur betrug 37°C. Die Läsionen wurden in 2 bis 4 Reihen pro Niere angeordnet. Die Enden jeder Reihe wurden mit einer Markerläsion gekennzeichnet (vgl. Abschn. 3.2.3.).

3.2.5. Auswertung

Die Nieren wurden direkt im Anschluss an die Behandlung mit Hilfe der Markerläsionen entlang der Läsionsreihen aufgeschnitten. Die maximalen Längs- und Querdurchmesser der erzeugten Läsionen wurden mit Hilfe eines Lineals bestimmt, photodokumentiert und histologisch untersucht. Eine statistische Auswertung wurde mittels 2-faktorieller Varianzanalyse durchgeführt.

3.3. Der Triple-Element-Transducer (TET)

Alle Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes wurden in Zusammenarbeit mit Frau Dr. S. Chauhan der Abteilung Mechatronik und Design der Nanyang Technological University, Singapur, durchgeführt. Der Triple-Element-Transducer wurde von der Nanyang Technological University für diese Versuchsreihe zur Verfügung gestellt.

3.3.1. Beschallungsanlage

Der HIFU-Behandlungskopf bestand aus 3 identischen Ultraschallwandlern (Imasonic⁹), mit einem jeweiligen Aperturdurchmesser von 48 mm. Die Ultraschallwellen wurden von einem piezokeramischen Element erzeugt, das zugleich die konkave, sichtbare Oberfläche des jeweiligen Ultraschallwandlers bildete (s. Abb. 11). Die 3 Ultraschallwandler waren auf einem Plexiglasgestell in präzise ausgefrästen Öffnungen in einem Achsenwinkel von 40° zueinander positioniert und fixiert (s. Abb. 12). Wie zuvor über ein interaktives Feldmodell berechnet, gewährleistete diese Anordnung eine sich gegenseitig verstärkende Interaktion der Einzelstrahlen in der Fokusregion, so dass eine Erhöhung der Fokusintensität um den Faktor 2,2 bis 2,5 erreicht werden kann (Chauhan, 2001). Die Ultraschallwellen wurden 80 mm von ihrer Quelle entfernt fokussiert und ihre nominelle Frequenz betrug 1,75 MHz. Die maximal zulässige elektrische Leistung je Wandler betrug 100 W mit einem Wirkungsgrad von ca. 73%. Der zentrale Ultraschallkopf konnte zudem einzeln angesteuert werden, wobei die verwendete elektrische Energie entsprechend angepasst wurde. Die Ansteuerung der Ultraschallwandler erfolgte über einen HIFU-Generator (Advanced Surgical Systems¹). Die Wahl und Variation der Behandlungsparameter (Energie, Frequenz, Pulsdauer, Behandlungsintervall) sowie deren Kontrolle während der Behandlung wurde durch eine spezielle Software (Visual C ++ 6.0; Entwicklung: RRC Lab, NTU, Singapur) und einen handelsüblichen PC vorgenommen (s. Abb. 13).

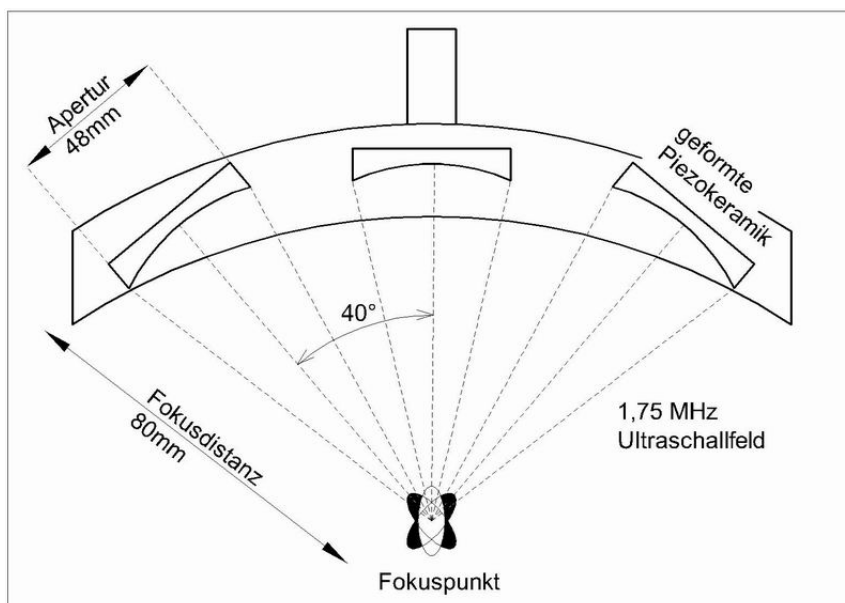


Abb. 11: Schematische Darstellung des TET



Abb. 12: TET

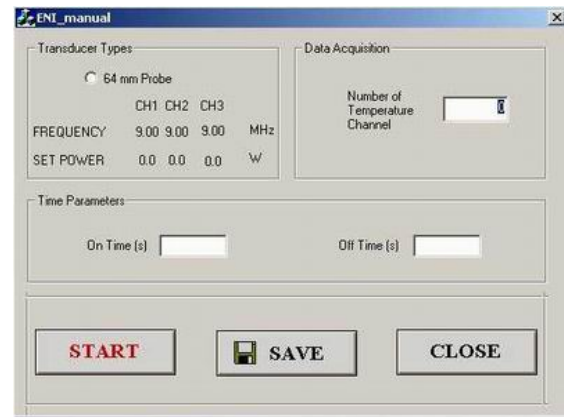


Abb. 13: Software zur Ansteuerung des TET

3.3.2. Versuchsaufbau

Das Plexiglasgestell mit den 3 Ultraschallköpfen konnte über eine Verstellmimik präzise in x- und y-Richtung verschoben werden konnte. Vor den eigentlichen Ablationsversuchen wurde der konfokale Punkt der 3 Wandler bestimmt. Dies geschah mit Hilfe eines Impulsechoverfahrens und eines Metallstifts (Außendurchmesser 1,5 mm) als Reflektor. Dies wurde bei jedem Wandler einzeln und bei gemeinsamem Betrieb aller 3 Wandler bestimmt, um den Fokus zentral im Gewebe der Nierenrinde zu positionieren. Die Nieren wurden während der Versuche auf einer Absorberplatte aus Silikonkautschuk (RTV-2, Wacker-Chemie²⁸) gelagert, die sich auf dem Boden eines mit entgastem und temperiertem (21°C) Wasser gefüllten Beckens befand. Als Perfusionsflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung. Die Perfusionsrate betrug druckkontrolliert (100–120 cm Wassersäule) 100 ± 10 ml/min.

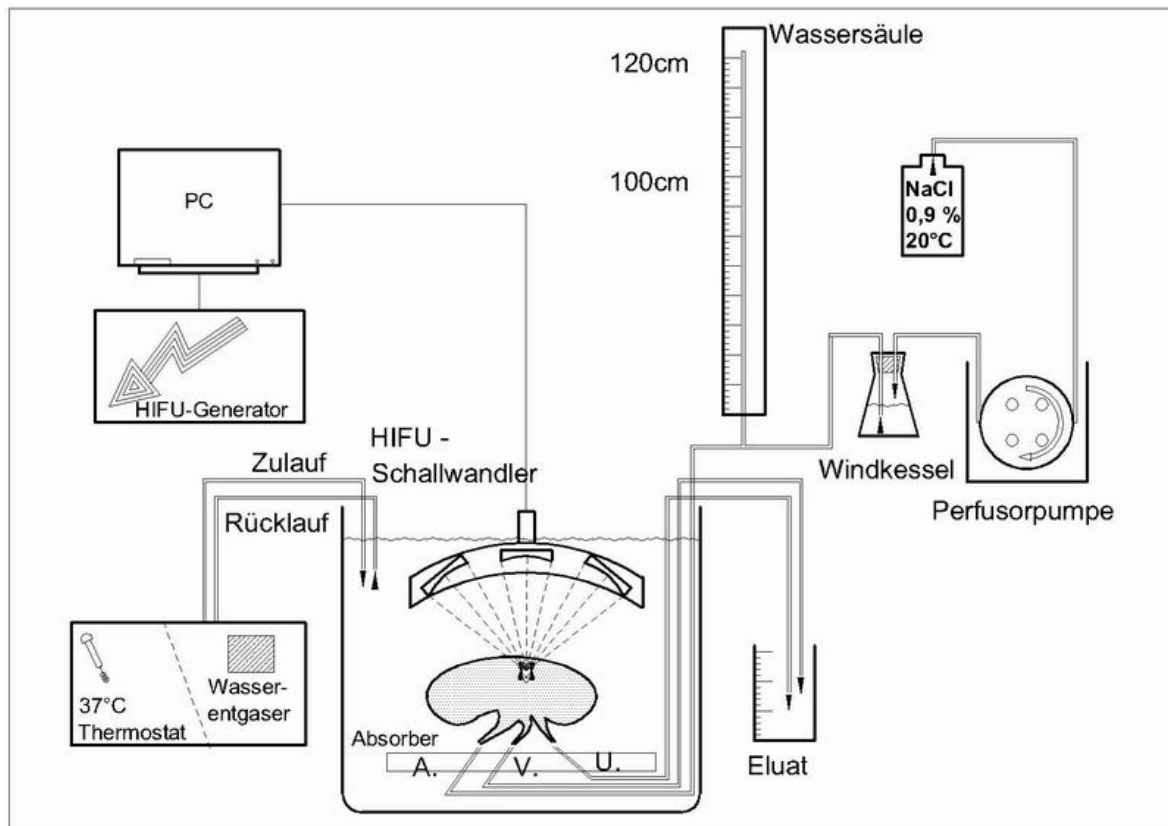


Abb. 14: Schematischer Versuchsaufbau der HIFU-Beschallung mit dem TET (A. = A. renalis; V. = V. renalis; U. = Ureter)

3.3.3. Testreihen

Bei allen Versuchen wurden 3 bis 4 lineare Reihen von Einzelläsionen pro Niere erzeugt. Markerläsionen (3 x 70 W x 5s) wurden sichtbar an Anfang und Ende einer jeden Reihe gesetzt (vgl. Abschn. 3.2.3.). Der Abstand zwischen den Einzelläsionen wurde zwischen 5 und 20 mm variiert (siehe auch Abschn. 5.2.). Insgesamt wurden 20 Nieren verwendet. In der ersten Versuchsreihe wurde die Beschallungszeit konstant gehalten (8 s) und die applizierte elektrische Energie variiert (40, 60, 80 W). Bei der zweiten, dritten und vierten Versuchsreihe wurde der Energiewert konstant gehalten (bei 40, 60, bzw. 80 W) und die Beschallungszeit variiert (4, 6, 8 s). Das Behandlungsintervall hatte mindestens die 2-fache Länge der Pulsdauer. Pro Einstellung wurden mindestens 10 Wiederholungen bei perfundierten und nicht perfundierten Nieren durchgeführt. Gruppe 1 wurde mit allen 3 Ultraschallwandlern, Gruppe 2 mit dem zentralen Wandler im Einzelbetrieb beschallt.

3.3.4. Auswertung

Nach der HIFU-Behandlung wurden die Nieren entlang der Markerläsionen aufgeschnitten und die maximalen Längs- und Querdurchmesser der erzeugten Läsionen mit Hilfe eines Lineals bestimmt. Gewebeproben des behandelten Nierengewebes wurden anschließend fixiert, histologisch aufgearbeitet und mikroskopisch untersucht.

3.4. Histologie

3.4.1. Aufbereitung der Proben

3.4.1.1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Gewebeproben wurden direkt nach der Perfusion (Validierungsnieren) bzw. direkt nach der HIFU-Behandlung (Versuchsnieren) entnommen und in 4%igem Formaldehyd mindestens 3 Tage lang fixiert. Nach diesem Zeitraum wurden sie in handelsübliche Kapseln (Langenbrinck¹⁴) verbracht, mit zugehörigen Metalldeckeln verschlossen und in 4%igem Formaldehyd für 24 h fixiert. Anschließend wurden sie im Gewebeeinfiltrationsautomaten (Leica TP 1020, Leica¹⁵) fixiert (10% Formaldehyd für 2 x 1,5 h), entwässert (aufsteigende Alkoholreihe 70, 80, 96, 2 x 100%ig und 2 x Xylol für je 1,5 h) und abschließend mit flüssigem Paraffin infiltriert (3 x 1,5 h) (Fischer). Die so vorbereiteten Proben wurden dann an der Ausblockstation (Leica EG 1140, Leica¹⁵) in Ausblockförmchen (Sakura Finetek²²) verbracht und mit 65°C warmem Paraffin (Paraplast, Kendall¹²) bedeckt, abgekühlt und ausgeblockt. Die Paraffinblöcke wurden anschließend am Mikrotom (Cool Cut HM 355 S, Microm¹⁹) in 3 µm dicke Scheiben geschnitten, in einem 40°C warmen Wasserbad zwischengelagert, auf handelsübliche 76 x 26 mm große Objektträger (Langenbrinck¹⁴) aufgezogen und bei 37°C für 24 h durchgetrocknet. Das Färbeverfahren entsprach dem üblichen Protokoll des Urologischen Labors des Universitätsklinikums Mannheim und ist im Detail in Anhang 1 wiedergegeben. Die Schnitte wurden zum Abschluss mit wasserfreiem Eindeckmedium (Neo-Mount, Merck¹⁷) und 24 x 60 mm großen Deckgläsern (Menzel-Gläser¹⁶) eingedeckt.

3.4.1.2. NADH- (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) Färbung

Die Gewebeproben wurden direkt nach der Perfusion bei den Validierungsnieren bzw. direkt nach der HIFU-Behandlung entnommen und in flüssigem Stickstoff bei -196°C tiefgefroren. Im nächsten Schritt wurden am Kryostaten (Leica CM 1900, Leica¹⁵) $5\ \mu\text{m}$ dicke Gefrierschnitte hergestellt, auf handelsübliche $76 \times 26\ \text{mm}$ große Objektträger (Langenbrinck¹⁴) aufgebracht und 1 h bei Zimmertemperatur aufgetaut. Das anschließende Färbeverfahren wurde nach Sheehan und Hrapchak modifiziert (Sheehan & Hrapchak, 1987). Das exakte Vorgehen ist in Anhang 2 wiedergegeben. Die Schnitte wurden zum Abschluss mit wasserfreiem Eindeckmedium (Neo-Mount, Merck¹⁷) und $24 \times 60\ \text{mm}$ großen Deckgläsern (Menzel-Gläser¹⁶) eingedeckt.

3.4.2. Beurteilung

Die histologische Auswertung fand am Lichtmikroskop (Axioskop 2 plus, Carl Zeiss⁵) statt. Mit Hilfe eines handelsüblichen PCs und des Bildbearbeitungs- und Analysesystems Leica QWin (Leica¹⁵), das mit dem Lichtmikroskop in Verbindung stand, wurden digitale Abzüge der histologischen Schnitte erstellt.

3.5. Absorptionsmessungen an Brust- und Bauchseitenwand

Alle Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl. Phys. O. Kraut der Abteilung Grundlagenentwicklung der Firma STORZ MEDICAL AG, Kreuzlingen, Schweiz durchgeführt.

3.5.1. Beschallungsanlage

Der verwendete HIFU-Ultraschallwandler entspricht in seinem Aufbau und seiner Funktionsweise dem in Abschnitt 3.2.1. beschriebenen Gerät. Es handelte sich um ein HIFU-Gerät für den klinischen Einsatz (UTT, Storz Medical²⁷). Die Frequenz des erzeugten Ultraschallfeldes betrug $1,04\ \text{MHz}$, die Apertur des Schallkopfes $10\ \text{cm}$ und die

Fokausdehnung 32 x 4 mm. Einzige bauliche Abweichung stellte ein Koppelkissen aus Polyurethan am Ultraschallkopf dar, welches mit entgastem, gekühltem (16°C) Wasser gefüllt war (s. Abb. 15). Weiterhin wurden eine Schallwaage (Delta Range, Mettler-Toledo¹⁸) und ein handelsübliches Notebook zur Ansteuerung und Datenaufnahme verwendet (s. Abb. 16).

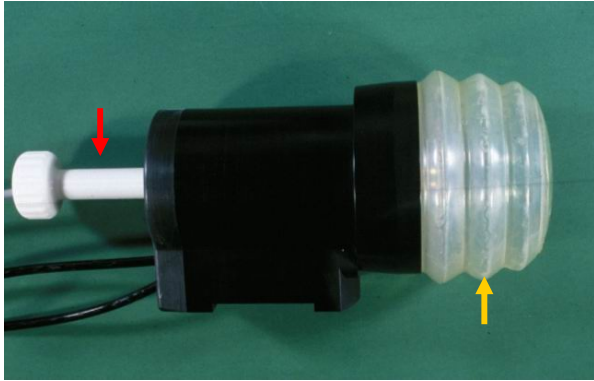


Abb. 15: Schallkopf des HIFU-Gerätes mit Koppelkissen (gelber Pfeil) und diagnostischer Ultraschalleinheit (roter Pfeil) (Häcker *et al.*, 2006)



Abb. 16: Benutzeroberfläche zur Ansteuerung des Schallkopfes zur Absorptionsmessung

3.5.2. Versuchsaufbau

3.5.2.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage

Auf der Schallwaage wurde ein Wasserbassin mit entgastem, 21°C warmem Wasser gelagert. Auf den Boden des Bassins wurde ein Absorberblock aus Silikonkautschuk (RTV-2, Wacker-Chemie²⁸) verbracht. Der Kopf des Ultraschallwandlers wurde mit Hilfe der integrierten diagnostischen Ultraschallsonde ca. 10 cm darüber positioniert. Das Gewebe der Vorlaufstrecke wurde mittels Draht direkt unter dem Ultraschallwandler fixiert (s. Abb. 17). Vom Ultraschallgenerator wurden elektrische Leistungen (P_{el}) von 100 – 1800 W erzeugt. Die akustische Leistung (P_{ac}) wurde mittels eines, im entgastem Wasserbecken gelagerten Absorberblockes und der Schallwaage bestimmt (s. Abb. 17).

3.5.2.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung

Die Lagerung der Nieren erfolgte auf einer Absorberplatte aus Silikonkautschuk (RTV-2, Wacker-Chemie²⁸) auf dem Boden eines mit entgastem, temperiertem (21°C) Wasser

gefüllten Beckens (s. Abb. 18). Da eine Unabhängigkeit der Läsionsgröße von der Perfusion bei Pulsdauern < 5 s gegeben ist (Damianou & Hynynen, 1994), wurde der Einfachheit halber auf eine Perfusion der Nieren verzichtet. Der Kopf des Ultraschallwandlers und das Gewebe der Vorlaufstrecke wurden auf gleiche Weise, wie in Abschn. 3.2.2. beschrieben, positioniert.



Abb. 17: Messung der Absorption mit der Schallwaage

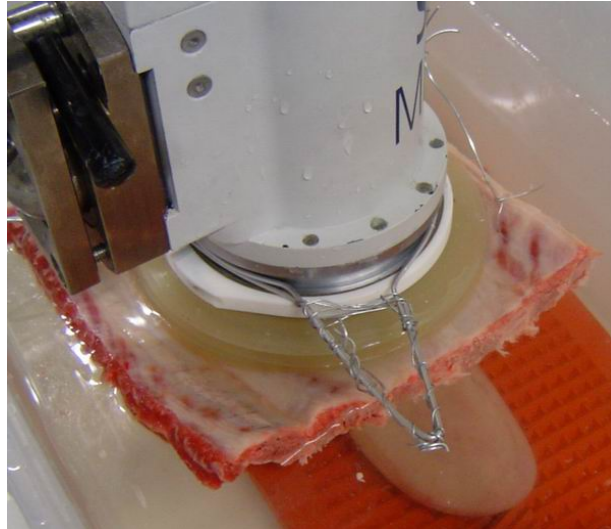


Abb. 18: Bestimmung des Einflusses der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung

3.5.3. Messreihen

3.5.3.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage

Im ersten Arbeitsschritt wurden Leermessungen ohne Gewebe in der Vorlaufstrecke durchgeführt, um Referenzdaten für die spätere Rechnung zu erhalten. Im zweiten Arbeitsschritt wurde die Absorption von 6 Gewebestücken gemessen. Diese wurden aus Teilen schlachtfrischer Bauch- bzw. Brustseitenwand von Schweinen gewonnen und bestanden zu unterschiedlichen Anteilen aus äußerer Haut, subkutanem Fettgewebe, Rippenknochen, Interkostalmuskulatur und Bindegewebe. Zwei der Proben waren frei von Knochengewebe. Die Schichtdicke der Gewebestücke variierte von 2–5 cm. Die Absorption wurde in beiden Schritten bei elektrischen Leistungen von 100–1800 W bestimmt. Die Schallzeit betrug jeweils 4 s, das Beschallungsintervall 10 s. Jede Einstellung wurde mindestens 4-mal wiederholt.

3.5.3.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung

Analog zur Schallwaagenmessung wurden zunächst 24 Leermessungen bei unterschiedlichen elektrischen Leistungen (1000–1800 W) an 3 Nieren ohne Gewebe in der Vorlaufstrecke durchgeführt, um Referenzdaten für die spätere Rechnung zu erhalten. Im nächsten Schritt wurden 6 Nieren mit unterschiedlichen elektrischen Leistungen (1000–1800 W) jeweils 4 s an 24 verschiedenen Stellen beschallt. Das Behandlungsintervall betrug jeweils 10 s. Jede Einstellung wurde mindestens 4-mal mit 2 verschiedenen Gewebeproben im Vorlauf wiederholt. Bei 3 Nieren setzte sich die Gewebeprobe aus äußerer Haut und Fettgewebe, bei den anderen 3 Nieren aus Muskelgewebe (2–5 cm Schichtdicke) und Rippenknochen (2 cm Schichtdicke, Abstand der Rippen zueinander: 1,5 cm) zusammen (s. Abb. 19).

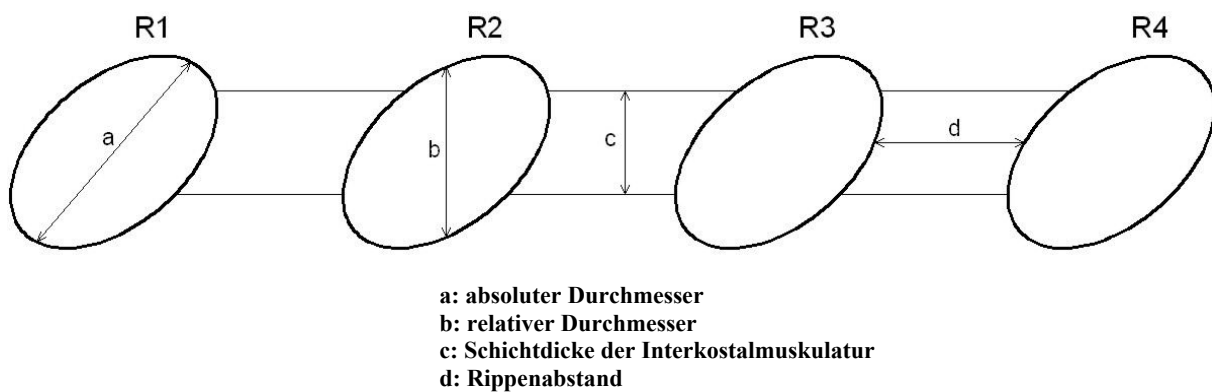


Abb. 19: Schematische Darstellung der Gewebeproben mit Rippenknochen (R1-R4 = Rippenknochen)

3.5.4. Auswertung

Bei der Schallwaagenmessung wurde die akustische Leistung (P_{ac}) mit ($P_{ac}(\Delta x)$) und ohne Gewebeprobe ($P_{ac}(0)$) in der Vorlaufstrecke gemessen. Die im Gewebe absorbierte Leistung P_{abs} ergibt sich aus Gleichung 1.

$$P_{abs} = \Delta P_{ac} = P_{ac}(0) - P_{ac}(\Delta x) \quad (1)$$

Anhand dieser Werte konnte der akustische Wirkungsgrad η nach Formel 2 berechnet werden.

$$\eta = P_{ac}(\Delta x)/P_{ac}(0) \quad (2)$$

Unter idealisierten Bedingungen gilt ein exponentielles Abschwächungsgesetz.

$$\Delta P_{ac} = P_{ac}(0) e^{-\alpha \Delta x} \quad (3)$$

Wird diese Gleichung 3 unter Berücksichtigung von Gleichung 1 nach dem Abschwächungskoeffizienten α aufgelöst, so ergibt sich Gleichung 4.

$$\alpha = -\ln(\eta)/\Delta x = -\ln[\Delta P(x)/P_0]/\Delta x = -\ln[1 - P_{ac}(\Delta x)/P_{ac}(0)]/\Delta x \quad (4)$$

Anhand dieser Gleichung, der Werte der gemessenen akustischen Leistungen und der gemessenen Dicke des Gewebes in der Vorlaufstrecke Δx wurde der Wert des Abschwächungskoeffizienten α für die untersuchten Gewebeproben bestimmt.

Bei der indirekten Bestimmung wurden die maximalen Längs- und Querdurchmesser der erzeugten Läsionen mit Hilfe eines Lineals bestimmt. Die Werte der jeweiligen Messungen mit Gewebe im Vorlauf (L_x) wurden im Anschluss von denen der Leermessungen (L_0) subtrahiert (Gleichung 5) und so indirekt die Abschwächung der akustischen Leistung bestimmt.

$$\Delta L = L_0 - L_x \quad (5)$$

3.6. MRT-Messungen

Alle Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. J. Jenne, Herrn Dr. F. Risse und Frau Dr. G. Wilzbach Divković der Abteilung Innovative Krebsdiagnostik und -therapie des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) in Heidelberg durchgeführt.

3.6.1. HIFU-Beschallung

Mit dem in Abschnitt 3.2.1. beschriebenen Schallwandler (Storz Medical²⁷) wurden HIFU-Läsionen im entsprechend gelagerten und perfundierten Nierenmodell erzeugt. Die verwendete elektrische Leistung betrug jeweils 280 W, die Pulsdauer 4 s und das Behandlungsintervall 10 s. Der Abstand zwischen den Einzelläsionen betrug 4 mm. Pro Komplexläsion wurden 4 Einzelläsionen in einer Reihe und 4 Reihen parallel zueinander platziert. Pro Niere wurden 2 bis 3 Komplexläsionen à 16 Einzelläsionen induziert. Insgesamt wurden 21 Komplexläsionen in 10 Nieren erzeugt.

3.6.2. MRT-Versuchsaufbau

Nach Gewebeablation wurde die beschallte Niere in einem mit 37°C warmer physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Kunststoffbecken gelagert. Dort wurde sie mittels Klettband an einer Kunststoffhalterung befestigt, die wiederum durch Saugnäpfe am Boden des Kunststoffbeckens fixiert war (s. Abb. 20). Die zur Perfusion benötigten Pumpen (Zu- und Ablauf) (505 Du, Watson Marlow²⁹) befanden sich außerhalb der HF-Kabine (Hochfrequenz) des MRT und waren über Kunststoffschläuche mit dem Nierenmodell verbunden, wobei dem Zulauf ein Windkessel zwischengeschaltet war (s. Abb. 21). Auf 37°C erwärmte physiologische Kochsalzlösung wurde mit einer Durchflussrate von 100 ml/min zur Perfusion verwendet. Während der Perfusionsmessungen mit Kontrastmittel wurde die Perfusionsrate auf 200 ml/min erhöht. Oben beschriebenes Kunststoffbecken wurde auf der Patientenliege des 1,5 Tesla MR Tomographen (Magnetom Symphony, Siemens Medical Solutions²⁵) positioniert (s. Abb. 22). Für den Signalempfang wurde eine Kombination aus der in der Liege integrierten 4-Element-Rückenspule (spine array) und zwei 4-Element-Körperspulen (body array), die über dem Becken mit Klettband fixiert waren, verwendet. Die Kombination dieser beiden Spulensysteme ermöglichte eine parallele Bildgebung. Die Ansteuerung des MRT erfolgte von einer Konsole außerhalb der HF-Kabine aus. Die zugehörige Kontrastmittelpumpe befand sich innerhalb der HF-Kabine. Um den hohen Druckverhältnissen während der Kontrastmittelgabe gerecht zu werden, wurde die Kanulierung der Nierenarterie mit einem speziell angefertigten Anschluss aus Hartplastik hergestellt (s. Abb. 23).

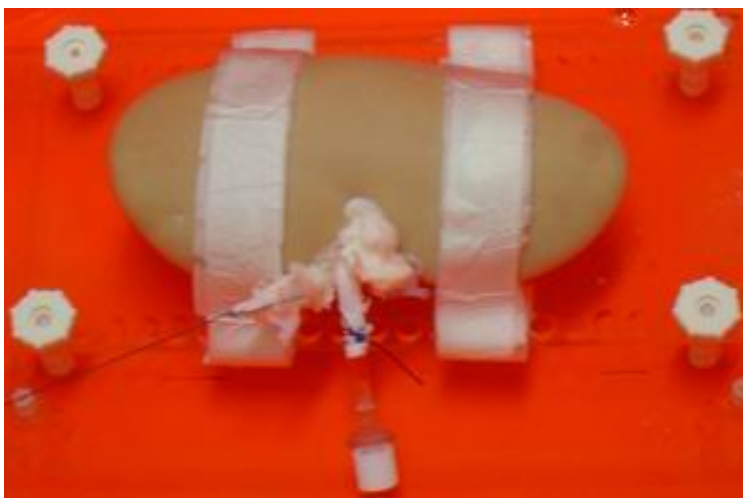


Abb. 20: Lagerung der Niere für die MRT-Versuchsreihe



Abb. 21: Perfusionsaufbau im MRT-Versuch



Abb. 22: Lagerung im MRT



Abb. 23: Anschluss für Perfusion im MRT-Versuch

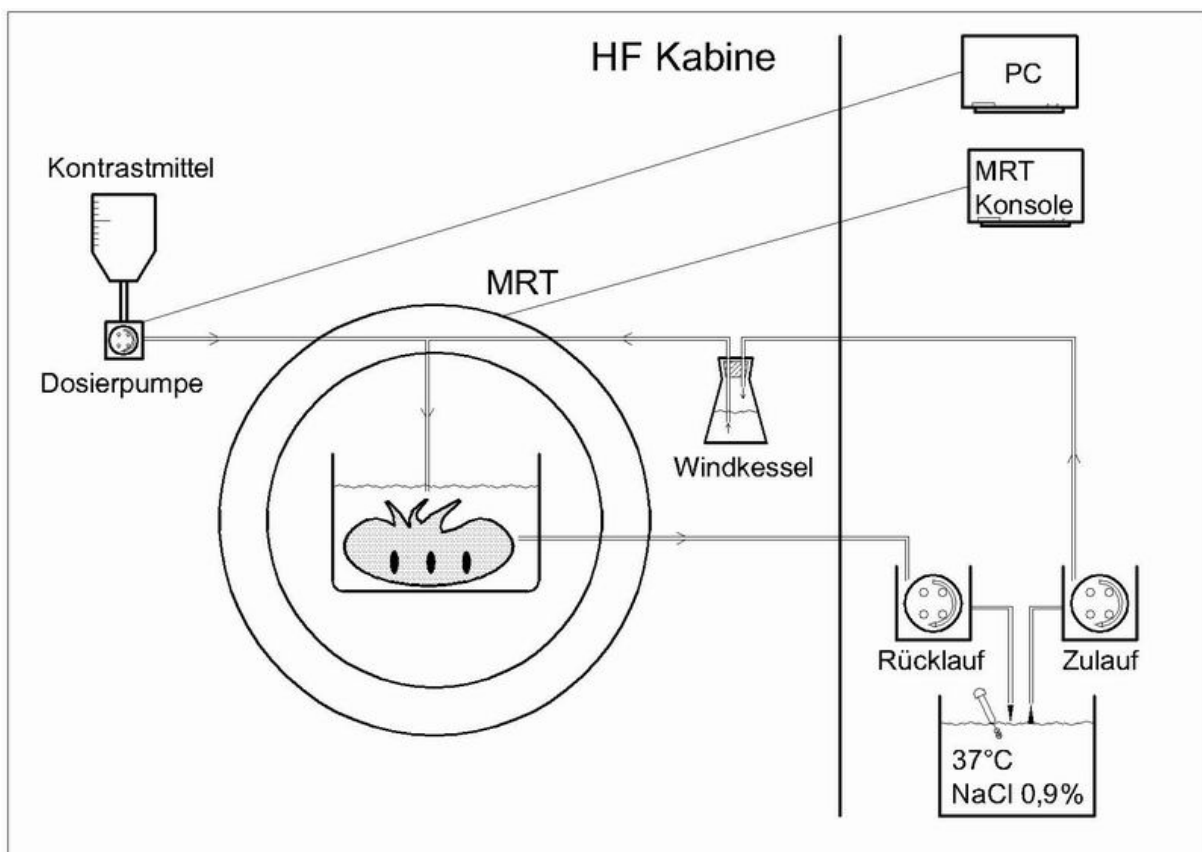


Abb. 24: Schematischer Versuchsaufbau der MRT-Versuchsreihe (Niere mit angedeuteten Thermoläsionen)

3.6.3. MRT-Messungen

Folgende Messesequenzen wurden verwendet (Details siehe Tab. 5):

- **Localizer**: Lokalisierung der Niere und Planung der folgenden Messungen
- **T1-Spinecho (SE)** und **T2-Turbo-Spinecho (TSE)**: morphologische Darstellung von Niere und Läsionen; Schichtdicke: 3mm
- **3D-Perfusionsmessung (3D-FLASH)**: kontrastmittelverstärkte Perfusionsmessung mittels paralleler Bildgebung (GRAPPA); Kontrastmittelgabe über eine Dosierpumpe [10 ml Kontrastmittel (Magnevist, Schering²³) und anschließend 10 ml isotone Kochsalzlösung (Flussrate 2 ml/s)]; zeitliche Auflösung: 1,6 s
- **VIBE-Volumetriemessung** (volume interpolated breathhold examination): hochauflösende T1-gewichtete Sequenz mit einer Schichtdicke von 0,9 mm zur exakten isovolumetrischen Darstellung der Läsionen nach Kontrastmittelgabe
- **T2 mit Fettsättigung und Flusskompensation (TSE)**: morphologische Darstellung von Niere und Läsionen nach Kontrastmittelgabe

Sequenz	TE/TR/ α	Mittelungen	Schichten	Räumliche Auflösung	Zeitliche Auflösung	Beschleunigungsfaktor
T1 (SE)	11 ms/ 500 ms/ 90°	2	22	1,0 x 1,0 x 3,0 mm ³	/	/
T2 (TSE)	185 ms/ 3010 ms/ 150°	4	15	1,0 x 1,0 x 3,0 mm ³	/	/
3D-Perfusion	0,67 ms/ 1,8 ms/ 40°	keine	40 Messungen	2,7 x 2,7 x 3,0 mm ³	1,6 sec	2
VIBE-Volumetrie	2,86 ms/ 5,9 ms/ 10°	3	120 Partitionen	0,9 x 0,9 x 0,9 mm ³	/	/
T2 (TSE) mit Sättigung	160ms/ 3960 ms/ 150°	5	15	1,2 x 1,2 x 3,0 mm ³	/	/

Tab. 5: Details zu den verwendeten MRT-Sequenzen

3.6.4. Auswertung

3.6.4.1. Makroskopie

Nach Abschluss der Messungen wurden die Nieren entlang der 1. und 4. Läsionsreihe, sowie zentral dazwischen parallel zur Schallachse aufgeschnitten und die Komplexläsionen mittels eines Lineals in drei Dimensionen vermessen. Die Breite der Komplexläsion wurde hierbei als x definiert, die Länge der Komplexläsion als y und ihre Tiefe als z .

3.6.4.2. MR-Bildausmessung

Die Läsionsausmaße auf den MR-Bildern der T1-gewichteten VIBE-Sequenz wurden mittels eines speziell zu diesem Zweck entwickelten Computerprogramms (IDA, DKFZ) vermessen. Breite (x) und Tiefe (z) der Komplexläsionen wurden direkt bestimmt. Die Läsionslänge (y) wurde indirekt über die Anzahl der 3D-Partitionen (Schichtdicke 0,9 mm) bestimmt, auf denen die Läsion sichtbar war. Die Ergebnisse wurden statistisch mittels einer Varianzanalyse ausgewertet.

3.7. Mikroangiographie

3.7.1. Vorbereitung der Nieren

Insgesamt wurden 10 Nieren mit dem in Abschnitt 3.2.1. beschriebenen Ultraschallwandler (Storz Medical²⁷) beschallt. Dabei wurden 5 bis 11 Läsionen pro Niere in 4 parallelen Reihen angeordnet. Die elektrische Leistung betrug jeweils 300 W und die Pulsdauer 4 s. Der Abstand zwischen den Läsionen betrug 5–10 mm. Im Anschluss an die Beschallung wurden die Nieren mit 100–150 ml einer 25%igen Bariumsulfatlösung (Micropaque Colon, Guerbet⁸) perfundiert, bis das Kontrastmittel sichtbar aus der V. renalis als Eluat hervortrat und die Niere sich deutlich weißlich verfärbt hatte (s. Abb. 25). Nach 30–60 min wurden die Nieren mit einem manuellen Rotationsmesser (Bizerba³) longitudinal in 5 mm starke, planparallele Scheiben geschnitten. Die zentralen Schichten, die die Läsionen beinhalteten, wurden für die angiographischen Aufnahmen verwendet (s. Abb. 26).

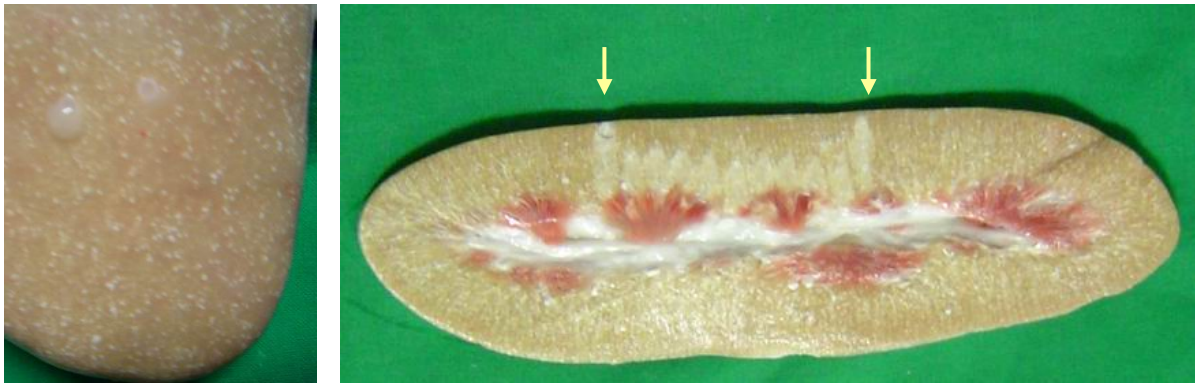


Abb. 25: Nierenparenchym mit Kontrastmittel angereichert
Abb. 26: Longitudinale Nierenscheibe mit zentralen Thermoläsionen (zwischen den Pfeilen)

3.7.2. Angiographische Aufnahmen

Die angiographischen Aufnahmen wurden mit dem Mammographiergerät (Senographie DMR, GE Healthcare⁷) des Instituts für klinische Radiologie des Klinikums Mannheim (kommissarischer Direktor: Priv. Doz. Dr. Wolfgang Neff) angefertigt (s. Abb. 27). Der Abstand der Röntgenröhre zu den Nieren betrug ca. 50 cm. Die Belichtungen erfolgten mit 24 kV und 80 mAs auf 18 x 22,4 cm großem Film (X-OMAT MA, Kodak¹³) (s. Abb. 28). Die Filme wurden vor Ort entwickelt und beurteilt.



Abb. 27: Mammographiergerät

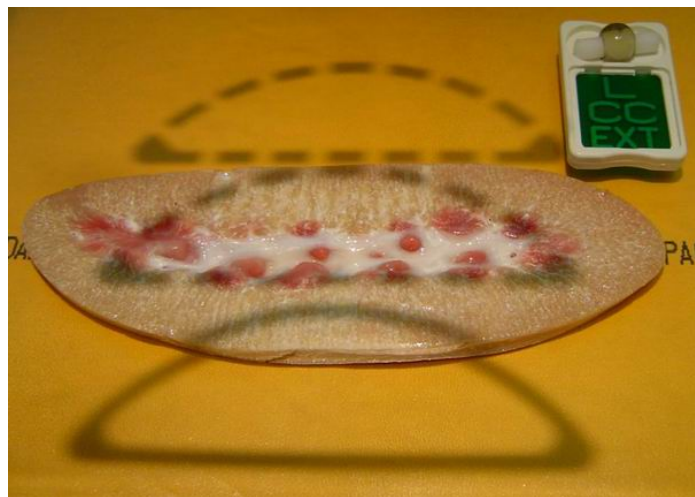


Abb. 28: Nierenscheibe auf Röntgenfilm

3.8. Ultraschallphantom

Alle Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. J. Jenne und Frau Dr. G. Wilzbach Divković der Abteilung Innovative Krebsdiagnostik und -therapie des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) in Heidelberg durchgeführt.

3.8.1. Eigenschaften des Ultraschallphantoms

Das gewebeähnliche Ultraschallphantom bestand aus einer mit Hühnereiweiß dotierten Polyacrylamidmatrix (Carl Roth⁴). Weiterhin waren TEMED (Tetramethylethyldiamin) (Bio-Rad Laboratories²) und APS (Ammoniumpersulfat) (Carl Roth⁴) als Initiatoren und Katalysatoren der Polymerisationsreaktion der Polyacrylamidmatrix enthalten. Das Hühnereiweiß diente als Ultraschallabsorber und Proteinträger. Das Ultraschallphantom war transparent und zeigte bei Temperaturen über 67°C sichtbare weiße, scharf abgegrenzte Koagulationszonen (s. Abb. 29 u. 30). Die akustischen und thermischen Eigenschaften des Gelphantoms sowie von Wasser und von Brustgewebe sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Physikalische Eigenschaften	Phantom	Wasser	Brustgewebe
Dämpfung dB/m bei 1,7 MHz	33,9±2,6	0,6	50–110
Dichte kg/m ³	1045±5	998	1020
Schallgeschwindigkeit m/s	1540±9	1482	1450–1570
Thermische Leitfähigkeit W/m°C	0,59±0,06	0,6	0,499
Wärmekapazität J/kg °C	4270±365	4182	3550

Tab. 6: Akustische und thermische Eigenschaften des Gelphantoms, von Wasser bei 20°C und Brustgewebe bei 37°C. (Duck, 1990; Wilzbach Divković, 2005)

3.8.2. Versuchsaufbau

Das Ultraschallphantom wurde am Tag vor den eigentlichen Versuchen hergestellt und in eine 10 x 5 x 5 cm große Form gegossen. Bis zum folgenden Tag war die Polymerisation

abgeschlossen und das Gelphantom einsetzbar. Dieser Gelblock wurde in einem Becken mit entgastem Wasser (21°C) 7,5 cm unterhalb des in Abschnitt 3.2.1. beschriebenen Ultraschallwandlers (Storz Medical²⁷) gelagert (s. Abb. 30). Es wurden 70 Läsionen mit Ultraschalleistungen von 100 bis 400 W_{el} und einer Beschallungszeit von 9 s im Gelphantom erzeugt. Diese wurden während ihrer Entstehung mit einem digitalen Camcorder aufgezeichnet und nach Beendigung der Untersuchungen fotografiert. Das Beschallungsintervall wurde zwischen 60 und 180 s gewählt. Der Abstand der Läsionen zueinander wurde entweder so gewählt, dass einzelne Läsionen ohne Interaktion entstanden (5 mm), oder so nah, dass die einzelnen Läsionen eine Komplexläsion bildeten (vgl. Abschn. 3.2.4.).



Abb.29: Ultraschallphantom: links in gebrauchsfertigem Zustand, rechts: vollständig koaguliert

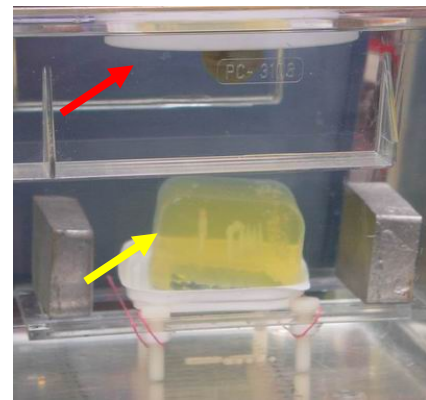


Abb. 30: Versuchsaufbau mit HIFU-Wandler (rot) und Thermoläsionen im Ultraschallphantom (gelb)

3.9. Statistik

Die statistische Planung und Auswertung wurde unter der Beratung von Frau Dr. Ch. Weiß, kommissarische Leiterin des Institutes für Biomathematik und Statistik der Fakultät für Klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg, durchgeführt. Die statistische Analyse wurde mit der Software SAS 8.2 durchgeführt. Zur Bestimmung des Einflusses der Ultraschallparameter auf die Läsionsgröße (s. Abschn. 3.2.3.) und der Korrelation der makroskopischen Läsionsgrößen mit den MRT-Bildern (s. 3.6.4.) wurden zweifaktorielle Varianzanalysen durchgeführt. Unterschiede wurden als signifikant bezeichnet, wenn $p < 0,05$ war.

4. Ergebnisse

4.1. Das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere

4.1.1. Mikroangiographie

In der kontrastmittelverstärkten Angiographie war das Gefäßsystem bei allen 5 untersuchten Nieren intakt und eine vollständige Darstellung von Nierenarterie und Nierenvene sowie des Gefäßbaumes möglich (s. Abb. 31–34). Die Verteilung des Kontrastmittels erfolgte gleichmäßig über das Nierenparenchym.

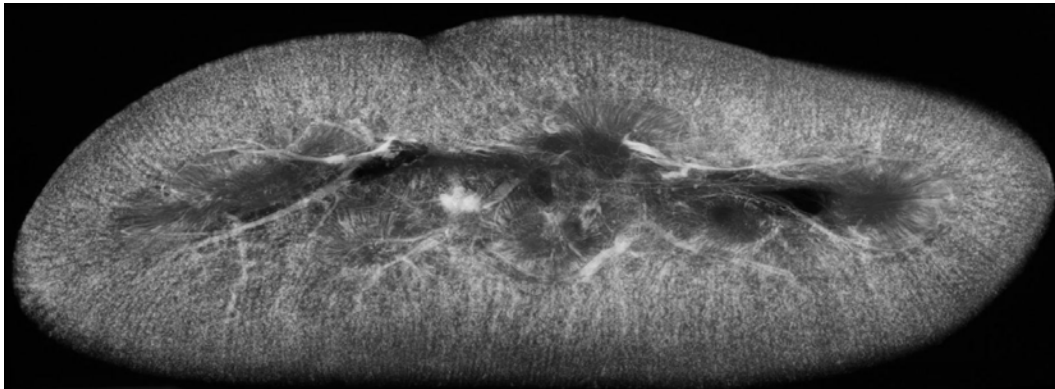


Abb. 31: Überblick der Mikroangiographie mit Augenmerk auf die kleineren Gefäße des Parenchyms

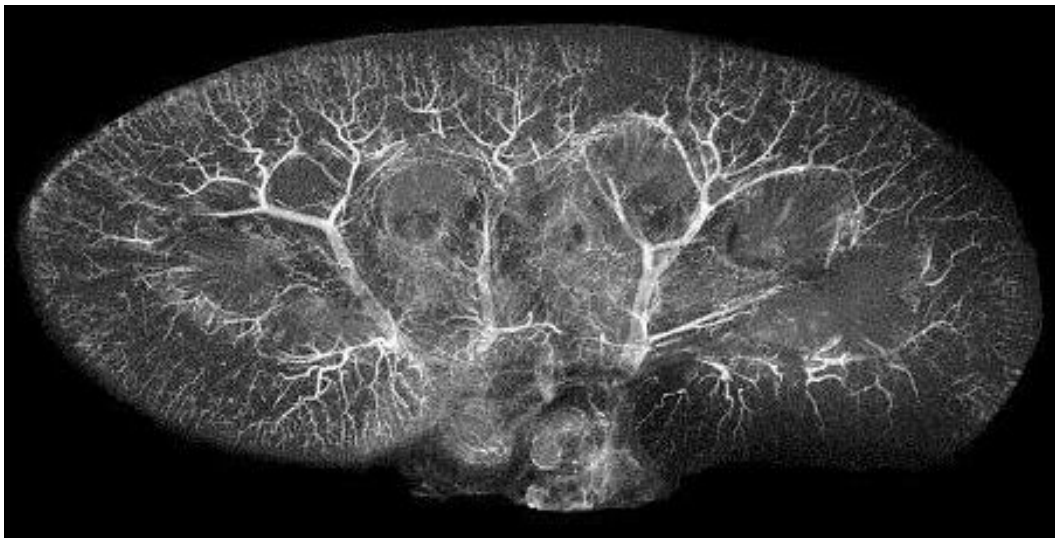


Abb. 32: Überblick der Mikroangiographie mit Augenmerk auf die größeren Arterien mit Aufzweigungen

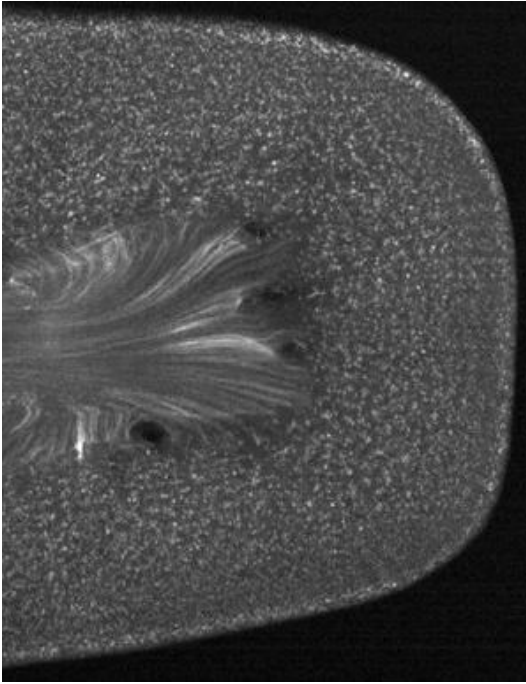


Abb. 33: Detailansicht der Nierenrinde
(quer geschnitten)

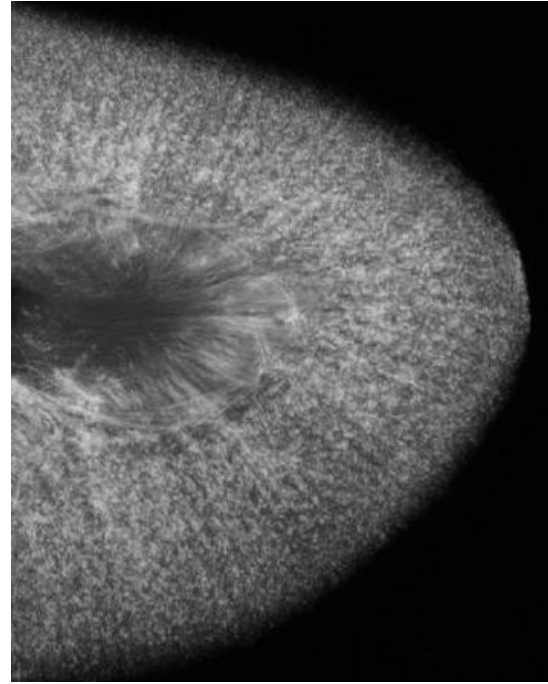


Abb. 34: Detailansicht der Nierenrinde
(längs geschnitten)

4.1.2. Histologie

In allen HE-Präparaten der 5 untersuchten Nieren war die mikrostrukturelle Morphologie unverändert. Es fanden sich keine Hinweise auf mechanische Schädigungen und nur sehr geringfügige Hinweise auf hypoxische Schäden in Form von Verlust des Epithels oder Dilatation der proximalen Tubuli (s. Abb. 35).

In den NADH-Präparaten 5 weiterer Nieren konnte in jedem Fall eine deutliche Enzymaktivität nachgewiesen werden. Es fanden sich keine Hinweise auf hypoxische oder mechanische Schädigungen (s. Abb. 36).

Abb. 35: Histologische HE-Präparate

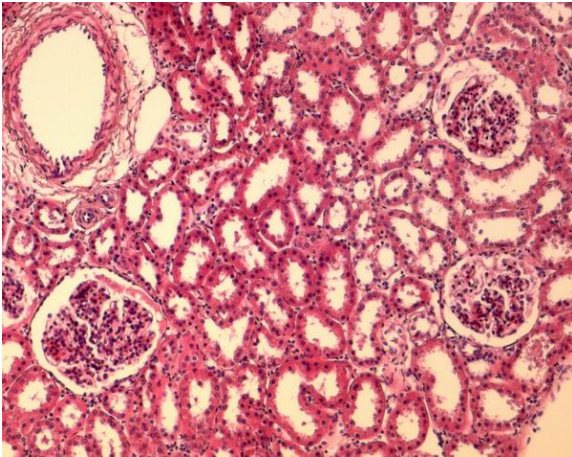


Abb. 35 a: Übersicht; 5-fache Vergrößerung

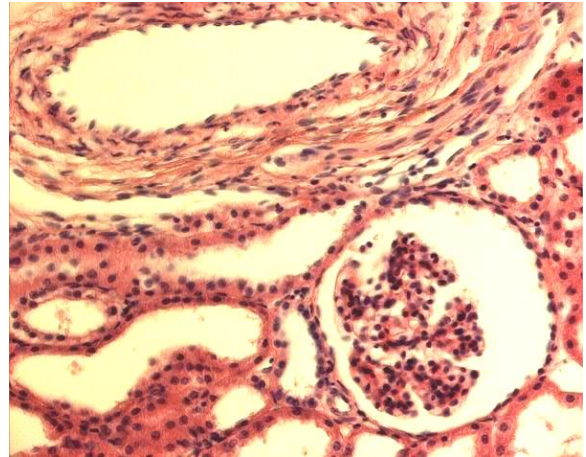


Abb. 35 b: Übersicht; 10-fache Vergrößerung

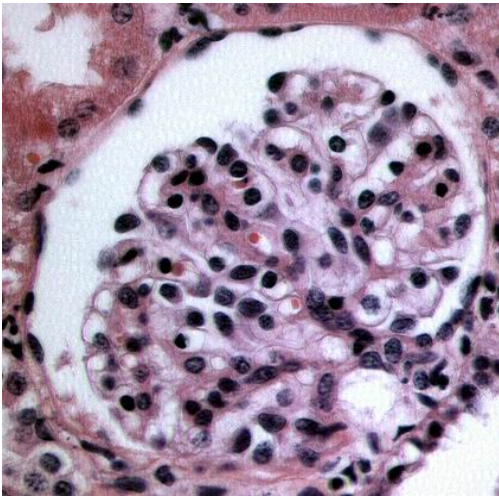


Abb. 35 c: Glomerulum 20-fache Vergrößerung

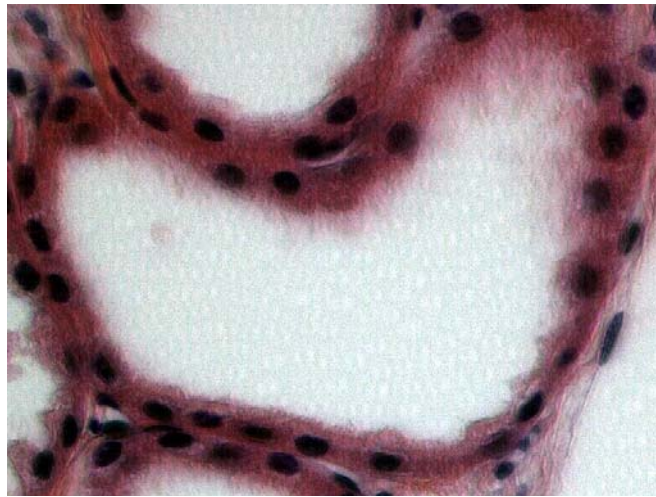


Abb. 35 d: distaler Tubulus 40-fache Vergrößerung

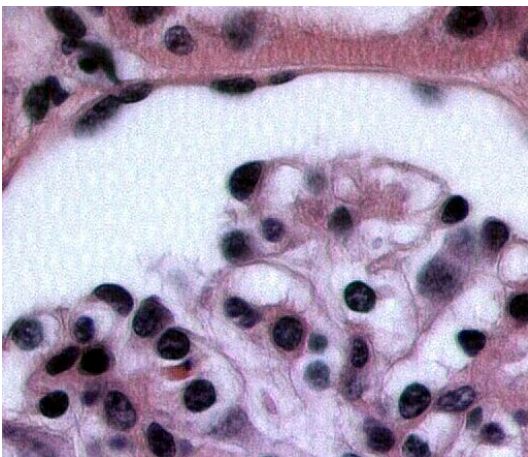


Abb. 35 e: Glomerulum 40-fache Vergr. plus Zoom

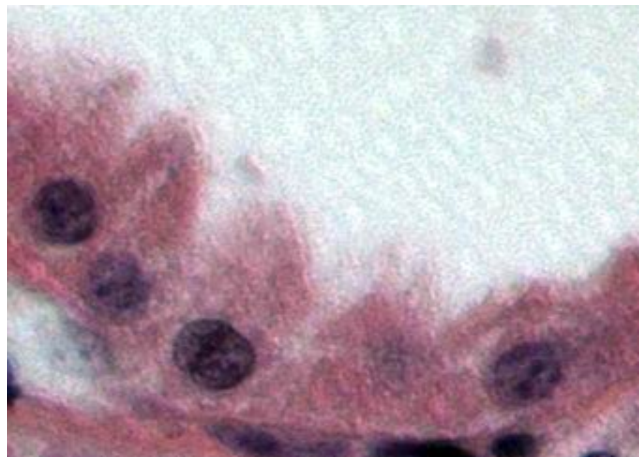


Abb. 35 f: proximales Tubulusepithel 40-fache Vergr. plus Zoom

Abb. 36: Histologische NADH-Präparate

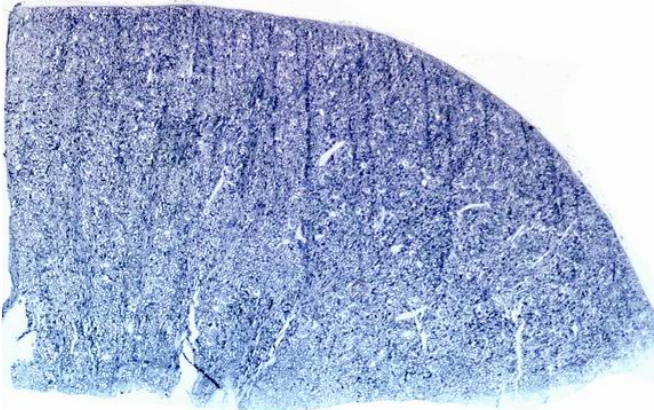


Abb. 36 a: Übersicht Scanbild

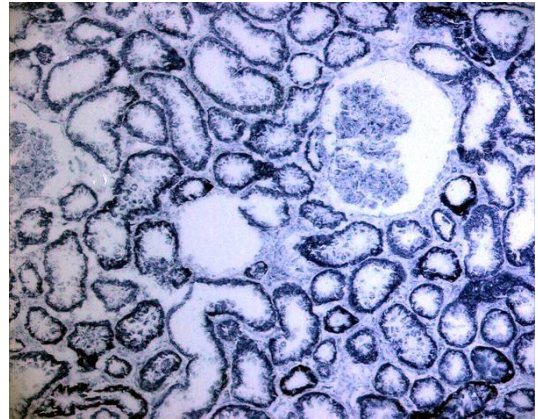


Abb. 36 b: Übersicht 10-fache Vergrößerung

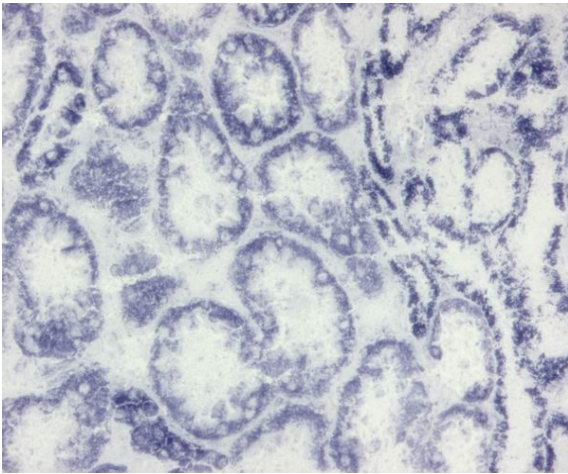


Abb. 36 c: Sammelrohre 20-fache Vergrößerung

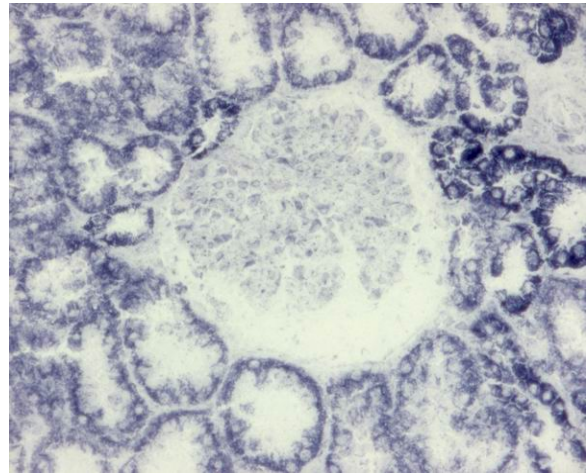


Abb. 36 d: Glomerulum 20-fache Vergrößerung

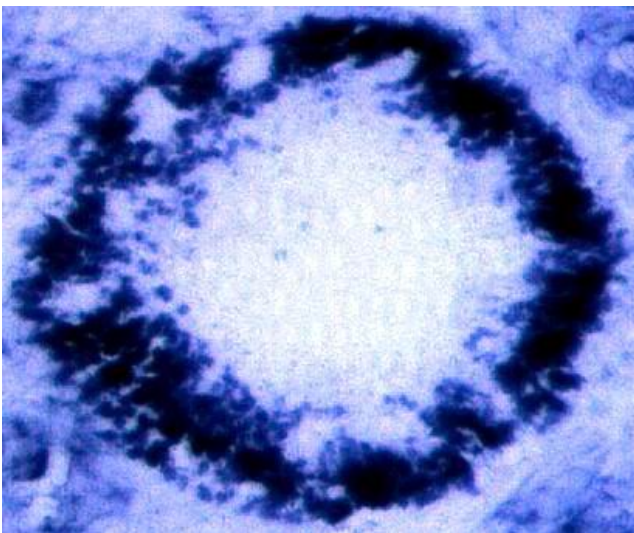
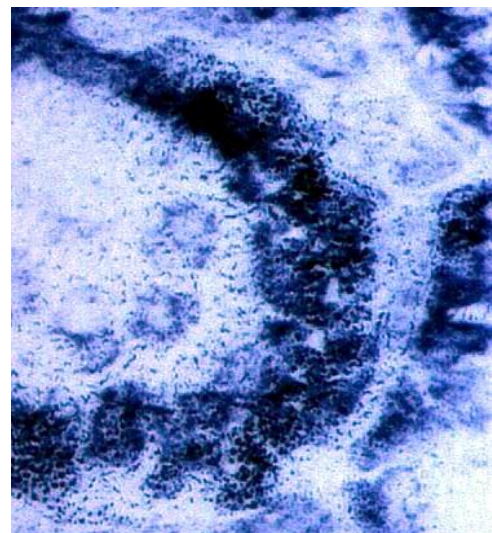


Abb. 36 e: Detail proximaler Tubulus 40-fache Vergr.

Abb. 36 f: Distaler Tubulus 40-fache Vergr.
plus Zoom

4.1.3. Doppler-Ultraschall

In 4 der 5 untersuchten Nieren war die Perfusion im gesamten Nierenparenchym gleichmäßig verteilt und deutlich darstellbar (s. Abb. 38). Bei einer Niere wies die Perfusion des kaudalen Nierenpols geringfügige Unregelmäßigkeiten auf. Im Hilusbereich waren die großen renalen Blutgefäße und die Strömungsbewegung des Perfusats bei allen untersuchten Nieren gut erkennbar (s. Abb. 39 u. 40). Bei keiner der untersuchten Nieren waren sonographisch morphologische Veränderungen zu erfassen (s. Abb. 37).

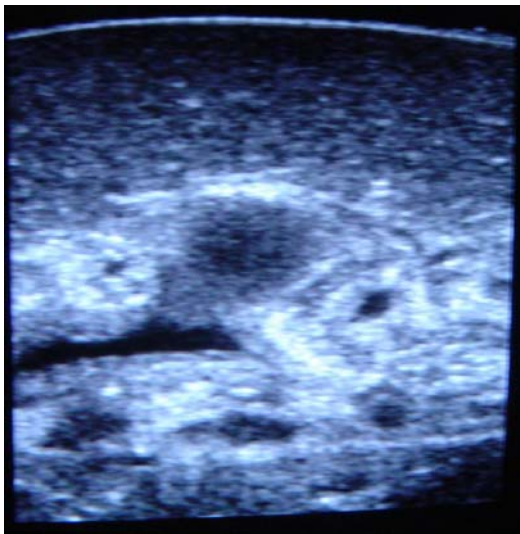


Abb. 37: Morphologische Übersicht des Nierenmodells

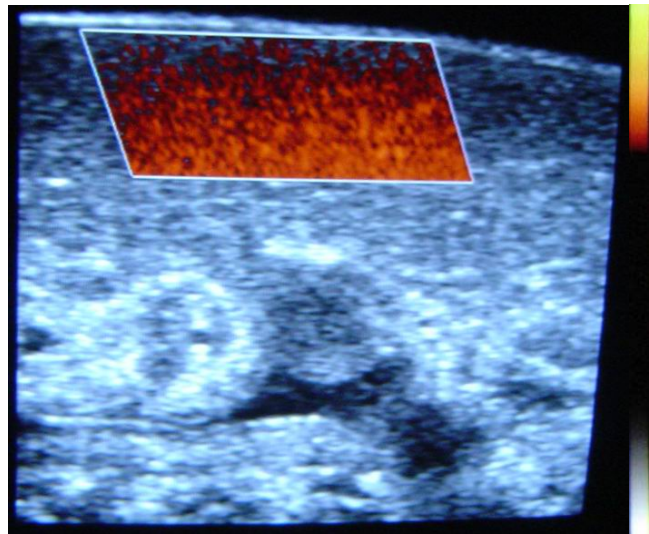


Abb. 38: Perfusion des Nierenparenchyms im Doppler-Ultraschall

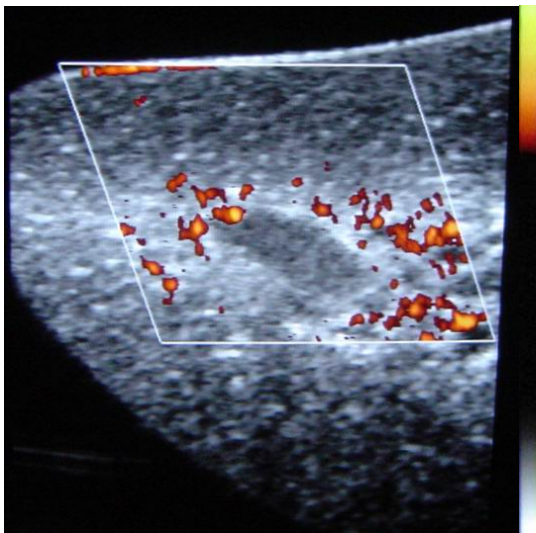


Abb. 39: Größere Gefäße im Mark- und Nierenbeckenbereich

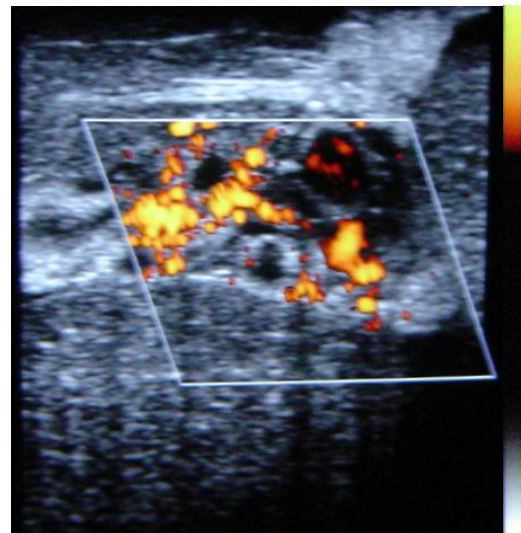


Abb. 40: Gefäße und Perfusion im Hilusbereich

4.1.4. Magnetresonanztomographie (MRT)

Zur Beurteilung möglicher morphologischer Veränderungen durch Perfusion oder Hypoxie wurden T1- und T2-gewichtete Aufnahmen akquiriert sowie Kontrastmittel gestützte Perfusionsmessungen durchgeführt (s. Abb. 41–43). Analog zu den Ergebnissen der Ultraschalluntersuchungen konnte mittels einer hochauflösenden MRT-Weichteildarstellung eine intakte Nierenmorphologie bildlich nachgewiesen werden. Ebenso konnte mittels der Perfusionsmessung die regelmäßige Verteilung des Kontrastmittels und daher eine gleichmäßige Nierenperfusion bildlich dargestellt werden. Ohne zusätzliche Spülung und Heparininstallation (s. Abschn. 3.1.3.) traten in Voruntersuchungen vereinzelt thrombenbedingt lokale Perfusionsausfälle auf.



Abb. 41: T1-gewichtete Sequenz

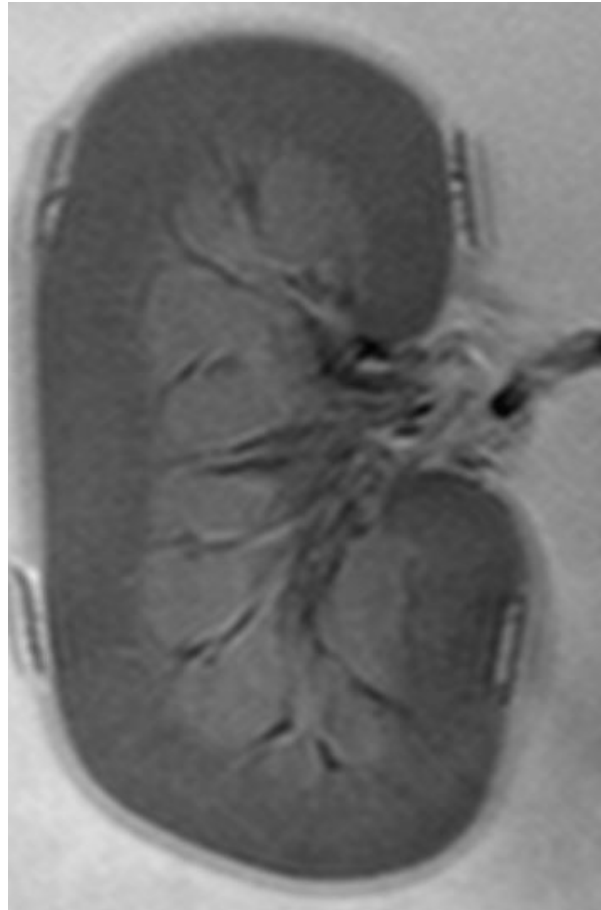


Abb. 42: T2-gewichtete Sequenz



Abb. 43: Darstellung der Kontrastmittelanflutung in Abhängigkeit von der Zeit (Perfusionssequenz)

4.2. Der Single-Element-Transducer (SET)

4.2.1. Variation der Beschallungsparameter

Bei niedriger Ultraschalleistung ($100 W_{el}$) konnten in der Regel keine Läsionen erzeugt werden, da der entscheidende untere Schwellenwert zur reproduzierbaren Induktion einer Thermoläsion nicht erreicht wurde. Traten dennoch Läsionen auf, waren Form und Ausprägung sehr unregelmäßig. Bei $200 W$ elektrischer Leistung hingegen konnten regelmäßig Läsionen induziert werden. Diese waren makroskopisch als gelblich-weiße Areale mit verfestigter Konsistenz zu erkennen. Bei maximaler Ultraschalleistung ($400 W_{el}$) traten mit zunehmender Pulsdauer größer werdende Substanzdefekte innerhalb der Läsionen (sog. Kavitäten) im Gewebe auf. Dies zeigte sich bei den perfundierten Nieren in besonderer Ausprägung, so dass zum Teil nur noch große Kavitäten mit schmalen eigentlichen Läsionssaum zu erkennen waren. Mit zunehmender Ultraschalleistung und Pulsdauer waren zudem mit steigender Häufigkeit direkt im Anschluss an die Beschallung mit HIFU hyperechogene Areale im diagnostischen Ultraschallbild erkennbar, deren Lokalisation mit der des akustischen Fokuspunktes übereinstimmte. Bei mittlerer Ultraschalleistung (200 u. $300 W_{el}$) und mittlerer Pulsdauer (2 u. $4 s$) konnten jedoch i.d.R. Läsionen erzeugt werden, die in Größe und Form konstant und reproduzierbar waren. Vereinzelt wurden jedoch deutliche Abweichungen sowohl in Form als auch Größe beobachtet.

Im Folgenden werden die Einflüsse der veränderbaren Ultraschallparameter sowie die Variablen der Versuchsbedingungen auf das Ausmaß der induzierten Thermoläsionen dargestellt.

4.2.1.1. Einfluss der applizierten Ultraschalleistung

In allen 4 Versuchsgruppen (Organtemperatur 10°C, keine Perfusion bzw. 37°C, Perfusion bzw. 37°C, keine Perfusion bzw. 37°C, Perfusion bis Versuchsbeginn) nahm mit steigender Ultraschalleistung die Größe der Gewebeläsionen zu. Der Anstieg zwischen 100 und 200 W_{el} war hierbei besonders stark. Dies bestärkt die Vermutung, dass in diesem Bereich der untere Schwellenwert zur regelmäßigen Induktion von Thermoläsionen zu finden war. Zwischen 200 und 400 W_{el} stiegen die Werte der Läsionslänge zwar weiter an, näherten sich aber einem Sättigungswert. Bei der Läsionsbreite hingegen war der Verlauf nahezu linear (s. Abb. 44).

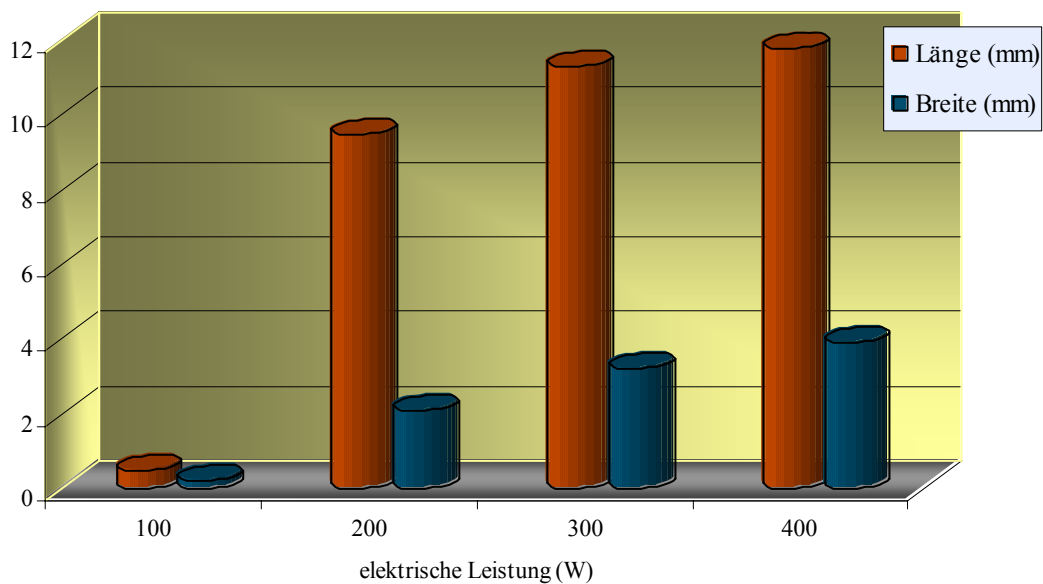


Abb. 44: Einfluss der Ultraschalleistung auf Läsionslänge und -breite

4.2.1.2. Einfluss der Pulsdauer

Der Einfluss der Pulsdauer nahm zwischen 100 und 400 W_{el} kontinuierlich zu, wobei der Anstieg bei der Läsionsbreite stärker war als bei der -länge (s. Abb. 45). Die statistische Analyse mittels 2-faktorieller Varianzanalyse ergab eine hochsignifikante Abhängigkeit der Läsionslänge und -breite von Ultraschalleistung und Pulsdauer.

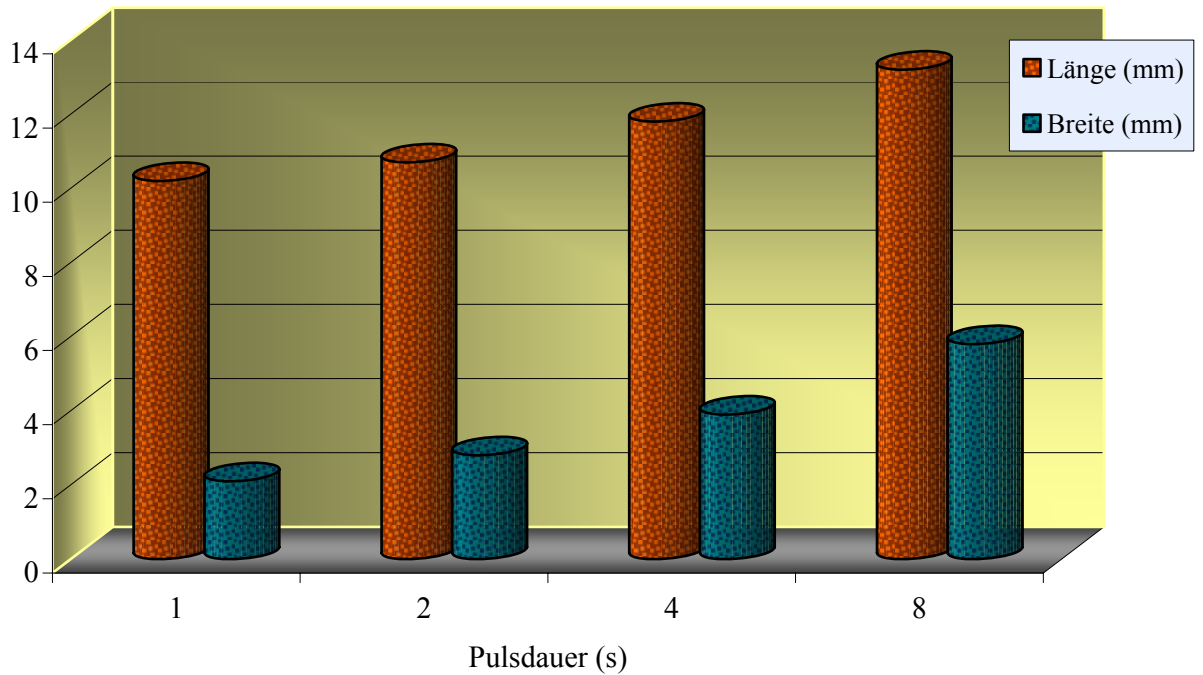


Abb. 45: Einfluss der Pulsdauer auf Läsionslänge und -breite

4.2.1.3. Einfluss der applizierten Gesamtenergie

Beim Vergleich der Läsionsgrößen bei gleich bleibender applizierter Gesamtenergie (400 J), wird ersichtlich, dass der Einfluss der elektrischen Leistung deutlich höher war, als der Einfluss der Pulsdauer (s. Abb. 46).

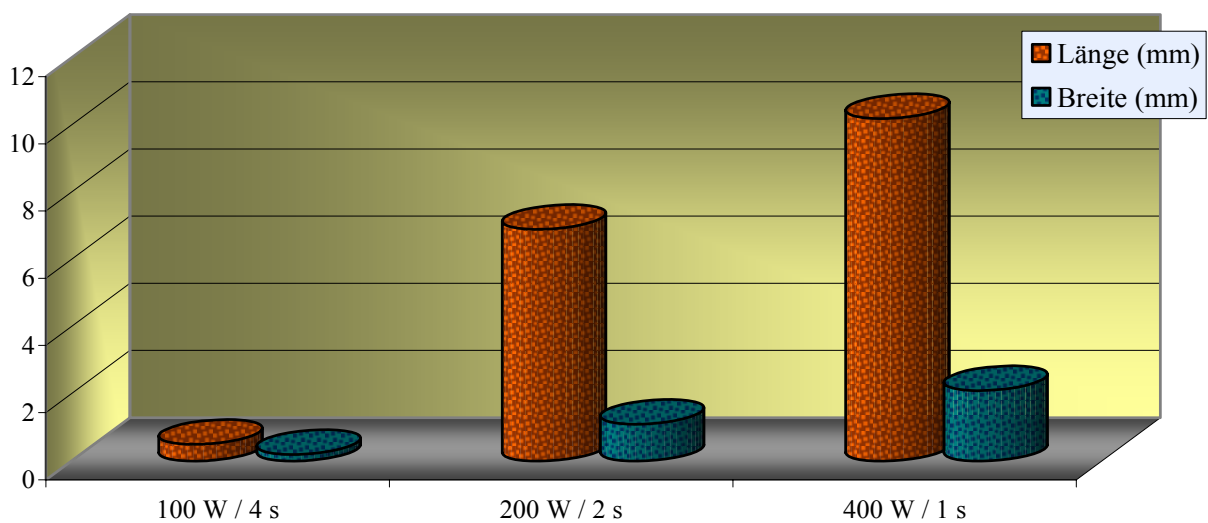


Abb. 46: Einfluss von Leistung und Pulsdauer bei gleich bleibender Gesamtenergie

4.2.1.4. Einfluss der Perfusion

Im Vergleich der Läsionsgrößen der perfundierten (Gruppe 2) mit den nicht perfundierten Nieren (Gruppe 3) waren die Läsionen in der Perfusionsgruppe im Mittel um 13 % länger und um 12 % breiter als die der nicht perfundierten Gruppe. Der Unterschied war daher signifikant (s. Abb. 47). Da bei 100 W_{el} die Schwelle zur Induktion reproduzierbarer Läsionen nicht überschritten wurde, fanden diese Werte keine Berücksichtigung.

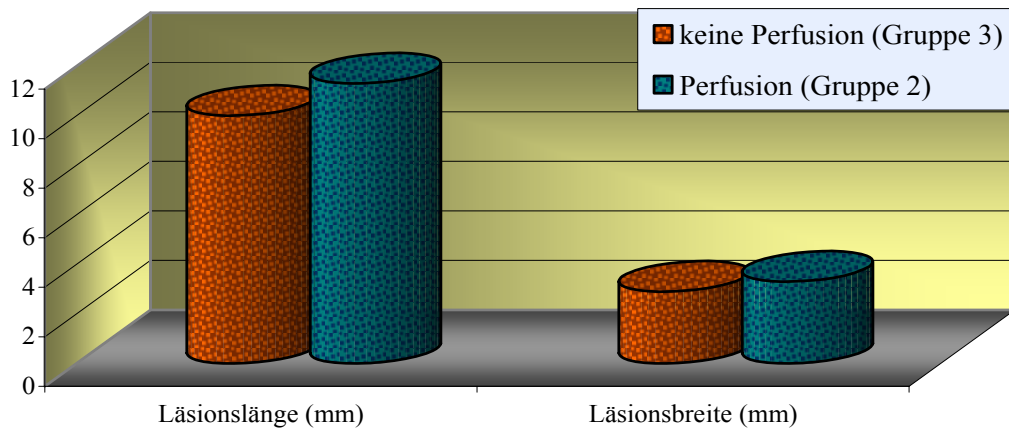


Abb. 47: Einfluss der Perfusion auf Läsionslänge und -breite

Der Einfluss der Perfusion war bei kurzer Pulsdauer zu vernachlässigen, nahm jedoch mit steigender Pulsdauer deutlich zu. Dies ist in Abb. 48 beispielhaft für zwei Messwerte dargestellt (s. Abb. 48).

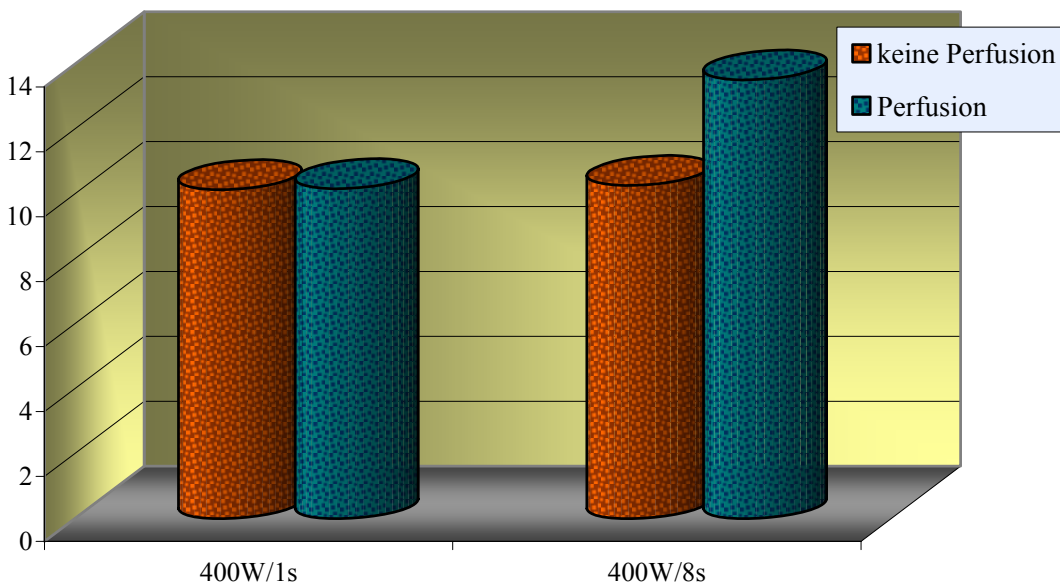


Abb. 48: Abhängigkeit des Perfusionseinflusses von der Pulsdauer

4.2.1.5. Einfluss der Gewebetemperatur

Die Läsionsgrößen wurden durch die Gewebetemperatur stark beeinflusst. So führte eine Erhöhung der Gewebetemperatur von 10°C auf 37°C zu einer Erhöhung der Läsionslänge um 32% und der Läsionsbreite um 43% (s. Abb. 49).

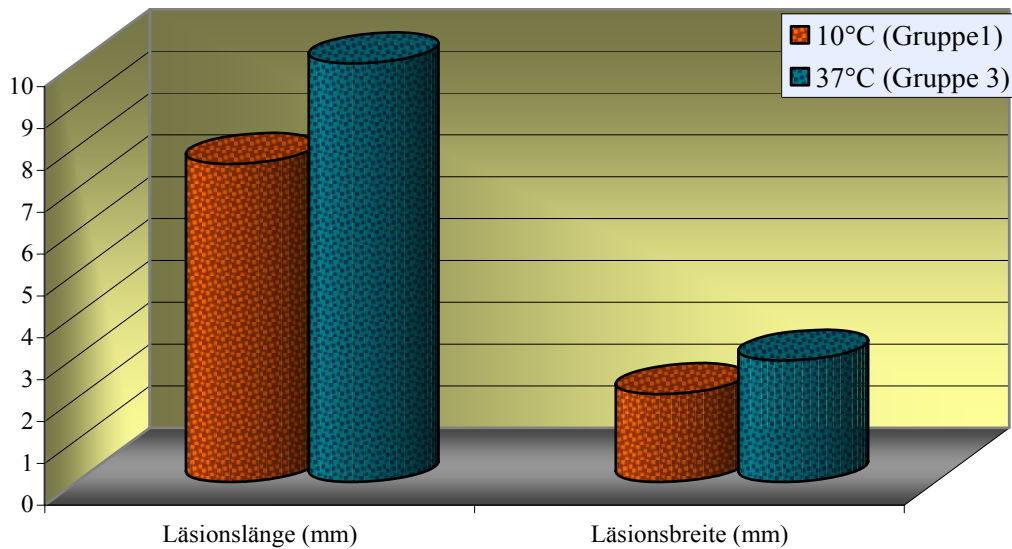


Abb. 49: Einfluss der Gewebetemperatur auf Läsionslänge und -breite

4.2.1.6. Einfluss der Gewebsspannung

Die Gewebsspannung hatte weder auf die Läsionslänge, noch auf die Läsionsbreite signifikanten Einfluss. Im Mittel stimmten die Läsionsausmaße von Gruppe 3 und Gruppe 4 überein (s. Abb. 50).

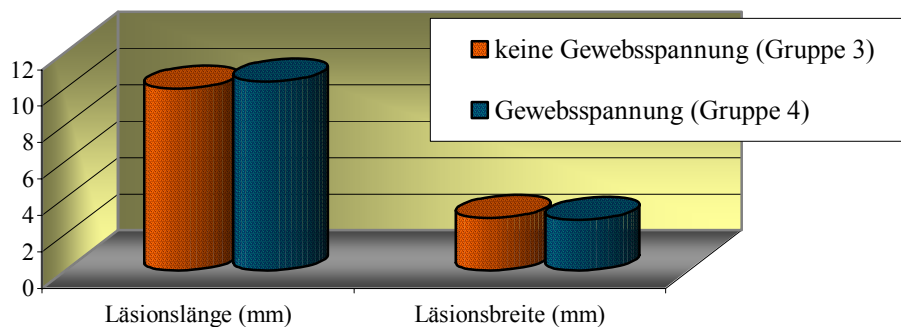


Abb. 50: Einfluss der Gewebsspannung auf Läsionslänge und -breite

Ein Nebeneffekt bei nahezu allen Beschallungsreihen war eine weißliche Verfärbung der Nierenunterfläche, die circa 1 mm in das Gewebe reichte (s. Abb. 51). Dies wurde wahrscheinlich durch Wärmeentwicklung, in der Folge von Absorption divergenter Ultraschallwellen an der Absorberoberfläche nach dem Austritt aus der Niere, verursacht (s. Abb. 52).



Abb. 51: Nebeneffekt durch Erwärmung am Absorber



Abb. 52: Situation während der Beschallung (Absorber rot)

4.2.2. Ermittlung der geeigneten Parameter für eine Komplexläsion

Die zunächst gewählten Parameter (300 W_{el} Ultraschalleistung, 4 s Pulsdauer und 4 mm Läsionsabstand) ergaben keine konfluierende Komplexläsion, sondern Kavitäten mit unvorhersagbarer Form und Größe (s. Abb. 53b).

Die Variation des Läsionsabstandes im ersten Schritt zeigte, dass bei einer Vergrößerung des Abstandes auf 5 mm Einzelläsionen von regelmäßiger Form und Größe, jedoch mit schmalen Lücken (1 mm), erzeugt wurden (s. Abb. 53c). Bei einer Verringerung des Abstandes und sich daraus ergebender überlappender Anordnung der Einzelläsionen verschmolzen diese zwar, zeigten jedoch deutliche Kavitäten (s. Abb. 53a).

Abb. 53: Variation des Läsionsabstandes (Grundeinstellung: 300 W_{el} , 4s, 10s Behandlungsintervall)



Abb.53a: 2,5 mm



Abb. 53b: 4 mm



Abb. 53c: 5 mm

Im zweiten Schritt wurde die Pulsdauer bei einem Läsionsabstand von 2,5 mm erhöht, Leistung und Behandlungsintervall wurden beibehalten (300 W_{el} und 10 s). Bei einer Pulsdauer von 2 s entstanden längliche Einzelläsionen von gleichmäßiger Größe mit

deutlichen Lücken (1,4 mm) (s. Abb. 54a). Eine Erhöhung der Pulsdauer auf 3 bzw. 4 s führte zu Kavitäten mit unvorhersagbarer Form und Größe (s. Abb. 54b und c).

Abb. 54: Variation der Pulsdauer (Grundeinstellung: 300 W_{el} , 2,5 mm, 10 s Behandlungsintervall)



Abb. 54a: 2 s

Abb. 54b: 3 s

Abb. 54c: 4 s

Im dritten Schritt wurde die elektrische Leistung ab dem Wert von 300 W_{el} schrittweise vermindert. Ausgangspunkt waren wieder die zuvor verwendeten Parameter (Leistung 300 W_{el} , Abstand 4 mm, Behandlungsintervall 10 s) (vgl. Abb. 55c). Die Verminderung der Ultraschallleistung (300–280–260 W_{el}) ergab bei 280 W_{el} eine zweidimensional homogene Läsion über eine Breite von 4,5 cm (Länge 8 mm) (s. Abb. 55b). Wurde die Leistung auf 260 W_{el} reduziert, so zeigten sich wiederum Einzelläsionen mit konstant regelmäßiger Form und Größe. Allerdings waren zwischen den einzelnen Läsionen schmale Lücken (0,5 mm) zu sehen (s. Abb. 55a).

Abb. 55: Variation der Ultraschallleistung (Grundeinstellung: 4 s, 4 mm, 10 s Behandlungsintervall)



Abb. 55a: 260 W_{el}

Abb. 55b: 280 W_{el}

Abb. 55c: 300 W_{el}

Im vierten Schritt wurde der Einfluss des Behandlungsintervalls, d.h. der Wartezeit zwischen den Einzelbeschallungen, untersucht. Daher wurden für alle zuvor getesteten Parametereinstellungen 3 verschiedene Behandlungsintervalle (10, 20 und 30 s) eingestellt. In allen Vergleichsgruppen nahm die Läsionsgröße mit zunehmendem Behandlungsintervall ab. Dies lässt sich durch den mit der Zeit zunehmenden Abbau der Restwärme, durch Konvektion mittels des Perfusionsflusses und durch Konduktion ins umliegende Gewebe erklären. Je weniger Restwärme noch zum Beschallungszeitpunkt im Zielvolumen der Folgeläsion vorhanden war, umso weniger beeinflusste sie die Läsionsbildung der Folgeläsion. Es ist also möglich, durch eine geeignete Wahl von Leistung, Pulsdauer und Behandlungsintervall die Größe der folgenden Läsion zu beeinflussen. Bei zu hohen akustischen Leistungen, Pulsdauern und/oder Behandlungsintervallen entstehen jedoch Kavitäten von unvorhersagbarer Form und Größe. Abb. 56 zeigt beispielhaft die bei 10, 20 und 30 s langen

Behandlungsintervallen induzierten Läsionen (260 W_{el} Leistung, 4 s Pulsdauer, 4 mm Läsionsabstand).

- 10 s Behandlungsintervall: gleich- und regelmäßige Läsionen, mittlere Größe 10,5 x 3,4 mm, Lücken: 0,6 mm (s. Abb. 56a)
- 20 s Behandlungsintervall: gleich- und regelmäßige Läsionen, mittlere Größe 9,6 x 3,3 mm, Lücken: 0,7 mm (s. Abb. 56b)
- 30 s Behandlungsintervall: gleich- und regelmäßige Läsionen, mittlere Größe 8,8 x 1,8 mm, Lücken: 2,2 mm (s. Abb. 56c)

Abb. 56: Variation des Behandlungsintervalls (Grundeinstellung: 260 W_{el}, 4 s, 4 mm)



Abb. 56a: 10 s



Abb. 56b: 20 s



Abb. 56c: 30 s

Abschließend soll angemerkt werden, dass auch bei konstanten Parametereinstellungen und standardisierten Randbedingungen die Induktion einer definierten konfluenten Komplexläsion nicht immer möglich war.

4.2.3. Histologie

4.2.3.1. HE-Färbung

Makroskopisch war an den Hämatoxylin-Eosin-Schnittpräparaten erkennbar, dass vom Gewebe im Bereich der Thermoläsionen deutlich weniger Farbstoff aufgenommen wurde als in den unbehandelten Bereichen (s. Abb. 57a). Mikroskopisch waren regelmäßig zentrale Gewebszerreißen, massive Extravasationen und Zelltrümmer lysierter Tubuluszellen, sowie eine Zerstörung der funktionellen Einheiten (z.B. der Glomeruli) und der Einzelzellen zu erkennen (s. Abb. 57b–d). Die Grenze zwischen behandeltem und unbehandeltem Gewebe war scharf, die Übergangszone betrug etwa 10 Zellschichten. Die Morphologie des unbehandelten Gewebes war gut erhalten und zeigte nur minimale degenerative Zeichen im proximalen Tubulusepithel, das extrem sensitiv auf Sauerstoffmangel reagiert.

Trotz der z.T. massiven morphologischen Schäden konnte mit dieser Methode nicht mit der nötigen Sicherheit ausgeschlossen werden, dass vitale Zellen innerhalb des Läsionsbereiches verblieben. Ein sicherer Behandlungserfolg ist daher durch diese Färbung nicht nachweisbar.

Abb. 57: HE-Präparate zum SET

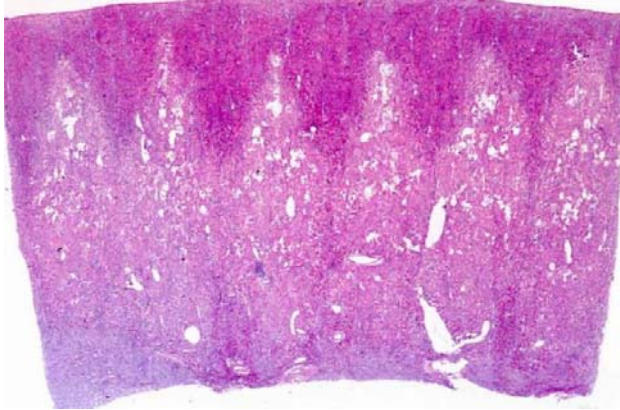


Abb. 57a: Makroskopische Übersicht (6 konfluierende Einzelläsionen)

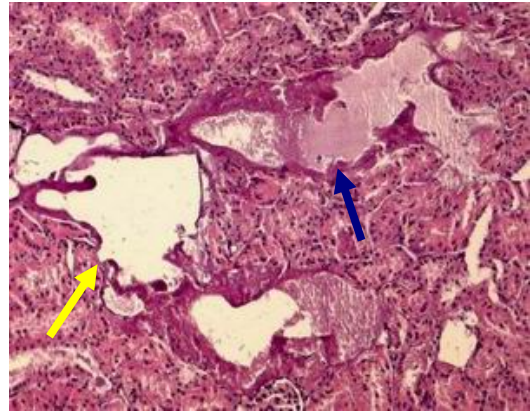


Abb. 57b: Gewebszerreißen (blauer Pfeil) und Extravasation (gelber Pfeil) (10-fache Vergr.)

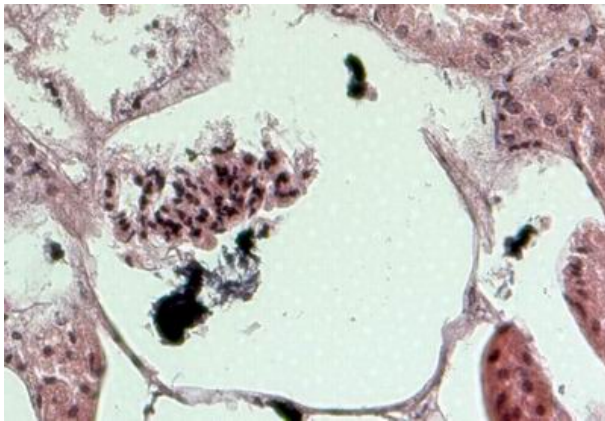


Abb. 57c: Zerstörtes Glomerulum (20-fache Vergr.)

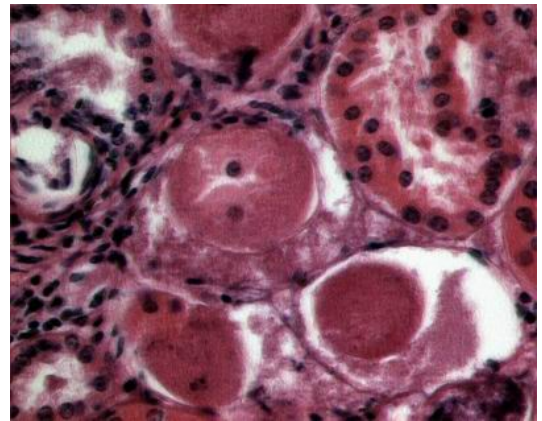


Abb.:57d:Zerstörte Nierentubuli (40-fache Vergr.)

4.2.3.2. NADH-Färbung

Die NADH-Färbung ermöglicht es, Zellen mit intaktem mitochondrialem Stoffwechsel farblich zu markieren. Im makroskopischen Überblick war keine Farbstoffaufnahme im Bereich der Thermoläsionen erkennbar (s. Abb. 58a), wobei das die Thermoläsionen umgebende Gewebe kräftig angefärbt war. Die hellen Bereiche entsprachen in ihrer Form und Größe den Fokusabmessungen des hochenergetischen Schallfeldes. Mikroskopisch fanden sich innerhalb dieser Bereiche vereinzelt Zelltrümmer mit zum Teil angedeuteter Anfärbung (s. Abb. 58b). Diese beweisen eine vollständige Inkubation der Präparate und schließen Artefakte z.B. durch Luftblasen aus. Es ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen, dass im Bereich der Thermoläsionen vitales Restgewebe vorhanden war. Ein passagerer Effekt kann ausgeschlossen werden, da ohne mitochondriale Enzymaktivität ein

Zellüberleben nicht möglich ist. Der Übergang zwischen behandeltem und unbehandeltem Gewebe war scharf (s. Abb. 58 d u. e).

Abb. 58: NADH Präparate zum SET

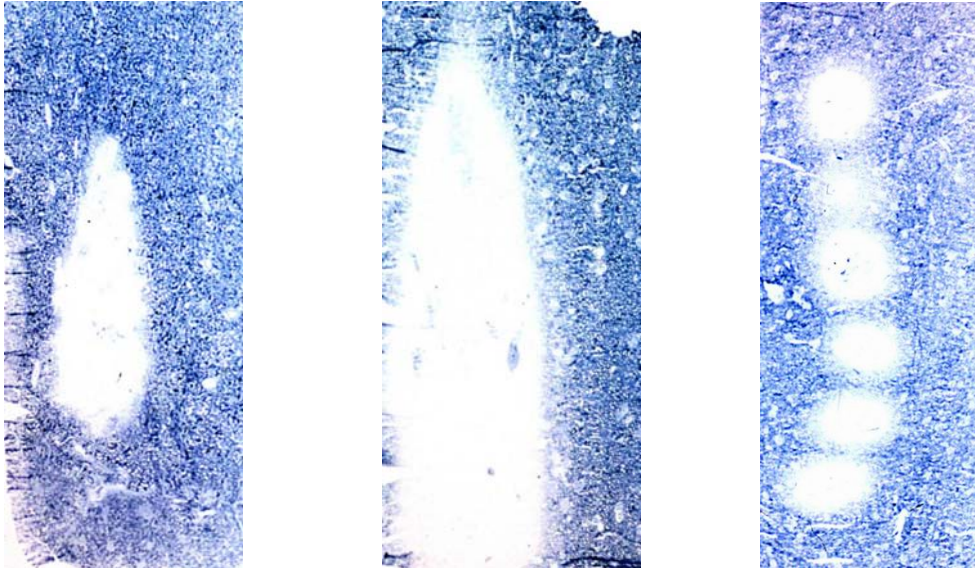


Abb. 58a: Makroskopische Bilder einzelner Läsionen bzw. Querschnitt einer Läsionsreihe nicht konfluierender Einzelläsionen

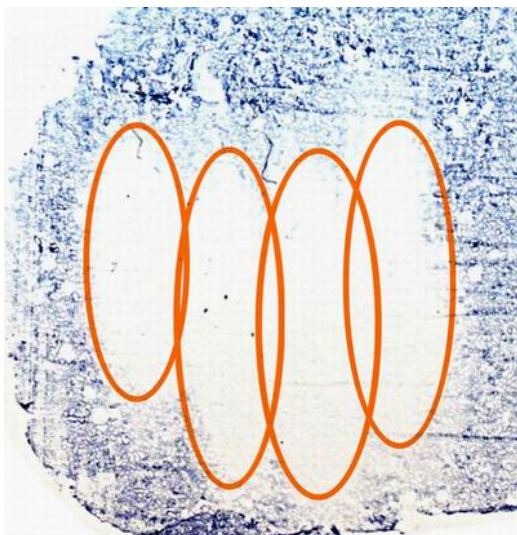


Abb. 58b: Konfluierende Komplexläsion bestehend aus 4 Einzelläsionen (orange markiert)

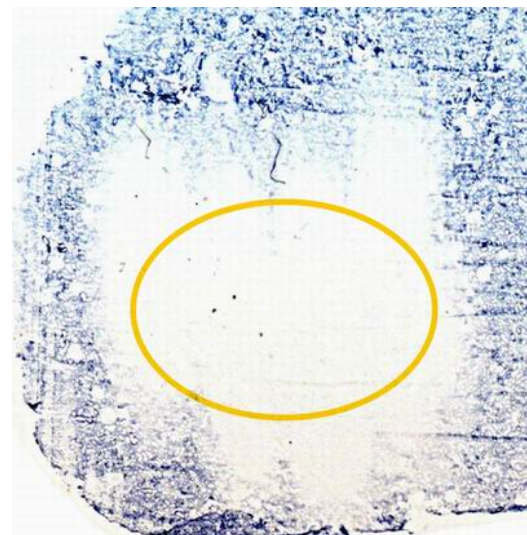


Abb. 58c: Mögliches zu abladierendes Tumervolumen mit Sicherheitssaum (gelb markiert)

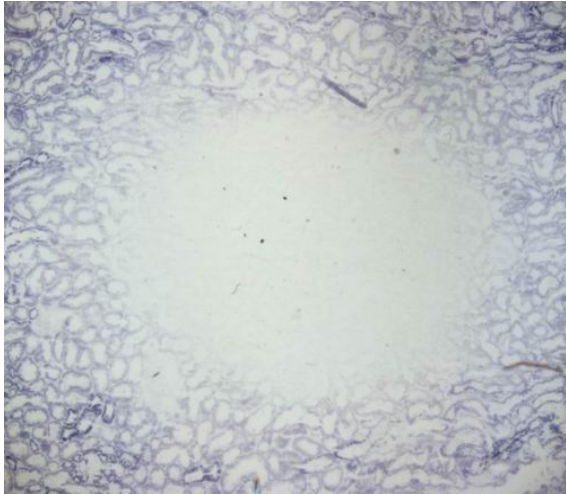


Abb. 58d: Mikroskopischer Querschnitt durch eine Läsion (5-fache Vergr.)

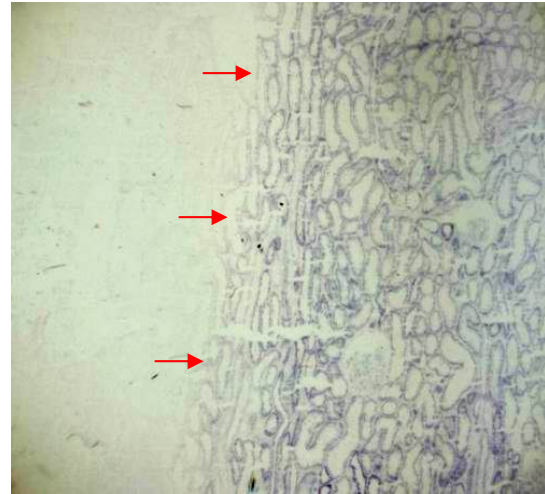


Abb. 58e: Übergang von einer Läsion zu unbehandeltem Gewebe (durch rote Pfeile markiert) (5-fache Vergr.)

4.3. Der Triple-Element-Transducer (TET)

4.3.1. Morphologie der Läsionen

Die makroskopische Auswertung der Läsionen ergab zuverlässig und reproduzierbar Thermoläsionen im Bereich des geometrischen Fokus, der dem Zielbereich entsprach. Wurden die variablen Parameter (elektrische Leistung und Pulsdauer) beibehalten, entsprachen sich die erzeugten Läsionen in Form und Aussehen. Die Form der Läsionen hing stark von der applizierten Energie ab. Bei $40 W_{el}$ waren die Läsionen regelmäßig kugelförmig bis ellipsoid (s. Abb. 59a). Bei $60 W_{el}$ und $80 W_{el}$ waren die Läsionen entweder ellipsoid (s. Abb. 59b) oder dreistrahlig (s. Abb. 59c und d). Bei 60 und 80 W elektrischer Leistung waren in etwa 5% der Fälle Substanzdefekte innerhalb der Läsionen (sog. Kavitäten) erkennbar (s. Abb. 59e). Es traten keine Interaktionen von Folgeläsionen auf (s. Abb. 59f). Generell waren die Läsionen als gelblich-weiße homogene Areale erkennbar, deren Konsistenz gegenüber dem unbehandelten Nierengewebe fester war.

Abb.: 59: Morphologie der Läsionen beim Einsatz des TET

Abb. 59a: 40 W_{el}, 4s, nicht perfundiert; Pfeile: ThermoläsionAbb. 59b: 60 W_{el}, 6 s, nicht perfundiertAbb. 59c: 80 W_{el}, 8 s, nicht perfundiertAbb. 59d: 60 W_{el}, 4 s, perfundiertAbb. 59e: 60 W_{el}, 8 s, nicht perfundiert; Pfeil: GewebeskavitätAbb. 59f: 60 W_{el}, 8 s, perfundiert

Die histologische Auswertung (HE-Färbung) repräsentativer Proben zeigte konstante Ergebnisse. Die Läsionen selbst hatten weniger Farbstoff aufgenommen als das umliegende Gewebe (s. Abb. 60a). Es fanden sich Gewebszerreiungen und -defekte, sowie deutliche Extravasationen (s. Abb. 60b). Das Lumen der Nierentubuli war zum Teil mit Zelldendritus verlegt, der Durchmesser zum Teil verkleinert oder ektatisch. Auch wurden mit verschwommenen Zellgrenzen, geschwollenen Tubulusepithelzellen und Zytoplasmavakuolen Anzeichen für ein interstitielles Zellodem gefunden.

Abb. 60. HE-Präparate zum TET

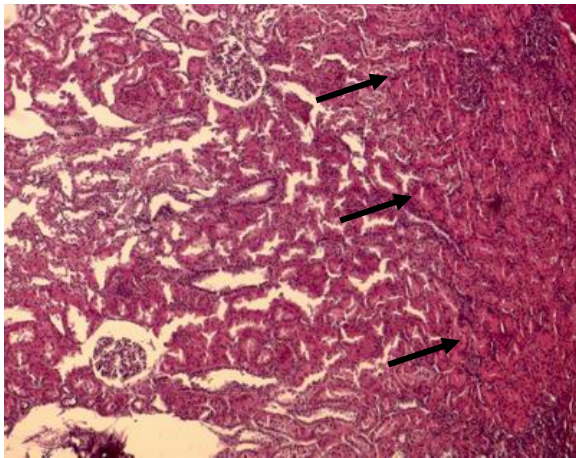


Abb. 60a: Übergang von einer Läsion (links) zu unbehandeltem Gewebe (rechts) (durch Pfeile markiert)

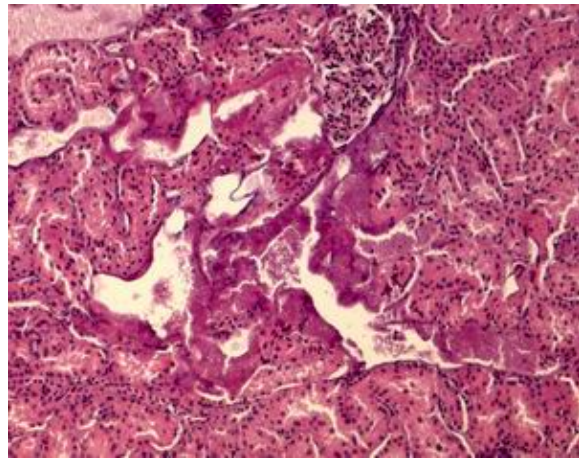


Abb. 60b: Gewebszerreiungen, Extravasation

4.3.2. Läsionsgröße und Einflussfaktoren

In Versuchsgruppe 1 wurden die Läsionen unter synchroner Verwendung aller 3 Ultraschallwandler erzeugt. Dabei zeigte sich, dass der untere Schwellenwert zur Induktion von Thermoläsionen bei den nicht perfundierten Nieren bei 40 W elektrischer Leistung und 4 s Beschallungszeit lag. Bei den perfundierten Nieren wurde dieser Schwellenwert bei 40 W_{el} und 8 s Schalldauer überschritten. Eine Erhöhung sowohl der applizierten Ultraschalleistung, als auch der Pulsdauer, hatte eine Vergrößerung der Läsionen zur Folge (s. Abb. 61). Der Vergleich der Läsionsgrößen bei gleich bleibender Gesamtenergie zeigt, dass die Lsionsentwicklung stärker von der Ultraschalleistung als von der Pulsdauer abhing. Bei gleichen Beschallungsparametern waren die Läsionen in perfundierten Nieren kleiner als in nicht perfundierten (s. Abb. 62).

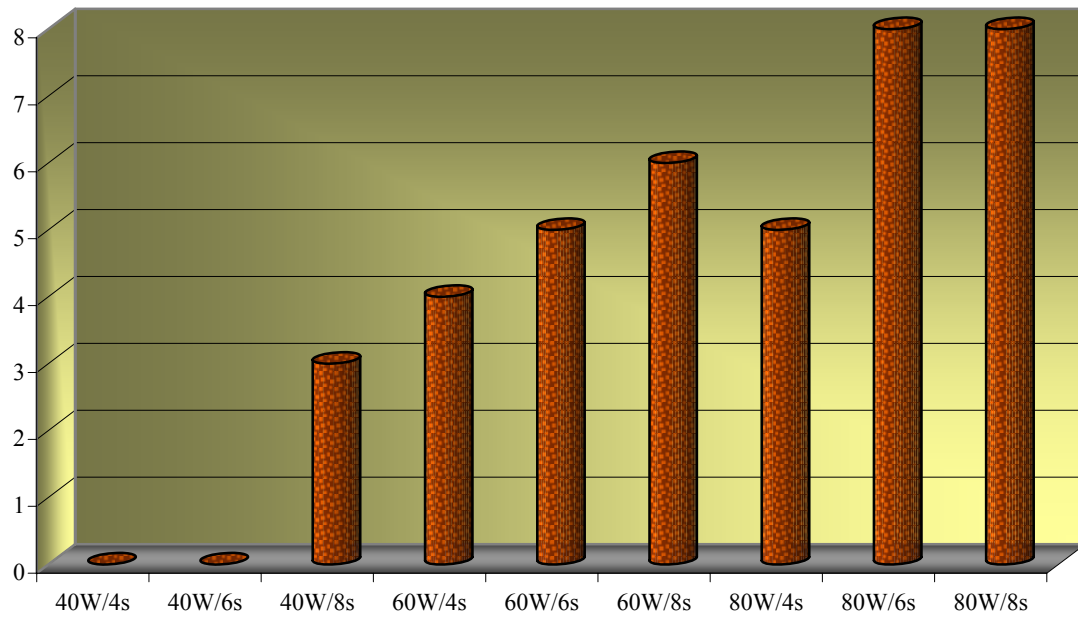


Abb. 61: Entwicklung der Läsionslänge (mm) bei steigender Ultraschalleistung und Pulsdauer

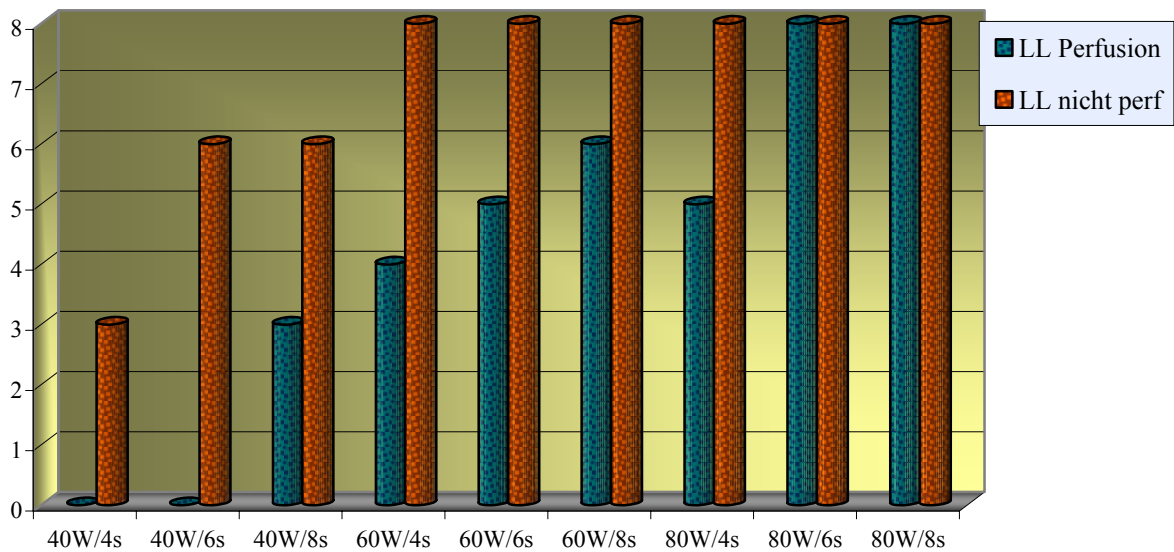


Abb. 62: Einfluss der Perfusion auf die Läsionsgröße (LL in mm)

In Behandlungsgruppe 2 wurde der zentrale Ultraschallwandler im Einzelbetrieb separat angesteuert. Die Lokalisation der induzierten Läsionen zeigte eine Tendenz der räumlichen Nähe zur Ultraschallquelle. Die Läsionen, die bei maximaler elektrischer Leistung von 88 W bei 8 s Pulsdauer induziert wurden, waren etwa 1–2 x 1–2 mm groß (s. Abb. 63). Bei synchronem Einsatz aller 3 Wandler und einer vergleichbaren elektrischen Gesamtleistung von 88 W (rechnerisch 40 W x 2,2) waren die Läsionen hingegen 6 mm lang und 4 mm breit.



Abb. 63: Läsionsgröße und -lokalisierung bei separater Verwendung eines Schallkopfes (88 W_{el}, 8 s)

4.4. Absorptionsmessungen an Brust- und Bauchseitenwand

4.4.1. Messung der Absorption mit der Schallwaage

Im ersten Schritt wurde die Abschwächung der applizierten Ultraschalleistung durch die Vorlaufstrecke (Gewebeproben) in Form von Absorption mit Hilfe der Schallwaage bestimmt. Wie in Abb. 64 und Tab. 7 ersichtlich, war die Abschwächung signifikant. Ihr Wert betrug je nach Zusammensetzung der Gewebeproben (Haut, subkutanes Fettgewebe, Muskulatur, Knochen) zwischen 53% und 73%. Daher konnten nur 27–47% der applizierten akustischen Leistung die Vorlaufstrecke passieren.

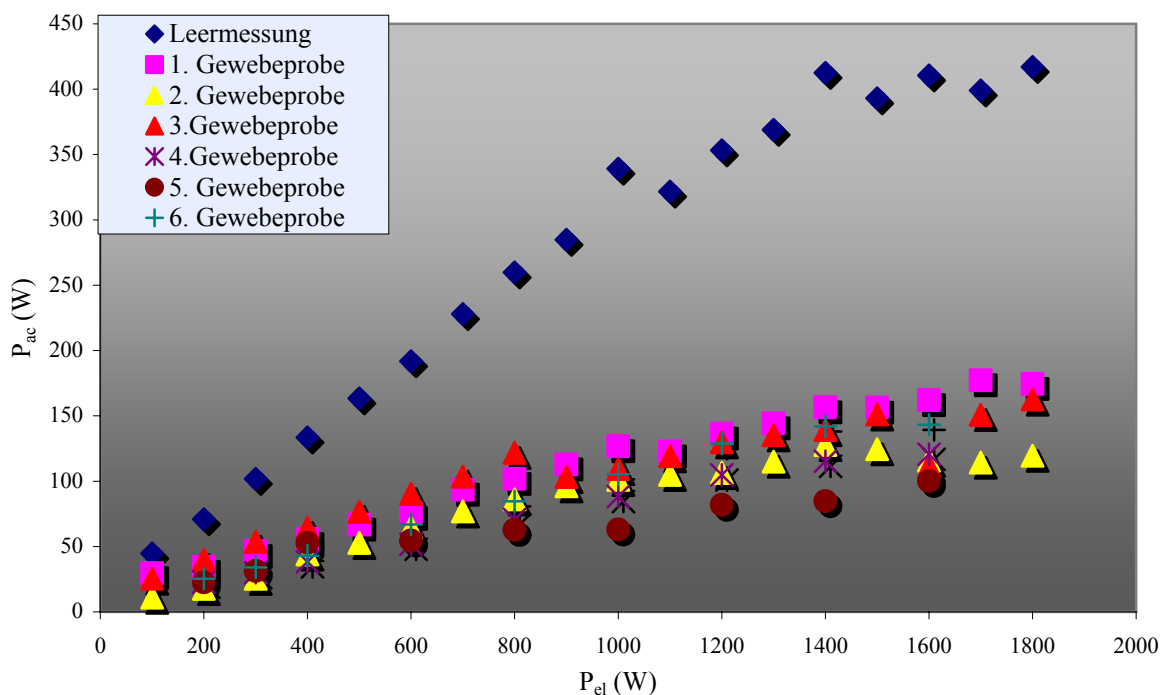


Abb. 64: Gemessene akustische Leistung bei den Absorptionsversuchen der Leermessung und mit verschiedenen Gewebeproben in der Vorlaufstrecke

Gewebeprobe	Schichtdicke (cm)	P_{abs}	η
1	3,7	0,67 P_{ac0}	0,33
2	3,1	0,61 P_{ac0}	0,39
3	3,6	0,53 P_{ac0}	0,47
4	2,5	0,67 P_{ac0}	0,33
5	3,0	0,73 P_{ac0}	0,27
6	2,4	0,60 P_{ac0}	0,40

Tab. 7: Übersicht über die absorbierte Leistung P_{abs} und den akustischen Wirkungsgrad η

Die Berechnung des Abschwächungskoeffizienten α wurde nur für Gewebeprobe 3 durchgeführt, da sich diese nur aus äußerer Haut und subkutanem Fettgewebe zusammensetzte und daher die Bedingung relativer Homogenität erfüllte. Er betrug $\alpha = -\ln(1 - 0,53)/3,65 \text{ cm} = 0,2 \text{ cm}^{-1} = 0,898 \text{ dB/cm}$.

4.4.2. Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung

Im zweiten Schritt wurde ermittelt, ob Läsionen im Nierenmodell trotz verschiedener Gewebeproben in der Vorlaufstrecke induziert werden können. Aus den Differenzen der gemessenen Läsionslänge und -breite mit und ohne Gewebeprobe in der Vorlaufstrecke war ersichtlich, dass die Länge der Läsionen mit Gewebeprobe 7, die aus äußerer Haut und subkutanem Fettgewebe bestand, im Vorlauf im Mittel 81,4% der Läsionslänge der Leermessung betrug. Die Breite der Läsionen mit Gewebeprobe 7 in der Vorlaufstrecke betrug 103% der Läsionsbreite der Leermessung (s. Abb. 65). Bei den Gewebeproben 8 und 9, die beide aus Muskelgewebe und 4 Rippenknochen bestanden, war es nicht möglich, Thermoläsionen in den Nieren zu induzieren.

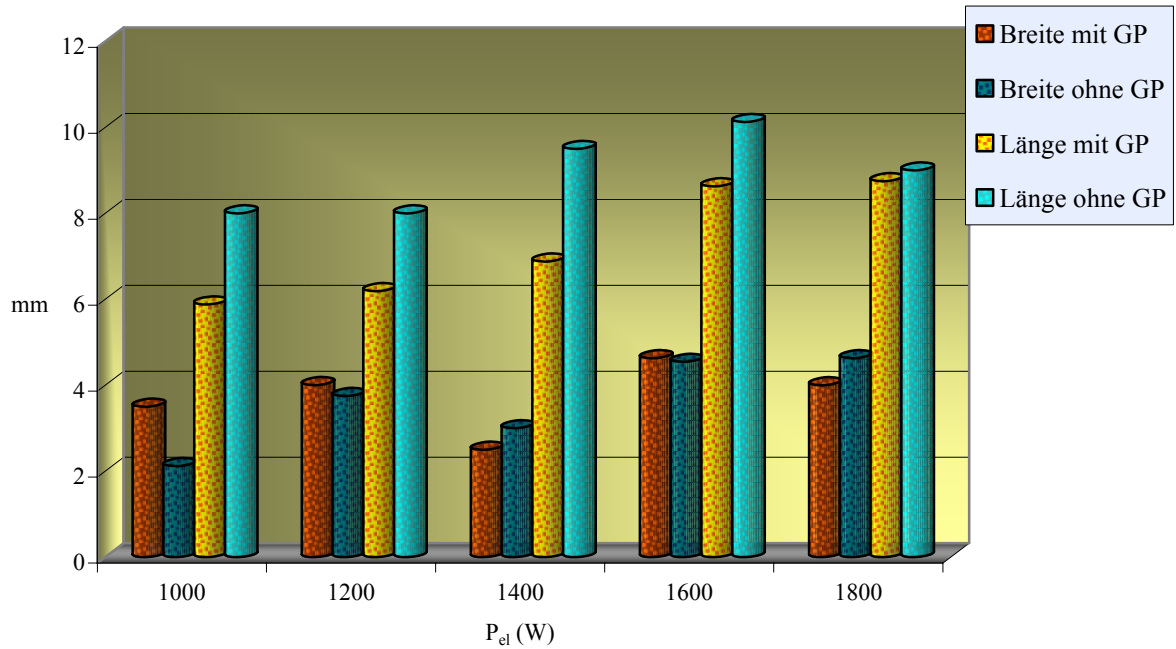


Abb. 65: Vergleich der Läsionsgrößen mit und ohne Gewebeprobe 7 (GP) in der Vorlaufstrecke

4.5. MRT-Messungen

4.5.1. Makroskopie der HIFU-Läsionen

Die induzierten Läsionen waren im Anschnitt als feste, gelblich-weiße Areale zu erkennen, die sich scharf vom unbehandelten Gewebe abgrenzten. Trotz gleich bleibender Einstellungen von elektrischer Leistung, Beschallungszeit und Behandlungsintervall sowie Läsionsabstand variierten die makroskopischen Ergebnisse im Detail deutlich. So waren die Einzelläsionen nur in 3 Fällen vollständig (s. Abb. 66a) und in 1 Fall teilweise konfluent (s. Abb. 66b). In 4 Fällen waren die Einzelläsionen vollständig voneinander getrennt (s. Abb. 66c). In 13 Fällen fanden sich Kavitäten innerhalb der Einzelläsionen, die diese zum Teil vollständig ausfüllten (s. Abb. 66d).

Abb. 66: Morphologie der HIFU-Läsionen im Rahmen der MRT-Versuche

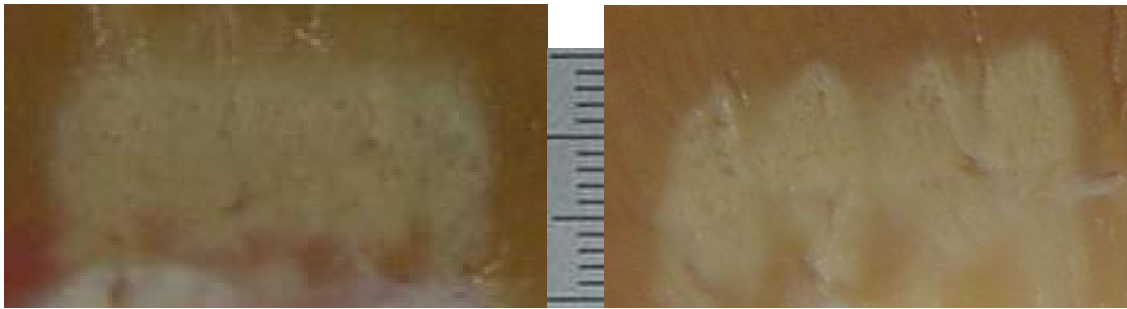


Abb. 66a: Vollständig konfluent

Abb. 66b: Unvollständig konfluent

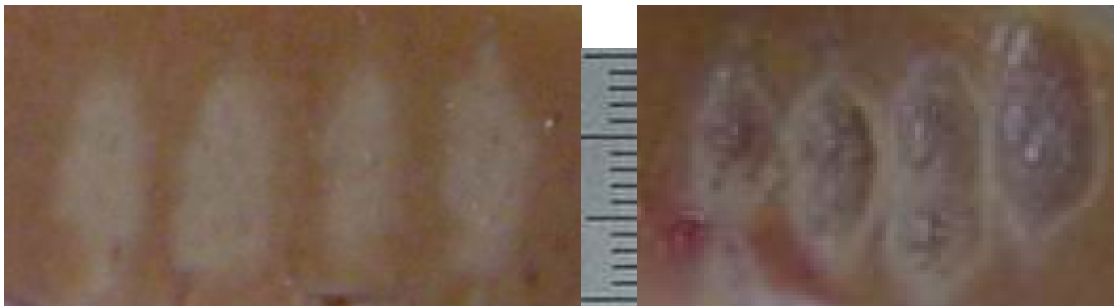


Abb. 66c: Vollständig getrennt

Abb. 66d: Kavitäten

4.5.2. Darstellbarkeit der HIFU-Läsionen im MRT

Die MRT-Bilder wiesen in allen verwendeten Sequenzen einen guten Weichteilkontrast und Signal/Rauschen (S/R) auf. Die Darstellbarkeit der HIFU-Läsionen war sehr gut und sie waren deutlich vom umgebenden, unbehandelten Nierenparenchym zu differenzieren. In den T1-gewichteten SE-Bildern erschienen die Läsionen hypointens (dunkel) (s. Abb. 67a), in den T2-gewichteten TSE-Bildern vor und nach Kontrastmittelgabe erschienen die Läsionen hyperintens (hell) (s. Abb. 67b, c u. 68). In der bildlichen Darstellung der Perfusion war die Anflutung des Kontrastmittels über die Zeit darstellbar. Im Bereich der Läsionen war eine Anreicherung von Kontrastmittel zu sehen (s. Abb. 69). Bei farblicher Codierung dieser Bilder erschienen die Läsionen als Orte der höchsten Kontrastmittelanflutung (s. Abb. 70).

Abb. 67: Morphologische MRT-Aufnahmen

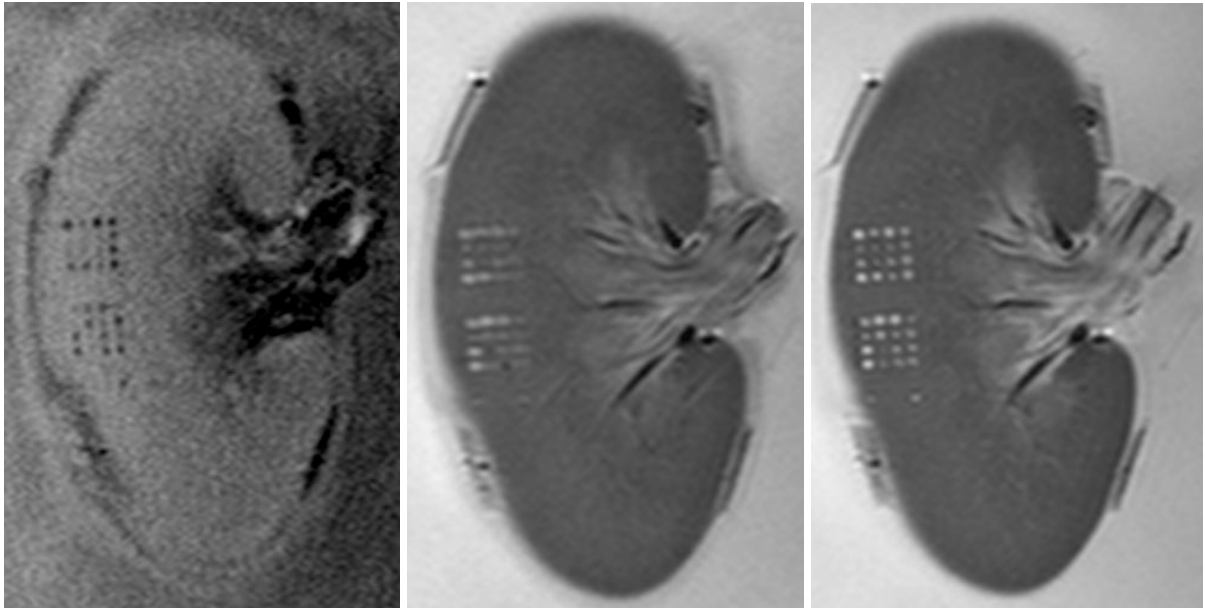


Abb. 67a: T1-Sequenz

Abb. 67b: T2-Sequenz

Abb. 67c: T2-Sequenz mit Sättigung

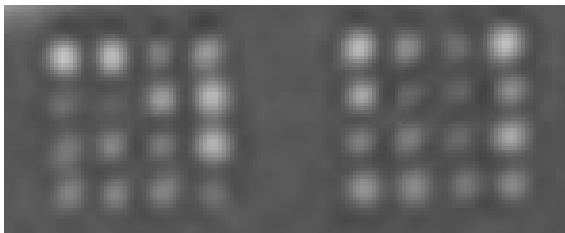


Abb. 68: Detail des Läsionsrasters; Kantenlänge jeweils ca. 15 mm

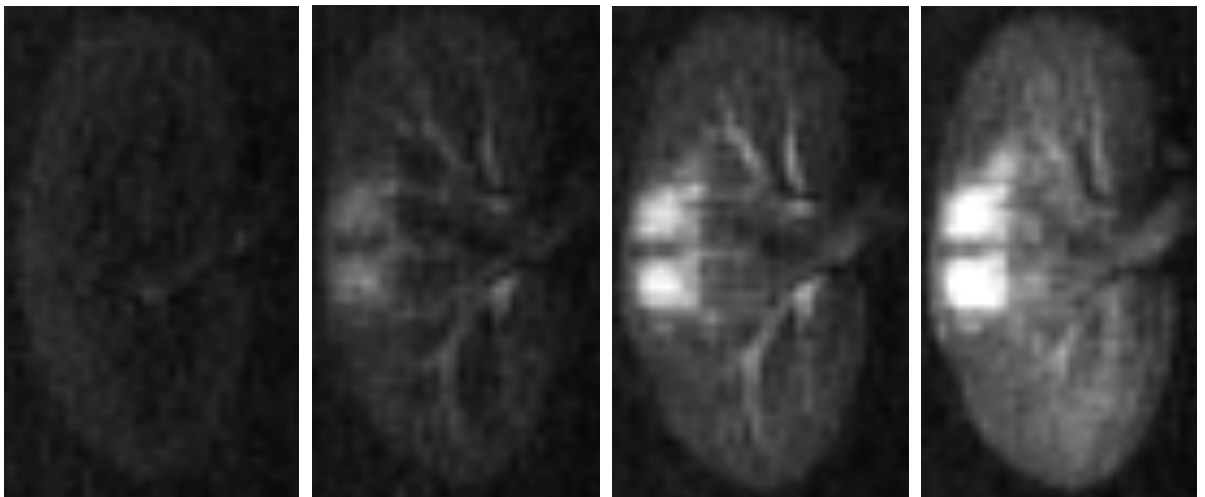


Abb. 69: Kontrastmittelanflutung in der Perfusionssequenz

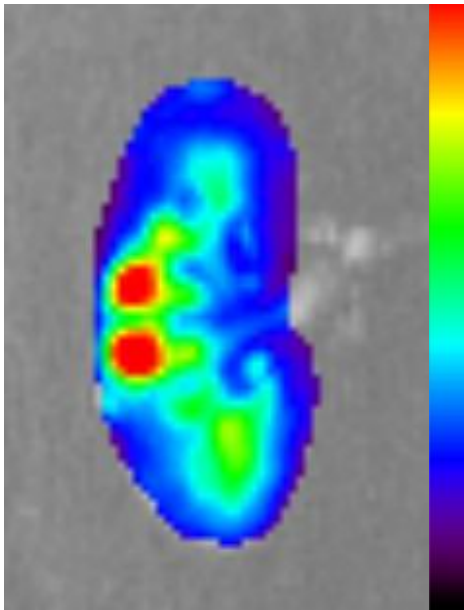


Abb. 70: Farbliche Codierung der Kontrastmittelanflutung

4.5.3. Vergleich von Makroskopie und MRT-Bildern

Die makroskopisch gemessenen Dimensionen (makr. x, y und z) der HIFU-Läsionen sowie die Werte der korrespondierenden Daten der MRT-Bilder (VIBE x, y und z) sind in Tab. 8 und Abb. 71 zusammengefasst. Aufgeführt werden die Mittelwerte (MW) von Breite (x), Länge (y) und Tiefe (z) der Läsionen, Standardabweichungen (Stabw), Minima (Min) und Maxima (Max). Außerdem ist die Differenz zwischen den Messwerten der MRT-Bilder und der makroskopischen Messung (MRT – Makroskopie) aufgeführt.

	makr. x	makr. y	makr. z	VIBE x	VIBE y	VIBE z	Diff. X	Diff. Y	Diff. Z
MW	15,6	10,2	13,6	15,8	11,9	14,7	0,2	1,7	1,1
Stabw	1,0	0,8	0,9	0,4	1,7	1,3	1,1	1,8	1,3
Min	14	9	12	15	9	12	-2	-1	-2
Max	17	11	15	16	15	17	2	5	3

Tab. 8: Läsionsausmaße, Differenzen, Mittelwerte, Standardabweichungen, Minima, Maxima im Vergleich zwischen Makroskopie und MRT-Bildern (VIBE); Angabe jeweils in mm

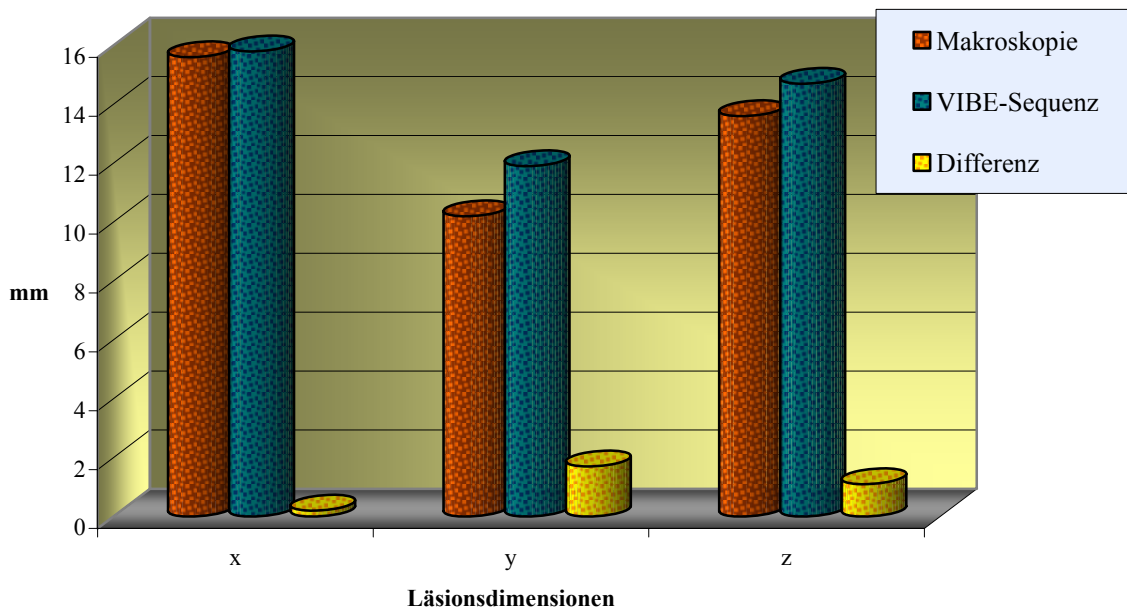


Abb. 71: Größenvergleich von Makroskopie und VIBE-Sequenz

Aus den Werten wird deutlich, dass eine gute Korrelation zwischen der makroskopischen Läsionsgröße und der Läsionsgröße in den MRT-Bildern der T1-gewichteten VIBE-Sequenz besteht. Die mittlere Differenz der Läsionsbreite betrug $0,2 \pm 1,1$ mm, die der Läsionslänge $1,7 \pm 1,8$ mm und die der Läsionstiefe $1,1 \pm 1,3$ mm. Statistisch ergibt sich aus den Berechnungen mittels Varianzanalyse kein signifikanter Unterschied der x-Werte von MRT-Bildern und Makroskopie. Die Differenzen der y- und z-Werte von MRT-Bildern und Makroskopie zeigten einen statistisch signifikanten Unterschied. Die Differenzen der y-Werte lagen mit 95%iger Wahrscheinlichkeit zwischen -4 und +1 mm, die der z-Werte zwischen -3 und +1 mm um den Mittelwert. Die Messungenauigkeit liegt daher bei maximal ≤ 4 mm und ist im klinischen Einsatz als akzeptabel anzusehen.

4.6. Mikroangiographie

Durch die radiologische Mikroangiographie konnte gezeigt werden, dass nach der HIFU-Beschallung mit dem Single-Element-Transducer (Storz Medical²⁷) im Bereich der Thermoläsionen keine Kontrastmittelanflutung stattgefunden hatte und daher keine Gefäßdarstellung innerhalb der HIFU-Läsionen möglich war (s. Abb. 72 u. 73). Die Lokalisation dieser kontrastarmen Areale stimmte genau mit den makroskopisch erkennbaren Läsionsbereichen überein (s. Abb. 74). In etwa einem Drittel der Fälle fand sich distal

der Läsion hin zur Nierenoberfläche zudem eine verminderte Kontrastmittelanreicherung (s. Abb. 75)

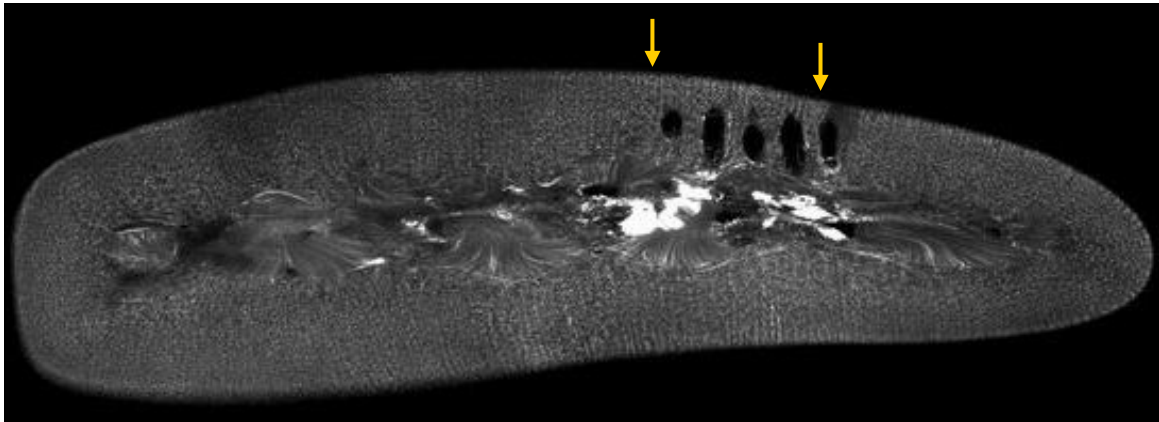


Abb. 72: Übersicht über die Mikroangiographie einer mit HIFU behandelten Niere mit 5 Läsionen (Bereich der Thermoläsionen zwischen den Pfeilen)

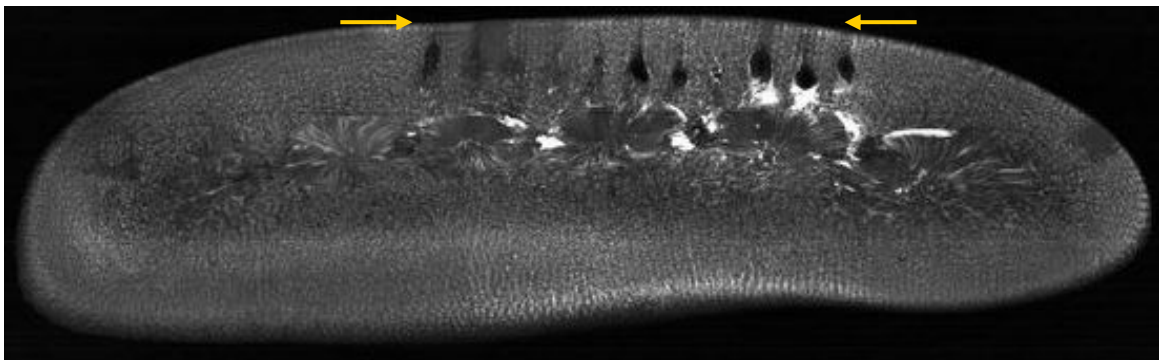


Abb. 73: Übersicht über die Mikroangiographie einer mit HIFU behandelten Niere mit 11 Läsionen (Bereich der Thermoläsionen zwischen den Pfeilen)

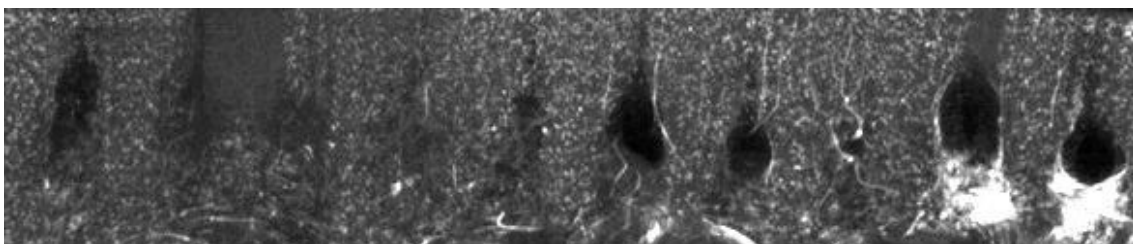


Abb. 74: Vergleich zwischen dem mikroangiographischen (oben) und makroskopischen (unten) Bild der Läsionen

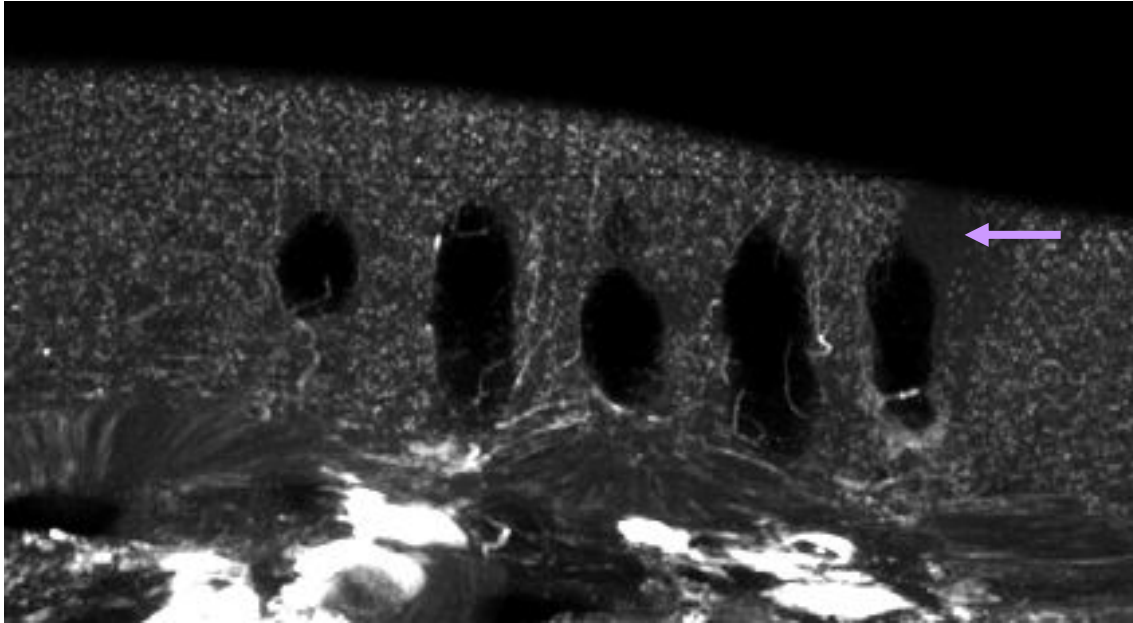


Abb. 75: Detailansicht der mikroangiographischen Darstellung der Thermoläsionen. Pfeil: verminderte Kontrastmittelanreicherung distal der eigentlichen Läsion

4.7. Ultraschallphantom

Ziel dieser Versuchsreihe war es, Thermoläsionen und deren zeitliche Entwicklung mittels eines transparenten Ultraschallphantoms zu visualisieren. Ab einer elektrischen Leistung von $200 \text{ W}_{\text{el}}$ konnten sichtbare Läsionen erzeugt werden. Generell waren die Läsionen im Gel bei gleichen Parametern kleiner als im Nierengewebe (s. Abb. 76 u. 77). Auf eine Quantifizierung des Unterschiedes wurde jedoch verzichtet, da dieser unerheblich für eine spätere klinische Anwendung wäre. Bei der Steigerung der zugeführten Leistung nahmen die Läsionslängen und -breiten zu (s. Abb. 78a). Wurde der Läsionsabstand so gewählt, dass keine Interaktion zwischen den Einzelläsionen stattfand, waren deren Größe und Form gleichmäßig und reproduzierbar (s. Abb. 78b). In wenigen Fällen fanden sich in Reihen gleichmäßiger Läsionen einzelne Läsionen, die, trotz gleicher Einstellungen, in Form und/oder Größe deutlich von den übrigen abwichen (s. Abb. 78c). Um eine konfluente Komplexläsion zu induzieren, wurde der Läsionsabstand analog zu den Untersuchungen in Abschnitt 3.2.4. gewählt. Dies gelang jedoch nur in 2 von 13 Fällen (s. Abb. 78d). In 3 Fällen konnten, entsprechend der Beobachtungen beim vorangegangenen Arbeitsschritt, einzelne Läsionen beobachtet werden, die in Form und/oder Größe deutlich von den übrigen abwichen (s. Abb. 78e). In den restlichen 8 Anordnungen traten nach wenigen konfluierenden Läsionen deutliche Interaktionen auf, die dazu führten, dass Form und Größe der Folgeläsionen stark verändert waren und diese sich nicht im Zielfokus, sondern zur Ultraschallquelle hin

verschoben bildeten (s. Abb. 78f). Bei überlappender Anordnung der Einzelläsionen trat dieser Effekt bereits ab der zweiten Läsion auf. In Abb. 79 ist der zeitliche Verlauf der Bildung einer Thermoläsion wiedergegeben.



Abb. 76: Läsionsgrößen im Gelphantom bei 400, 350, 300 und 250 W_{el}/9 s (v.l.n.r.)



Abb. 77: Läsionsgrößen im Nierengewebe bei 400, 300, und 200 W_{el}/8 s (v.l.n.r.)



Abb. 78: Morphologie der Thermoläsionen im Ultraschallphantom

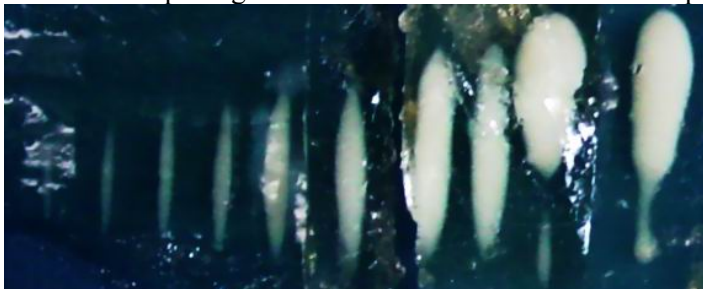


Abb. 78a: Jeweils zwei Einzelläsionen mit 200, 250, 300, 350 und 400 W_{el} (v.l.n.r.)



Abb. 78b: Gleichmäßige Läsionsreihe



Abb. 78c: Unregelmäßige Läsion (Pfeil)

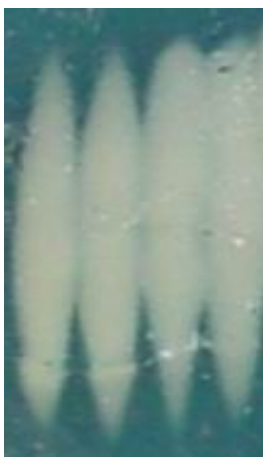


Abb. 78d: Konfluierende Einzelläsionen



Abb. 78e: Einzelne abweichende Läsion (Pfeil) (Beschallung v.r.n.l.)



Abb. 78f: Deutliche Interaktionen zwischen den Einzelläsionen (Beschallung v.l.n.r.)

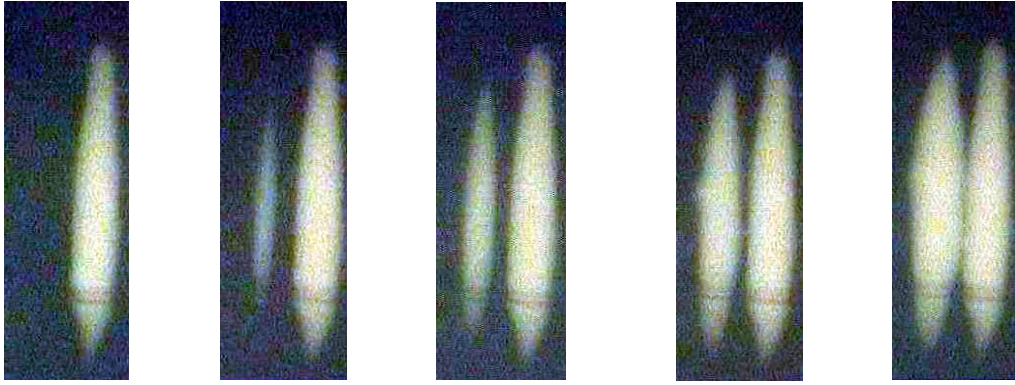


Abb. 79: Zeitlicher Verlauf der Bildung einer Thermoläsion. Zeitunterschied zwischen den Einzelbildern ca. 2,25 s. Bestehende Läsion auf der rechten Seite als Bezugspunkt

5. Diskussion

5.1. Das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere

Zahlreiche Faktoren sprechen für die Verwendung von extrakorporalen Organmodellen an Stelle von Tierversuchen bei grundlegenden Untersuchungen innovativer Therapieformen in der Medizin. An erster Stelle ist die Vermeidung von Tierversuchen aus ethischen und finanziellen Gründen zu nennen. Die für die vorliegenden Versuche verwendeten Schweinenieren stellen ein Nebenprodukt des regulären Schlachtbetriebes dar, weshalb kein Tier für diese Untersuchungen getötet werden musste. Des Weiteren bietet ein aus Schlachttieren gewonnenes Organmodell den Vorteil, dass es fast jederzeit und in nahezu unbegrenzten Mengen kostengünstig verfügbar ist. Außerdem sind Zucht-, Mast- und Haltungsbedingungen für Schlachtschweine heutzutage so technisiert und einheitlich, dass die Schweine eine gewissermaßen standardisierte Grundgesamtheit darstellen. Dies ermöglicht Untersuchungen an vielen einheitlichen Organen und garantiert ein repräsentatives Ergebnis. Ein weiterer entscheidender Vorteil ist die Standardisierbarkeit der Untersuchungen durch die Isolierung des Organs. So ermöglichen die Reduktion der äußeren Einflüsse und die Eliminierung von Stör- und Unsicherheitsfaktoren, wie z.B. Atem- und Patientenbewegung, es ausschließlich nach vorher festgelegten Parametern zu untersuchen. Dies gewährleistet aussagekräftige Resultate mit guter Reproduzierbarkeit, die dennoch die klinisch relevanten Wirkungen beweisen. Daher finden isolierte Organmodelle zunehmend Zugang in die medizinische Forschung (Bell *et al.*, 1993; Arefiev *et al.*, 1998; Höchel *et al.*, 2003; Dittrich *et al.*, 2004; Strohmaier & Giese, 2005). Dennoch dürfen gewisse Einschränkungen nicht unerwähnt bleiben. Eine Beurteilung der Reaktion des Gesamtorganismus auf die untersuchte Therapieform sowie Langzeiteffekte am behandelten Organ sind an einem isolierten Organmodell nicht möglich. Auch bestehen trotz aller anatomischer und funktioneller Ähnlichkeit der Nieren Speziesunterschiede zwischen Mensch und Schwein. Daher lassen sich die Ergebnisse nicht mit völliger Sicherheit direkt und ohne entsprechende Anpassungen auf den Menschen übertragen. Nichtsdestoweniger ist die Niere des Schweins bis heute das beste Tiermodell für urologische Fragestellungen und Therapien (Pereira-Sampaio *et al.*, 2004). Generell können die Bedingungen in einem Organmodell, trotz aller Bemühungen, nie exakt denen *in vivo* entsprechen. So konnte der Einfluss von Sauerstoff- und Nährstoffversorgung der Niere nicht beurteilt werden. Auch war es nicht möglich, die

Perfusionsrate der Nierendurchblutung in vivo entsprechend einzustellen, und der Einfluss der korpuskulären Anteile des Blutes konnte nicht beurteilt werden. Allerdings ist auch die isolierte Niere durch Autoregulation relativ unabhängig vom Perfusionsdruck und die Perfusion in einem Bereich von 80–180 mmHg nahezu konstant, selbst wenn diese mit einem zellfreien Perfusat durchströmt wird (Schmidt & Thews, 1995).

Das Ziel dieses Versuchsabschnittes war es daher, zu überprüfen, ob das 1994 von Köhrmann et al. am Klinikum Mannheim etablierte Modell der isolierten perfundierten Schweineniere (Köhrmann *et al.*, 1994) den genannten Anforderungen an ein Organmodell entspricht und eine Standardisierbarkeit gewährleistet werden kann. Das Grundprinzip der Nierenfunktion besteht darin, dass von dem durchfließenden Blut in den Glomeruli ein Ultrafiltrat (GFR) in die Nierentubuli abgepresst wird. Eine Insuffizienz geht meist mit einer Einschränkung der GFR einher (Schmidt & Thews, 1995). Dies bedeutet, dass eine gleichmäßige Durchblutung Grundvoraussetzung für die Funktionen der Exkretion, Konservierung und Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes der Niere ist. Daher lag bei den Untersuchungen besonderes Augenmerk auf der morphologischen und funktionellen Unversehrtheit des Nierengewebes und des renalen Gefäßnetzes sowie der Beurteilung der Perfusion. Zu diesem Zweck kamen verschiedene Verfahren der Bildgebung zum Einsatz.

Die Mikroangiographie ermöglichte eine Art Momentaufnahme des Perfusionsbildes durch Kontrastmittelanreicherung der Perfusionslösung und erlaubte eine Beurteilung der Gefäßversorgung. So konnte gezeigt werden, dass eine regelmäßige Verteilung des Perfusats im gesamten Parenchym des Nierenmodells erreicht wurde. Zum selben Ergebnis kamen die Untersuchungen mittels Doppler-Ultraschall und Magnetresonanztomographie, bei denen die Gewebsperfusion zudem dynamisch dargestellt werden konnte. Es zeigte sich, dass beide Verfahren zur Erfassung von Durchblutungsänderungen in der Niere geeignet sind. Des Weiteren war es hierbei möglich zu zeigen, dass die Nieren keine morphologischen Schädigungen, bedingt durch Lagerung oder Perfusion aufwiesen. Die Ergebnisse der drei genannten Verfahren verdeutlichen, dass die künstliche Perfusion an der isolierten Niere den Verhältnissen in vivo sehr ähnlich ist. Der Schwerpunkt der histologischen Untersuchungen lag zum Einen auf mikrostrukturellen Veränderungen der funktionellen Zellen des Nierenparenchyms bedingt durch hypoxische oder mechanische Schädigung infolge von Lagerung und/oder Perfusion. Ein weiterer Schwerpunkt lag auf dem Nachweis mitochondrialer Enzymaktivität, die eine Grundvoraussetzung der Unversehrtheit und Funktionalität jeder Zelle darstellt. Die Ergebnisse zeigen, dass die funktionellen Anteile des Parenchyms kaum Schädigungen, jedoch einen aktiven Zellstoffwechsel aufwiesen. Zudem

konnte in früheren Untersuchungen des Modells der isolierten perfundierten Schweineniere von Florian gezeigt werden, dass die GFR, die Urinproduktion und die fraktionierte Natriumrückresorption nahezu physiologische Werte aufwiesen (Florian, 1996). Bezieht man die Ergebnisse dieser Untersuchungen mit ein, so wird klar, dass sich das Nierenmodell dazu eignet, die Physiologie der intakten Schweineniere in weiten Bereichen nachzubilden. Es ermöglicht weiterhin eine konstante Einstellung von Perfusionsdruck und Gewebetemperatur und damit eine Simulation der physiologischen Nierendurchblutung, ohne das Nierengewebe morphologisch, funktionell oder mikrostrukturell zu schädigen, was zu falschen Interpretationen der Ergebnisse führen würde. Für die Beurteilung thermoablativer Therapietechniken, wie HIFU, ist dies von besonderer Wichtigkeit, da die Organperfusion eine nicht unerhebliche Rolle bei der Induktion thermischer Läsionen spielt (Chen *et al.*, 1993b).

Abschließend lässt sich feststellen, dass das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere eine gute, leicht zu handhabende Methode darstellt, um grundlegende Versuche zur Gewebeablation durchzuführen. Der Arbeitsaufwand zur Gewinnung und Aufbereitung des Modells ist überschaubar. Die Verfügbarkeit war entsprechend des Schlachtbetriebes des Schlachthofes der Stadt Mannheim (Fleischversorgungszentrum Mannheim GmbH) an 5 Tagen der Woche gegeben. Es konnten bis zu 8 Nieren pro Tag für Untersuchungen verwertet werden, da eine volle Funktionsfähigkeit nur für 6 Stunden nach der sofortigen Spülung gegeben war. Die Güte des Nierenmodells konnte anhand der durchgeführten Untersuchungen bestätigt und eine Standardisierbarkeit der Ergebnisse gewährleistet werden. Daher besitzen die Ergebnisse von Untersuchungen an diesem Modell validen wissenschaftlichen Wert und Aussagekraft.

5.2. Der Single-Element-Transducer (SET)

Um die HIFU-Therapie sicher und effektiv zur Gewebeablation einsetzen zu können, ist es zwingend notwendig, die genaue Lokalisation der Energiedeposition sowie deren Einflussfaktoren für den jeweils verwendeten HIFU-Wandler zu kennen. Organmodelle eignen sich hervorragend, diese Einflussfaktoren sowie die Wechselwirkungen zwischen Ultraschallwellen und biologischem Gewebe standardisiert zu untersuchen (Watkin *et al.*, 1996b). Für die therapeutische Nutzung von Energie zur Thermoablation sind darüber hinaus

genaue Kenntnisse über die Möglichkeiten der Steuerung der Läsionsgröße entscheidend, um eine exakte Planung und ein sicheres Ergebnis zu gewährleisten. Untersuchungen bezüglich der Beziehung zwischen applizierter Ultraschallintensität bzw. -dauer und den induzierten Läsionsgrößen müssen für jedes HIFU-Therapiegerät durchgeführt werden (Aström *et al.*, 1961; Sibille *et al.*, 1993a; Watkin *et al.*, 1997), da sie sich als besonders geeignet zu deren Steuerung erwiesen haben (Köhrmann *et al.*, 2002c). In dieser Arbeit wurde der Single-Element-Transducer (SET), ein piezokeramischer Paraboloidwandler mit einer Arbeitsfrequenz von 1,04 MHz (Storz Medical²⁷), verwendet. Der SET bietet den Vorteil eines relativ großen Verhältnisses zwischen Apertur und Brennweite und erlaubt daher eine starke Bündelung der Ultraschallwellen und konsekutiv eine gute Energiedeposition auch tief im Gewebe (Hill, 1994; Melodelima *et al.*, 2004a).

Variation der Beschallungsparameter

Ziel dieses Versuchsabschnittes war es daher nicht nur, die makroskopischen und mikroskopischen Effekte von HIFU-Schallwellen auf Nierengewebe zu untersuchen, sondern weiterhin auch die Klärung, ob eine Steuerung der Läsionsgröße über eine Variation der Beschallungsparameter des Ultraschallwandlers erreicht werden kann. Die Untersuchungen konzentrierten sich ausschließlich auf den Bereich der Nierenrinde, da dies die Lokalisation des Nierenzellkarzinoms, der häufigsten malignen renalen Tumorart (GEKID, 2006), darstellt (Damianou, 2003). Eine Erhöhung der applizierten Leistung und damit auch eine Erhöhung der thermalen Dosis, führten zu einer Zunahme von Läsionslänge und -breite. Bei hohen Leistungen kam die Wachstumskurve in einen Sättigungsbereich, da die für die Verteilung der Temperaturerhöhung verantwortlichen Wärmeleitprozesse eine begrenzte Wirkungsspanne besitzen (Damianou & Hynynen, 1994). Dies liegt einerseits an der Physik der Wärmeleitung, andererseits aber auch an den sich bei hohen Temperaturen verändernden Gewebeeigenschaften, die den Energieeintrag in das beschallte Volumen und die Wärmeleitungseigenschaften des Gewebes verändern. Zudem ist die Nierenrinde, in welche die Läsionen platziert wurden, nur 17 (\pm 3) mm stark, was die Läsionslänge zusätzlich begrenzte. Auch eine Zunahme der Pulsdauer führte zu einem Anstieg der Temperaturerhöhung und daher einer Vergrößerung des thermisch abladierten Volumens. Bei gleich bleibender zugeführter Gesamtenergie von 400 J wurde jedoch deutlich, dass die applizierte Leistung den signifikant größeren Einfluss gegenüber der Pulsdauer aufwies. Durch eine Variation der Ultraschallparameter konnte also eine gute Korrelation mit den

Ausmaßen der induzierten Thermoläsionen festgestellt werden. Bis zu einem gewissen Maximalvolumen ($0,28 \text{ cm}^3$) eignen sie sich daher gut zur Steuerung der Läsionsgröße. Gewisse Schwankungen der Werte können wahrscheinlich auf die, von Marberger et al. beschriebenen, individuellen Variationen der Fett und Bindegewebsanteile der jeweiligen Nieren und in der Folge gewissen Änderungen beim Reflexions- und Absorptionsverhalten zurück zu führen sein (Marberger *et al.*, 2005). Auch wurde die Fokusposition von der individuellen Nierenanatomie (Dicke der Nierenrinde und Form der Nierenkrümmung) mitbestimmt. Aus diesen Gründen wurde von Wang et al. (Wang *et al.*, 2003) der Begriff der biologischen Fokusregion eingeführt, der nicht nur die akustischen Parameter, sondern auch die Beschallungsdosis und die Art des Gewebes mit einbezieht.

War die Schalleistung zu niedrig gewählt, wurden der untere Schwellenwert für reproduzierbare Thermoläsionen nicht überschritten und keine ausreichend hohen Temperaturen zur Gewebeablation im Fokusbereich erzielt. Dieser untere Schwellenwert wurde bei 200 W elektrischer Leistung i.d.R. überschritten und dürfte daher in diesem Bereich zu finden sein. Dies deckt sich mit den früheren Untersuchungen von Häcker et al. (Häcker *et al.*, 2004). Bei einer elektrischen Leistung von 400 W hingegen wurde der Schwellenwert zur Induktion von Kavitäten i.d.R. überschritten.

Organspezifische Variablen

Vor einem möglichen Einsatz des HIFU zur kontaktlosen Gewebeablation in der Niere müssen auch die relevanten Einflussfaktoren des Organs berücksichtigt werden. Daher wurde in diesem Versuchsabschnitt der Einfluss von Perfusion, Gewebetemperatur und Gewebsspannung untersucht. Es wurden Thermoläsionen bei gleich bleibenden Ultraschallparametern induziert und ihre Größe bei Perfusion bzw. fehlender Perfusion, bei 37°C bzw. 10°C Gewebetemperatur und bei kleiner bzw. großer Gewebsspannung verglichen. Die Temperatur der Perfusionsflüssigkeit betrug jeweils nur Zimmertemperatur, um die vermuteten Abkühlungseffekte durch Konvektion zu forcieren. Bei Perfusion des Nierenmodells wurde eine moderate Vergrößerung der Thermoläsionen festgestellt. Der Grund hierfür könnte sein, dass das Perfusionsmedium durch die hohen Intensitätswerte im Fokusbereich so stark erhitzt wurde, dass es selbst beim Abfluten im Grenzbereich um den effektiven Ultraschallfokus noch zur thermischen Koagulation des Gewebes führte. Ein zweiter Erklärungsansatz könnte sein, dass sich die Gewebeveränderungen, die mit der Läsionsbildung einhergehen, durch die permanente Kühlung (verursacht vom

vorbeiströmenden Perfusat) langsamer entwickeln und daher Wärmeleitung und Energieeintrag in das Gewebe länger und effektiver aufrecht erhalten werden konnten. Für andere Versuchsmodelle wurde beobachtet, dass eine Perfusion zu einer relativen Verkleinerung von 14–20% des Ablationseffektes führt (Chen *et al.*, 1993b). Dieses wäre dadurch erklärbar, dass die Temperatur des Perfusionsmediums im Fokusbereich bei dieser Gruppe nur grenzwertig für eine Koagulation ausreichte und daher die Kühleffekte der vorbeiströmenden Flüssigkeit überwogen. Weiterhin war der Einfluss der Perfusion bei den Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes gleichsinnig von der Pulsdauer abhängig. Wie schon von Billard *et al.* (Billard *et al.*, 1990) beschrieben, zeigte sich die Läsionsbildung für sehr kurze Pulsdauern (≤ 2 s) perfusionsunabhängig, jedoch nahm der Einfluss der Perfusion mit steigender Pulsdauer deutlich zu. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen von Damianou und Hynynen, die Perfusionseinflüsse auf die Ablation von Nierengewebe ab einer Pulsdauer von > 5 s fanden (Damianou & Hynynen, 1994). In vivo ist die Perfusionsrate zentral im Tumorgewebe oft geringer als im umgebenden gesunden Gewebe, was den Einfluss der Perfusion in Kombination mit einer ausreichend kurzen Pulsdauer noch einmal verringern dürfte (Chen, 1993). Allerdings muss in den Randbereichen des zu behandelnden Tumors mit einer verstärkten Perfusion gerechnet und in die Therapieplanung einbezogen werden (Short & Turner, 1980), da sehr stark durchblutete Areale möglicherweise mit höheren Intensitäten behandelt werden müssen (Adams *et al.*, 1996). Um die dafür nötigen Intensitäten zu berechnen, könnten mathematische Modelle von Vorteil sein (Shaw *et al.*, 1996).

Die Temperatur des Nierengewebes hatte deutlich mehr Einfluss auf die Dimensionen der erzeugten Thermoläsionen als die Perfusion. So waren diese in 10°C kaltem Gewebe signifikant kleiner als in physiologisch 37°C warmem. Schon Chen *et al.* äußerten die Befürchtung, dass ein Überleben mancher Tumorareale durch Abkühlung der im Experiment behandelten Organe im Wasserbad zustande kam (Chen *et al.*, 1998). Da eine spätere Anwendung am Patienten jedoch vollständig nichtinvasiv und folglich ohne Abkühlung stattfinden wird, ist diese Erkenntnis mehr von grundlegender denn klinischer Bedeutung für die Ablation von Nierentumoren. Eine Möglichkeit der Nutzung dieses Effektes wäre eine Kombination von HIFU und Hyperthermie, doch es ist zu bezweifeln, ob die dabei erzielte Temperaturerhöhung von wenigen °C eine so deutliche Zunahme der Läsionsdimensionen erzielen würde, dass der zusätzliche Arbeits- und Kostenaufwand zu rechtfertigen wäre. Bei den Untersuchungen zur Gewebsspannung konnte kein Einfluss auf die Läsionsbildung

festgestellt werden. Ein Nebeneffekt bei nahezu allen Beschallungsreihen waren flache Koagulationsbereiche an der Nierenunterfläche, d.h. auf der dem Wandler abgewandten Seite. Diese wurden wahrscheinlich durch Absorption divergenter Ultraschallwellen an der der Niere anliegenden Absorberoberfläche nach Austritt aus der Niere verursacht. Dies zeigt, dass das Schallfeld auch hinter dem Fokus noch genügend Energie besitzt, Gewebe zu zerstören, sollte an Grenzflächen zwischen Geweben unterschiedlicher Absorptionskoeffizienten eine erhöhte Absorption auftreten. Das bedeutet in der klinischen Anwendung, dass an knöchernen bzw. luftgefüllten Strukturen hinter dem Zielvolumen unerwünschte thermale Effekte auftreten könnten. Dies müsste in weiterführenden experimentellen Untersuchungen abgeklärt werden, um Schäden an angrenzenden Organen, die mehrfach in der Literatur beschrieben sind (Chapelon *et al.*, 1992a; Vaughan *et al.*, 1994; Esnault *et al.*, 2004), zu vermeiden.

Ablation klinisch relevanter Volumina

Die maximale zweidimensionale Ausdehnung einer einzelnen Thermoläsion, die mit dem SET induziert werden kann, beträgt etwa $15 (\pm 2) \times 6 (\pm 1)$ mm. Geht man von einem Rotationsellipsoid als dreidimensionaler Grundform aus, so ergibt sich ein maximales Volumen von $0,28 \text{ cm}^3$ pro Einzelbeschallung. Relevante Tumorgrößen für die klinische Applikation liegen jedoch bei 1–4 cm Durchmesser bzw. entsprechend $0,5\text{--}33,5 \text{ cm}^3$. Für die Ablation solcher Volumina ist es daher von entscheidender Wichtigkeit, ein Behandlungsprotokoll bzw. -raster zu erstellen, um einzelne Beschallungen in geeigneter Weise zeitlich und räumlich nebeneinander anzuordnen. Viele Untersuchungen zeigen das Dilemma, dass Vorhersehbarkeit der Läsionsbildung und die Pulsdauer indirekt voneinander abhängen, d.h. je mehr die Einstellungen derart gewählt werden, dass die Läsionsbildung gut kontrollierbar ist, desto größer wird die absolute Behandlungszeit (Malcolm & ter Haar, 1996; Watkin *et al.*, 1996b). Ein optimales Behandlungsprotokoll aber sollte eine vollständige Zerstörung des Zielvolumens bei gleichzeitiger Minimierung von Ultraschalldosis und Behandlungszeit zur verminderten Belastung des Patienten ermöglichen.

Ziel dieses Versuchsabschnittes war es daher, ein solches Protokoll für den vorliegenden Wandler zu erstellen, bevor eine klinische Anwendung in Erwägung gezogen werden kann. Da die Einzelläsionen i.d.R. eine längsovale Form aufweisen, stellt es sich schwierig dar, geeignete Beschallungsparameter (Beschallungsintensität, -zeit, Läsionsabstand) zu finden, die einerseits das Zielvolumen vollständig abdecken, andererseits aber unerwünschte Interaktionen der Einzelläsionen verhindern (Chen *et al.*, 1997). Eine vollständige Ablation

des Zielvolumens mit dem vorliegenden Wandler war bei einer elektrischen Leistung von 280 W, einer Pulsdauer von 4 s, einem Läsionsabstand von 4 mm und einem Behandlungsintervall von 10 s möglich. Die vollständige thermische Zerstörung aller Zellen im Zielvolumen konnte histochemisch bestätigt werden (s. Histologie). Die Induktion konfluenter Läsionen stellte sich allerdings als äußerst diffizil heraus, da bereits marginale Änderungen der akustischen Parameter zu beträchtlichen Abweichungen und Verschlechterung der Ergebnisse von großen Behandlungslücken bis hin zu massiven Gewebelöchern und einer vollständigen Unvorhersagbarkeit von Form und Größe der abladierten Fläche führten. Ein Grund für dieses nahezu chaotische Verhalten könnte das Auftreten nichtlinearer Effekte, insbesondere Kavitationen, sein. Bedingt durch ihre längs-ovale Form müssen Einzelläsionen leicht überlappend zueinander angeordnet werden, um unbehandelte Gewebelücken zwischen ihnen auszuschließen. Dies bedeutet jedoch auch, dass ein Anteil der Ultraschallwellen bereits abladiertes Gewebe passieren muss. Dessen Absorptionskoeffizient ist jedoch deutlich höher als der des unbehandelten Gewebes. In der Folge kommt es im Bereich des koagulierten Gewebes zu einer schnelleren Erwärmung und zu einem Absinken der Kavitationsschwelle, wodurch Abberationen von Form und Lokalisation der folgenden Läsionen verursacht werden können (Chen *et al.*, 1997; Arefiev *et al.*, 1998). In den Messungen dieses Versuchsabschnittes bestätigte sich dies durch die Beobachtung, dass die erste Läsion stets eine reguläre Form und Größe aufwies und nur nachfolgende Läsionen bei ungeeigneten Einstellungen Abweichungen zeigten. Eine Möglichkeit dies zu verhindern ist der Einsatz geringerer Intensitäten und relativ langer Behandlungsintervalle zwischen den einzelnen Beschallungen. Dieses Vorgehen gewährleistet, dass ausschließlich thermische Wirkmechanismen zum Tragen kommen und Kavitationseffekte ausgeschlossen werden können. Die Konsequenz wäre jedoch auch, dass sehr lange Behandlungszeiten in Kauf genommen werden müssten. So benötigten Malcolm und ter Haar für eine 2 cm lange konfluierende Läsion 39 min (Malcolm & ter Haar, 1996), wohingegen bei den Einstellungen der vorliegenden Versuchsreihe lediglich 60 s aufgewendet werden mussten. Durch das relativ geringe Behandlungsintervall von 10 s zwischen den Einzelbeschallungen konnte nicht nur die absolute Behandlungszeit deutlich verkürzt, sondern die Restwärme der vorangegangenen Beschallung konstruktiv zur Ablation genutzt werden. Auch die relativ kurze Pulsdauer von 4 s wäre bei einer späteren klinischen Anwendung von Vorteil, da der Patient für diese Zeit sehr kontrolliert und zuverlässig den Atem anhalten könnte bzw. bei kontrollierter Beatmung im Zuge einer Allgemeinanästhesie eine gute Steuerung möglich wäre.

Doch liegt gerade in der Notwendigkeit der strikten Befolgung des vorgegebenen Behandlungsschemas eine Einschränkung des Versuchsaufbaus. So können bei der Anwendung immer Umstände auftreten, die eine kurze Unterbrechung der Behandlung erfordern könnten (z.B. Schmerzen oder technische Probleme). Entsprechend den Ergebnissen dieses Versuchsabschnittes könnten aber schon minimale Abweichungen eine Verminderung des Ablationserfolges zur Folge haben. Insbesondere in der onkologischen Anwendung von HIFU muss bei kurativer Zielsetzung stets eine lückenlose Ablation des gesamten Zielvolumens erreicht werden, um einer Tumorremission vorzubeugen (Yang *et al.*, 1991; Sibille *et al.*, 1993a). Es gibt jedoch Hinweise, dass sekundäre Effekte durch ablativ Zerstörung nutritiver Blutgefäße solche Lücken nachträglich „schließen“ könnten (Chen *et al.*, 1993a; Chen *et al.*, 1999b). Wu *et al.* konnten diese Annahme per Doppler-Ultraschall, dynamischer Radionuklid-Abtastung und digitaler Subtraktionsangiographie nach der HIFU-Behandlung von Patienten bestätigen (Wu *et al.*, 2002).

Kavitationen und Kavitäten

Insbesondere bei hohen Intensitätswerten und längerer Pulsdauer wurden regelmäßig zentrale Gewebedefekte (sog. Kavitäten) innerhalb der Thermoläsionen beobachtet. Deren Ausmaß reichte von 0,5 mm bis hin zur fast völligen „Aushöhlung“ des Ablationsbereiches. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von anderen Gruppen gemacht (Malcolm & ter Haar, 1996; Köhrmann *et al.*, 2002c; Damianou, 2003). Verursacht wurden diese Kavitäten wahrscheinlich durch das Oszillieren und Kollabieren akustischer Kavitationsbläschen und/oder Überschreitung des Siedepunktes im Schallfokus und daraus resultierendem Phasenübergang des Gewebewassers von flüssig nach gasförmig (Carstensen *et al.*, 1993; Jenne, 2001). Diese Kavitationsblasen oszillieren im Schallfeld, absorbieren Energie aus dem Schallfeld und nehmen im Durchmesser zu bis sie ihre Resonanzgröße erreicht haben, kollabieren dann und geben ihre aufgenommene Energie ab. Dabei kommt es zur Ausbildung von Schockwellen mit sehr hohen Druckamplituden und hoher destruktiver mechanischer Wirkung. Darüber hinaus ermöglicht die Fragmentation der Blase das Entstehen sog. Kavitationskeime, welche die Kavitationsschwelle wiederum deutlich erniedrigen und als Nukleus für neue Kavitationen wirken. Im Kollaps kommt es lokal weiterhin zu sehr hohen Temperaturen, welche sonodynamische Prozesse und die Bildung von Sauerstoffradikalen anregen können. Die zum Teil unregelmäßige Form der Kavitäten könnte durch die Verformung der Gasbläschen an den Wänden der Blutgefäße im Perfusionsfluss bedingt sein

(Brujan, 2004). Zeigen sich direkt im Anschluss an die HIFU-Beschallung hyperechogene Areale im diagnostischen Ultraschall, so ist dies ein zuverlässiger Hinweis auf die Anwesenheit von Gas- bzw. Kavitationsblasen (Arefiev *et al.*, 1998; Barkman *et al.*, 1999; Köhrmann *et al.*, 2002b; Damianou *et al.*, 2004). Derartige Areale waren bei den Versuchen mit dem SET, je nach applizierter Intensität, mehrere Sekunden bis Minuten zu sehen. Das unkontrollierte Auftreten von Kavitationen ist unerwünscht, da Lokalisation, Form und Größe der Thermoläsionen unvorhersehbar werden können (Sibille *et al.*, 1993a; Chapelon *et al.*, 2000). Andererseits wird die induzierte Temperatur durch die Anwesenheit von Kavitationen deutlich erhöht (Hynynen, 1991; Clarke & ter Haar, 1997). Daher werden zunehmend Anstrengungen unternommen, Kavitationen kontrolliert einzusetzen, um den therapeutischen Effekt zu verbessern, die Behandlungsdauer zu senken und damit die Effizienz der Behandlung zu erhöhen (Sokka *et al.*, 2003; Curiel *et al.*, 2004; Takegami *et al.*, 2005). So wird z.B. durch die Gabe von Ultraschallkontrastmitteln, die aus stabilisierten Gasblasen mit einem Radius von 1–4 µm bestehen, versucht, die HIFU-Läsionsrate zu erhöhen, indem die Kavitationsschwelle kontrolliert erniedrigt wird.

Auch in den vorliegenden Untersuchungen war es bei idealer Kombination von akustischer Leistung, Pulsdauer und Behandlungsintervall möglich, von der Restwärme und u.U. zuvor gebildeten Gasbläschen zu profitieren. Jedoch erwies sich dies als Gratwanderung, da die idealen Ergebnisse nicht in jedem Fall reproduzierbar waren. Ein Grund dafür ist sicherlich das bis heute unvollständige Wissen über die Gesetzmäßigkeiten der Entstehung von Kavitationen in biologischem Gewebe.

Histologie

Ziel der histologischen Untersuchungen war es, die mikrostrukturellen Auswirkungen des hochenergetischen fokussierten Ultraschalls auf Nierenparenchym zu untersuchen. Morphologisch können diese am besten in der Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung erfasst werden, da hierbei Zellkerne und zytoplasmatische Bestandteile dargestellt werden. Bei der Auswertung waren dann auch massive Zellzerstörungen in funktionellem und Stützgewebe zu erkennen. Außerdem wurden unregelmäßig geformte Gewebszerreißen im zentralen Bereich der Läsionen gefunden. Diese sind laut Chen *et al.* auf Desintegration des beschallten Gewebes durch das Auftreten akustischer Kavitationen zurückzuführen (Chen *et al.*, 1993a). In der Literatur finden sich elektronenmikroskopische Untersuchungen an mit HIFU behandeltem Gewebe, die zeigen, dass die Membranen der Zellorganellen rupturiert, das

Zytoplasma vakuolisiert und insbesondere die Mitochondrien irreversibel geschädigt waren (Susani *et al.*, 1993; Chen *et al.*, 1999b). Dies korreliert sehr gut mit den lichtmikroskopischen Resultaten. Typische Zeichen einer Koagulationsnekrose, wie sie mehrfach in der Literatur beschrieben werden (Wu *et al.*, 2001; Keshavarzi *et al.*, 2002; Esnault *et al.*, 2004), fanden sich nicht, da sich eine Nekrose per definitionem nur im lebenden Gesamtorganismus einige Tage nach dem Einfluss der letalen thermischen Noxe bilden würde. Der Übergang von behandeltem zu unbehandeltem Gewebe betrug jeweils nur einige Zellreihen, was zeigt, dass HIFU eine sehr präzise Behandlung im Zielfokusbereich unter Schonung des angrenzenden Gewebes ermöglicht.

Durch morphologische Untersuchungen alleine kann jedoch nicht mit der nötigen Sicherheit nachgewiesen werden, dass im Bereich der HIFU-Läsionen keine vitalen Zellen ausgespart wurden (Chen *et al.*, 1998). Um aufwendige Untersuchungen mit molekularen Markern (Wu *et al.*, 2003a), Zellkulturen oder Tierversuchen mittels Beimpfung von Gewebeproben (Chen *et al.*, 1998) zu vermeiden, wurde die NADH- (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) Färbung zur Untersuchung herangezogen. Dieses histochemische Färbeverfahren nutzt die Wasserstoffionenfreisetzung durch Enzymaktivität in vitalem Gewebe. Die Wasserstoffionen werden von den NADH-Molekülen zum Farbstoff Nitro-Blue-Tetrazolium (NBT) transportiert, der zum wasserunlöslichen Formazan-Pigment reduziert wird und so den Ort der Enzymaktivität farblich markiert (Sheehan & Hrapchak, 1987). Ursprüngliches Einsatzgebiet der NADH-Färbung ist die Muskelpathologie. Der Nachweis der Enzymaktivität dient hierbei zur Differenzierung von Typ-I- und Typ-II-Muskelfasern. Basierend auf der Publikation von Gettman *et al.* erschien das Verfahren jedoch auch geeignet, die oxidative Aktivität des Nierenparenchyms innerhalb des Behandlungsbereiches zu erfassen (Gettman *et al.*, 2002). Die negative Reaktion der Zellen innerhalb dieses Bereiches beweist das vollständige Fehlen mitochondrialer Enzymaktivität und in der Folge jeder zellulären Lebensfähigkeit des Nierengewebes. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Susani *et al.*, die eine vollständige und irreversible Zerstörung der Mitochondrien zeigen (Susani *et al.*, 1993). Auch in dieser Färbung war der Übergang zwischen behandeltem und unbehandeltem Gewebe scharf. Das Gewebe um und zwischen den Läsionen zeigte rege Enzymaktivität. Die NADH-Färbung stellt daher eine verlässliche, kostengünstige, einfache und schnelle Methode zur histologischen Erfassung des Behandlungserfolges der fokussierten Ultraschallchirurgie dar.

5.3. Der Triple-Element-Transducer (TET)

Die Verwendung von einteiligen Ultraschallwandlern für die fokussierte Ultraschallchirurgie ist durch verschiedene Faktoren im klinischen Einsatz eingeschränkt. Das Verhalten der Ultraschallwellen beim Auftreffen auf Gewebegrenzschichten auf ihrem Weg durch den Körper macht es notwendig, akustische Fenster zur Ankopplung an den Körper des Patienten zu finden, die weder von Knochen, noch von Luft umgeben sind. Treffen die Ultraschallwellen auf Knochen, werden gewisse Anteile reflektiert und gestreut, was zu einer unzureichenden Erwärmung des Zielvolumens und/oder Thermoläsionen außerhalb des Zielvolumens führen kann. Des Weiteren wird ein großer Anteil der Ultraschallwellen im Knochengewebe in Transversalwellen umgewandelt, die wiederum stärker absorbiert werden. Dies kann unerwünschte Temperaturerhöhungen im Knochengewebe zur Folge haben (Hynynen, 1990; Kennedy *et al.*, 2003a). Treffen die Ultraschallwellen auf ihrem Weg auf Gas, z.B. auf gasgefüllte Darmschlingen, kommt es zu einer fast vollständigen Reflexion der eingestrahlten Wellen und in der Folge zu einer fehlenden thermischen Wirkung im Fokusbereich (Köhrmann *et al.*, 2002a). Auch die unveränderliche geometrische Anordnung und die dadurch vorgegebene Fokusgröße stellen einen Nachteil dieser Systeme dar. So kann nur bedingt Einfluss auf die Ausmaße der induzierten Thermoläsionen genommen werden. Im Hinblick auf diese Einschränkungen der einzelnen Ultraschallwandler konnten Chauhan *et al.* in vorangegangenen 2D- und 3D-Simulationen sowie in In-vitro-Versuchen zeigen, dass der simultane Einsatz mehrerer kleinerer Ultraschallwandler gegenüber großaperturigen Ultraschallwandlern diverse Vorteile hat (Chauhan, 2001; Chauhan *et al.*, 2001). Durch wesentlich kleinere Aperturdurchmesser und Strahlengänge in einer solchen Mehrfachkonstruktion ist es bedeutend einfacher, geeignete Beschallungsfenster zu finden. Werden diese Schallwandler geschickt räumlich angeordnet, können ihre zugehörigen Ultraschallwellen, sich gegenseitig verstärkend, miteinander interferieren. So würden sich überlappende und gegenseitig verstärkende Foki induziert. Durch diesen Additionseffekt der Fokusintensitäten können sehr hohe Energiedichten erreicht werden. Ein weiterer Vorteil dieses Ansatzes ist die Möglichkeit, Fokusgröße und Fokusform flexibel den jeweiligen Bedingungen und Bedürfnissen anzupassen, indem die einzelnen Schallwandler der Konstruktion separat voneinander angesteuert werden können. So konnte in In-vitro-Versuchen gezeigt werden, dass bei gleichzeitiger Verwendung von drei Ultraschallwandlern höhere Temperaturen im Gewebe erzeugt werden können als ein einzelner Wandler bei gleicher applizierter Gesamtenergie erzielt (Chauhan, 2001).

Ziel der Untersuchungen dieses Versuchsabschnittes war es daher, den von der Nanyang Technological University Singapor zur Verfügung gestellten Triple-Element-Transducer auf die postulierten Vorteile hin empirisch am Modell der isolierten Schweineniere zu untersuchen. Im ersten Schritt wurden daher verschiedene Ultraschallleistungsstufen und Beschallungszeiten auf ihren Einfluss hinsichtlich Größe und Form der induzierten Läsionen in perfundierten und nicht perfundierten Nieren untersucht. Der untere Schwellenwert zur Induktion einer Thermoläsion lag bei $40 W_{el}$. Die Beschallungszeit hierfür betrug 4 s bei den nicht perfundierten und 8 s bei den perfundierten Nieren. Es zeigte sich, dass die Ergebnisse gut reproduzierbar waren und sowohl Ultraschallleistung als auch Beschallungszeit Einfluss auf Größe und Form der Thermoläsionen hatten, wobei der Einfluss der Ultraschallleistung überwog. Insgesamt waren die Läsionen bei gleichen Einstellungen im nicht perfundierten Nierengewebe um den Faktor 1,4 größer. Die Erklärung hierfür ist der Wärmeverlust in das vorbeiströmende Perfusat durch Konvektion. Dieser Effekt wurde auch von anderen Gruppen für Beschallungszeiten von länger als 3 s beobachtet (Billard *et al.*, 1990; Chen *et al.*, 1993b). Bei keiner der gewählten Einstellungen traten Interaktionen zwischen den Läsionen auf. Durch präzise Vorauswahl der Behandlungsparameter sollte verhindert werden, dass die Gewebetemperatur den Siedepunkt überschritt bzw. akustische Kavitationen auftraten. In wenigen Läsionen dieser Untersuchungsreihe konnten zwar Gewebedefekte, so genannte Kavitäten, gefunden werden, jedoch waren diese relativ zur Läsionsgröße klein und hatten offenbar keinen Einfluss auf Form oder Größe der jeweiligen Läsionen, da sie Läsionen ohne Kavitäten entsprachen.

Bei separater Ansteuerung des zentralen Ultraschallwandlers zeigte sich, dass die Läsionen bei gleicher Gesamtleistung um ein 5 bis 6 faches kleiner als bei der gleichzeitigen Anwendung aller drei Ultraschallwandler waren. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Sasaki *et al.*, die einen vierteiligen Behandlungskopf verwendeten (Sasaki *et al.*, 2003). Die Läsionen waren zugleich auch sehr randständig im Nierenparenchym gelegen und zeigten damit eine deutliche Tendenz, ca. 5 mm näher zur Ultraschallquelle hin zu entstehen. Diese Beobachtungen decken sich gut mit den Erkenntnissen von Watkin *et al.* (Watkin *et al.*, 1997). Interessanterweise fand sich eine solche Verschiebung in Richtung der Ultraschallquelle beim gleichzeitigen Einsatz aller drei Ultraschallwandler nicht. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass durch die Aufteilung der Gesamtenergie auf drei Schallfelder die Energie der einzelnen Schallfelder nicht groß genug war, den Absorptionskoeffizienten des Gewebes entsprechend zu erhöhen und daher das Gewebe bis hin zum Fokuspunkt zu durchlaufen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Beschallung mit dem Triple-Element-Transducer verlässlich reproduzierbare Läsionen ermöglicht, bei denen keine unerwünschten Interaktionen untereinander auftreten. Die benötigte Gesamtenergie ist dabei deutlich kleiner als bei einem Einzelschallkopf. Damit scheint gesichert, dass auch im Modell der isolierten perfundierten Schweineniere der gewünschte Additionseffekt der Fokusintensitäten zu den so genannten „superimposed foci“ erzeugt werden konnte. Die postulierten Vorteile bezüglich der Ankopplung konnten in diesen Untersuchungen nicht bewertet werden, da die Versuche nur an isolierten Nieren im Wasserbad vorgenommen wurden.

5.4. Absorptionsmessungen an Brust- und Bauchseitenwand

Wie eingangs beschrieben, unterliegen Ultraschallwellen auf ihrem Weg durch biologisches Gewebe unterschiedlichen Mechanismen der Abschwächung. Speziell an Grenzflächen zwischen verschiedenen Gewebearten mit deutlicher akustischer Impedanz (z.B. zwischen Muskel und Knochen) kommt es zu Reflexion und Brechung der Ultraschallwellen und innerhalb einer Gewebeart zusätzlich zu Streueffekten an Gewebeinhomogenitäten (Cittadini & Martinoli, 1995; Damianou, 2004). Zudem hat Knochengewebe aufgrund des Auftretens von transversalen Wellenanteilen eine mehrfach höhere Absorption als Weichteilgewebe. Mehrere Gruppen konnten zeigen, dass es möglich ist, durch Weichteilgewebe hindurch Läsionen im Nierengewebe zu erzeugen (Vaughan *et al.*, 1994; Adams *et al.*, 1996; Köhrmann *et al.*, 2002a; Damianou, 2003). Da jedoch zumindest Teile der menschlichen Niere innerhalb des knöchernen Brustkorbes liegen, ist es von Interesse, Genaueres über die Abschwächungsmechanismen verschiedener Gewebearten –insbesondere von Knochen– in der so genannten Vorlaufstrecke, zwischen Ultraschallwandler und dem eigentlichen Zielfokusbereich, zu erfahren, um auch diese Anteile der Nieren mit der fokussierten Ultraschallchirurgie therapeutisch zu erreichen. Kennedy *et al.* konnten mit ihrem Ex-vivo-Versuchsaufbau konstant regelmäßige Läsionen in Lebergewebe erzeugen, wenn das Ultraschallfeld zwischen Rippenknochen hindurch passieren konnte (Kennedy *et al.*, 2003a). Zu diesem Zweck positionierten sie präparierte Schweinerippen als eine Art Raster in einem Abstand von 1,5 cm zueinander vor dem Lebergewebe. Mittels dieses Versuchsaufbaus konnten sie zeigen, dass sich die Läsionen in ihrer Schallachse verschoben, also an unvorhersehbaren Lokalisationen bildeten, wenn das Ultraschallfeld den Randbereich eines Rippenknochens passieren musste und im Falle eines direkten Auftreffens auf den

Rippenknochen sogar Läsionen mit extrem abweichender Form entstanden. Beim direkten Auftreffen auf den Rippenknochen wurde zudem eine Temperaturerhöhung von 47°C am Knochengewebe dokumentiert. Vorteil dieses Versuchsaufbaus war die Möglichkeit, das Ultraschallfeld präzise zwischen bzw. auf die Rippenknochen zu richten. Diese Gegebenheiten können jedoch nur der Grundlagenforschung dienen und haben keinen klinischen Bezug, da nur lange, gerade, einfach zu positionierende Rippenknochen verwendet wurden und die präparierten Knochen nicht im realen morphologischen Zusammenhang mit Interkostalmuskulatur vorhanden waren. Auch fehlten die weiteren Gewebegrenzflächen wie sie *in situ* vorgefunden werden.

Ziel der vorliegenden Versuchsreihe war es daher, das Absorptionsverhalten verschiedener Gewebearten in der Vorlaufstrecke zu quantifizieren. Um der tatsächlichen morphologischen Situation gerecht zu werden, wurden Gewebeproben verwendet, die zu unterschiedlichen Anteilen aus äußerer Haut, subkutanem Fettgewebe, Rippenknochen, Interkostalmuskulatur und Bindegewebe im natürlichen Zusammenhang bestanden. In Anlehnung an Moros *et al.* wurde auf diese Weise eine Art anatomisches Modell entwickelt, das den entscheidenden Gewebegrenzflächen Muskel-Niere, Fett-Niere, Knochen-Niere Rechnung trug (Moros *et al.*, 1999). Zwei der Gewebeproben enthielten kein Knochengewebe, um auch das Abschwächungsverhalten des Ankopplungsfensters außerhalb des knöchernen Brustkorbs zu untersuchen. Zunächst wurde die Absorption der Gewebeproben mit einer Schallwaage bestimmt. Es ergab sich je nach Zusammensetzung der Gewebeprobe eine Abschwächung des Ultraschallfeldes von 53–73%. Das bedeutet, dass nur 27–47% der abgegebenen Leistung das Gewebe der Vorlaufstrecke passieren konnten, wobei auch ein Teil der Leistung der gestreuten Ultraschallwellen miterfasst wurde. Aus technischen Gründen waren die Gewebeproben 2–5 cm stark. Gerade bei adipösen Patienten muss mit stärkeren Schichten im Vorlauf gerechnet und die Therapieplanung bezüglich akustischer Leistung und Pulsdauer der Einzelläsionen entsprechend angepasst werden. Eine Gewebeprobe bestand ausschließlich aus äußerer Haut und subkutanem Fettgewebe und wurde aufgrund ihrer homogenen Textur zur Bestimmung des Abschwächungskoeffizienten verwendet. Durch die Homogenität der Probe kann jedoch davon ausgegangen werden, dass sich in diesem Fall Absorptions- und Abschwächungskoeffizient nur sehr wenig unterscheiden. Vergleicht man diesen experimentell ermittelten Wert mit Daten aus der Literatur, so findet sich eine gute Übereinstimmung mit dem von Chivers *et al.* und Moran *et al.* ermittelten Absorptionskoeffizienten für humanes Fettgewebe bzw. humaner Haut mit subkutanem

Fettgewebe (Chivers & Parry, 1978; Moran *et al.*, 1995). Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die ermittelten Daten gut mit der Situation im humanen Patienten korrelieren.

In einem zweiten Arbeitsschritt sollten, ebenfalls mit Gewebeprobe in der Vorlaufstrecke, Läsionen im isolierten Nierenmodell induziert werden. Bei der knochenfreien Gewebeprobe konnten konstant Läsionen von regelmäßiger Form und Größe erzeugt werden. Das Läsionsvolumen war hierbei um 13,5% geringer als in den Leerversuchen. Daraus lässt sich schließen, dass ein gewisser Anteil der abgegebenen akustischen Leistung vom Gewebe der Vorlaufstrecke absorbiert wurde und daher nicht mehr im Zielfokusbereich in thermische Energie umgewandelt werden konnte. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Wang *et al.* (Wang *et al.*, 2003) und Damianou *et al.* (Damianou, 2003). Eine Erklärung für die geringfügige Zunahme der Läsionsbreite könnte die Streuung oder auch die Brechung der eingestrahnten Ultraschallwellen sein, da biologische Gewebe niemals ideal homogen sind. Eine Folge kann die Aufweitung des Fokusbereiches und damit eine Verbreiterung der Thermoläsionen sein. Bei der Gewebeprobe mit Rippenknochen konnte bei keiner Energiestufe eine sichtbare Thermoläsion erzeugt werden. Berücksichtigt man die Daten der direkten Absorptionsbestimmung, können reine Absorptionseffekte nicht zu diesem Ergebnis geführt haben. Aufgrund der Brechung und Dämpfung der Ultraschallwellen an den Rippen scheint der fokussierende Charakter des Feldes verloren zu gehen, so dass die Energiedeposition im Ultraschallfokus bei den gegebenen Beschallungsparametern nicht mehr ausreicht, eine thermische Gewebeläsion zu induzieren. Zusätzlich stellen die Unterschiede der Schallgeschwindigkeiten innerhalb der verschiedenen Gewebearten eine weitere mögliche Schwierigkeit dar. So beträgt die Schallgeschwindigkeit bei 37° in humanem Knochengewebe 3198 m/s (Frauen) bzw. 3406 m/s (Männer), in Fettgewebe jedoch nur 1400–1490 m/s und in Muskelgewebe 1508–1630 m/s (Duck, 1990). Das bedeutet, dass die Ultraschallwellen das Knochengewebe etwa doppelt so schnell passieren wie das umliegende Muskel- und Fettgewebe. Dadurch kommt es möglicherweise zu einer Phasenverschiebung zwischen den Wellenzügen, die entweder Knochen- oder Weichteilgewebe passieren. Im ungünstigsten Fall könnte dies eine vollständige Auslöschung der Wellenzüge im Fokusbereich zur Folge haben, da bei dieser Überlagerung Wellenberge auf Wellentäler treffen. Auch hier wäre die akustische Leistung im Fokusbereich nicht mehr ausreichend, um den unteren Schwellenwert zur Induktion einer thermischen Läsion zu überschreiten.

Die Versuche zeigen, dass das akustische Fenster außerhalb des knöchernen Brustkorbes bei der fokussierten Ultraschallchirurgie gut zur Ankopplung des therapeutischen Ultraschallkopfes geeignet ist. Befinden sich hingegen Rippenknochen im Gewebe der Vorlaufstrecke, kommt es zu einer erhöhten Dämpfung der Schallwelle und eine Zerstörung der Fokussierung des eingestrahlten Ultraschallfeldes ist möglich, so dass die Induktion definierter Gewebeläsionen in der Niere nicht mehr möglich ist. Die Ergebnisse implizieren, dass eine Behandlung von Nierengewebe, das von Rippenknochen verdeckt wird, nur dann möglich ist, wenn eine hochpräzise Therapieplanung und -überwachung durch bildgebende Verfahren gewährleisten, dass eine Beschallung exakt zwischen den Rippenknochen hindurch erfolgt. Wie Kennedy *et al.* zeigten, können so auch unerwünschte Temperaturerhöhungen am Knochengewebe vermieden werden (Kennedy *et al.*, 2003a), die anderweitig zu einer Schädigung von Osteozyten führen könnten (Smith *et al.*, 2001).

5.5. MRT-Messungen

Da es sich bei der fokussierten Ultraschallchirurgie um ein vollkommen nichtinvasives Therapieverfahren handelt, ist eine direkte visuelle Kontrolle von Behandlungsfortschritt und Behandlungserfolg nicht möglich. Um diese Limitation zu überwinden und die fokussierte Ultraschallchirurgie als sichere und effektive Therapieform zu etablieren, besteht die zwingende Notwendigkeit, ein Verfahren adäquater Bildgebung zu finden.

Versuche, diagnostischen Ultraschall hierfür zu verwenden, beschränken sich in der Regel auf eine Bildgebung vor und nach der Behandlung (Sanghvi *et al.*, 1999), wobei die Thermoläsionen mittels Änderung des Abschwächungsverhaltens (Ribault *et al.*, 1998) bzw. der Festigkeit des Gewebes (Kallel *et al.*, 1999) dargestellt werden können. Die Zuverlässigkeit der Darstellung muss jedoch kritisch beurteilt werden (Rouvière *et al.*, 2004). Die Schwierigkeit bei einer Echtzeit-Bildgebung stellen massive Interferenzen zwischen diagnostischem und therapeutischem Ultraschall dar, da die hohen Intensitäten des HIFU-Wandlers den Empfänger des diagnostischen Ultraschalls vollständig absättigen. Dies wurde auch im vorliegenden System beobachtet. Es gibt jedoch bereits Ansätze, beide Systeme derart zu synchronisieren, dass eine Bildgebung in Zukunft möglich scheint (Vaezy *et al.*, 2001b; Owen *et al.*, 2006). Auch berichten Wu *et al.* von nicht befriedigenden Ergebnissen bei der Darstellung des Blutflusses (Wu *et al.*, 2002). Ebenso ist eine zuverlässige, auf

diagnostischem Ultraschall basierende Temperaturmessung *in vivo* bis heute noch nicht entwickelt (Maass-Moreno *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 2005).

Eine weitere Modalität der Bildgebung stellt die Computertomographie (CT) dar. Diese wurde und wird von verschiedenen Gruppen angewendet und liefert zuverlässige Darstellungen von Läsionsmorphologie und Perfusionsverhältnissen (Yang *et al.*, 1993; Zhao *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2004). Weichteilauflösung und Temperatursensitivität sind jedoch denen der MRT unterlegen (Jenne *et al.*, 1997). Als wichtige Nachteile der CT müssen die ionisierende Strahlung und Kumulationseffekte bei mehrfacher Anwendung genannt werden.

Die Magnetresonanztomographie (MRT) hingegen zeichnet sich durch einen exzellenten Weichteilkontrast aus und erlaubt die Bestimmung von physiologischen Parametern wie Blutfluss und Diffusion. Daher ist die MRT die exakteste Methode der Bildgebung zur Bestimmung der Tumorgröße und der Tumorgrenzen (Huber *et al.*, 2001; Hynynen *et al.*, 2001). Auch können konstant und zuverlässig die anatomischen und physiologischen Auswirkungen von HIFU erfasst werden (Melodelima *et al.*, 2004b). Ein weiterer entscheidender Vorteil der MRT ist die Möglichkeit einer höchst sensitiven Online-Temperaturmessung (Chung *et al.*, 1996; Bohris *et al.*, 1999). Dies ermöglicht zum einen eine exakte multiplanare Therapieplanung, da durch niederenergetische Markerbeschallungen der thermische Fokus im Zielvolumen platziert werden kann. Darüber hinaus sind ein dynamisches Monitoring der Läsionsbildung und eine sofortige Beurteilung des Behandlungserfolges möglich. So kann gegebenenfalls eine Anpassung des Therapieplanes direkt erfolgen (Damianou *et al.*, 2004). Idealerweise kann auch die Bildgebung des follow-ups im MR-Tomographen erfolgen, was eine Beurteilung vereinfacht. Als Nachteile müssen die (noch) hohen Kosten und fehlende Portabilität genannt werden. Auch ist das Verfahren nicht für alle Patienten (z.B. Herzschrittmacher) geeignet (Righetti *et al.*, 1999). Dennoch erscheint die MRT die beste Modalität zur Therapieplanung, -überwachung und Erfolgskontrolle für die FUS zu sein.

Das Ziel dieses Versuchsabschnittes war die bildliche Darstellung der Morphologie von HIFU-Läsionen, die mit dem Single-Element-Transducer (Storz Medical²⁷) erzeugt wurden. Darüber hinaus sollten die Ausmaße der Läsionen makroskopisch und anhand von geeigneten MRT-Bildern verglichen und die Korrelation beider Methoden ermittelt werden.

Darstellung der HIFU-Läsionen im MRT

Die Darstellbarkeit der induzierten Läsionen war in allen angewandten Sequenzen von sehr hoher Qualität. Die Bildgebung war in allen 21 Fällen konstant und verlässlich. In den T1-gewichteten Bildern waren die Läsionen als hypointense Areale erkennbar. In den T2-gewichteten Bildern waren sie als hyperintense Areale erkennbar. Die Erklärung hierfür ist eine Flüssigkeitsanreicherung innerhalb der Läsionen. Die theoretische Erwartung wäre jedoch eine Austrocknung durch die lokale Hitzeeinwirkung, Denaturierung der Zellproteine und intravasale Koagulation (Wu *et al.*, 2003b; Damianou, 2004). Die abweichenden Ergebnisse sind durch die mechanischen Effekte des fokussierten Ultraschalls bei den hohen applizierten Intensitätswerten zu erklären, die eine mechanische Desintegration von Gewebe und Gefäßen bewirken (Jenne, 2001). Weiterhin waren in manchen Fällen flüssigkeitsgefüllte Gewebekavitäten vorhanden, die zur Hypointensität der behandelten Areale beitrugen (Damianou *et al.*, 2004). Dies wird auch auf den Bildern der 3D-Perfusionsmessung deutlich. Durch den räumlichen und zeitlichen Verlauf der Kontrastmittelanflutung konnte gezeigt werden, dass die Läsionen die Orte der maximalen Kontrastmittelkonzentration darstellten. Anhand der Bilder der VIBE-Volumetriemessung konnten die Ausmaße der Läsionen exakt und verlässlich bestimmt werden. Die hohe isotrope Auflösung von 0,9 mm ermöglichte eine detaillierte Abgrenzung zwischen abladiertem und unbehandeltem Gewebe in allen drei Dimensionen. In drei Fällen war der Kontrast gering, da Mikrothromben in den Gefäßen eine Kontrastmittelanflutung über dem Schwellenwert für eine gute Signalverstärkung verhinderten.

Korrelation zwischen thermischer Ablationszone und Intensitätscharakteristika des MRT Signals

Im klinischen Einsatz ist es notwendig, zunächst den zu behandelnden Tumor möglichst akkurat zu lokalisieren und dann bildlich darzustellen. Anhand dieser Bilder wird ein Therapieplan, d.h. ein Raster des Tumors und eines Sicherheitssaumes im umgebenden gesunden Gewebe, erstellt. Entlang dieses Rasters werden bei der eigentlichen Therapie einzelne HIFU-Läsionen so nebeneinander angeordnet, dass sie konfluieren und das Zielvolumen lückenlos abdecken (Huber *et al.*, 2001). Daher war es wichtig zu überprüfen, wie verlässlich die anhand der MRT-Bilder ermittelten Läsionsausdehnungen mit der tatsächlichen makroskopischen Situation korrelierten. Es konnte eine gute Übereinstimmung

im Rahmen der Fehlergrenzen festgestellt werden. Bei der statistischen Analyse konnte zwar ein signifikanter Unterschied für Läsionslänge und -tiefe ermittelt werden, allerdings ist die absolute Differenz mit 1,7 bzw. 1,1 mm so gering, dass sie in der Praxis keine Rolle spielen würde, insbesondere da der Sicherheitssaum um den Tumor im gesunden Gewebe mindestens 5 mm stark sein sollte. Eine Erklärung für die Abweichung der Werte ist ein systematischer Fehler in der Vermessung. Die gemessenen Werte waren sowohl bei der makroskopischen Messung, als auch bei der Auswertung der MRT-Bilder stark von Winkel und Höhe der Schnittführung bzw. Schnittebenen abhängig. Eine vollkommene Übereinstimmung konnte aber nicht in jedem Fall gewährleistet werden. Trotz dreifacher Auswertung und Mittelung entstand so ein geringer rechnerischer Fehler. Diese dennoch gute Korrelation wurde auch von anderen Gruppen berichtet (Chen *et al.*, 1999a; Gianfelice *et al.*, 2003). Aus diesen Gründen scheint die Magnetresonanztomographie bei akkurater Wahl der Messsequenzen eine sehr genaue Methode zu sein, um die Gewebeablation direkt im Anschluss an die Therapie zu evaluieren.

Wahl der Sequenzen

Die T1-gewichteten SE und T2-gewichteten TSE-Sequenzen waren geeignet, die Morphologie und Lokalisation der Läsionen nach der Beschallung mit HIFU darzustellen. Durch eine geeignete Wahl von TR (repetition time) und Flipwinkel waren Kontrast und Signal/Rauschen (S/N) exzellent. Für eine genaue Vermessung der Läsionsgrößen war die VIBE-Volumetriemessung durch ein isotropes räumliches Auflösungsvermögen von 0,9 mm den T1- und T2-gewichteten Sequenzen überlegen. Eine Einschränkung der Sequenz ist ihre lange Messdauer von mehreren Minuten. Sie kann daher im Einsatz am Patienten nicht innerhalb einer Atempause erfolgen. Ziel zukünftiger Entwicklungen muss sein, die Messdauer auf einen Atemzyklus zu begrenzen. Die Sequenz der Perfusionsmessung ermöglichte eine detaillierte bildliche Darstellung der Kontrastmittelanflutung im räumlichen und zeitlichen Verlauf mit einer Genauigkeit von ≤ 3 mm bzw. 1,6 s und eignet sich sehr gut, um Veränderungen der Perfusionsverhältnisse nach der FUS darzustellen. Experimente von Wu *et al.* kommen zu einem ähnlichen Schluss (Wu *et al.*, 2002).

Limitationen des Versuchsabschnittes

Eine Hauptschwierigkeit und Fehlerquelle in der klinischen Anwendung der FUS stellt die Patienten- bzw. Organbewegung, vor allem durch die Atmung, bei der Erstellung hochauflösender MRT-Bilder dar. Dies wurde im vorliegenden Versuchsaufbau nicht berücksichtigt. Auch wurde die Morphologie der Läsionen nur direkt im Anschluss an die Behandlung mit HIFU erfasst. Die Reaktion des Gesamtorganismus und die zeitliche Entwicklung des abladierten Gewebes müssen in klinischen Studien überprüft werden. Da auf jegliche magnetische Materialien im Versuchsaufbau verzichtet werden muss, sind die technischen Anforderungen an ein MRT-kompatibles HIFU-Behandlungsgerät folglich sehr hoch, weshalb zum jetzigen Zeitpunkt nur ein einziges kommerzielles Behandlungsgerät (ExAblate 2000, InSightec, Israel) verfügbar ist. Auch das hier verwendete experimentelle Gerät erfüllt diese Voraussetzungen nicht, weshalb auf eine Online-Temperaturmessung während der Behandlung verzichtet werden musste.

5.6. Mikroangiographie

Bei der In-vivo-Behandlung von Lebergewebe mit HIFU beobachtete Rivens sekundäre Schädigungen und Zelluntergang von nicht direkt behandelten Gewebearealen (Rivens, 1992). Dieses Phänomen wurde von Chen et al. bestätigt und durch eine Zerstörung nutritiver Blutgefäße und in der Folge Untergang des Gewebes im Versorgungsgebiet erklärt (Chen *et al.*, 1993a; Chen *et al.*, 1999b). Zahlreiche Studien (Vaezy *et al.*, 2001a; Deng *et al.*, 2004; Zderic *et al.*, 2006) stützen diese Hypothese, da sie zeigen konnten, dass HIFU sehr gut dazu geeignet ist, Blutungen durch Verödung der Gefäße auch in tieferen Gewebeschichten zu stillen. Ziel dieses Versuchsabschnittes war es daher, die unmittelbaren Effekte der Behandlung mit HIFU auf die renalen Blutgefäße der behandelten Areale und ihrer direkten Umgebung zu untersuchen und mikroangiographisch darzustellen. Die Ergebnisse zeigen, dass keine Kontrastanreicherung und folglich keine Gefäßdarstellung innerhalb der Thermoläsionen möglich war. In der Konsequenz bedeutet dies eine Unterbrechung der Perfusion und ergo der nutritiven Versorgung der entsprechenden Areale. Im lebenden Organismus wäre ein Zelluntergang in diesen Bereichen die wahrscheinliche Folge. Bei etwa einem Drittel der untersuchten Läsionsareale war zudem eine verminderte Kontrastmittelanreicherung distal der eigentlichen Thermoläsionen zu beobachten. Dies ist durch das

Enderteriensystem des renalen Parenchyms zu erklären und könnte in der Folge zu den von Chen et al. (Chen *et al.*, 1999b) beschriebenen indirekten Effekten auch distal der eigentlichen Thermoläsionen führen. Endgültigen Aufschluss darüber können jedoch nur Langzeitstudien geben, da in vivo mehrere Wochen bis Monate zur Heranbildung des Gewebeuntergangs nötig sind. Allerdings bieten sich hierdurch gerade im renalen Parenchym zusätzliche Möglichkeiten der variablen Therapieplanung an, da entsprechend der anatomischen Situation eine Bypassbildung ausgeschlossen werden kann.

5.7. Ultraschallphantom

Bei allen vorangegangenen Versuchsreihen wurden Thermoläsionen im Gewebe der isolierten perfundierten Schweineniere induziert. Neben allen Vorteilen, die dieses Modell bietet (s. Abschn. 5.1.), liegt eine seiner Einschränkungen in der Darstellbarkeit der Entwicklung der Läsion während der Beschallung. Dies ist nur indirekt über bildgebende Methoden wie der Magnetresonanztomographie (vgl. Abschn. 5.5.) möglich. Auch die Visualisierbarkeit der Thermoläsionen selbst ist in sofern eingeschränkt, als dass zwar Querschnitte in allen drei Dimensionen möglich sind, aber die Läsion nicht als Volumenkörper an sich darstellbar ist und die Querschnitte nur eine repräsentative Ebene darstellen. Ein neuartiges Gelphantom für die Untersuchung thermoablativer Verfahren (Wilzbach Divković, 2005) scheint hingegen die Möglichkeit zu bieten, die Wirkung des eingestrahnten Schallfeldes zu visualisieren und die induzierten Koagulationszonen in allen drei Dimensionen exakt zu vermessen. Dieses Phantom weist ähnliche thermische und akustische Eigenschaften auf wie Körpergewebe. Seine transparente Grundfarbe ändert sich ab einer Temperatur von 67°C durch Koagulationsprozesse irreversibel in deutlich abzugrenzende weiße Pseudoläsionen (der Einfachheit halber werden diese im Folgenden als Läsionen bezeichnet, obwohl dieser Begriff Körpergewebe vorbehalten ist). Im Gegensatz zu anderen bekannten Gelphantomen (Davidson & Sherar, 2003; Prokop *et al.*, 2003) enthält das hier verwendete Phantom, neben einer Polyacrylamidmatrix, Hühnereiweiß. Dies hat den Vorteil, dass es sich um ein sehr proteinreiches Medium handelt, in dem hitzeinduzierte Koagulationszonen gut sichtbare und irreversible Änderungen darstellen und das zudem noch sehr kostengünstig ist. Weiterhin ist dieses Ultraschallphantom ein vollständig homogenes Medium, das Grundlagenforschung ohne den Unsicherheitsfaktor, den Gewebeinhomogenitäten darstellen, ermöglicht. Andererseits ist gerade diese Eigenschaft auch zugleich eine Einschränkung des Phantoms, da Ergebnisse vor ersten klinischen Untersuchungen an Organmodellen überprüft werden

müssen, denn gerade die Veränderungen von Feldverteilung und Fokusverschiebung durch Gewebeinhomogenitäten, deren Folge unerwünschte Gewebeerhitzung bzw. ungenügend hohe Temperaturanstiege im geplanten Fokusbereich sind, stellen mit die Hauptschwierigkeiten beim klinischen Einsatz der fokussierten Ultraschalltherapie dar (Damianou, 2004). Auch sollte beachtet werden, dass Polyacrylamid im vollständig auspolymerisierten Zustand zwar ungiftig ist, eine gewisse Menge freier Polymere und daher eine gewisse Resttoxizität jedoch nicht ausgeschlossen werden kann. Insgesamt betrachtet, scheint mit dem neuartigen Ultraschallphantom ein standardisiertes Hilfsmittel geschaffen worden zu sein, das es ermöglicht, thermoablative Verfahren in Grundlagenversuchen zu untersuchen.

Ziel der vorliegenden Untersuchungsreihe war es daher, die Entstehung der Koagulationszonen, die Thermoläsionen im Gewebe entsprechen, bei Beschallung mit hochenergetischem fokussierten Ultraschall und die Geometrie dieser Koagulationszonen aus verschiedenen Blickwinkeln sichtbar zu machen. In einem ersten Schritt wurden Läsionen mit unterschiedlichen Leistungsstufen und Beschallungszeiten in größerem Abstand zueinander induziert, um Entwicklung, Größe und Form unabhängig voneinander beurteilen zu können. Dabei zeigte sich, dass erst ab einer elektrischen Leistung von 200 W eine sichtbare Koagulation eintrat und damit der untere Schwellenwert und die entscheidende Temperatur von 67°C überschritten wurden. In der Regel war es möglich, eine längsovale, regelmäßige Läsion zu induzieren, deren Entwicklung gleichmäßig und deren Größe bei gleichen Einstellungen reproduzierbar waren. Vereinzelt fanden sich jedoch Abweichungen von Form, Größe und Lokalisation. Diese Beobachtungen decken sich mit den Abweichungen in Form und Größe der Thermoläsionen, die bei der Beschallung des Nierengewebes gelegentlich auftraten (vgl. Abschn. 4.2.). Eine Erklärung könnten Inhomogenitäten bzw. kleine Luftbläschen sein, die möglicherweise im Gelphantom vorhanden waren. Diese Annahme konnte zumindest augenscheinlich nicht bestätigt werden. Eine andere Möglichkeit wären Schwankungen in der abgestrahlten Leistung des verwendeten Generators oder Störungen in der gleichförmigen Abstrahlung der Ultraschallstrahlen. Besonders deutlich wurden diese Abweichungen im zweiten Untersuchungsschritt. Hier sollten, analog zu den Untersuchungen in Abschnitt 4.2.2., konfluierende, komplexe Koagulationszonen aus mehreren Einzelbeschallungen kombiniert werden, um zu untersuchen, ob in diesem homogenen Medium ebenfalls negative Interaktionen zwischen den Einzelläsionen auftreten, oder ob diese nur bei der Beschallung von biologischem Gewebe entstehen. Es gelang, wie zuvor im

Nierengewebe, nur vereinzelt konfluierende Koagulationszonen zu induzieren. In der Regel war es zwar möglich, eine geringe Anzahl von Läsionen nebeneinander zu positionieren, so dass diese sich berührten, jedoch traten in der Folge Interaktionen in Form von Veränderungen der Form und Größe sowie einer Verschiebung der Lokalisation weg vom Zielfokusbereich und hin zur Ultraschallquelle auf. Diese Beobachtungen entsprechen denen von Watkin et al. (Watkin *et al.*, 1996b) und Chen et al. (Chen *et al.*, 1997). Der Einfluss verbliebener Restwärme wurde durch Beschallungsintervalle von 180 s ausgeschlossen. Bei dem Versuch, 2 Läsionen überlappend nebeneinander anzuordnen, traten diese Interaktionen besonders deutlich bereits bei der zweiten Beschallung auf. Dies könnte durch die hohen Intensitätswerte und in der Folge auftretende Kavitationen verursacht worden sein.

Abschließend lässt sich feststellen, dass es bereits in dem vollkommen homogenen Medium des Ultraschallphantoms unmöglich war, verlässlich homogene Komplexläsionen zu induzieren. Daher scheint es zum jetzigen Zeitpunkt sehr unwahrscheinlich, die negativen Interaktionen und/oder Behandlungslücken im Modell der isolierten perfundierten Schweineniere bzw. unter den zusätzlich erschwerten Bedingungen *in vivo* ausschließen zu können.

5.8. Limitationen und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten die gestellten grundlegenden Fragestellungen beantworten. Dennoch müssen einige Schlüsselprobleme gelöst werden, bevor ein klinischer Einsatz in Erwägung gezogen werden kann. So existieren derzeit Limitationen bezüglich der Visualisierung und Beurteilung des Therapieeffektes während und nach der Gewebeablation. Um eine sichere und effektive Applikation gewährleisten zu können, bedarf es darüber hinaus einer Lösung der Problematik von Atem- und Organbewegung. Des Weiteren ist eine Erweiterung der bestehenden Indikationen von Interesse. Die Lösung dieser Probleme wird die Kooperation verschiedenster Forschungsdisziplinen erfordern, da technische Weiterentwicklungen in Grundlagenforschung und medizinischer Anwendung bestehen müssen. Ein erster Schritt sollte daher sein, eine optimale Strategie bezüglich der Bildgebung für Therapieplanung und -überwachung sowie einer effektiven Kontrolle des Behandlungserfolges zu etablieren. Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist zum jetzigen Zeitpunkt die geeignetste Modalität für eine exakte Definition des Zielvolumens und eine

Echtzeit-Darstellung des Temperaturfokus einschließlich einer Messung der erreichten Temperatur. Dennoch ist durch die hohen Kosten ein flächendeckender Einsatz (noch) nicht umsetzbar, zumal technische Anpassungen des HIFU-Behandlungsgerätes bezüglich der MRT-Kompatibilität unerlässlich sind. Weiterhin ist es unumgänglich, einen zentralen Kontrollrechner zu entwickeln, über den sowohl eine elektronisch gesteuerte Verstellmimik als auch eine Software für die Therapieplanung und die Auswertung der Temperaturdaten synchron verwendet werden können. Dies würde darüber hinaus eine automatische Nachjustierung von Ultraschalldosis und Fokuslokalisierung zum Ausgleich von Gewebehomogenitäten, Gewebegrenzschichten, sowie Patienten- und/oder Atembewegung ermöglichen. Durch Weiterentwicklungen im Bereich der Ultraschalltechnologie könnten bestehende Einschränkungen bezüglich der Anwendungsmöglichkeiten des HIFU vermindert bzw. überwunden werden, und auch Organe, die von Knochen überlagert sind, für die HIFU-Therapie erreichbar werden (vgl. Abschn. 2.5.2.). In Anlehnung an etablierte onkologische Therapiekombinationen (z.B. Chirurgie und Chemotherapie) könnten auch hier zusätzliche Behandlungsformen, wie z.B. die Chemoembolisation, die Therapiedauer senken und den Behandlungserfolg optimieren (Goldberg *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2005). Der erfolgreiche klinische Einsatz in China zeigt das immense Potential auf, das die FUS birgt. Daher dürfen zukünftige Forschungsergebnisse und breit angelegte klinische Studien mit Spannung erwartet werden.

Auch für die veterinärmedizinische Onkologie und Chirurgie dürfte die HIFU-Behandlung zunehmend an Interesse gewinnen. Von besonderem Vorteil ist hierbei die Möglichkeit am lediglich sedierten Patienten verschiedenste Neoplasien und andere Erkrankungen vollkommen nichtinvasiv zu therapieren. Durch ein äußerst vorteilhaftes Nebenwirkungsprofil ist neben einem kurativen, durchaus auch ein palliativer Ansatz im Sinne einer Tumorreduktion denkbar, insbesondere weil die Behandlung bei Bedarf jederzeit wiederholt werden kann. Da mit Hilfe der akustischen Energie des HIFU thermische Effekte in der Tiefe des Körpers ohne die Zerstörung darüber befindlicher Gewebeschichten erzielt werden können, sind zudem Anwendungsgebiete wie die selektive Reduktion multifetaler Trächtigkeiten denkbar (Paek *et al.*, 2005) und möglicherweise von Interesse für die equine Reproduktionsmedizin.

6. Zusammenfassung

Die Anwendung von hochenergetischem fokussiertem Ultraschall (HIFU) wird in der Onkologie zunehmend als vollkommen nichtinvasive Therapiealternative zur konventionellen Chirurgie wahrgenommen. Trotz technischer Fortschritte hat die fokussierte Ultraschallchirurgie (FUS) noch immer experimentellen Charakter. Ziel dieser Arbeit war es daher, grundlegende Fragen bezüglich des HIFU am Modell der isolierten perfundierten Schweineniere zu beantworten.

Die Güte des Nierenmodells wurde mittels Mikroangiographie, Histologie, Doppler-Ultraschall und Magnetresonanztomographie überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass Perfusion, Morphologie und Zellvitalität der Nieren exzellent waren und das Modell zudem eine einfache und im Vergleich zum Tierversuch kostengünstige Methode darstellt, um standardisierte und valide Ergebnisse zu erzielen. Weiterhin wurden die Einflussfaktoren auf HIFU-Läsionen an zwei bauartlich verschiedenen Schallwandlern untersucht. Dabei wurden zum einen die Beschallungsparameter variiert und eine deutliche Abhängigkeit der Läsionsgröße von Ultraschalleistung und Pulsdauer gezeigt. Ebenso wurden organspezifische Variablen wie Perfusion, Organtemperatur und Spannung des Gewebes untersucht, jedoch nur bei der Organtemperatur ein starker und bei der Perfusion ein moderater Einfluss auf die Läsionsbildung gefunden. Die Erstellung eines Behandlungsschemas zur Ablation klinisch relevanter Gewebsvolumina erwies sich als sehr komplex, da selbst minimale Abweichungen von den voreingestellten Behandlungsparametern zu unbefriedigenden und z.T. unvorhersehbaren Ablationsergebnissen führten. Dennoch zeigte sich, dass es prinzipiell möglich ist, Einzelläsionen präzise nebeneinander zu platzieren und homogene Ablationsareale zu induzieren. Die Anwendung der histologischen NADH- (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) Färbung ermöglichte eine verlässliche Absicherung des Ablationserfolges im Sinne einer vollständigen Zelldevitalisierung. Bei Absorptionsversuchen an Gewebeproben von Brust- und Bauchseitenwand wurden zum einen der Wirkungsgrad und zum anderen der Einfluss der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung untersucht. Dabei zeigte sich, dass ein Großteil der applizierten Ultraschallenergie absorbiert bzw. gestreut wurde und es nicht möglich war, Thermoläsionen im Nierenmodell zu erzeugen, wenn Knochengewebe durchschallt werden musste. Dies bestätigte die bestehenden Einschränkungen bezüglich der Anwendungsmöglichkeiten des HIFU im klinischen Einsatz. Bei den MRT-(Magnetresonanztomographie) Versuchen konnte gezeigt werden, dass die induzierten HIFU-Läsionen sowohl

morphologisch als auch über den zeitlichen Verlauf der Kontrastmittel-Anflutung gut darstellbar waren. Weiterhin bestand eine befriedigende Korrelation zwischen den makroskopisch und den anhand der MRT-Bilder ermittelten Läsionsgrößen. Daher scheint die MRT zur Therapiekontrolle geeignet zu sein. Die mikroangiographischen Aufnahmen von HIFU-behandelten Nieren zeigten im Bereich der Thermoläsionen eine Zerstörung des Gefäßsystems mit Perfusionsstopp im abladierten Areal. Eine Versuchsreihe an einem transparenten, gewebeähnlichen Ultraschallphantom ermöglichte eine dreidimensionale Visualisierung der Läsionsbildung und der Interaktion von Einzelläsionen.

Zusammenfassend geht aus den Ergebnissen hervor, dass mit hochenergetischem fokussiertem Ultraschall scharf begrenzte homogene Läsionen im Nierengewebe mit irreversibler Zelldevitalisierung erzeugt werden können und eine Steuerung der Läsionsgröße sowie die Ablation klinisch relevanter Gewebsvolumina möglich sind. Aus den Ergebnissen geht auch hervor, dass die Limitationen der Technologie in einer adäquaten Online-Bildgebung während der Behandlung in einer eingeschränkten Reproduzierbarkeit der Ablationsergebnisse und in der Einschränkung des Anwendungsmöglichkeiten des HIFU bei Vorhandensein von Knochengewebe in der Vorlaufstrecke zu finden sind. Vor einer Implementierung des Verfahrens im Rahmen von klinischen Studien sind zur Behebung dieser bestehenden Limitationen technische Weiterentwicklungen erforderlich, die sich auf eine Optimierung von Therapieplanung, -durchführung und -überwachung konzentrieren müssen.

7. Summary

In oncology, the use of high-intensity focused ultrasound (HIFU) is becoming increasingly appreciated as a completely non-invasive therapy that presents a valid alternative to conventional surgery. Despite improvements to the technology, focused ultrasound surgery (FUS) is still in the experimental stages. The aim of this thesis was to use the isolated perfused porcine kidney model to elicit answers to fundamental questions about HIFU.

The quality of the kidney model was verified by subjecting it to microangiography, histology, Doppler ultrasound and magnetic resonance imaging. The results showed that perfusion, morphology and cell activity of the kidneys were excellent and that the model provides a simple and – compared to animal testing – cheap means of obtaining standardized and valid findings. Furthermore, the factors influencing the induction of HIFU lesions were investigated using two different types of ultrasound transducers. Varying the sound parameters showed that the size of the lesions clearly depends on ultrasound power and pulse duration. Organ-specific variables such as perfusion, organ temperature and tissue tension were also examined, but the only factor shown to have an extensive impact on lesion development was organ temperature, while the effect of perfusion was moderate. Generating a treatment pattern that enables the ablation of clinically relevant tissue volumes proved to be very complex, and even minimal aberrations from the preset treatment parameters led to dissatisfactory and sometimes unpredictable ablation results. Nevertheless, it was in principle possible to position single lesions precisely side by side and induce homogeneous ablation areas. The use of histological NADH (nicotinamid adenine dinucleotid) staining showed that the cells within the ablated area were completely devitalised and, therefore, provided reliable evidence of successful ablation. Absorption trials on tissue samples of the chest and abdominal wall determined both the degree of efficiency and the influence of overlying tissue on lesion development. Results showed that the bulk of the applied ultrasound energy was absorbed or scattered. It proved impossible to induce thermolesions within the kidney model when bone tissue had to be penetrated. This confirmed the existing limitations as regards the range of clinical applications possible with HIFU. MRI (magnet resonance imaging) experiments verified that the HIFU lesions could be displayed morphologically and that they were also clearly visible during the entire period of contrast agent flooding. Furthermore, both the macroscopic and the MRI dimensions showed a satisfactory correlation. This suggests that MRI is a useful means of monitoring such therapy. The microangiographic images of HIFU-treated kidneys

displayed areas of blood vessel destruction, with perfusion ceasing in the area of the thermolesions. A series of experiments using a transparent, tissue-like ultrasound phantom enabled three-dimensional visualisation of the lesion development and the interaction of single lesions.

To recapitulate, the findings show that using high-intensity focused ultrasound in kidney tissue can induce precisely circumscribed homogeneous lesions with irreversible cell devitalisation. It proved possible to control lesion size and also ablate clinically relevant tissue volumes. The findings also show that the technology is limited with regard to adequate online visualisation during treatment, the reproducibility of ablation results and the use of HIFU in the presence of bone tissue within the beam path. Before this method can be implemented in clinical trials, its current limitations must be overcome and further technological advances are indispensable here. Improvement must concentrate above all on therapy planning, therapy performance and therapy monitoring.

8. Literaturverzeichnis

- ADAMS, J. B., MOORE, R. G., ANDERSON, J. H., STRANDBERG, J. D., MARSHALL, F. F. & DAVOUSSI, L. R. (1996). High-intensity focused ultrasound ablation of rabbit kidney tumors. *J Endourol* **10**, 71-75.
- AREFIEV, A., PRAT, F., CHAPELON, J. Y., TAVAKKOLI, J. & CATHIGNOL, D. (1998). Ultrasound-induced tissue ablation: studies on isolated, perfused porcine liver. *Ultrasound Med Biol* **24**, 1033-1043.
- ASTRÖM, K. E., BELLE, BALLANTINE, H. T., JR. & HEIDENSLEBEN, E. (1961). An experimental neuropathological study of the effects of high-frequency focused ultrasound on the brain of the cat. *J Neuropathol Exp Neurol* **20**, 484-520.
- BARKMAN, C. A., ALMQUIST, L. O., KIRKHORN, T. & HOLMER, N. G. (1999). Thermotherapy: feasibility study using a single focussed ultrasound transducer. *Int J Hyperthermia* **15**, 63-76.
- BASAURI, L. & LELE, P. P. (1962). A simple method for production of trackless focal lesions with focused ultrasound: statistical evaluation of the effects of irradiation on the central nervous system of the cat. *J Physiol* **169**, 513-534.
- BELL, R., SHIEL, A. G., DOLAN, P., MEARS, D. C. & WOODMAN, K. (1993). The evaluation of the isolated perfused liver as a model for the assessment of liver preservation. *Aust N Z J Surg* **63**, 44-52.
- BIHRLE, R., FOSTER, R. S., SANGHVI, N. T., FRY, F. J. & DONOHUE, J. P. (1994). High-intensity focused ultrasound in the treatment of prostatic tissue. *Urology* **43**, 21-26.
- BILLARD, B. E., HYNYNEN, K. & ROEMER, R. B. (1990). Effects of physical parameters on high temperature ultrasound hyperthermia. *Ultrasound Med Biol* **16**, 409-420.
- BLANA, A., WALTER, B., ROGENHOFER, S. & WIELAND, W. F. (2004). High-intensity focused ultrasound for the treatment of localized prostate cancer: 5-year experience. *Urology* **63**, 297-300.
- BOHRIS, C., SCHREIBER, W. G., JENNE, J., SIMANTONAKIS, I., RASTERT, R., ZABEL, H. J., HUBER, P., BADER, R. & BRIX, G. (1999). Quantitative MR temperature monitoring of high-intensity focused ultrasound therapy. *Magn Reson Imaging* **17**, 603-610.
- BRUJAN, E. A. (2004). The role of cavitation microjets in the therapeutic applications of ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **30**, 381-387.
- CARSTENSEN, E. L., KELLY, P., CHURCH, C. C., BRAYMAN, A. A., CHILD, S. Z., RAEMAN, C. H. & SCHERY, L. (1993). Lysis of erythrocytes by exposure to CW ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **19**, 147-165.

- CHAN, A. H., FUJIMOTO, V. Y., MOORE, D. E., MARTIN, R. W. & VAEZY, S. (2002). An image-guided high intensity focused ultrasound device for uterine fibroids treatment. *Med Phys* **29**, 2611-2620.
- CHAPELON, J. Y., CATHIGNOL, D., CAIN, C., EBBINI, E., KLUIWSTRA, J. U., SAPOZHNIKOV, O. A., FLEURY, G., BERRIET, R., CHUPIN, L. & GUEY, J. L. (2000). New piezoelectric transducers for therapeutic ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **26**, 153-159.
- CHAPELON, J. Y., MARGONARI, J., THEILLERE, Y., GORRY, F., VERNIER, F., BLANC, E. & GELET, A. (1992a). Effects of high-energy focused ultrasound on kidney tissue in the rat and the dog. *Eur Urol* **22**, 147-152.
- CHAPELON, J. Y., MARGONARI, J., VERNIER, F., GORRY, F., ECOCHARD, R. & GELET, A. (1992b). In vivo effects of high-intensity ultrasound on prostatic adenocarcinoma Dunning R3327. *Cancer Res* **52**, 6353-6357.
- CHAUHAN, S. (2001). Field modelling for Multiple Focused Ultrasound Transducers. In *8th IEEE International Conference on Mechatronics and Machine Vision in Practise*, Hong Kong.
- CHAUHAN, S., LOWE, M. J. & DAVIES, B. L. (2001). A multiple focused probe approach for high intensity focused ultrasound based surgery. *Ultrasonics* **39**, 33-44.
- CHAUSSY, C. & THUROFF, S. (2001). Results and side effects of high-intensity focused ultrasound in localized prostate cancer. *J Endourol* **15**, 437-440; discussion 447-438.
- CHAUSSY, C., THUROFF, S., LACOSTE, F. & GELET, A. (2002). HIFU and prostate cancer: The European experience. In *2nd International Symposium on Therapeutic Ultrasound*, Seattle, USA.
- CHEN, L. (1993). Study of high-intensity focused ultrasound in the treatment of hepatic metastases. In *Institute of Cancer Research*. University of London, Sutton, U.K.
- CHEN, L., BOULEY, D., YUH, E., D'ARCEUIL, H. & BUTTS, K. (1999a). Study of focused ultrasound tissue damage using MRI and histology. *J Magn Reson Imaging* **10**, 146-153.
- CHEN, L., RIVENS, I., TER HAAR, G., RIDDLE, S., HILL, C. R. & BENSTED, J. P. (1993a). Histological changes in rat liver tumours treated with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **19**, 67-74.
- CHEN, L., TER HAAR, G. & HILL, C. R. (1997). Influence of ablated tissue on the formation of high-intensity focused ultrasound lesions. *Ultrasound Med Biol* **23**, 921-931.
- CHEN, L., TER HAAR, G., HILL, C. R., DWORKIN, M., CARNOCHAN, P., YOUNG, H. & BENSTED, J. P. (1993b). Effect of blood perfusion on the ablation of liver parenchyma with high-intensity focused ultrasound. *Phys Med Biol* **38**, 1661-1673.
- CHEN, L., TER HAAR, G., HILL, C. R., ECCLES, S. A. & BOX, G. (1998). Treatment of implanted liver tumors with focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **24**, 1475-1488.

- CHEN, L., TER HAAR, G., ROBERTSON, D., BENSTED, J. P. & HILL, C. R. (1999b). Histological study of normal and tumor-bearing liver treated with focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **25**, 847-856.
- CHIVERS, R. C. & PARRY, R. J. (1978). Ultrasonic velocity and attenuation in mammalian tissues. *J Acoust Soc Am* **63**, 940-953.
- CHUNG, A. H., HYNYNEN, K., COLUCCI, V., OSHIO, K., CLINE, H. E. & JOLESZ, F. A. (1996). Optimization of spoiled gradient-echo phase imaging for in vivo localization of a focused ultrasound beam. *Magn Reson Med* **36**, 745-752.
- CITTADINI, G. & MARTINOLI, C. (1995). [Ultrasound and the bone: a difficult relationship]. *Radiol Med (Torino)* **89**, 12-17.
- CLARKE, R. L. & TER HAAR, G. R. (1997). Temperature rise recorded during lesion formation by high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **23**, 299-306.
- CURIEL, L., CHAVRIER, F., GIGNOUX, B., PICHARDO, S., CHESNAIS, S. & CHAPELON, J. Y. (2004). Experimental evaluation of lesion prediction modelling in the presence of cavitation bubbles: intended for high-intensity focused ultrasound prostate treatment. *Med Biol Eng Comput* **42**, 44-54.
- CURIEL, L., CHAVRIER, F., SOUCHON, R., BIRER, A. & CHAPELON, J. Y. (2002). 1.5-D high intensity focused ultrasound array for non-invasive prostate cancer surgery. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **49**, 231-242.
- DAHME, E. & WEISS, E. (1999). *Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*, vol. 5. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- DAMIANOU, C. (2003). In vitro and in vivo ablation of porcine renal tissues using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **29**, 1321-1330.
- DAMIANOU, C. (2004). MRI monitoring of the effect of tissue interfaces in the penetration of high intensity focused ultrasound in kidney in vivo. *Ultrasound Med Biol* **30**, 1209-1215.
- DAMIANOU, C. & HYNYNEN, K. (1994). The effect of various physical parameters on the size and shape of necrosed tissue volume during ultrasound surgery. *J Acoust Soc Am* **95**, 1641-1649.
- DAMIANOU, C., PAVLOU, M., VELEV, O., KYRIAKOU, K. & TRIMIKLINIOTIS, M. (2004). High intensity focused ultrasound ablation of kidney guided by MRI. *Ultrasound Med Biol* **30**, 397-404.
- DAVIDSON, S. R. & SHERAR, M. D. (2003). Measurement of the thermal conductivity of polyacrylamide tissue-equivalent material. *Int J Hyperthermia* **19**, 551-562.
- DAVIES, S. C., HILL, A. L., HOLMES, R. B., HALLIWELL, M. & JACKSON, P. C. (1994). Ultrasound quantitation of respiratory organ motion in the upper abdomen. *Br J Radiol* **67**, 1096-1102.

- DE JODE, M. G., VALE, J. A. & GEDROYC, W. M. (1999). MR-guided laser thermoablation of inoperable renal tumors in an open-configuration interventional MR scanner: preliminary clinical experience in three cases. *J Magn Reson Imaging* **10**, 545-549.
- DEBUS, J., SPOO, J., JENNE, J., HUBER, P. & PESCHKE, P. (1999). Sonochemically induced radicals generated by pulsed high-energy ultrasound in vitro and in vivo. *Ultrasound Med Biol* **25**, 301-306.
- DEN BROK, M. H., SUTMULLER, R. P., VAN DER VOORT, R., BENNINK, E. J., FIGDOR, C. G., RUERS, T. J. & ADEMA, G. J. (2004). In situ tumor ablation creates an antigen source for the generation of antitumor immunity. *Cancer Res* **64**, 4024-4029.
- DENBOW, M. L., RIVENS, I. H., ROWLAND, I. J., LEACH, M. O., FISK, N. M. & TER HAAR, G. R. (2000). Preclinical development of noninvasive vascular occlusion with focused ultrasonic surgery for fetal therapy. *Am J Obstet Gynecol* **182**, 387-392.
- DENG, C. X., DOGRA, V., EXNER, A. A., WANG, H., BHATT, S., ZHOU, Y., STOWE, N. T. & HAAGA, J. R. (2004). A feasibility study of high intensity focused ultrasound for liver biopsy hemostasis. *Ultrasound Med Biol* **30**, 1531-1537.
- DITTRICH, S., GRONEBERG, D. A., VON LOEPER, J., LIPPEK, F., HEGEMANN, O., GROSSE-SIESTRUP, C. & LANGE, P. E. (2004). Influence of cold storage on renal ischemia reperfusion injury after non-heart-beating donor explantation. *Nephron Exp Nephrol* **96**, e97-102.
- DUCK, F. A. (1990). *Physical properties of tissue. A comprehensive reference book*. Academic Press, London.
- ESNAULT, O., FRANC, B., MONTEIL, J. P. & CHAPELON, J. Y. (2004). High-intensity focused ultrasound for localized thyroid-tissue ablation: preliminary experimental animal study. *Thyroid* **14**, 1072-1076.
- ESVONC. (2006). European Society of Veterinary Oncology. In *Pet-owner Information*, Homepage.
- FAN, X. & HYNYNEN, K. (1995). Control of the necrosed tissue volume during noninvasive ultrasound surgery using a 16-element phased array. *Med Phys* **22**, 297-306.
- FERGANY, A. F., HAFEZ, K. S. & NOVICK, A. C. (2000). Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. *J Urol* **163**, 442-445.
- FISCHER, F. S. Gebrauchsanweisung für Leica TP 1020, Bensheim.
- FLORIAN, J. (1996). Funktionelle und morphologische Läsionen durch Stoßwellenapplikation am ex-vivo Modell der isolierten, perfundierten Schweineniere. In *Urologische Klinik der Fakultät für Klinische Medizin Mannheim*, pp. 94. Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Mannheim.
- FOSTER, R. S., BIHRLE, R., SANGHVI, N. T., FRY, F. J. & DONOHUE, J. P. (1993). High-intensity focused ultrasound in the treatment of prostatic disease. *Eur Urol* **23 Suppl** **1**, 29-33.

- FRY, F. J. (1993). Intense focused ultrasound in medicine. Some practical guiding physical principles from sound source to focal site in tissue. *Eur Urol* **23 Suppl 1**, 2-7.
- FRY, F. J. & JOHNSON, L. K. (1978). Tumor irradiation with intense ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **4**, 337-341.
- FRY, W. J. (1954). Intense ultrasound; a new tool for neurological research. *J Ment Sci* **100**, 85-96.
- FRY, W. J. & FRY, F. J. (1960). Fundamental neurological research and human neurosurgery using intense ultrasound. *IRE Trans Med Electron* **ME-7**, 166-181.
- FRY, W. J., MOSBERG, W. H., JR., BARNARD, J. W. & FRY, F. J. (1954). Production of focal destructive lesions in the central nervous system with ultrasound. *J Neurosurg* **11**, 471-478.
- GEKID. (2006). Krebs in Deutschland; Häufigkeiten und Trends. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Zusammenarbeit mit dem Robert Koch Institut, Saarbrücken.
- GELET, A., CHAPELON, J. Y., MARGONARI, J., THEILLERE, Y., GORRY, F., CATHIGNOL, D. & BLANC, E. (1993). Prostatic tissue destruction by high-intensity focused ultrasound: experimentation on canine prostate. *J Endourol* **7**, 249-253.
- GERVAIS, D. A., MCGOVERN, F. J., ARELLANO, R. S., MCDUGAL, W. S. & MUELLER, P. R. (2005). Radiofrequency ablation of renal cell carcinoma: part 1, Indications, results, and role in patient management over a 6-year period and ablation of 100 tumors. *AJR Am J Roentgenol* **185**, 64-71.
- GETTMAN, M. T., LOTAN, Y., CORWIN, T. S., SMITH, T. G., NAPPER, C. A., LINDBERG, G. & CADEDDU, J. A. (2002). Radiofrequency coagulation of renal parenchyma: comparison of effects of energy generators on treatment efficacy. *J Endourol* **16**, 83-88.
- GIANFELICE, D., KHIAT, A., AMARA, M., BELBLIDIA, A. & BOULANGER, Y. (2003). MR imaging-guided focused US ablation of breast cancer: histopathologic assessment of effectiveness-- initial experience. *Radiology* **227**, 849-855.
- GILL, I. S., NOVICK, A. C., SOBLE, J. J., SUNG, G. T., REMER, E. M., HALE, J. & O'MALLEY, C. M. (1998). Laparoscopic renal cryoablation: initial clinical series. *Urology* **52**, 543-551.
- GLESER, E. (2002). Erhöht fokussierter Ultraschall die Metastasierungsrate von Prostatakarzinomen? Eine tierexperimentelle Studie mit Dunning R3327 Tumoren. In *Urologische Klinik der Fakultät für Klinische Medizin*. Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Mannheim.
- GOLDBERG, S. N., GAZELLE, G. S., HALPERN, E. F., RITTMAN, W. J., MUELLER, P. R. & ROSENTHAL, D. I. (1996). Radiofrequency tissue ablation: importance of local temperature along the electrode tip exposure in determining lesion shape and size. *Acad Radiol* **3**, 212-218.

- GOLDBERG, S. N., GAZELLE, G. S. & MUELLER, P. R. (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.
- GOSS, S. A. & FRY, F. J. (1984). The effects of high intensity ultrasonic irradiation on tumor growth. *IEEE Trans Son Ultrason*, 491.
- HÄCKER, A., DINTER, D., MICHEL, M. S. & ALKEN, P. (2005). High-intensity focused ultrasound as a treatment option in renal cell carcinoma. *Expert Review of Anticancer Therapy* **5**, 1053-1059.
- HÄCKER, A., KÖHRMANN, K. U., KNOLL, T., LANGBEIN, S., STEIDLER, A., KRAUT, O., MARLINGHAUS, E., ALKEN, P. & MICHEL, M. S. (2004). High-intensity focused ultrasound for ex vivo kidney tissue ablation: influence of generator power and pulse duration. *J Endourol* **18**, 917-924.
- HÄCKER, A., MICHEL, M. S., MARLINGHAUS, E., KÖHRMANN, K. U. & ALKEN, P. (2006). Extracorporeally induced ablation of renal tissue by high-intensity focused ultrasound. *BJU Int* **97**, 779-785.
- HAUTMANN, R. & HULAND, H. (2000). *Urologie*, vol. 2. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- HE, P. Z., XIA, R. M., DUAN, S. M., SHOU, W. D. & QIAN DE, C. (2006). The affection on the tissue lesions of difference frequency in dual-frequency high-intensity focused ultrasound (HIFU). *Ultrason Sonochem* **13**, 339-344.
- HERTS, B. R. & BAKER, M. E. (1995). The current role of percutaneous biopsy in the evaluation of renal masses. *Semin Urol Oncol* **13**, 254-261.
- HILL, C. R. (1994). Optimum acoustic frequency for focused ultrasound surgery. *Ultrasound Med Biol* **20**, 271-277.
- HÖCHEL, J., LEHMANN, D., FEHRENBURG, C., UNGER, V., GRONEBERG, D. A. & GROSSE-SIESTRUP, C. (2003). Effects of different perfusates on functional parameters of isolated perfused dog kidneys. *Nephrol Dial Transplant* **18**, 1748-1754.
- HUBER, P. E., RASTERT, R., SIMIANTONAKIS, I., RODER, D., HLAVAC, M., WANNENMACHER, M., DEBUS, J. & JENNE, J. W. (2001). [Magnetic resonance-guided therapy with focused ultrasound. Non-invasive surgery of breast carcinoma?]. *Radiologe* **41**, 173-180.
- HYNYNEN, K. (1990). *Biophysics and technology of ultrasound hyperthermia*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- HYNYNEN, K. (1991). The threshold for thermally significant cavitation in dog's thigh muscle in vivo. *Ultrasound Med Biol* **17**, 157-169.

- HYNYNEN, K., CLEMENT, G. T., MCDANNOLD, N., VYKHODTSEVA, N., KING, R., WHITE, P. J., VITEK, S. & JOLESZ, F. A. (2004). 500-element ultrasound phased array system for noninvasive focal surgery of the brain: a preliminary rabbit study with ex vivo human skulls. *Magn Reson Med* **52**, 100-107.
- HYNYNEN, K., COLUCCI, V., CHUNG, A. & JOLESZ, F. (1996). Noninvasive arterial occlusion using MRI-guided focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **22**, 1071-1077.
- HYNYNEN, K., MCDANNOLD, N., CLEMENT, G., JOLESZ, F. A., ZADICARIO, E., KILLIANY, R., MOORE, T. & ROSEN, D. (2006). Pre-clinical testing of a phased array ultrasound system for MRI-guided noninvasive surgery of the brain-A primate study. *Eur J Radiol.*
- HYNYNEN, K., POMEROY, O., SMITH, D. N., HUBER, P. E., MCDANNOLD, N. J., KETTENBACH, J., BAUM, J., SINGER, S. & JOLESZ, F. A. (2001). MR imaging-guided focused ultrasound surgery of fibroadenomas in the breast: a feasibility study. *Radiology* **219**, 176-185.
- ILLING, R. O., KENNEDY, J. E., WU, F., TER HAAR, G. R., PROTHEROE, A. S., FRIEND, P. J., GLEESON, F. V., CRANSTON, D. W., PHILLIPS, R. R. & MIDDLETON, M. R. (2005). The safety and feasibility of extracorporeal high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the treatment of liver and kidney tumours in a Western population. *Br J Cancer* **93**, 890-895.
- JAYSON, M. & SANDERS, H. (1998). Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* **51**, 203-205.
- JENNE, J. (2001). [Cavitations in biological tissues]. *Ultraschall Med* **22**, 200-207.
- JENNE, J. W., BAHNER, M., SPOO, J., HUBER, P., RASTERT, R., SIMIANTONAKIS, I., LORENZ, W. J. & DEBUS, J. (1997). CT On-Line Monitoring of HIFU Therapy. In *IEEE Ultrasonics Symposium*, vol. 2, pp. 1377-1380.
- JENNE, J. W., DIVKOVIC, G., RASTERT, R., DEBUS, J. & HUBER, P. E. (2003). [Focused ultrasound surgery. Basics, current status, and new trends]. *Radiologie* **43**, 805-812.
- KALLEL, F., STAFFORD, R. J., PRICE, R. E., RIGHETTI, R., OPHIR, J. & HAZLE, J. D. (1999). The feasibility of elastographic visualization of HIFU-induced thermal lesions in soft tissues. Image-guided high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **25**, 641-647.
- KENNEDY, J. E. (2005). High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours. *Nat Rev Cancer* **5**, 321-327.
- KENNEDY, J. E., CLARKE, R. L. & TER HAAR, G. R. (2003a). The effects of absorbers such as ribs in the HIFUs beam-path on the focal profile. In *2nd international Symposium on Conference Therapeutic Ultrasound*. ed. M.A. ANDREW, L. A. C., S. VAEZY, pp. 185-192.
- KENNEDY, J. E., TER HAAR, G. R. & CRANSTON, D. (2003b). High intensity focused ultrasound: surgery of the future? *Br J Radiol* **76**, 590-599.

- KESHAVARZI, A., VAEZY, S., NOBLE, M. L., CHI, E. Y., WALKER, C., MARTIN, R. W. & FUJIMOTO, V. Y. (2002). Treatment of uterine leiomyosarcoma in a xenograft nude mouse model using high-intensity focused ultrasound: a potential treatment modality for recurrent pelvic disease. *Gynecol Oncol* **86**, 344-350.
- KÖHRMANN, K. U., BACK, W., BENSEMANN, J., FLORIAN, J., WEBER, A., KAHMANN, F., RASSWEILER, J. & ALKEN, P. (1994). The isolated perfused kidney of the pig: new model to evaluate shock wave-induced lesions. *J Endourol* **8**, 105-110.
- KÖHRMANN, K. U., MICHEL, M. S., GAA, J., MARLINGHAUS, E. & ALKEN, P. (2002a). High intensity focused ultrasound as noninvasive therapy for multilocal renal cell carcinoma: case study and review of the literature. *J Urol* **167**, 2397-2403.
- KÖHRMANN, K. U., MICHEL, M. S., STEIDLER, A., MARLINGHAUS, E., KRAUT, O. & ALKEN, P. (2002b). Technical characterization of an ultrasound source for noninvasive thermoablation by high-intensity focused ultrasound. *BJU Int* **90**, 248-252.
- KÖHRMANN, K. U., MICHEL, M. S., STEIDLER, A., MARLINGHAUS, E. H., KRAUT, O. & ALKEN, P. (2002c). [Control parameters for high-intensity focused ultrasound (HIFU) for tissue ablation in the ex-vivo kidney]. *Aktuelle Urol* **33**, 58-63.
- KOLB, E. (1989). *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*, vol. 2. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- KRAMER, G., STEINER, G. E., GROBL, M., HRACHOWITZ, K., REITHMAYR, F., PAUCZ, L., NEWMAN, M., MADERSBACHER, S., GRUBER, D., SUSANI, M. & MARBERGER, M. (2004). Response to sublethal heat treatment of prostatic tumor cells and of prostatic tumor infiltrating T-cells. *Prostate* **58**, 109-120.
- LANDIS, S. H., MURRAY, T., BOLDEN, S. & WINGO, P. A. (1999). Cancer statistics CA. *Cancer J Clin*, 8-31.
- LARSON, T. R., BOSTWICK, D. G. & CORICA, A. (1996). Temperature-correlated histopathologic changes following microwave thermoablation of obstructive tissue in patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology* **47**, 463-469.
- LEE, L. A., SIMON, C., BOVE, E. L., MOSCA, R. S., EBBINI, E. S., ABRAMS, G. D. & LUDOMIRSKY, A. (2000). High intensity focused ultrasound effect on cardiac tissues: potential for clinical application. *Echocardiography* **17**, 563-566.
- LELE, P. P. (1967). Production of deep focal lesions by focused ultrasound--current status. *Ultrasonics* **5**, 105-112.
- LI, C. X., XU, G. L., JIANG, Z. Y., LI, J. J., LUO, G. Y., SHAN, H. B., ZHANG, R. & LI, Y. (2004). Analysis of clinical effect of high-intensity focused ultrasound on liver cancer. *World J Gastroenterol* **10**, 2201-2204.
- LINKE, C. A., CARSTENSEN, E. L., FRIZZELL, L. A., ELBADAWI, A. & FRIDD, C. W. (1973). Localized tissue destruction by high-intensity focused ultrasound. *Arch Surg* **107**, 887-891.

- LIZZI, F. L., DRILLER, J. & OSTROMOGILSKY, M. (1984). Thermal model for ultrasonic treatment of glaucoma. *Ultrasound Med Biol* **10**, 289-298.
- LYNN, J., ZWEMER, R., CHICK, A. & MILLER, D. L. (1942). A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. *J Gen Physiol* **26**, 179-193.
- MAASS-MORENO, R., DAMIANOU, C. A. & SANGHVI, N. T. (1996). Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echo-shifts. Part II. In vitro study. *J Acoust Soc Am* **100**, 2522-2530.
- MACK, M. G., LEHNERT, T., EICHLER, K. & VOGL, T. J. (2005). MR-guided laser ablation. *Magn Reson Imaging Clin N Am* **13**, 583-594.
- MADERSBACHER, S., KRATZIK, C., SUSANI, M. & MARBERGER, M. (1994). Tissue ablation in benign prostatic hyperplasia with high intensity focused ultrasound. *J Urol* **152**, 1956-1960; discussion 1960-1951.
- MADERSBACHER, S., PEDEVILLA, M., VINGERS, L., SUSANI, M. & MARBERGER, M. (1995). Effect of high-intensity focused ultrasound on human prostate cancer in vivo. *Cancer Res* **55**, 3346-3351.
- MADERSBACHER, S., SCHATZL, G., DJAVAN, B., STULNIG, T. & MARBERGER, M. (2000). Long-term outcome of transrectal high- intensity focused ultrasound therapy for benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* **37**, 687-694.
- MALCOLM, A. L. & TER HAAR, G. R. (1996). Ablation of tissue volumes using high intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **22**, 659-669.
- MARBERGER, M., SCHATZL, G., CRANSTON, D. & KENNEDY, J. E. (2005). Extracorporeal ablation of renal tumours with high-intensity focused ultrasound. *BJU Int* **95 Suppl 2**, 52-55.
- MASON, T. J. (1998). A sound investment. *Chem Ind*, 878-882.
- MELODELIMA, D., CHAPELON, J. Y., THEILLERE, Y. & CATHIGNOL, D. (2004a). Combination of thermal and cavitation effects to generate deep lesions with an endocavitary applicator using a plane transducer: ex vivo studies. *Ultrasound Med Biol* **30**, 103-111.
- MELODELIMA, D., SALOMIR, R., MOUGENOT, C., PRAT, F., THEILLERE, Y., MOONEN, C. & CATHIGNOL, D. (2004b). Intraluminal ultrasound applicator compatible with magnetic resonance imaging "real-time" temperature mapping for the treatment of oesophageal tumours: an ex vivo study. *Med Phys* **31**, 236-244.
- MILLER, D. L. & DOU, C. (2004). Membrane damage thresholds for pulsed or continuous ultrasound in phagocytic cells loaded with contrast agent gas bodies. *Ultrasound Med Biol* **30**, 405-411.
- MILLER, N. R., BOGRACHEV, K. M. & BAMBER, J. C. (2005). Ultrasonic temperature imaging for guiding focused ultrasound surgery: effect of angle between imaging beam and therapy beam. *Ultrasound Med Biol* **31**, 401-413.

- MORAN, C. M., BUSH, N. L. & BAMBER, J. C. (1995). Ultrasonic propagation properties of excised human skin. *Ultrasound Med Biol* **21**, 1177-1190.
- MOROS, E. G., FAN, X. & STRAUBE, W. L. (1999). Ultrasound power deposition model for the chest wall. *Ultrasound Med Biol* **25**, 1275-1287.
- MULLIGAN, E. D., LYNCH, T. H., MULVIN, D., GREENE, D., SMITH, J. M. & FITZPATRICK, J. M. (1997). High-intensity focused ultrasound in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Br J Urol* **79**, 177-180.
- NAKAMURA, K., BABA, S., SAITO, S., TACHIBANA, M. & MURAI, M. (1997). High-intensity focused ultrasound energy for benign prostatic hyperplasia: clinical response at 6 months to treatment using Sonablate 200. *J Endourol* **11**, 197-201.
- NICKEL, R., SCHUMMER, A. & SEIFERLE, E. (1982). *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere II*, vol. 2. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.
- OOSTERHOF, G. O., CORNEL, E. B., SMITS, G. A., DEBRUYNE, F. M. & SCHALKEN, J. A. (1997). Influence of high-intensity focused ultrasound on the development of metastases. *Eur Urol* **32**, 91-95.
- OTSUKA, R., FUJIKURA, K., HIRATA, K., PULERWITZ, T., OE, Y., SUZUKI, T., SCIACCA, R., MARBOE, C., WANG, J., BURKHOFF, D., MURATORE, R., LIZZI, F. L. & HOMMA, S. (2005). In vitro ablation of cardiac valves using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **31**, 109-114.
- OVERGAARD, J. & OVERGAARD, M. (1987). Hyperthermia as an adjuvant to radiotherapy in the treatment of malignant melanoma. *Int J Hyperthermia* **3**, 483-501.
- OWEN, N. R., BAILEY, M. R., HOSSACK, J. & CRUM, L. A. (2006). A method to synchronize high-intensity, focused ultrasound with an arbitrary ultrasound imager. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **53**, 645-650.
- PAEK, B., FOLEY, J., ZDERIC, V., STARR, F., SHIELDS, L. E. & VAEZY, S. (2005). Selective reduction of multifetal pregnancy using high-intensity focused ultrasound in the rabbit model. *Ultrasound Obstet Gynecol* **26**, 267-270.
- PAEK, B. W., VAEZY, S., FUJIMOTO, V., BAILEY, M., ALBANESE, C. T., HARRISON, M. R. & FARMER, D. L. (2003). Tissue ablation using high-intensity focused ultrasound in the fetal sheep model: potential for fetal treatment. *Am J Obstet Gynecol* **189**, 702-705.
- PAVLOVICH, C. P., WALTHER, M. M., CHOYKE, P. L., PAUTLER, S. E., CHANG, R., LINEHAN, W. M. & WOOD, B. J. (2002). Percutaneous radio frequency ablation of small renal tumors: initial results. *J Urol* **167**, 10-15.
- PEREIRA-SAMPAIO, M. A., FAVORITO, L. A. & SAMPAIO, F. J. (2004). Pig kidney: anatomical relationships between the intrarenal arteries and the kidney collecting system. Applied study for urological research and surgical training. *J Urol* **172**, 2077-2081.
- PERNOT, M., TANTER, M. & FINK, M. (2004). 3-D real-time motion correction in high-intensity focused ultrasound therapy. *Ultrasound Med Biol* **30**, 1239-1249.

- PERON, D. L., KITAMURA, K., CARNIOL, P. J. & SCHUKNECHT, H. F. (1983). Clinical and experimental results with focused ultrasound. *Laryngoscope* **93**, 1217-1221.
- PRAT, F., CENTARTI, M., SIBILLE, A., ABOU EL FADIL, F. A., HENRY, L., CHAPELON, J. Y. & CATHIGNOL, D. (1995). Extracorporeal high-intensity focused ultrasound for VX2 liver tumors in the rabbit. *Hepatology* **21**, 832-836.
- PROKOP, A. F., VAEZY, S., NOBLE, M. L., KACZKOWSKI, P. J., MARTIN, R. W. & CRUM, L. A. (2003). Polyacrylamide gel as an acoustic coupling medium for focused ultrasound therapy. *Ultrasound Med Biol* **29**, 1351-1358.
- PURNELL, E. W., SOKOLLU, A. & HOLASEK, E. (1964). The Production of Focal Chorioretinitis by Ultrasound. A Preliminary Report. *Am J Ophthalmol* **58**, 953-957.
- RIBAULT, M., CHAPELON, J. Y., CATHIGNOL, D. & GELET, A. (1998). Differential attenuation imaging for the characterization of high intensity focused ultrasound lesions. *Ultrason Imaging* **20**, 160-177.
- RIGHETTI, R., KALLEL, F., STAFFORD, R. J., PRICE, R. E., KROUSKOP, T. A., HAZLE, J. D. & OPHIR, J. (1999). Elastographic characterization of HIFU-induced lesions in canine livers. *Ultrasound Med Biol* **25**, 1099-1113.
- RIVENS, I. H. (1992). Quantitative studies of biological damage induced using high-intensity focused ultrasound. In *Institute of Cancer Research*. University of London, Sutton, Surrey, UK.
- RIVENS, I. H., ROWLAND, I. J., DENBOW, M., FISK, N. M., TER HAAR, G. R. & LEACH, M. O. (1999). Vascular occlusion using focused ultrasound surgery for use in fetal medicine. *Eur J Ultrasound* **9**, 89-97.
- ROBSON, C. J., CHURCHILL, B. M. & ANDERSON, W. (1969). The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* **101**, 297-301.
- ROIGAS, J. & DEGER, S. (2004). Minimal-invasive Operationstechniken bei kleinen Nierentumoren: Aktueller Stand. *Onkologie* **10**, 959-967.
- ROUVIERE, O., CURIEL, L., CHAPELON, J. Y., BOUVIER, R., ECOCHARD, R., GELET, A. & LYONNET, D. (2004). Can color doppler predict the uniformity of HIFU-induced prostate tissue destruction? *Prostate* **60**, 289-297.
- SANGHVI, N. T., FOSTER, R. S., BIHRLE, R., CASEY, R., UCHIDA, T., PHILLIPS, M. H., SYRUS, J., ZAITSEV, A. V., MARICH, K. W. & FRY, F. J. (1999). Noninvasive surgery of prostate tissue by high intensity focused ultrasound: an updated report. *Eur J Ultrasound* **9**, 19-29.
- SAPARETO, S. A. & DEWEY, W. C. (1984). Thermal dose determination in cancer therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **10**, 787-800.
- SASAKI, K., AZUMA, T., KAWABATA, K. I., SHIMODA, M., KOKUE, E. I. & UMEMURA, S. I. (2003). Effect of split-focus approach on producing larger coagulation in swine liver. *Ultrasound Med Biol* **29**, 591-599.

- SCHMIDT, R. F. & THEWS, G. (1995). *Physiologie des Menschen*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- SHAW, A., PRESTON, R. C. & BACON, D. R. (1996). Perfusion corrections for ultrasonic heating in nonperfused media. *Ultrasound Med Biol* **22**, 203-216.
- SHEEHAN, D. C. & HRAPCHAK, B. B. (1987). *Theory and Practice of Histotechnology*. Battelle Press, Columbus, Ohio.
- SHINGLETON, W. B. & SEWELL, P. E., JR. (2001). Percutaneous renal tumor cryoablation with magnetic resonance imaging guidance. *J Urol* **165**, 773-776.
- SHORT, J. G. & TURNER, P. F. (1980). Physical hyperthermia and cancer therapy. In *IEEE*, vol. 68, pp. 133-142.
- SIBILLE, A., PRAT, F., CHAPELON, J. Y., ABOU EL FADIL, F., HENRY, L., THEILLERE, Y., PONCHON, T. & CATHIGNOL, D. (1993a). Extracorporeal ablation of liver tissue by high-intensity focused ultrasound. *Oncology* **50**, 375-379.
- SIBILLE, A., PRAT, F., CHAPELON, J. Y., ABOU EL FADIL, F., HENRY, L., THEILLERE, Y., PONCHON, T. & CATHIGNOL, D. (1993b). Characterization of extracorporeal ablation of normal and tumor-bearing liver tissue by high intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **19**, 803-813.
- SIEMER, S., UDER, M., HUMKE, U., LINDENMEIER, T., MOLL, V., RUDENAUER, E., MAURER, J. & ZIEGLER, M. (2000). [Value of ultrasound in early diagnosis of renal cell carcinoma]. *Urologe A* **39**, 149-153.
- SILVERMAN, R. H., VOGELSANG, B., RONDEAU, M. J. & COLEMAN, D. J. (1991). Therapeutic ultrasound for the treatment of glaucoma. *Am J Ophthalmol* **111**, 327-337.
- SMITH, N. B., TEMKIN, J. M., SHAPIRO, F. & HYNYNEN, K. (2001). Thermal effects of focused ultrasound energy on bone tissue. *Ultrasound Med Biol* **27**, 1427-1433.
- SOKKA, S. D., KING, R. & HYNYNEN, K. (2003). MRI-guided gas bubble enhanced ultrasound heating in in vivo rabbit thigh. *Phys Med Biol* **48**, 223-241.
- STEFFEN, W., FISHBEIN, M. C., LUO, H., LEE, D. Y., NITA, H., CUMBERLAND, D. C., TABAK, S. W., CARBONNE, M., MAURER, G. & SIEGEL, R. J. (1994). High intensity, low frequency catheter-delivered ultrasound dissolution of occlusive coronary artery thrombi: an in vitro and in vivo study. *J Am Coll Cardiol* **24**, 1571-1579.
- STEWART, E. A., GEDROYC, W. M., TEMPANY, C. M., QUADE, B. J., INBAR, Y., EHRENSTEIN, T., SHUSHAN, A., HINDLEY, J. T., GOLDIN, R. D., DAVID, M., SKLAIR, M. & RABINOVICI, J. (2003). Focused ultrasound treatment of uterine fibroid tumors: safety and feasibility of a noninvasive thermoablative technique. *Am J Obstet Gynecol* **189**, 48-54.
- STROHMAIER, W. L. & GIESE, A. (2005). Ex vivo training model for percutaneous renal surgery. *Urol Res* **33**, 191-193.

- SUSANI, M., MADERSBACHER, S., KRATZIK, C., VINGERS, L. & MARBERGER, M. (1993). Morphology of tissue destruction induced by focused ultrasound. *Eur Urol* **23 Suppl 1**, 34-38.
- TAKEGAMI, K., KANEKO, Y., WATANABE, T., MARUYAMA, T., MATSUMOTO, Y. & NAGAWA, H. (2005). Erythrocytes, as well as microbubble contrast agents, are important factors in improving thermal and therapeutic effects of high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **31**, 385-390.
- TAKEUCHI, T. (1965). [An experimental study of stereotaxic destruction of cat brain by focused ultrasound]. *Nippon Geka Hokan* **34**, 634-650.
- TEMPANY, C. M., STEWART, E. A., MCDANNOLD, N., QUADE, B. J., JOLESZ, F. A. & HYNYNEN, K. (2003). MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study. *Radiology* **226**, 897-905.
- TER HAAR, G. (1995). Ultrasound focal beam surgery. *Ultrasound Med Biol* **21**, 1089-1100.
- TER HAAR, G. (2001). High intensity ultrasound. *Semin Laparosc Surg* **8**, 77-89.
- TER HAAR, G., CLARKE, R. L., VAUGHAN, M. G. & HILL, C. R. (1991). Trackless surgery using focused ultrasound: Technique and case report. *Min Inv Ther*, 13-15.
- TER HAAR, G., SINNETT, D. & RIVENS, I. (1989). High intensity focused ultrasound--a surgical technique for the treatment of discrete liver tumours. *Phys Med Biol* **34**, 1743-1750.
- TER HAAR, G. R. (1986). Therapeutic and surgical applications. In *Physical principles of medical ultrasonics*. ed. HILL, C. R., pp. 436-461. Ellis Horwood Limited, Chichester.
- THOMSEN, S. (1991). Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interactions. *Photochem Photobiol* **53**, 825-835.
- UCHIDA, T., OHKUSA, H., YAMASHITA, H., SHOJI, S., NAGATA, Y., HYODO, T. & SATOH, T. (2006). Five years experience of transrectal high-intensity focused ultrasound using the Sonablate device in the treatment of localized prostate cancer. *Int J Urol* **13**, 228-233.
- UMEMURA, S. I., KAWABATA, K. I. & SASAKI, K. (2002). Enhancement of ultrasonic adsorption by microbubble agent for HIFU. In *2nd International Symposium on Therapeutic Ultrasound*, pp. 59, Seattle, USA.
- UZZO, R. G. & NOVICK, A. C. (2001). Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol* **166**, 6-18.
- VAEZY, S., FUJIMOTO, V. Y., WALKER, C., MARTIN, R. W., CHI, E. Y. & CRUM, L. A. (2000). Treatment of uterine fibroid tumors in a nude mouse model using high-intensity focused ultrasound. *Am J Obstet Gynecol* **183**, 6-11.
- VAEZY, S., MARTIN, R. & CRUM, L. (2001a). High intensity focused ultrasound: a method of hemostasis. *Echocardiography* **18**, 309-315.

- VAEZY, S., SHI, X., MARTIN, R. W., CHI, E., NELSON, P. I., BAILEY, M. R. & CRUM, L. A. (2001b). Real-time visualization of high-intensity focused ultrasound treatment using ultrasound imaging. *Ultrasound Med Biol* **27**, 33-42.
- VALLANCIEN, G., CHARTIER-KASTLER, E., HAROUNI, M., CHOPIN, D. & BOUGARAN, J. (1993). Focused extracorporeal pyrotherapy: experimental study and feasibility in man. *Semin Urol* **11**, 7-9.
- VALLANCIEN, G., HAROUNI, M., GUILLONNEAU, B., VEILLON, B. & BOUGARAN, J. (1996). Ablation of superficial bladder tumors with focused extracorporeal pyrotherapy. *Urology* **47**, 204-207.
- VALLEJO, R., HORD, E. D., BARNA, S. A., SANTIAGO-PALMA, J. & AHMED, S. (2003). Perioperative immunosuppression in cancer patients. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* **22**, 139-146.
- VAUGHAN, M. G., TER HAAR, G. R., HILL, C. R., CLARKE, R. L. & HOPEWELL, J. W. (1994). Minimally invasive cancer surgery using focused ultrasound: a pre-clinical, normal tissue study. *Br J Radiol* **67**, 267-274.
- VISIOLI, A. G., RIVENS, I. H., TER HAAR, G. R., HORWICH, A., HUDDART, R. A., MOSKOVIC, E., PADHANI, A. & GLEES, J. (1999). Preliminary results of a phase I dose escalation clinical trial using focused ultrasound in the treatment of localised tumours. *Eur J Ultrasound* **9**, 11-18.
- VOGL, T. J., STRAUB, R., EICHLER, K., SOLLNER, O. & MACK, M. G. (2004). Colorectal carcinoma metastases in liver: laser-induced interstitial thermotherapy--local tumor control rate and survival data. *Radiology* **230**, 450-458.
- WAGAI, T. & KAKETA, K. I. (1970). Medical application of intense ultrasound. Destruction of malignant tumor by intense focused ultrasound. In *Annual Report of the Medical Ultrasound Research Centre*, pp. 35-37. Juntendo University School of Medicine, Tokyo.
- WANG, Z., BAI, J., LI, F., DU, Y., WEN, S., HU, K., XU, G., MA, P., YIN, N., CHEN, W., WU, F. & FENG, R. (2003). Study of a "biological focal region" of high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **29**, 749-754.
- WATKIN, N. A., MORRIS, S. B., RIVENS, I. H. & TER HAAR, G. R. (1997). High-intensity focused ultrasound ablation of the kidney in a large animal model. *J Endourol* **11**, 191-196.
- WATKIN, N. A., MORRIS, S. B., RIVENS, I. H., WOODHOUSE, C. R. & TER HAAR, G. R. (1996a). A feasibility study for the non-invasive treatment of superficial bladder tumours with focused ultrasound. *Br J Urol* **78**, 715-721.
- WATKIN, N. A., TER HAAR, G. R. & RIVENS, I. (1996b). The intensity dependence of the site of maximal energy deposition in focused ultrasound surgery. *Ultrasound Med Biol* **22**, 483-491.

- WILZBACH DIVKOVIĆ, G. (2005). Schallfeldformung zur Reduzierung der Behandlungszeit bei der Therapie mit hochenergetischen fokussierten Ultraschallwellen. In *Naturwissenschaftlich-Mathematische Gesamtfakultät*, pp. 109. Rupert-Karls-Universität Heidelberg, Heidelberg.
- WU, F. (2006). Extracorporeal high intensity focused ultrasound in the treatment of patients with solid malignancy. *Minim Invasive Ther Allied Technol* **15**, 26-35.
- WU, F., CHEN, W. Z., BAI, J., ZOU, J. Z., WANG, Z. L., ZHU, H. & WANG, Z. B. (2001). Pathological changes in human malignant carcinoma treated with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **27**, 1099-1106.
- WU, F., CHEN, W. Z., BAI, J., ZOU, J. Z., WANG, Z. L., ZHU, H. & WANG, Z. B. (2002). Tumor vessel destruction resulting from high-intensity focused ultrasound in patients with solid malignancies. *Ultrasound Med Biol* **28**, 535-542.
- WU, F., WANG, Z. B., CAO, Y. D., CHEN, W. Z., ZOU, J. Z., BAI, J., ZHU, H., LI, K. Q., JIN, C. B., XIE, F. L., SU, H. B. & GAO, G. W. (2003a). Changes in biologic characteristics of breast cancer treated with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* **29**, 1487-1492.
- WU, F., WANG, Z. B., CHEN, W. Z., BAI, J., ZHU, H. & QIAO, T. Y. (2003b). Preliminary experience using high intensity focused ultrasound for the treatment of patients with advanced stage renal malignancy. *J Urol* **170**, 2237-2240.
- WU, F., WANG, Z. B., CHEN, W. Z., ZHU, H., BAI, J., ZOU, J. Z., LI, K. Q., JIN, C. B., XIE, F. L. & SU, H. B. (2004a). Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* **11**, 1061-1069.
- WU, F., WANG, Z. B., CHEN, W. Z., ZOU, J. Z., BAI, J., ZHU, H., LI, K. Q., JIN, C. B., XIE, F. L. & SU, H. B. (2005). Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* **235**, 659-667.
- WU, F., WANG, Z. B., LU, P., XU, Z. L., CHEN, W. Z., ZHU, H. & JIN, C. B. (2004b). Activated anti-tumor immunity in cancer patients after high intensity focused ultrasound ablation. *Ultrasound Med Biol* **30**, 1217-1222.
- YANG, R., KOPECKY, K. K., RESCORLA, F. J., GALLIANI, C. A., WU, E. X. & GROSFELD, J. L. (1993). Sonographic and computed tomography characteristics of liver ablation lesions induced by high-intensity focussed ultrasound. *Invest Radiol* **28**, 796-801.
- YANG, R., REILLY, C. R., RESCORLA, F. J., FAUGHT, P. R., SANGHVI, N. T., FRY, F. J., FRANKLIN, T. D., JR., LUMENG, L. & GROSFELD, J. L. (1991). High-intensity focused ultrasound in the treatment of experimental liver cancer. *Arch Surg* **126**, 1002-1009; discussion 1009-1010.
- YU, T., WANG, G., HU, K., MA, P., BAI, J. & WANG, Z. (2004). A microbubble agent improves the therapeutic efficiency of high intensity focused ultrasound: a rabbit kidney study. *Urol Res* **32**, 14-19.

-
- ZDERIC, V., KESHAVARZI, A., NOBLE, M. L., PAUN, M., SHARAR, S. R., CRUM, L. A., MARTIN, R. W. & VAEZY, S. (2006). Hemorrhage control in arteries using high-intensity focused ultrasound: a survival study. *Ultrasonics* **44**, 46-53.
- ZHAO, J., WANG, Z., GUO, D., YU, C., XIE, W. & LI, G. (2001). [CT appearance and its diagnosis value in liver cancer after transcatheter oily chemoembolization combining with high intensity focused ultrasound therapy]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* **9 Suppl**, 61-63.

9. Tabellenverzeichnis

	Seite
1: Akustische Eigenschaften von Säugetiergewebe	11
2: Vorteile der HIFU-Therapie	23
3: Einschränkungen der HIFU-Therapie	23
4: Wichtige Kenngrößen der Niere von Mensch und Schwein	24
5: Details zu den verwendeten MRT-Sequenzen	45
6: Akustische und thermische Eigenschaften des Gelphantoms	48
7: Übersicht über die absorbierte Leistung und den akustischen Wirkungsgrad	71
8: Läsionsausmaße im Vergleich zwischen Makroskopie und MRT-Bildern	75

10. Abbildungsverzeichnis

	Seite
1: Schematischer Aufbau von HIFU Ultraschallwandlern	8
2: Prinzip der FUS	9
3: Stroboskopische Aufnahme von Kavitationsbläschen	13
4: Präparierte Nierengefäße und Ureter	26
5: Anschlussstück für Gefäße des Nierenmodells	26
6: Schematische Darstellung des Modells der isolierten perfundierten Schweineniere	27
7: SET Behandlungskopf und Verstellmimik	30
8: SET Bedienelement	30
9: Schematische Darstellung des SET	30
10: Schematischer Versuchsaufbau der HIFU Beschallung mit dem SET	31
11: Schematische Darstellung des TET	34
12: TET	35
13: Software zur Ansteuerung des TET	35
14: Schematischer Versuchsaufbau der HIFU Beschallung mit dem TET	36
15: Schallkopf des HIFU Gerätes zur Absorptionsmessung	39
16: Benutzeroberfläche zur Ansteuerung des Schallkopfes	39
17: Messung der Absorption mit der Schallwaage	40
18: Bestimmung des Einflusses der Vorlaufstrecke auf die Läsionsbildung	40
19: Schematische Darstellung der Gewebeproben mit Rippenknochen	41
20: Lagerung der Niere für die MRT Versuchsreihe	43
21: Perfusionsaufbau im MRT Versuch	43
22: Lagerung im MRT	44
23: Anschluss für Perfusion im MRT Versuch	44
24: Schematischer Versuchsaufbau der MRT Versuchsreihe	44
25: Nierenparenchym mit Kontrastmittel angereichert	47
26: Longitudinale Nierenscheibe mit zentralen Thermoläsionen	47
27: Mammographiegerät	47
28: Nierenscheibe auf Röntgenfilm	47
29: Ultraschallphantom (gebrauchsfertig und vollständig koaguliert)	49
30: Versuchsaufbau und Thermoläsionen im Ultraschallphantom	49

31: Überblick der Mikroangiographie mit Augenmerk auf die kleineren Gefäße des Parenchyms	50
32: Überblick der Mikroangiographie mit Augenmerk auf die größeren Arterien mit Aufzweigungen	50
33: Detailansicht der Nierenrinde (quer geschnitten)	51
34: Detailansicht der Nierenrinde (längs geschnitten)	51
35 a–f: Histologische HE-Präparate	52
36 a–f: Histologische NADH-Präparate	53
37: Morphologische Übersicht mittels Doppler-Ultraschall	54
38: Perfusion des Nierenparenchyms	54
39: Größere Gefäße in Mark- und Nierenbeckenbereich	54
40: Gefäße und Perfusion im Hilusbereich	54
41: T1-gewichtete MRT-Sequenz	55
42: T2-gewichtete MRT-Sequenz	55
43: Darstellung der Kontrastmittelanflutung in Abhängigkeit von der Zeit	56
44: Einfluss der Ultraschalleistung auf Läsionslänge und -breite	57
45: Einfluss der Pulsdauer auf Läsionslänge und -breite	58
46: Einfluss von Leistung und Pulsdauer bei gleich bleibender Gesamtenergie	58
47: Einfluss der Perfusion auf Läsionslänge und -breite	59
48: Abhängigkeit des Perfusionseinflusses von der Pulsdauer	59
49: Einfluss der Gewebstemperatur auf Läsionslänge und -breite	60
50: Einfluss der Gewebsspannung auf Läsionslänge und -breite	60
51: Nebeneffekt durch Erwärmung am Absorber	61
52: Situation während der Beschallung	61
53 a–c: Variation des Läsionsabstandes	61
54 a–c: Variation der Pulsdauer	62
55 a–c: Variation der Ultraschalleistung	62
56 a–c: Variation des Behandlungsintervalls	63
57 a–d: HE-Präparate zum SET	64
58 a–e: NADH-Präparate zum SET	65,66
59 a–f: Morphologie der Läsionen des TET	67
60 a–b: HE-Präparate zum TET	68
61: Entwicklung der Läsionslänge bei steigender Ultraschalleistung und Pulsdauer	69
62: Einfluss der Perfusion auf die Läsionsgröße	69

63: Läsionsgröße und -lokalisierung bei separater Verwendung eines Schallkopfes	70
64: Gemessene akustische Leistung bei den Absorptionsversuchen	70
65: Vergleich der Läsionsgrößen mit und ohne Gewebeprobe in der Vorlaufstrecke	72
66 a–d: Morphologie der HIFU Läsionen im Rahmen der MRT Versuche	73
67 a–c: Morphologische MRT-Aufnahmen	74
68: Detail des Läsionsrasters	74
69: Kontrastmittelanflutung in der Perfusionssequenz	74
70: Farbliche Codierung der Kontrastmittelanflutung	75
71: Größenvergleich von Makroskopie und VIBE-Sequenz	76
72: Übersicht über die Mikroangiographie einer mit HIFU behandelten Niere mit 5 Läsionen	77
73: Übersicht über die Mikroangiographie einer mit HIFU behandelten Niere mit 11 Läsionen	77
74: Vergleich zwischen mikroangiographischem und makroskopischem Bild	77
75: Detailansicht der mikroangiographischen Darstellung der Thermoläsionen	78
76: Läsionsgrößen im Gelphantom	79
77: Läsionsgrößen im Nierengewebe	79
78 a–f: Morphologie der Thermoläsionen im Ultraschallphantom	79
79: Zeitlicher Verlauf der Bildung einer Thermoläsion	80

11. Herstellerverzeichnis

- ¹ Advanced Surgical Systems, Inc., Tuscon, Arizona, USA
- ² Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, California, USA
- ³ Bizerba GmbH & Co. KG, 72336 Balingen
- ⁴ Carl Roth GmbH & Co. KG, 76185 Karlsruhe
- ⁵ Carl Zeiss AG, 73447 Oberkochen
- ⁶ Coleman Europe, 35410 Hungen-Indheiden
- ⁷ GE Healthcare Deutschland, 80807 München
- ⁸ Guerbet GmbH, 65843 Sulzbach
- ⁹ IMASONIC Inc., Besançon, Frankreich
- ¹⁰ IstaTec Sa, Glattbrugg-Zürich, Schweiz
- ¹¹ Johnson+Johnson Intl., Brüssel, Belgien
- ¹² Kendall/Tyco Healthcare Deutschland GmbH, 93333 Neustadt (Donau)
- ¹³ Kodak GmbH, 70327 Stuttgart
- ¹⁴ Langenbrinck Labor- und Medizintechnik, 79331 Teningen
- ¹⁵ Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, 64606 Bensheim
- ¹⁶ Menzel-Gläser, Gerhard Menzel Glasbearbeitungswerk GmbH & Co. KG,
38116 Braunschweig
- ¹⁷ MERCK KGaA, 64293 Darmstadt
- ¹⁸ Mettler-Toledo GmbH, 35353 Giessen
- ¹⁹ Microm Laborgeräte GmbH, 69190 Walldorf
- ²⁰ RIPLAST GmbH, 66540 Neunkirchen-Saar
- ²¹ Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim
- ²² Sakura Finetek Gemany GmbH, 64646 Heppenheim
- ²³ Schering Deutschland GmbH, 10589 Berlin
- ²⁴ Siemens AG, 80333 München
- ²⁵ Siemens Medical Solutions, 91052 Erlangen
- ²⁶ Sigma–Aldrich Chemie GmbH, 91625 Schnelldorf
- ²⁷ Storz-Medical AG, Kreuzlingen, Schweiz
- ²⁸ Wacker-Chemie GmbH, 81737 München
- ²⁹ Watson Marlow GmbH, 41569 Rommerskirchen

12. Anhänge

Anhang 1

HE-Färbung (Hämalaun + Eosin)

Lösungen

- Neoclear (Merck¹⁷)
- Alkoholreihe: 100–96–80–70 % Ethanol
- 0,1 %ige wässrige Eosin-Lösung (Apotheke)
- Neomount-Eindeckmedium (Merck¹⁷)
- Mayers Hämalaunlösung (Merck¹⁷)

Materialien

- Objektträger (Langenbrinck¹⁴)
- zusätzliche Deckgläser (Menzel-Gläser¹⁶)

Durchführung:

in Paraffin eingebettetes Gewebe

Schnittdicke: 3 µm

bei 37°C über Nacht oder 1 h bei 57°C „backen“

- 3 x 5 min in Neoclear entparaffinieren
- in absteigender Alkoholreihe (100–96–80–70 % Ethanol) je 2 min rehydrieren
- 2 x 2 min Leitungswasser
- 10 min Hämalaun
- 10 min fließend bläuen
- 2 min Eosin-Lösung
- Schnitte kurz in Wasser spülen
- Schnitte kurz in 80 %igem Alkohol spülen
- Schnitte kurz in 96 %igem Alkohol spülen
- 2 x 2 min 100 %iger Alkohol
- 2 x 2 min Neoclear
- Schnitte mit Neomount und Deckgläsern eindecken, trocknen lassen

(Arbeitsanleitung des Urologischen Labors vom 18. 01. 2001)

Anhang 2

NADH Färbung (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid)**Lösungen**

- NADH Lösung (NADH und TRIS Puffer) (Sigma–Aldrich²⁶)
- NBT Lösung (NBT und TRIS Puffer) (Sigma–Aldrich²⁶)
- Acetonreihe: 30–60–90% Aceton
- wässriges Deckmedium Aquatex (Merck¹⁷)
- VE-Wasser

Materialien

- Objektträger (Langenbrinck¹⁴)
- zusätzliche Deckgläser (Menzel-Gläser¹⁶)

Durchführung:

in flüssigem Stickstoff fixiertes Gewebe

Schnittdicke: 5 µm (Kryostat)

nach dem Schneidevorgang 1 h auftauen lassen

- NADH- und NBT-Lösung mischen
- Schnitte mit Färbelösung bedecken
- für 30 min bei 37°C in der feuchten Kammer inkubieren
- 3 x in VE-Wasser spülen
- ungebundenen Farbstoff durch 3 x aufsteigende und dann absteigende Acetonreihe entfernen
- mehrfach in VE-Wasser spülen
- Schnitte mit Aquatex und Deckgläsern eindecken, trocknen lassen

(Arbeitsanleitung modifiziert nach Sheehan and Hrapchak 1987)

13. Danksagung

Gerne nutze ich die Gelegenheit, mich bei all jenen herzlich zu bedanken, die durch ihre Unterstützung maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Frau Prof. Dr. Ulrike Matis möchte ich für die Übernahme meiner Dissertationsarbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München und für ihre Unterstützung danken.

Herrn Prof. Dr. Peter Alken danke ich für die Möglichkeit, meine Dissertation an der Urologischen Klinik des Universitätsklinikums Mannheim anfertigen zu können.

Herrn Prof. Dr. Maurice Stephan Michel möchte ich für seinen fachlichen Beistand danken. Seine Diskussionsbereitschaft bezüglich der Möglichkeiten des fokussierten Ultraschalls hat die Arbeit entscheidend mitgeprägt.

Herrn PD Dr. Axel Häcker danke ich vielfmals für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit. In ihm habe ich einen konstruktiven Diskussionspartner gefunden, der trotz seines übervollen Terminkalenders stets Zeit fand, mir bei der Versuchsplanung und der Interpretation der Ergebnisse zur Seite zu stehen, und durch seine kritische Korrektur sehr zur Qualität der Arbeit beigetragen hat.

Herrn Dr. Jürgen Jenne danke ich für seinen Ideenreichtum und die hervorragende fachliche Korrektur der Manuskripte. Außerdem möchte ich ihm sowie Herrn Dr. Frank Risse und Frau Dr. Gabriela Wilzbach Divković für die gute Zusammenarbeit danken.

Frau Annette Steidler ein herzliches Dankeschön für ihren unermüdlichen Beistand bei fachlichen und organisatorischen Hürden sowie der geduldigen Einarbeitung in die diversen Laborarbeiten. Ohne ihre Einsatzbereitschaft und gute Laune wäre vieles bedeutend schwieriger gewesen.

Den Mitarbeitern des Schlachthofes Mannheim möchte ich für die exzellente Zusammenarbeit danken, ohne die die Experimente in dieser Form nicht hätten stattfinden können. Sie waren stets bereit, sich neben dem normalen Schlachtbetrieb meiner Sonderwünsche anzunehmen.

Den Mitarbeitern der Firma Storz Medical, insbesondere Herrn Dr. Ernst Marlinghaus und Herrn Dipl. Phys. Oliver Kraut, möchte ich für ihre Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuche sowie für ihre sofortige unbürokratische Hilfe bei technischen Schwierigkeiten danken. Herrn Kraut des Weiteren vielen Dank für die Durchsicht der Ausarbeitung unserer gemeinsamen Versuchsreihe.

Frau Dr. Christel Weiß möchte ich meinen Dank für ihre Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse sagen.

Den Schwestern der Urologischen Klinik sowie den Mitarbeiterinnen des Zentrums für medizinische Forschung ein herzliches Dankeschön für ihre unkomplizierte und kompetente Hilfe.

Der Vereinigung Ärzte gegen Tierversuche e.V., insbesondere Herrn Gerhard Schwarz, vielen Dank für ihr Vertrauen in mich und die Förderung meiner Arbeit.

Weiterhin danke ich der Stiftung FFVFF (Fonds für versuchstierfreie Forschung) für die Übernahme der Druckkosten dieser Arbeit.

Meinen Freundinnen, Frau Susan Rudolf und Frau Maria Wucher, möchte ich für ihre Leidenschaft bei der Korrektur meiner Manuskripte sowie für vergnügliche Ablenkung im rechten Moment danken.

Bei meiner Familie, die mich schon immer so selbstverständlich in allen Lebenslagen unterstützt und gefördert hat, möchte ich mich von ganzem Herzen bedanken. Auch bei der Erstellung dieser Arbeit haben mich meine Eltern und mein Bruder nicht nur moralisch, sondern auch tatkräftig unterstützt. Die Gewissheit, dass Ihr immer hinter mir steht war und ist mir stets zusätzliche Motivation!

14. Lebenslauf

Name: Kristina Peters
Geburtsdatum: 13. Juni 1977
Geburtsort: Augsburg
Vater: Werner Peters, Diplom-Ingenieur
Mutter: Ulrike Peters, Hausfrau
Geschwister: Kai Peters, IT-Systemkaufmann

Schulische Laufbahn

1983 – 1987 Grundschule Gebrüder Röls, Donauwörth
1987 – 1993 5.–10. Klasse am Gymnasium Donauwörth
1993 – 1994 Austauschjahr in Kingsley, Michigan, USA (Abschluss: High School Diploma)
1994 – 1997 11.–13. Klasse am Gymnasium Donauwörth
Juni 1997 Allgemeine Hochschulreife

Akademische Laufbahn

1997 – 2003 Studium der Veterinärmedizin an der Veterinärmedizinischen Fakultät der
Universität Leipzig
August 2003 Tierärztliche Approbation
2004 – 2007 Doktorandin an der Urologischen Klinik des Universitätsklinikums Mannheim
(Universität Heidelberg) und wissenschaftliche Hilfstätigkeit im Rahmen eines
Forschungsprojektes des Tumorzentrums Mannheim und des Deutschen
Krebsforschungszentrums Heidelberg