

**Aus der Abteilung für Allgemeine Chirurgie,
Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie
der Chirurgischen Universitätsklinik
Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schilling**

**Der Einfluss von Aprotinin und
Selektivem Vaskulärem Clamping
auf die
Kryoläsion der Leber
im Schweinemodell**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes**

2006

**vorgelegt von
Stefan Dietrich
geboren am 3. März 1968 in Stuttgart**

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung und Abstract	01
1.1 Zusammenfassung	01
1.1 Der Einfluss von Aprotinin und SVC auf die Kryoläsion der Leber im Schweinemodell	01
1.2 Abstract	03
1.2 The influence of selective vascular inflow occlusion on the cryolesion of liver in a porcine model	03
2 Einleitung und Fragestellung	05
2.1 Einleitung	05
2.2 Mechanismen der Zelledestruktion durch Kälte	07
2.2.1 Extrazelluläre Eisbildung	07
2.2.2 Intrazelluläre Eisbildung	08
2.2.3 Einfluss der Gefriertrate auf die Zellzerstörung	08
2.2.4 Mikrozirkulationsstörungen	10
2.3 Fragestellung	10
2.3.1 Effektivität der Kryotherapie	10
2.3.2 Monitoring der Kryoläsionen	10
2.3.3 Komplikationen und Nebenwirkungen bei Kryotherapie der Leber	11
3 Material und Methoden	12
3.1 Allgemeine Projektvorstellung der Arbeitsgruppe	12
3.2 Kryogerät und Kryosonde	13
3.2.1 Kryogerät.....	13
3.2.2 Kryosonde	14
3.3 Tierexperimente	15
3.3.1 Versuchstierhaltung.....	15
3.3.2 Prämedikation und Narkose	15
3.3.3 Operationsdurchführung.....	16
3.3.4 Nachbeobachtung	17

3.3.5 Kryotherapiemethoden	18
3.3.6 Beschreibung der Gruppeneinteilung und des Versuchsablaufs	19
3.3.7 SVC und Aprotinin.....	24
3.3.8 Todeszeitpunkt und Euthanasie.....	24
3.3.9 Obduktion.....	24
3.4 Untersuchte Parameter	25
3.4.1 Mikrozirkulation der Leber	25
3.4.2 Perfusion von Arteria hepatica und Vena portae	26
3.4.3 Laborparameter	27
3.4.4 Größe der Kryoläsionen	28
3.5 Laborchemische Methoden	28
3.5.1 Bestimmung des Blutbildes.....	28
3.5.2 Bestimmung der Elektrolyte.....	28
3.5.3 Bestimmung des Kreatininwerts	28
3.5.4 Bestimmung der ASAT-Aktivität	28
3.5.5 Bestimmung der ALAT-Aktivität	28
3.5.6 Bestimmung der GGT-Aktivität.....	29
3.5.7 Bestimmung der AP-Aktivität.....	29
3.5.8 Bestimmung der LDH-Aktivität.....	29
3.5.9 Bestimmung des C-reaktiven Proteinwerts	29
3.5.10 Bestimmung der Gerinnungsparameter.....	29
4 Ergebnisse	31
4.1 Operation und Überleben der Versuchstiere.....	31
4.1.1 Intraoperativer Verlauf	31
4.1.2 Intraoperative Komplikationen	32
4.1.3 Postoperativer Verlauf.....	31
4.1.4 Postoperative Komplikationen	32
4.2 Mikrozirkulation der Leber	33
4.3 Makrozirkulation der Leber	39
4.4 Laborparameter	43
4.4.1 Zusammenfassung der statistisch signifikanten Ergebnisse der laborchemischen Methoden.....	43

Inhaltsverzeichnis

4.4.2 Kreatinin.....	47
4.4.3 ASAT-Aktivität.....	49
4.4.4 ALAT-Aktivität.....	51
4.4.5 GGT-Aktivität.....	53
4.4.6 AP-Aktivität.....	55
4.4.7 LDH-Aktivität.....	57
4.4.8 C-reaktive Proteinwerte.....	59
4.4.9 Hämoglobinwerte.....	60
4.4.10 Leukozytenzahlen.....	62
4.4.11 Thrombozytenzahlen.....	64
4.4.12 Thromboplastinzeit (Quick).....	66
4.4.13 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (PTT).....	68
4.4.14 Fibrinogenkonzentration.....	70
4.4.15 Antithrombin III.....	71
4.4.16 D-Dimere.....	73
4.4.17 Thrombinzeit.....	75
4.5 Kryozonengröße.....	77
4.6 Temperaturverläufe.....	80
4.7 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	84
5 Diskussion.....	85
5.1 Diskussion des Modells.....	85
5.1.1 Das Schwein als Versuchstier.....	85
5.1.2 Diskussion der Narkose.....	86
5.1.3 Diskussion des Beobachtungszeitraums.....	87
5.1.4 Diskussion der untersuchten Parameter.....	88
5.2 Diskussion der Ergebnisse.....	91
5.2.1 Überleben.....	91
5.2.2 Mikrozirkulation.....	92
5.2.3 Makrohämodynamik.....	92
5.2.4 Laborparameter und Gerinnungsstatus.....	93
5.2.5 Kryozonengröße.....	96
5.2.6 Einfluss von SVC.....	97
5.2.7 Einfluss von Aprotinin.....	97

5.3 Klinische Relevanz der Ergebnisse	98
6 Literaturverzeichnis	100
7 Dank	109
8 Lebenslauf	110

1 Zusammenfassung und Abstract

1.1 Zusammenfassung

1.1 Der Einfluss von Aprotinin und Selektivem Vaskulärem Clamping auf die Kryoläsion der Leber im Schweinmodell

Colorektale Lebermetastasen und primäre Lebertumore sind in einer Vielzahl von Fällen konventioneller chirurgischer Leberresektion nicht zugänglich. Hier eröffnet die Kryotherapie der Leber als ein lokales Tumorablationsverfahren eine zusätzliche Therapieoption. Es herrscht jedoch noch keine Einigkeit darüber, welcher Frierzyklus am besten zur Tumordestruktion geeignet ist. Weiter ist das intraoperative Monitoring der Frierzone insbesondere bei großen Tumoren problematisch. Zusätzlich ist unklar, ob eine Möglichkeit besteht, bekannte Komplikationen der Kryochirurgie der Leber wie z. B. Thrombozytopenie und septische Symptome zu verringern.

In der vorliegenden Studie erfolgte bei 30 Schwäbisch-Halleschen Landschweinen in Allgemeinanästhesie nach medianer Laparotomie mit dem Kryogerät Cryo 6 (Erbe, Tübingen, Sondendurchmesser 3,2mm, -180°C) eine Kryodestruktion an der Leber. Im linken Leberlappen wurden jeweils 2 Kryoläsionen erzeugt. Die Versuchsgruppen unterschieden sich hinsichtlich der Friermodalität: (i) *Repetitives Frieren* für 2 x 7,5 min (n=6), (ii) *Einmaliges Frieren* für 15 min (n=6), (iii) *Einmaliges Frieren mit Selektivem Vaskulären Clamping (SVC)* (n=6) und (iiii) *Einmaliges Frieren mit Verabreichung des Medikaments Aprotinin* (n=6). Weitere 6 Schweine dienten als *Kontrollgruppe*. Intraoperativ bestimmten wir die Temperatur des Lebergewebes im Randbereich der Kryoläsion. Durch Doppler-Flussmessungen wurden die Mikroperfusionverhältnisse im Lebergewebe ermittelt. Intra- und postoperativ wurden Laborparameter (Kreatinin, ASAT, ALAT, GGT, AP, LDH, CRP, Elektrolyte, Hb, Blutbild insbesondere den Thrombozyten) und Gerinnungsfaktoren (Quick, PTT, Fibrinogen, AT III, D-Dimere, Thrombinzeit) bestimmt. Nach 7 Tagen Nachbeobachtungszeitraum wurde die Ausdehnung der Kryoläsionen vermessen.

Kryochirurgie führte in allen Versuchsgruppen zu einem signifikanten Thrombozytenabfall, jedoch ohne signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Des Weiteren fand sich ein signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl, der LDH, ALAT, ASAT in jeder der Gruppen während des Beobachtungszeitraums.

Zusätzlich kam es zu folgenden signifikanten Veränderungen im Gerinnungssystem: Anstieg der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit, des Fibrinogens, der D-Dimere und der Thrombinzeit, sowie Abfall der Thromboplastinzeit und des Antithrombin III. Die Auswertung der Ausdehnung der Kryozonen ergab ein signifikant größeres Kryoareal ($p < 0,05$) nach Selektivem Vaskulären Clamping gegenüber Kryochirurgie während erhaltener Perfusion.

Die vorliegende Studie konnte sowohl zeigen, dass es in den Therapiegruppen mit *Repetitivem Frieren*, als auch *Einmaligem Frieren und SVC* während des Frierens im Abstand von 2 cm zur Kryosonde zu einem kompletten Sistieren der Mikrozirkulation und zu Temperaturen unterhalb von 0°C im Lebergewebe kam. Für die klinische Anwendung bedeutet dies, dass eine größtmögliche Homogenisierung durch Hypoxie und Ischämie mit nachfolgendem Zelltod durch Apoptose im Randbereich der Kryozone durch den Friermodus *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* erzielt werden kann. Weiter konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz des Medikaments Aprotinin der intra- und postoperative Leukozytenanstieg in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* geringer ausfiel, als in den übrigen Therapiegruppen und somit einen interessanten Ansatz darstellen könnte, septische Komplikationen während und nach Kryochirurgie der Leber abzuschwächen.

1.2 Abstract

1.1 The influence of selective vascular inflow occlusion on the cryolesion of liver in a porcine model

Liver metastases from colon carcinoma and primary liver cancer are not treatable in a numerous number of cases in conventional surgical resection of liver. Here opens hepatic cryotherapy new options of therapy. But there is still no agreement which freeze-thaw procedure is the best for tumor destruction. Further is problematic the intraoperative monitoring of the freezing zone specially on big tumor. Additionally it is obscure, whether there is any possibility to reduce well known complications of cryosurgery of liver like for instance thrombocytopenia and septic symptoms.

In the study you see here cryosurgery of liver happened with 30 pigs of the Suabian Hall strain in general anesthesia after median laparotomy with the cryosystem cryo 6 (Erbe, Tübingen, diameter of cryoprobe 3,2mm, -180°C). In the left liver lobe there were induced two cryolesions. The groups of trials were different in the kinds of freezing-thaw cycles: (i) A double freeze-thaw cycle of 7,5 min each (n=6), (ii) a single freeze-thaw cycle of 15-min (n=6), (iii) a single freeze-thaw cycle with selective vascular inflow occlusion (n=6), and (iiii) a single freeze-thaw cycle with intravenous aprotinin treatment. Further 6 pigs were used as a group of control. We measured intraoperatively the temperature of the liver in the periphery of the cryolesion. By Doppler-flowmeasurement we found out the microcirculatory relations in the tissue. Intra- and postoperatively blood samples were taken for hemostatic (creatinine, ASAT, ALAT, GGT, AP, LDH, CRP, electrolytes, hemoglobin concentration, blood cell counts) and coagulation (prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, antithrombin III, D-dimers, thrombin time) analysis. 7 days after cryosurgery the volume of the cryolesions was measured.

The cryosurgery induced in all groups of treatment a decrease of the platelet count compared with values in the beginning, but with no significant differences in the different groups. Further there was a significant increase of leucocytes, ASAT, ALAT, in each group while the observing. Further there were differences in the blood coagulation system. The analysis of the volume of the cryolesions showed a significant

greater area of cryolesion ($p < 0,05$) after selective inflow occlusion compared with cryosurgery with running blood circulation.

This study could show, that in a distance from 2cm to the cryoprobe a complete shutdown of the microvascular perfusion and temperatures lower than 0°C in the liver tissue happened in the trial groups double freezing and further single freezing with selective vascular inflow occlusion. For the clinical practice means this, that a most possible uniformity at the edge of the cryolesion can be reached by double freezing and single vascular inflow occlusion through ischemia and hypoxia with following apoptotic cell death. Further on the study showed the application of aprotinin had the consequence that the intra- and postoperative recruitment of leucocytes was smaller than in the other trial groups. This could be an interesting beginning to reduce septic complications during and after cryosurgery of the liver.

2 Einleitung und Fragestellung

2.1 Einleitung

Aufgabe der chirurgischen Forschung ist unter anderem, bereits bekannte Operationsverfahren im Hinblick auf sich verändernde Anforderungen kritisch zu beurteilen und zu verbessern. Sind keine Fortschritte mehr zu erzielen, müssen bei Bedarf neue Therapiemöglichkeiten gefunden werden.

In der Leberchirurgie erweitert die Kryotherapie seit einigen Jahren das Rüstzeug des Chirurgen. Erstmals wurde die Kryochirurgie der Leber 1973 klinisch eingesetzt [101]. Hierbei zeigte sich, dass dieses Verfahren eine sinnvolle Therapieoption bei ansonsten inkurablen Lebertumoren darstellte. In der Folgezeit etablierte sich die Kryochirurgie von primären Lebertumoren oder Metastasen zu einem anerkannten Therapieverfahren [57, 65, 72, 78]. Inwiefern Kryochirurgie der Leber zur Anwendung kommt und warum ihre Weiterentwicklung von Interesse ist, wird im folgenden dargestellt:

Der Goldstandard zur Therapie primärer Lebertumore und von Metastasen ist die chirurgische Resektion. Die Anzahl nicht resezierbarer Lebertumore jedoch ist hoch, dies gilt besonders für Metastasen kolorektaler Karzinome: Zwischen 60-90% aller Metastasen von kolorektalen Tumoren werden als nicht resektabel angegeben [1, 23, 74, 96]. Ob eine Resektion im Einzelfall durchführbar ist oder nicht, hängt von verschiedenen Faktoren ab: Kontraindikationen einer Leberresektion sind beispielsweise ein schlechter Allgemeinzustand oder eine unzureichende zu erwartende Restleberfunktion [11] des Patienten. Operationstechnische Gründe können ebenfalls für den Ausschluss eines Patienten von der chirurgischen Resektion sprechen. Verteilen sich die zu behandelnden Tumore auf beide Leberlappen, oder sind sie multifokal verteilt, gelingt eine radikale Tumorentfernung mit kurativem Ziel oft nicht. Eine Resektion kann technisch ebenfalls schwierig werden, wenn ein Lebertumor grosse Gefäße miteinbezieht und zudem weit zentral oder hilusnah liegt [1, 7, 23, 32].

Daher lohnt es sich in diesen Fällen, alternative Therapieverfahren einzusetzen, wenn aus onkologischer Sicht eine komplette Zerstörung des Tumors aussichtsreich erscheint. Ausschlaggebend für die weitere Untersuchung neuer Therapieverfahren sind folgende Überlegungen: In Fällen, in denen eine vollständige Entfernung kolorektaler Metastasen durch chirurgische Resektion möglich ist, führt dies zu einem rezidivfreien Langzeitüberleben von 20-25% der Patienten [23, 74]. Auch durch die Behandlung mit

Kryotherapie kann eine vollständige lokale Tumordestruktion in situ gelingen – bei Patienten mit saniertem Primärtumor ohne extrahepatische Metastasen oder solchen mit solitären primären Lebertumoren – sodass ebenfalls gute Ergebnisse in den ersten Jahren nach der Operation berichtet werden [1, 36, 65, 102]. Hinsichtlich der Fünf- und Zehnjahresüberlebensraten ist die Datenlage der Literatur noch nicht hinreichend. Ebenso unzureichend sind die Daten im Hinblick auf die optimale Methode zur lokalen Tumordestruktion in situ. Momentan stehen mehrere chemische und physikalische Methoden zur lokalen Tumordestruktion zur Verfügung:

- (1) Regionale Chemotherapie [45]
- (2) Alkoholinjektion (PEI) [43]
- (3) Hochfrequenzthermotherapie (HFTT) bzw. Radiofrequenztherapie (RFA) [14, 27, 44, 59]
- (4) Laserinduzierte Thermotherapie (LITT) [94, 95]
- (5) Kryotherapie

Die Ergebnisse der lokalen Chemotherapie und der PEI haben – mit Ausnahme der PEI bei hepatozellulären Karzinomen – gegenüber den anderen lokalablativen Verfahren deutlich schlechtere Ergebnisse gezeigt. So hat die Therapie von Lebertumoren mit lokaler Chemotherapie lediglich palliativen Charakter [1]. Des Weiteren ist es unmöglich bei der Therapie kolorektaler Metastasen mit der PEI einen exakten Sicherheitsrand zwischen abladiertem Tumormaterial und gesundem Lebergewebe einzuhalten [10].

Als lokal ablatives Verfahren ist die Kryotherapie das am längsten klinisch Etablierte, so dass deren Anwendung in der klinischen Routine bereits Einsatz gefunden hat [12, 36, 65, 90, 102]. Die zugrundeliegenden Pathomechanismen der Gewebsdestruktion sind jedoch noch nicht hinreichend untersucht. So herrscht zum Beispiel keine Einigkeit über den Einsatz bestimmter Therapieprotokolle hinsichtlich Frierzeit und Anwendung einzelner oder mehrerer Frierzyklen. Auch ist noch nicht untersucht, ob die Gabe spezieller Medikamente die Kryoläsion und Begleitkomplikationen während des Frierens günstig beeinflussen können. Zusätzlich ist unklar, wie sich eine temporäre Unterbrechung der Leberdurchblutung (Pringle-Manöver) während Kryochirurgie auf die Tumordestruktion auswirkt.

Leider liegen auch hinsichtlich therapieinduzierter Nebenwirkungen der lokalablativen Verfahren unzureichende Daten vor.

In klinischen und experimentellen Studien wird als systemische Nebenwirkung der Kryotherapie das Auftreten einer Thrombozytopenie berichtet [13, 25, 26, 61, 73]. In Kombination bei gleichzeitig möglicher Gerinnungsstörung, wie von weiteren Autoren berichtet, kann dies auch zu letalen Komplikationen führen [80]. Als schwerste Nebenwirkung gilt das sog. „Kryoschockphänomen“ [3, 57, 80, 86] unter dem Multiorganversagen mit schwerer Gerinnungsstörung und DIC (disseminierte intravasale Gerinnung) verstanden wird. Ziel der Forschung muss es daher sein, das bekannte Therapiekonzept bezüglich der Gewebsdestruktion und der zu erwartenden Nebenwirkungen zu optimieren.

2.2 Mechanismen der Zellestruktion durch Kälte

In vitro Versuche haben primäre und sekundäre Mechanismen für die Zerstörung von Zellen und Gewebe durch Kälte ergeben. Die frühen, also primären Effekte sind definiert als intra- und extrazelluläre Eiskristallbildung mit nachfolgender Zellnekrose [50]. Dazu kommt sekundär ein durch den Zusammenbruch der Mikrozirkulation mit nachfolgender Ischämie und Anoxie im Bereich der Kryoläsion entstehender Gewebsuntergang.

2.2.1 Extrazelluläre Eisbildung

Dieser, auch Lösungseffekt genannte, Mechanismus („solution effect“) wurde von Lovelock beschrieben [46]. Bis heute gilt der Lösungseffekt als einer der Hauptgründe für den Zelltod durch Frieren.

Bei der Bildung von extrazellulärem Eis wird der Extrazellulärlösung ein Teil ihres Lösungsmittels (H_2O) durch Eiskristallbildung entzogen. Im Extrazellulärraum steigt daher die Konzentration der verbleibenden löslichen Teile. Entlang dieses osmotischen Gradienten strömt freies intrazelluläres Wasser nach extrazellulär. Der Wasserverlust im Inneren der Zellen bewirkt eine Dehydratation. Ist ein Maximum an Dehydratation erreicht und steigt die Konzentration der extrazellulären Lösung weiterhin an, so diffundieren lösliche Teile aus dem Extrazellulärraum in das Zellinnere, um das osmotische Gleichgewicht aufrechtzuerhalten. Die letale Zellschädigung entsteht dann während des Auftauvorganges. Beim Auftauen bewirkt die osmotische Kraft der zusätzlich hineindiffundierten löslichen Teile einen erhöhten Wassereinstrom, der die

Zelle zum Platzen bringt. Der Lösungseffekt tritt solange auf, bis der eutektische¹ Punkt erreicht ist. Er wird für die Extrazellulärlösung mit -21°C angegeben [50, 58, 91]. Danach erstarrt das Gemenge aus Lösungsmittel und löslichen Teilen einheitlich. Durch Konzentrationsänderungen hervorgerufene Zellschäden treten ab diesem Punkt nicht mehr auf.

2.2.2 Intrazelluläre Eisbildung

Obwohl extrazelluläre Eisbildung immer zuerst stattfindet [2], wird auch intrazelluläre Eisbildung für die Zerstörung von Zellen verantwortlich gemacht. Sie tritt nur unter Bedingungen des sog. „supercoolings“ bei bereits vorhandenem extrazellulären Eis auf [6]. Bei hohen Gefrierzeiten reicht die Diffusionskapazität für Wasser nicht aus, um den entstehenden osmotischen Gradienten schnell genug auszugleichen. Anstatt in den Extrazellularraum zu diffundieren, bildet dann auch intrazelluläres Wasser bei ca. -5°C bis -15°C Eiskristalle („supercooling“). Grund für das späte Einfrieren intrazellulären Wassers bei Temperaturen weit unter dem Gefrierpunkt ist das Fehlen von Kristallisationskeimen im Inneren der Zelle [50]. Die nach intrazellulärer Eisbildung stattfindende Zerstörung wird -verglichen mit extrazellulärer - als größer beschrieben [49].

2.2.3 Einflüsse der Gefrierzeit auf die Zellzerstörung

Als Gefrierzeit wird der Abfall der Temperatur pro Zeiteinheit bezeichnet. Sie wird zum Beispiel in Grad Celsius pro Minute angegeben. Bei zunehmender Gefrierzeit ändert sich das Ausmaß der Zellzerstörung:

- (1) Zunächst findet extrazelluläre Eisbildung statt (siehe 2.2.1). Zwischen -4°C und dem eutektischen Punkt der extrazellulären Flüssigkeit [50, 58, 91] tritt der sog. Lösungseffekt auf. Die Zellen werden während des Tausens zerstört.
- (2) Bei einem weiteren Anstieg der Gefrierzeit ist die Zeit für die Einstellung des Gleichgewichts reduziert. Dadurch wird die durch den Lösungseffekt hervorgerufene Zerstörung geringer.
- (3) Steigt die Gefrierzeit weiter, bildet sich intrazelluläres Eis (siehe 2.2.2). Das Ausmaß der Zerstörung steigt wieder.

¹ eutektischer Punkt: Niedrigster Erstarrungspunkt einer Mischung aus zwei oder mehreren Stoffen.

Ist der eutektische Punkt erreicht, erstarrt das Gemenge einheitlich.

In Diagramm 1.1 ist diese Beziehung grafisch dargestellt.

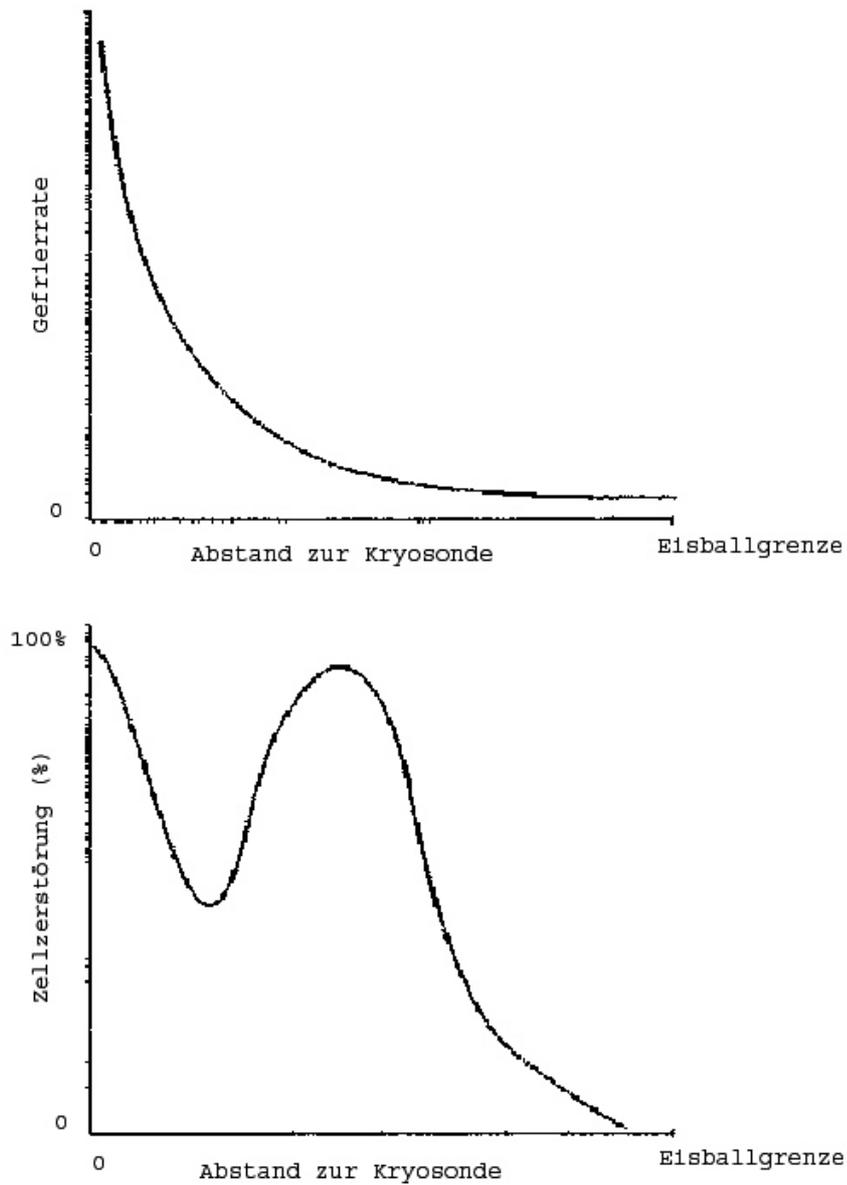


Diagramm 1.1 Einfluß der Gefriertrate auf die Zellzerstörung [58]

Der Zeitpunkt des Auftretens dieser einzelnen Phänomene bei einer bestimmten Gefriertrate ist abhängig von der Art des zu behandelnden Gewebes [6, 50].

2.2.4 Mikrozirkulationsstörungen

In vivo Versuche haben gezeigt, daß auch an Stellen, an denen unter oben genannten Bedingungen (2.2.1-2.2.3) keine vollständige Zellzerstörung zu erwarten ist (Diagramm 1.1), nach 48h komplette Nekrosen auftraten. Erklärt wird dies durch den Zusammenbruch der Mikrozirkulation am Ort der Kryoläsion, welcher zu einer zellulären Anoxie führt. Diese Anoxie in den Stunden nach der Kryotherapie führt zu sekundärer Zellnekrose [24, 71, 76]. Der Zusammenbruch der Mikrozirkulation hat folgende Gründe: Zellmembranen gelten als natürliche Barriere für die Eisbildung. Die Eisfront breitet sich daher nicht allein nach dem Temperaturgradienten aus, sondern vorzugsweise innerhalb der Gefäße. Das während des Friervorgangs aus den Zellen ausströmende Wasser (siehe 3.2.1) gefriert im Inneren der Gefäße und bringt diese so zum Platzen.

2.3 Fragestellung

2.3.1 Effektivität der Kryotherapie

Zur Sicherung der Effektivität der Kryotherapie werden weltweit verschiedene Protokolle verwandt. Die Protokolle variieren hierbei hinsichtlich der Dauer und Anzahl der Frierzyklen. Es wird von einer besseren Wirksamkeit der Kryotherapie nach wiederholten Frier-/Tauzyklen ausgegangen [22, 24]. In dieser Studie sollte die Effektivität der Kryotherapie bei ein und zwei Frier-/Tauzyklen bestimmt werden. Die Auswirkung von aufrechterhaltenem bzw. sistiertem Blutfluß durch die Leber auf die Effektivität wurde ebenfalls untersucht. Grund dafür ist die von einigen Autoren beschriebene Herabsetzung der Frierleistung durch vorbeifließendes warmes Blut, der sog. „heat sink“-Effekt [47, 55, 85, 98]. Darüber hinaus wurde geprüft, inwieweit das Medikament Aprotinin, ein Fibrinogeninhibitor, die Kryodestruktion und die Nebenwirkung der Thrombopenie beeinflusst.

2.3.2 Monitoring der Kryoläsionen

Um die Effektivität der Kryotherapie im klinischen Einsatz sicher überprüfen und auch vorhersagen zu können, kommen intraoperative Monitoringverfahren zum Einsatz. Neben bildgebenden Verfahren (CT, Ultraschall, NMR) verwenden einige Autoren die

intraparenchymale Temperaturmessung während der Kryotherapie [4, 20, 81]. Die Auswertung laboranalytischer Daten zum Monitoring der Kryotherapie ist ebenso gebräuchlich [13, 25, 26].

Zum Einsatz kommen in dieser Studie sowohl Temperaturmessung als auch die Analyse verschiedener Laborparameter. Die Objektivierung der Läsionsgröße und die Beurteilung der entstandenen Nekrose wird durch die makroskopische pathologische Untersuchung der Schweinelebern nach Obduktion vorgenommen.

Zusätzlich wurde, um die Makrohämodynamik des Lebergewebes zu erfassen, der Fluss von Vena portae und Arteria hepatica intraoperativ bestimmt. Die Dokumentation der Mikrohämodynamik des Lebergewebes wurden ebenfalls während des gesamten Eingriffs erfasst.

Da das Monitoring der Frierzone problematisch ist, sollte in dieser Studie geprüft werden, durch welche der in den vorherigen zwei Abschnitten dargestellten Methoden die Grösse der Kryonekrose schon intraoperativ möglichst genau vorherbestimmt werden kann. Im allgemeinen ist es schwierig, von der intraoperativ bestimmten Eisballgrösse durch Ultraschall exakte Vorhersagen auf die Grösse der dann später entstehenden Kryonekrose machen zu können, insbesondere bei grösseren Tumoren [39, 40].

2.3.3 Komplikationen und Nebenwirkungen bei Kryotherapie der Leber

Als bekannte Nebenwirkung der Kryotherapie der Leber gelten Thrombozytopenie und Gerinnungsstörung. Ebenso müssen sowohl lokale Komplikationen wie Blutung, Einrisse der Leberkapsel (sog. „Crackings“), Gallefisteln oder Abszesse als auch systemische Risiken der Kryotherapie wie z. B. eine Beeinträchtigung der Leberfunktion, akutes Nierenversagen durch Zellzerfall oder das Auftreten des „Kryoschock“-Phänomens in Betracht gezogen werden [3, 57, 80, 86]. Wir wollten in dieser Studie herausfinden, ob und wie die durch Kryochirurgie hervorgerufenen Nebenwirkungen bei effektiver Gewebsdestruktion reduziert werden können.

3 Material und Methoden

3.1 Allgemeine Projektvorstellung der Arbeitsgruppe

Die vorliegende Arbeit war Teil einer umfangreichen tierexperimentellen Studie zum Thema Kryotherapie der Leber und der dadurch bedingten Thrombozytopenie. Im Rahmen der Versuche arbeiteten zwei Chirurgen, ein Nuklearmediziner, dessen Arbeitsbeitrag jedoch Gegenstand einer weiteren Dissertationsarbeit ist, eine Laborassistentin und zwei Tierpfleger. Die eigenen Untersuchungen im Rahmen der Promotionsarbeit beziehen sich auf die OP- Durchführung (mit Anästhesie), Mikro- und Makroperfusionsmessungen der Durchblutung des Lebergewebes, die postoperative Überwachung der Tiere, die regelmäßig prä-, intra- und postoperativ durchgeführten Blutentnahmen (3.3.4) sowie die makroskopische Pathologie.

3.2 Kryogerät und Kryosonde

3.2.1 Kryogerät

Bei allen Versuchen wurde das ERBE CRYO 6 System verwendet (Erbe Elektromedizin GmbH, Tübingen) (Abb.3.1). Das Gerät nutzt flüssigen Stickstoff (N_2) als Kryogen.

Der flüssige Stickstoff wird aus einem im Gerät befindlichen Tank mittels einer Pumpe durch die Kryosonden gepumpt. Es lassen sich bis zu sechs Kryosonden gleichzeitig betreiben. In der in der vorliegenden Studie verwendeten Versuchsanordnung wurde jeweils nur eine Kryosonde eingesetzt.

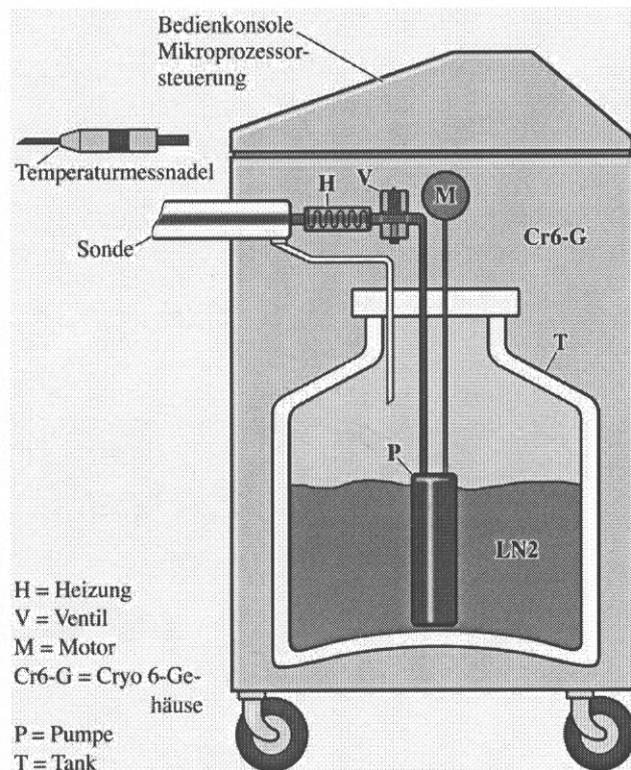


Abb. 3.1

Prinzipskizze Erbe Cryo 6. Aus: Bedienungsanleitung und Informationsmaterial zu Erbe Cryo 6 (Fa. Erbe Elektromedizin, Tübingen)

3.2.2 Kryosonde

Die Kryosonde besteht aus Anschluß, zuführendem Schlauch und der eigentlichen Kryosonde, deren Durchmesser 3,2mm beträgt, die Gesamtlänge ohne Handgriff beträgt 220mm. Die Frierzone befindet sich an der Spitze der Kryosonde und ist 30mm lang. In ihrem Inneren besteht die Sonde aus 3 Lumina: (von innen nach außen)

- (1) Lumen zur Zuführung des Stickstoffs
- (2) Lumen zur Abführung des verbrauchten (erwärmten) Stickstoffs
- (3) evakuiertes Lumen zur Vakuumisolation der Sonde

Desweiteren existiert eine Zuleitung zum Thermosensor an der Spitze der Sonde. Im Bereich der Frierzone (30mm) ist die Sonde nicht vakuumisoliert. Durch sie zirkuliert Stickstoff. Die Oberfläche der Frierzone (Mantelfläche $[M= 2 \pi r h]$ der nichtisolierten Kryosondenspitze) beträgt 301,6mm² (Abb.3.3).

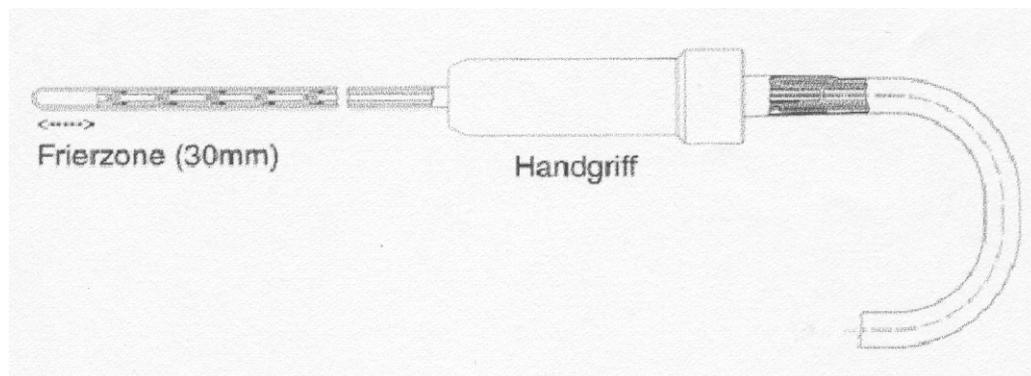


Abb.3.2 Kryosonde

Aus: Bedienungsanleitung und Informationsmaterial zu Erbe Cryo 6 (Fa. Erbe Elektromedizin, Tübingen)

3.3 Tierexperimente

3.3.1 Versuchstierhaltung

Alle Tierversuche wurden nach den Bestimmungen des deutschen Tierschutzgesetzes und bei vorliegender Genehmigung der zuständigen Behörde durchgeführt. Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurden 30 Schwäbisch-Hallesche Landschweine einer regional ansässigen Schweinezucht verwandt. Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug bei Versuchsbeginn bei $25,0 \pm 0,5$ kg. Die Tiere befanden sich während des Versuchs in der Versuchstierhaltung der Abteilung für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar (Direktor: Prof. Dr. med. M. D. Menger, Tierschutzbeauftragte Frau Dr. med. vet. Frings). Mit Ausnahme der perioperativen Phase erfolgte die Ernährung mit Standardfutter (Raiffeisen, Köln). Zur Operationsvorbereitung erhielten die Tiere einen Tag präoperativ nur Wasser.

3.3.2 Prämedikation und Narkose

Die intramuskuläre Prämedikation erfolgte am Op-Tag mit 10 mg/kg KG Azaperon (Stresnil[®]; Janssen, Neuss) und 10 mg/kg KG Methomidate Hydrochlorid (Hypnodyl[®]; Janssen, Neuss). Zur Narkoseeinleitung wurde 1 mg/kg KG Etomidate (Hypnomidate[®], Janssen, Neuss) über einen peripheren venösen Zugang in eine Ohrvene injiziert.

Die Vena anonyma wurde von oberhalb des Manubrium sterni her punktiert und ein zentraler Venenkatheter (Certofix[®]; B. Braun, Melsungen) bis in die V. cava superior vorgeschoben.

Die Tiere wurden mit einem 7 - Charriere Tubus in Rückenlage oral intubiert und während der Operation kontinuierlich beatmet (Siemens Elena 900D).

Zur Entlastung des Magens wurde eine grosslumige Magensonde gelegt.

Die balancierte Narkose während der Operation wurde mit einer Infusion von 2 bis 4 mg/kg KG/h Thiopenthal Natrium (Trapanal[®]; Byk Gulden, Konstanz), gelöst in isotonischer NaCl-Lösung (Delta Pharma, Pfullingen) aufrechterhalten. Die mittlere Narkosedauer betrug $130 \pm 4,5$ min. Die Beatmung des Schweins erfolgte mit einem $F_i O_2$ von 0,30 bei einem Atemzugvolumen von 10 ml/kg KG und einer Frequenz von $f = 12$ /min. Intraoperativ wurden diese Parameter zur Aufrechterhaltung physiologischer Verhältnisse individuell angepasst. Der dabei angestrebte $EtCO_2$ betrug 30 bis 38 mmHg. Das Tier unterlag dabei einer ständigen Überwachung durch ein Dreikanal - EKG (Siemens SC 700). Des weiteren erfolgten vor der ersten und zweiten

Kryochirurgie jeweils eine Blutgasanalyse (Chiron Diagnostics 348; Chiron Diagnostics, East Walpol, MA, USA).

Zur Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution führte man auf Körpertemperatur vorgewärmte Ringerlaktatlösung (B. Braun, Melsungen) und 0,9% NaCl nach Bedarf intravenös zu (10 bis 20 ml/kg KG/h). Als perioperative Antibiotikaprophylaxe dienten 1000mg Ampicillin und 500 mg Sulbactam (Unacid[®] 1,5g; Pfizer, Karlsruhe).

Zum Operationsende wurde die Narkose durch Umstellung des Respirators von CMV-Beatmung (controlled mechanical ventilation) auf CPAP-Beatmung (continuous positive airway pressure = druckunterstützt) ausgeleitet. Bei ausreichender Spontanatmung, Wiedereintreten des Schluck- und Hustenreflexes und entsprechender Kontrollphase bei einem FiO₂ von 0,21 wurde das Schwein extubiert.

3.3.3 Operationsdurchführung

Das Tier wurde in Rückenlage gegen zu starkes Auskühlen auf einer elektrischen Heizmatte auf dem OP-Tisch gelagert und an den Extremitäten fixiert. Die Bauchhaut wurde rasiert und mit wässriger Povidon-Jod-Lösung (Braunol[®]; B. Braun Melsungen) desinfiziert. Alle Eingriffe erfolgten unter aseptischen Bedingungen. Für die Operation wurden Instrumente benutzt, die auch bei der humanen Bauch- und Leberchirurgie eingesetzt werden. Das Versuchstier wurde median laparotomiert. Es folgte ein schichtweises Eröffnen der Bauchdecke unter elektrischer Blutstillung (Elektrotom ACC 300; Erbe Elektromedizin, Tübingen). Die Darstellung des Situs erfolgte nach Einbringen eines Rahmens und Mobilisation des Dünndarmes, welcher in der Folgezeit durch Bauchtücher geschützt wurde. Mittels anschließender Präparation des Ligamentum hepatoduodenale folgte das Freilegen von Vena portae und Arteria hepatica propria, um perivaskulär jeweils eine Ultraschallflussmesssonde (4RB; Transonic Systems, Ithaca, NY, USA) an den beiden Gefäßen anzubringen. Die Flussmessköpfe wurden mit Ultraschallgel bedeckt und mit einem Ultraschallvolumenflussmessgerät (T 206; Transonic Systems) konnektiert. Danach wurden der linke mittlere und der linke seitliche Leberlappen mobilisiert, um nacheinander zwei Kryotherapiezyklen im linken Leberlappen durchzuführen. Hierfür wurde eine 3,2 mm im Durchmesser betragende Kryosonde (Erbe Elektromedizin, Tübingen) mit dem Kryosystem (Cryo 6, Erbe) verbunden und in der Leber des Versuchstieres platziert. Zur Temperaturerfassung wurden zusätzlich zur Kryosonde

zwei Thermoelemente (Erbe) in ein und zwei cm Entfernung zur Kryosonde ins Lebergewebe eingebracht. Die Mikrozirkulationsmessung des Lebergewebes wurde gewährleistet durch zwei auf die Leber gesetzte Flachsonden des Systems O2C (LEA Medizintechnik GmbH, Gießen). Nun folgte der erste Frierzyklus im linken seitlichen Leberlappen bei einer Temperatur der Kryosondenspitze von $-168\text{ }^{\circ}\text{C}$ und anschliessendem passivem Auftauen. Nach Entfernen der Sonde wurden Blutungen aus den Stichkanälen der Sonde mit PDS 3-0 (Ethicon Norderstedt) übernäht. Ebenso wurden beim Tauvorgang auftretenden Leberkapseleinrisse, sogenannte Crackings [73, 80, 96] versorgt. 15 bis 60 Minuten lang wurde eine Erholungsphase gewährleistet, bevor der zweiten Frierzyklus im linken mittlerem Leberlappen durchgeführt wurde.

Am Ende des Eingriffs erfolgte die Entfernung aller Messsonden, und nach Prüfung auf Bluttrockenheit der schichtweise Verschluss der Bauchdecke: Zuerst fortlaufende Naht von Peritoneum und Muskelfaszie mit Vicryl 1 (Ethicon Norderstedt), dann fortlaufende Subkutannaht mit Vicryl 2-0 (Ethicon Norderstedt) und abschließend Zutackern der Haut mit einem Klammergerät.

Um den ZVK sicher zu fixieren, wurde von der Einstichstelle am Hals bis hinter das rechte Ohr die Haut bis nach subkutan inzidiert und der ZVK im Subcutangewebe mit Einzelknopf-Nähten fixiert Vicryl 3-0 (Ethicon Norderstedt), anschliessend wurde das Hautareal zugeklammert. Zum Schluss wurden die Wunden mit einem wasserdampfpermeablen Sprühverband (Smith and Nephew GmbH Medical Division, Lohfelden) abgedeckt.

3.3.4 Nachbeobachtung

Nach Operationsende wurden die Tiere zur weiteren Nachbeobachtung, Infusionstherapie und Wärmeverabreichung mit einem Heizstrahler in einer speziell für diesen Zweck angefertigten Holzkiste gehalten. Dieses Vorgehen war nötig, da in den Stallungen wegen des zu grossen Bewegungsspielraums dies nicht hätte gewährleistet werden können.

Endgültig in die Einzelboxen des Stalles wurden die Schweine ab 8 Stunden postoperativer Nachbetreuungsphase entlassen. Hier erfolgte die tägliche Visite zur postoperativen Wundkontrolle und Blutentnahme.

3.3.5 Kryotherapiemethoden

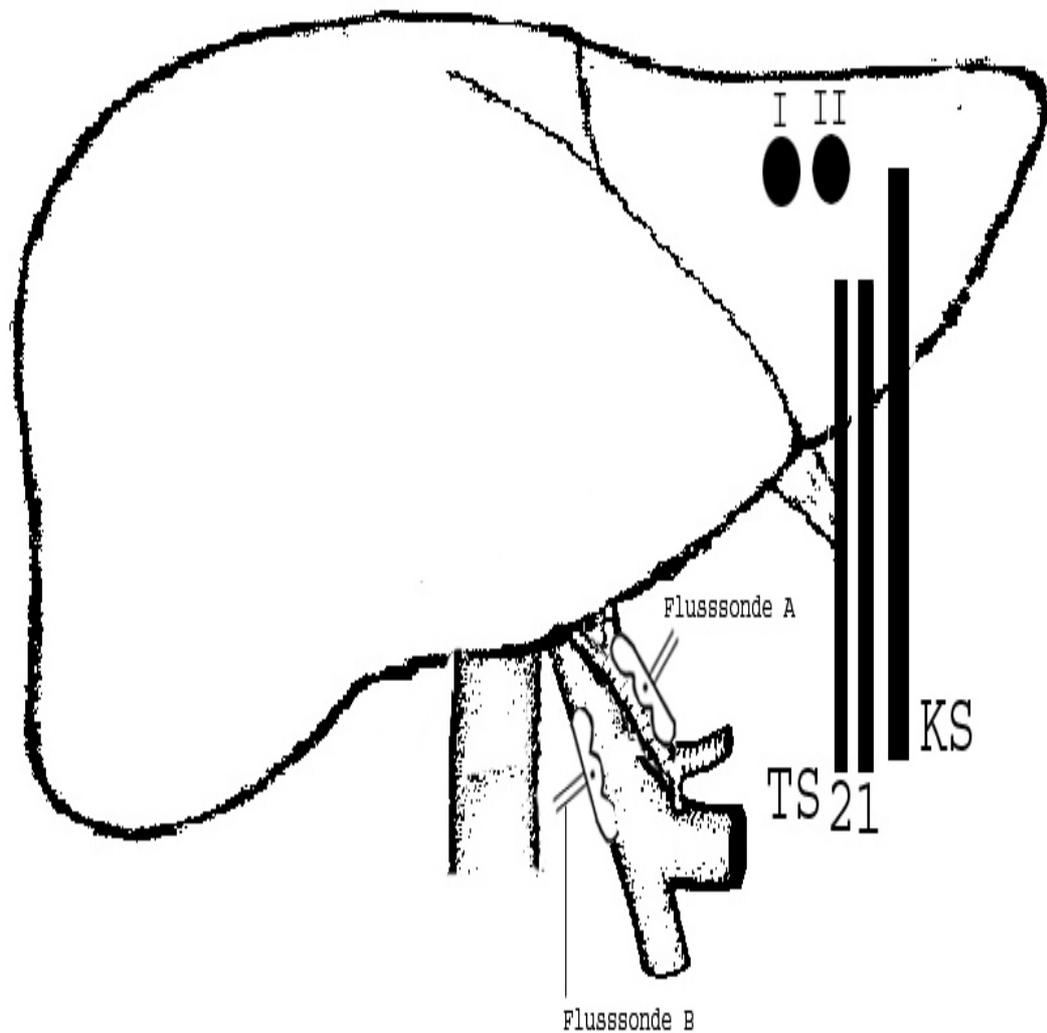


Abb. 3.3: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus: Intraoperative Platzierung der Kryosonde (Ks) mit Temperatursonden (TS) 1 und 2, Mikrohämodynamikmessung durch Sonden (I, II) im Lebergewebe, Makrohämodynamikmessung durch Flusssonde A fixiert an A. hepatica propria und Flusssonde B fixiert an V.portae.

Das Temperaturmonitoring erfolgte jeweils kontinuierlich an der Spitze der Kryosonde und über zwei Thermoelemente mit 200 Mikrometer Durchmesser im jeweils definierten Sondenabstand von 10 und 20 mm.

Die lokale Mikrohämodynamik des Lebergewebes wurde permanent durch das O2C-System (LEA) in 2 und 8 mm Eindringtiefe im Lebergewebe erfasst, wobei eine Sonde in unmittelbarer Nähe der zu erwartenden Kryoläsion, die andere im peripheren Bereich des betreffenden Leberlappens platziert wurde.

Die Makrohämodynamik der Leber wurde über jeweils eine Ultraschallflussmesssonde an Arteria hepatica propria und Vena portae ständig bestimmt.

3.3.6 Beschreibung der Gruppeneinteilungen und des Versuchsablaufs

Gruppe Kontrolle: Diese Tiere dienten als *Kontrolle* (Sham-Operation). Hier wurde ein ZVK zur regelmässigen Blutentnahmen gelegt. Es erfolgte eine Laparotomie, danach die Präparation des ligamentum hepatoduodenale mit Freilegung der Vena portae und der Arteria hepatica propria und nachfolgender Mobilisation des linken mittleren und seitlichen Leberlappens, jedoch keine Kryotherapie, anschliessend wieder der Bauchdeckenverschluss.

Für alle anderen Gruppen wurde entsprechend dem jeweiligen Frierprotokoll, welches auf den nachfolgenden Seiten graphisch dargestellt ist, eine Läsion im linken mittleren und linken seitlichen Leberlappen durchgeführt.

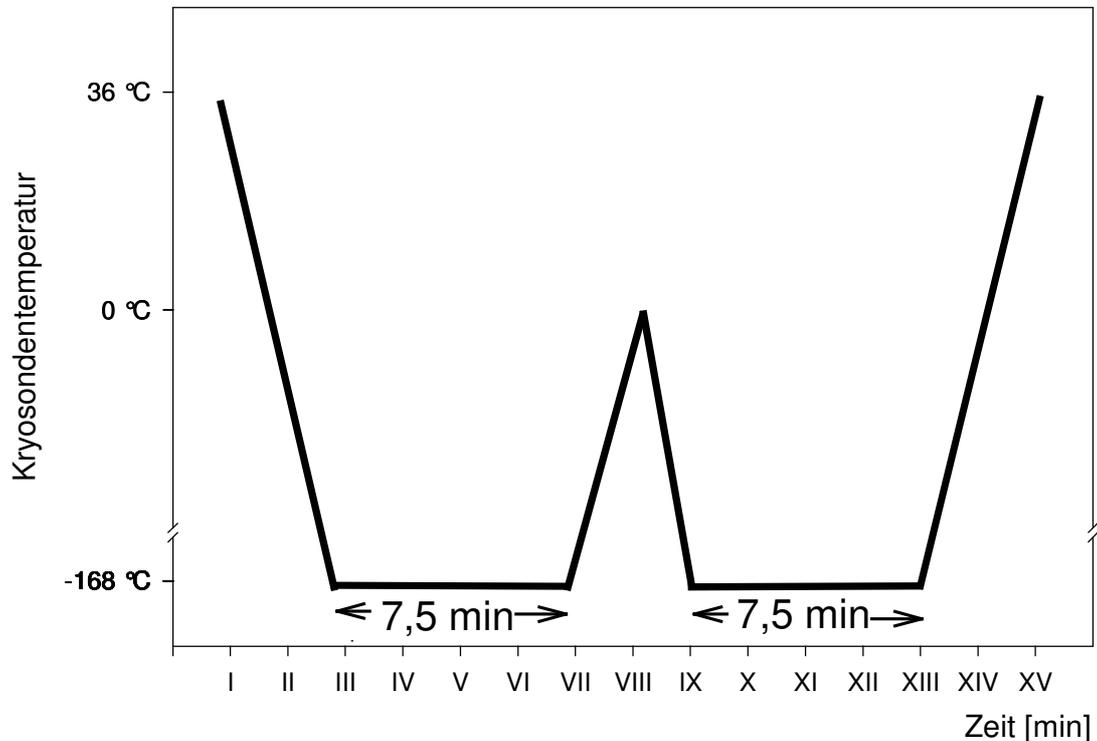
An den jeweiligen Messzeitpunkten erfolgte die Dokumentation von:

- Kryosondentemperatur
- Temperatur Thermoelement 1 und 2
- Fluss A. hepatica propria und V. portae
- Herzfrequenz

Gruppe *Kontrolle*: Sham OP:

Vorgehensweise der OP wie unter 3.3.6 Absatz 1 beschrieben, im Gegensatz zu den Kryotherapiegruppen ohne Sondenplatzierung.

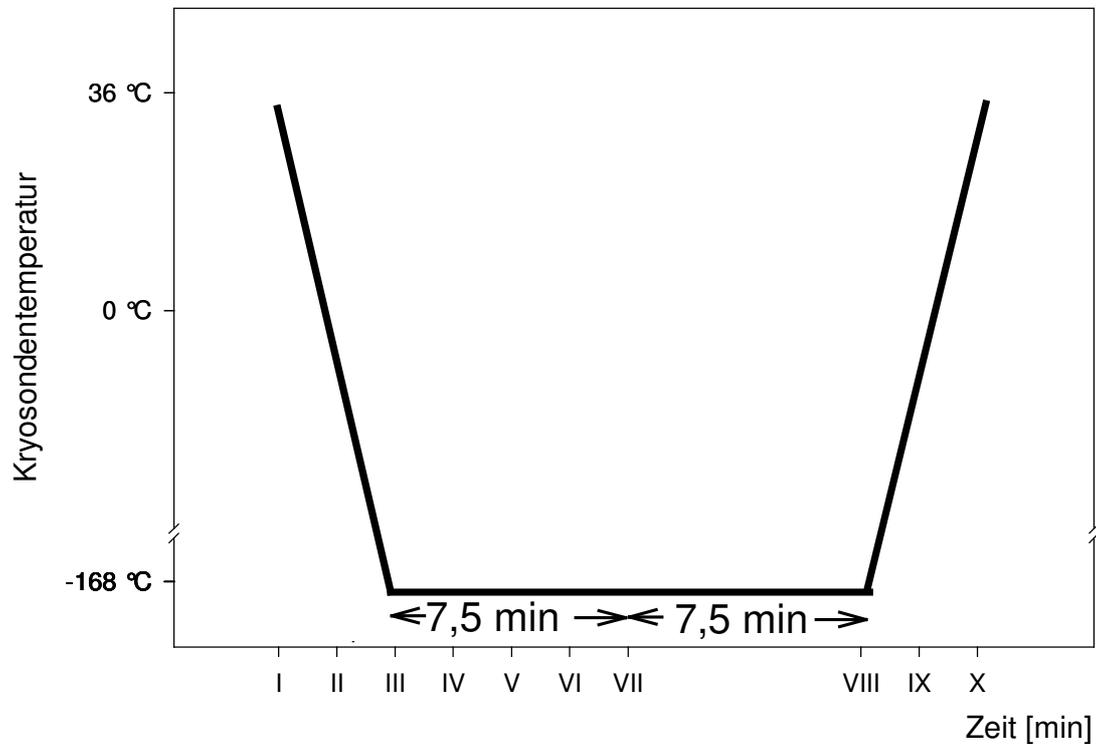
Gruppe Repetitives Frieren : 2 x 7,5min wiederholtes Frieren:



- Messpunkt I: Beginn des Frierens bei Temperatur des Lebergewebes von 30°C
- Messpunkt II: Erreichen von 0°C
- Messpunkt III: Erreichen des Sollwerts der Frieretemperatur von -168°C
- Messpunkt IV: 2min Frieren bei -168°C
- Messpunkt V: 4min Frieren bei -168°C
- Messpunkt VI: 6min Frieren bei -168°C
- Messpunkt VII: Nach 7,5min Frieren bei -168°C passives Auftauen
- Messpunkt VIII: Erreichen von 0°C und erneuter Beginn des Frierens
- Messpunkt IX: Wiedererreichen des Sollwerts der Frieretemperatur von -168°C
- Messpunkt X: 2min Frieren bei -168°C
- Messpunkt XI: 4min Frieren bei -168°C
- Messpunkt XII 6min Frieren bei -168°C
- Messpunkt XIII: Nach 7,5min Frieren bei -168°C passives Auftauen
- Messpunkt XIV: Erreichen von 0°C

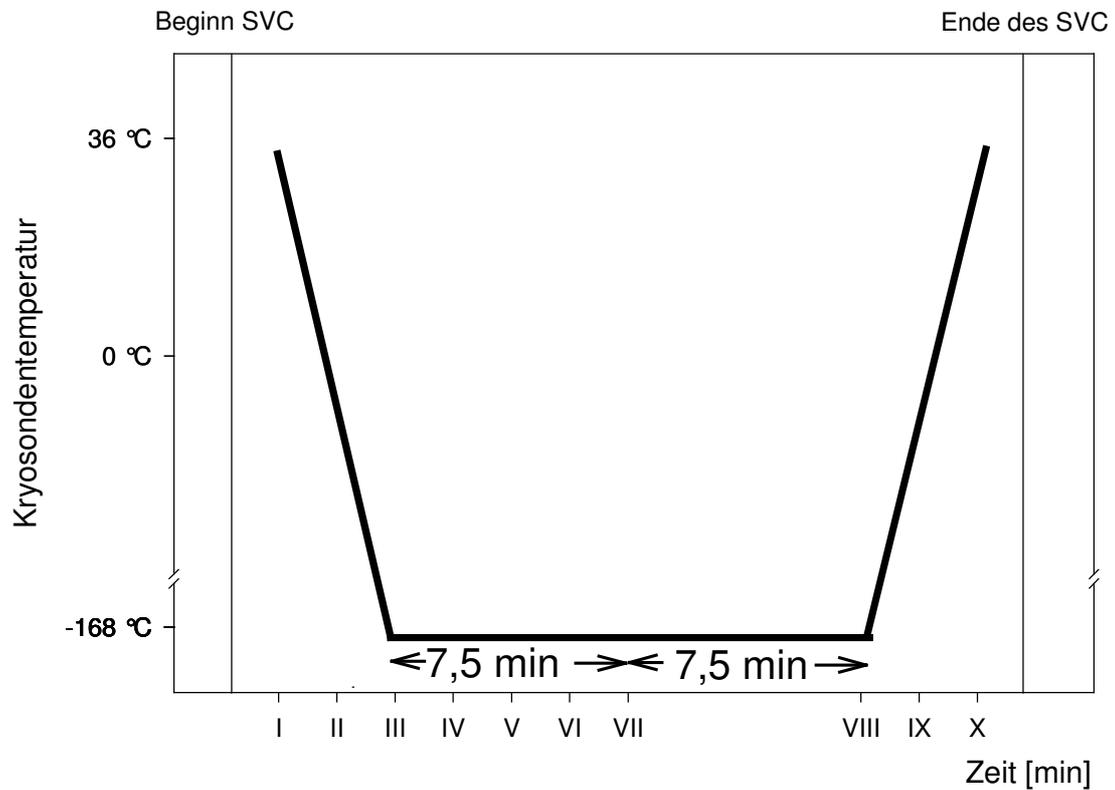
- Messpunkt XV: Erreichen von 30°C der Leber

Gruppe *Einmaliges Frieren*: 15min Frieren:



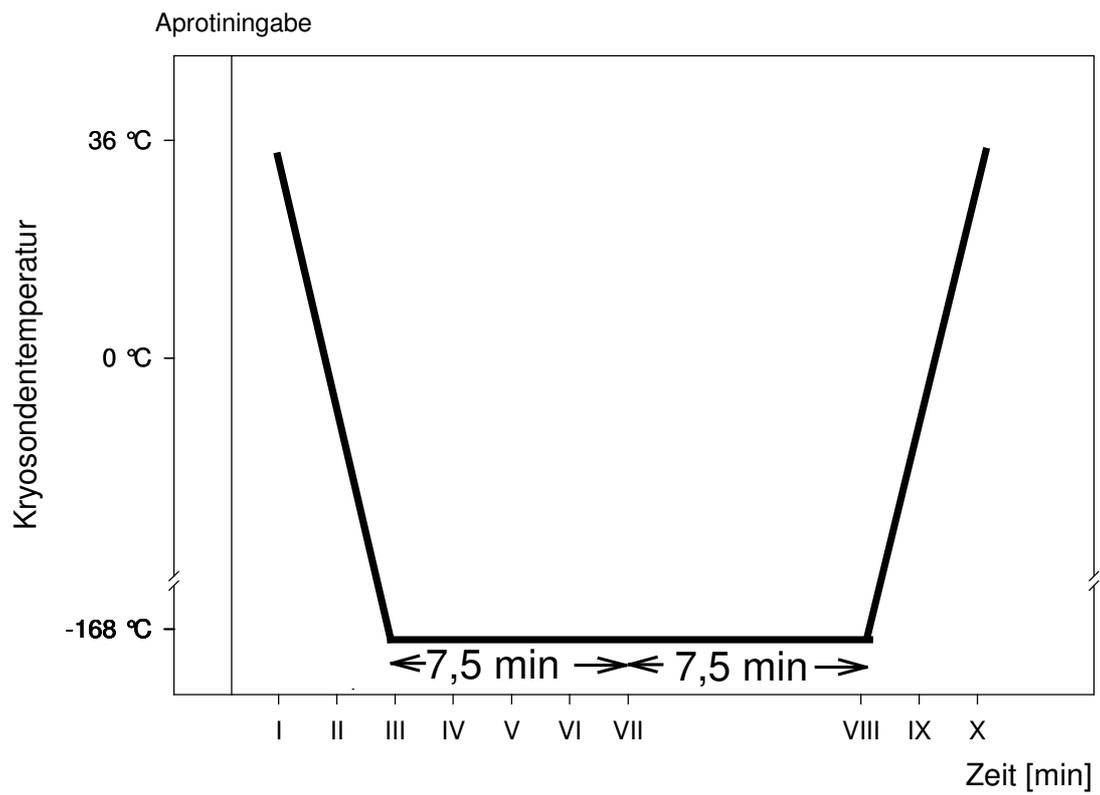
- Messpunkt I: Beginn des Frierens bei Temperatur des Lebergewebes von 30°C
- Messpunkt II: Erreichen von 0°C
- Messpunkt III: : Erreichen des Sollwerts der Frieretemperatur von -168°C
- Messpunkt IV : 2min Frieren bei -168°C
- Messpunkt V: 4min Frieren bei -168°C
- Messpunkt VI: 6min Frieren bei -168°C
- Messpunkt VII: 7,5min Frieren und Umschalten des Kryogeräts auf Temperatur halten („holding“, Reduktion der Frierleistung des Erbe Cryo 6 von **** auf *)
- Messpunkt VIII: Nach zusätzlichen 7,5min Temperatur holding bei -168°C passives Auftauen
- Messpunkt IX: Erreichen von 0°C
- Messpunkt X: Erreichen von 30°C der Leber

Gruppe: Einmaliges Frieren mit selektiven vaskulären Clamping (SVC) des linken Leberlappens: 15min Frieren



Das Frierprotokoll ist identisch zur Gruppe *Einmaliges Frieren*

Gruppe *Einmaliges Frieren und präoperative Gabe von Aprotinin: 15min Frieren*



Das Frierprotokoll ist identisch zur Gruppe *Einmaliges Frieren*

3.3.7 SVC und Aprotinin

Um die Einflüsse von zirkulierendem Blut auf die Kryotherapie zu beurteilen, wurden die Tiere aus der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* unter Abklemmung der zum linken Leberlappen führenden Gefäße kryotherapiert. Im Gegensatz zu einer kompletten Okklusion des Ligamentum hepatoduodenale, dem sog. Pringle-Manöver [61] wurde ein Selektives Vaskuläres Clamping (=SVC) des linken Leberlappens durchgeführt, um den venösen Abfluss über die mesenteriale Strombahn während des gewählten Zeitraums nicht zu stark zu beeinträchtigen. Mit einer Overholtklemme wurden Mersilenebändchen sowohl um den linken Ast der V. portae als auch um die A. hepatica sinister gelegt. Bis zum Beginn der Kryotherapie blieben die Tourniquets geöffnet, so dass die Durchblutung des linken Leberlappens nicht beeinträchtigt war. SVC wurde unmittelbar vor Beginn der Kryotherapie ausgeführt. Die Durchblutungsunterbrechung für jede Kryoläsion betrug eine Stunde.

Die Tiere aus der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* erhielten zusätzlich zur Kryotherapie 70 mg Aprotinin = 500000 Kallikrein inaktivierende Einheiten (Trasylol® 500000 KIE; Bayer AG, Leverkusen). Direkt vor Beginn der Laparotomie wurde ein intravenöser Bolus verabreicht. Über einem Zeitraum vom 3 h folgte diesem die restliche Gabe der 500000 KIE durch kontinuierliche Infusion mit einem Infusomat (Braun Infusomat Secura; B. Braun, Melsungen).

3.3.8 Todeszeitpunkt und Euthanasie

Am Ende des Versuchs (7 Tage nach der Operation) wurden die Schweine nach sedativer Prämedikation mit 0,1 mg/kg Kg Midazolam (Dormicum®, Roche, Grenzach-Whylen) und anschließender Barbituratnarkose mit 35mg/kg KG Narcoren® (Merial, Hallbergmoos) durch 2mmol/kg KG KCL i.v. (Kaliumchlorid-Braun®) in tiefer Narkose euthanasiert.

3.3.9 Obduktion

Nach Tötung der Tiere wurden diese in Rückenlage relaparotomiert und die Bauchhöhle inspiziert. Die Leber wurde nach Durchtrennen der Leberpforte sowie aller fixierenden Bandstrukturen in toto entnommen. Nach Begutachtung der Leber und Auffinden der

Kryoläsionen im linken Leberlappen wurde dieser lamelliert und die Grösse der Läsionen vermessen.

3.4 Untersuchte Parameter

3.4.1 Mikrozirkulation der Leber

Mit Hilfe der Geräts O2C (LEA, Giessen) wurden die Durchblutungsgrößen im Lebergewebe durch Laserlicht bestimmt. Die hier verwendeten Geschwindigkeitsmessungen des Blutes beruhen auf dem Doppler – Effekt. Licht wird von einem bewegten Erythrozyten in Abhängigkeit von dessen Geschwindigkeit verschoben. Die Geschwindigkeitsverteilung aller Erythrozyten in einem Messvolumen wird aus der Frequenzverschiebung bestimmt, in Relation zu dem Laserlicht, das in das Gewebe eingestrahlt wird. Ermittelt wurden:

- der relative Blutfluss (Volumen / Zeiteinheit) [Arbitrary Units]
- die Blutfliessgeschwindigkeit (Strecke / Zeiteinheit) [Arbitrary Units]

Die Bezeichnung Arbitrary Units (arb. Units) als Einheit für den Blutfluss und die Blutfliessgeschwindigkeitwerte bedeutet virtuelle Einheiten.

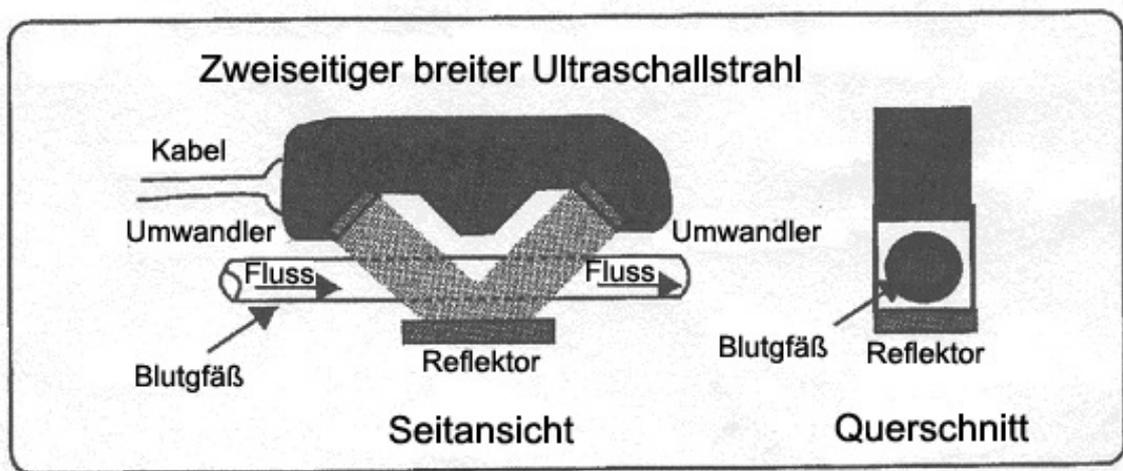
Der Grund für die Einführung von Arbitrary Units für Blutflusswerte liegt in der Entstehung der Werte. Die gemessenen Signale für den Blutfluss sind elektrische Grössen aus Frequenzen und Amplituden, so dass sich als Einheit eine Kombination aus elektrischen Einheiten ergeben würde. Üblicherweise wird für den Blutfluss deshalb eine Einheit eingeführt, die virtuell benannt werden kann.

Das Gerät ist als Zweikanalsystem aufgebaut und ermöglicht die Bestimmung der Durchblutungsgrößen in unterschiedlichen Gewebetiefen. Mit Kanal 1 wurden die oberflächennahen Durchblutungswerte der Leber in 2 mm Eindringtiefe ermittelt. Kanal 2 erfasste die Werte der Durchblutung in 8mm Lebergewebetiefe. Intraoperativ wurden zwei runde Flachsonden mit 14 mm Durchmesser wie im Kapitel 3.2.5 skizziert direkt auf der Schweineleber fixiert. Die Messwerte wurden über ein Zeitfenster von 20 sec zu den jeweiligen Zeitpunkten gemittelt.

3.4.2 Perfusion von Arteria hepatica und Vena portae

Die Makrozirkulation der oben genannten Gefäße wurde über ein Flussmessgerät (M 206) und Flusssonden der Firma Transonic (Ithaca NY, USA) ermittelt.

Schematische Darstellung des perivaskulären Ultraschallvolumenflussmesskopfes:



Mit Hilfe eines breiten Ultraschallstrahls senden zwei Umwandler abwechselnd Ultraschallsignale in und gegen die Flussrichtung der vorbeiströmenden Flüssigkeit (hier des Blutes) aus, die von den Ultraschallstrahlen durchkreuzt wird. Der angeschlossene Flussmesser erhält so ein exaktes Maß der Durchlaufzeit, die die Ultraschallwelle benötigt, um vom einen Umwandler zum anderen zu gelangen. Die Differenz zwischen den gegen und mit dem Blutfluss benötigten Durchgangszeiten der Ultraschallstrahlen ergibt ein exaktes Maß für den Volumenfluss der vorbeiströmenden Flüssigkeit.

3.4.3 Laborparameter

Gewinnung der Proben:

Über den in der Vena cava liegenden zentralen Venenkatheter wurde den Tieren zu folgenden Zeitpunkten Blut in zwei Serum-, einer EDTA- und einer Citratmonovette (Sarstedt, Nümbrecht) abgenommen:

- Präoperativ vor Eröffnen der Bauchhöhle
- Zwischen ersten und zweiten Kryotherapiezyklus
- Eine halbe Stunde nach Kryotherapie
- Eine Stunde nach Kryotherapie
- Drei Stunden nach Kryotherapie
- 6 Stunden nach Kryotherapie
- 24 Stunden nach Kryotherapie
- Jeden Tag einmal bis zum 7. postoperativem Tag

Für die Blutentnahmen über den ZVK mussten die Tiere je nach Bedarf mit bis zu 2mg Dormicum[®] i. v. sediert werden. Nach der Blutentnahme wurden 0,6 ml Heparin in den ZVK instilliert, um eine Thrombosebildung am ZVK zu vermeiden.

Untersuchte Parameter:

- | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| 1. Leukozyten | 7. Alanin-Aminotrasferase (ALAT) |
| 2. Erythrozyten | 8. Gammaglutamyltrasferase (GGT) |
| 3. Hämoglobin | 9. Alkalische Phosphatase (AP) |
| 4. Thrombozyten | 10. Laktatdehydrogenase (LDH) |
| 5. Kreatinin | 11. C-reaktives Protein (CRP) |
| 6. Aspartat-Aminotransferase (ASAT) | |

Gerinnungsparameter:

- | | |
|---|-----------------------|
| 12. Thromboplastinzeit (Quick) | 15. Antithrombin III |
| 13. Aktivierte Partielle Thromboplastinzeit (PTT) | 16. D-Dimere |
| 14. Fibrinogen | 17. Thrombinzeit (TZ) |

3.4.4 Grösse der Kryoläsionen

Nach Lamellierung der Leber wurde die Grösse der Kryoläsionen durch drei senkrecht aufeinanderstehende Durchmesser (d_1 , d_2 , d_3) bestimmt. Die Volumina der Läsionen wurden wie folgt berechnet: $V = \frac{3}{4} \pi (d_1/2) (d_2/2) (d_3/2)$

3.5 Laborchemische Methoden

3.5.1 Bestimmung des Blutbildes:

Die Hämoglobinwerte, die Erythrozytenzahlen, die Leukozytenzahlen und die Thrombozytenzahlen wurden vollautomatisch am Gerät Cell-DYN[®] 3500 SL bestimmt (Abbott Diagnostika Wiesbaden).

3.5.2 Bestimmung der Elektrolyte

Natrium und Kalium wurden mit Hilfe der Methode Ionenselektive Elektrode am Gerät Modular (Roche Diagnostics, Mannheim) in der Laborroutine des klinischen Zentrallabors der Chirurgischen Universitätsklinik Homburg mitbestimmt.

Für die im folgenden genannten Bestimmungen wurden die jeweiligen Test-Kombinations-Sets der Firma Roche Diagnostics Mannheim verwendet. Die Bestimmungen erfolgten an dem Analysegerät Geräts 717 der Firma Roche/Hitachi. Im einzelnen handelte es sich um folgende Bestimmungen:

3.5.3 Bestimmung des Kreatininwerts:

Das Kreatinin im Serum wurde nach einer von Bartels et al modifizierten Jaffe'-Methode ermittelt: Die Kreatininkonzentration wurde photometrisch gemessen.

3.5.4 Bestimmung der ASAT- (Aspartat-Aminotransferase) Aktivität:

Die ASAT Konzentration im Serum erfolgte mittels eines UV-Tests nach einer standardisierten Methode (AST IFCC mit Pyridoxalphosphataktivierung).

3.5.5 Bestimmung der ALAT- (Alanin-Aminotransferase) Aktivität:

Das Testprinzip beruht auf einem UV-Test nach einer standardisierten Methode. (HiCo ALT IFCC ohne/mit Pyridoxalphosphataktivierung).

3.5.6 Bestimmung der GGT- (Gamma-Glutamyl-Transferase) Aktivität:

Sie erfolgte nach einer standardisierten Methode von Persijin und van der Slik.

3.5.7 Bestimmung der AP- (alkalische Phosphatase) Aktivität:

Testprinzip: Farbtest nach einer standardisierten Methode (ALP IFCC liquid).

3.5.8 Bestimmung der Laktatdehydrogenase- (LDH) Aktivität:

Testprinzip: UV- Testmethode nach Empfehlung der International Federation of Clinical Chemistry (LDH IFCC flüssig).

3.5.9 Bestimmung des C- reaktiven Proteins (CRP):

Messprinzip: Immunologischer Trübungstest

Beim Mischen einer Probe mit Antikörper enthaltendem Puffer bindet der CRP-Antikörper spezifisch an das in der Probe enthaltene CRP, wobei es zur Bildung von unlöslichen Aggregaten kommt, welche die Probe trüben. Der Trübungsgrad kann optisch bestimmt werden und ist proportional der Menge CRP in der Probe. (CRP-HS[®], Wako Chemicals, GmbH, Neuss).

3.5.10 Bestimmung der Gerinnungsparameter:

Nach Abzentrifugieren bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten und Abpipettieren des Citratblutes wurden die Proben sofort nach Blutentnahme bei -70° C tiefgefroren, um zu einem späteren Zeitpunkt die Werte der einzelnen Parameter im Labor für Gerinnung und Hämostaseologie der chirurgischen Universitätskliniken Homburg bestimmen zu lassen. Folgende Parameter wurden vollautomatisch am Autoanalyser (BCS[®] Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) ermittelt:

Bestimmung der Thromboplastinzeit (Quick):

Sie erfolgte mit dem Test Dade[®] Innovin[®] (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg). Die Thromboplastinzeit in % wurde anhand eines frischen Normalplasmapools kalibriert.

Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (PTT):

Sie erfolgte mit dem Test Dade[®] Actin[®] FS Reagenz (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg).

Bestimmung des Fibrinogenkonzentration:

Sie erfolgte nach der abgeleiteten Fibrinogenmethode: Die während der Fibrinbildung auftretende maximale Trübung wurde bestimmt. Die Trübungsmessung erfolgte im Anschluss an die Thromboplastinzeitbestimmung. (Dade[®] Innovin[®], Dade Behring Marburg GmbH, Marburg).

Bestimmung des Antithrombin III:

Sie erfolgte photometrisch mit dem kommerziellen Testsystem Berichrom Antithrombin III (A), (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg).

Bestimmung der D-Dimere:

Sie erfolgte mit dem kommerziellen D-Dimer Plus Testsystem, das zu einer Trübung der Probe führt (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg).

Thrombinzeit

Die Bestimmung der Thrombinzeit erfolgte manuell am KC-10 Koagulometer (Amelung GmbH, Lemgo) mit dem STA[®] Thrombin Reagenz (Roche-Diagnostica Stago, Roche, Mannheim).

4 Ergebnisse

4.1 Operation und Überleben der Versuchstiere

4.1.1 Intraoperativer Verlauf

Alle 30 Schweine überlebten die Operation. Bei einem Schwein aus der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* wurde im Rahmen der Narkoseeinleitung ein Arrhythmie beobachtet, die durch Defibrillation behandelt wurde (s.u. 4.1.2). Massive Probleme oder Blutungen, die zum Abbruch der Operation führten, blieben aus. Respiratorische Probleme oder klinische Zeichen einer Hypothermie traten nicht auf.

4.1.2 Intraoperative Komplikationen

Es kam bei allen Tieren während und nach der Kryotherapie zu sogenannten „Crackings“. Gelegentlich dehnten sich diese bis auf die Leberoberfläche aus. Durch rasches Übernähren wurde dieses Problem der Leberkapselseinrisse beherrscht. Bei einem Schwein aus der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* wurde nach Narkoseeinleitung und ZVK Anlage Kammerflimmern festgestellt. Durch einmaliges Defibrillieren mit 240 Joule war der Sinusrhythmus der Herzaktion wieder hergestellt. Bei einem Schwein aus der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* kam es durch eine Fehllage des ZVK zu einem Serothorax rechts. Daraufhin wurden zwei Liter Flüssigkeit aus diesem Areal abpunktiert und die Fehllage des ZVK korrigiert.

4.1.3 Postoperativer Verlauf

Alle Tiere wurden nach Beendigung der Operation bei suffizienter Spontanatmung extubiert und für 6 h überwacht.

Für die Blutentnahmen über den ZVK mussten die Tiere je nach Bedarf mit bis zu 2mg Dormicum® i. v. sediert werden. Danach wurde der ZVK mit 0,6 ml Heparin gefüllt. Darüber hinaus wurde den Schweinen keine zusätzlichen Medikamente verabreicht. Spätestens 4 h nach der Operation wurde Spontanurin produziert. Mit Ausnahme von einem Schwein aus der Gruppe *Kontrolle* und zwei Schweinen aus der Gruppe *Repetitives Frieren* waren 24 h später normale Nahrungsaufnahme und Defäkation möglich. Komplikationen wie Leberversagen, Blutungen, Wundheilungsstörungen, Peritonitis oder Gallelecks blieben aus.

4.1.4 Postoperative Komplikationen

Nach der Operation wurden Komplikationen bei Tieren aus folgenden Therapiegruppen festgestellt:

Gruppe *Kontrolle*:

Ein Schwein dieser Gruppe wurde mit Exitus letalis am 1. POD aufgefunden. Die Obduktion ergab keinen Hinweis auf die Todesursache. Deshalb wurde angenommen, dass durch zu frühes Entlassen des Schweins in den Stall ein Narkoseüberhang für den Todeseintritt ausschlaggebend war.

Gruppe *Repetitives Frieren*:

Ein Schwein dieser Gruppe wurde mit Exitus letalis am 5. POD aufgefunden. Die Obduktion ergab als Todesursache einen hohen Dünndarmileus.

Ein weiteres Schwein dieser Gruppe wurde mit Fasziendehiszenz im Laparotomiegebiet am 2. POD aufgefunden. Diese wurde problemlos in Kurznarkose revidiert.

Gruppe *Einmaliges Frieren, Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*:

Keine Komplikationen.

4.2 Mikrozirkulation der Leber

Gruppe *Repetitives Frieren*

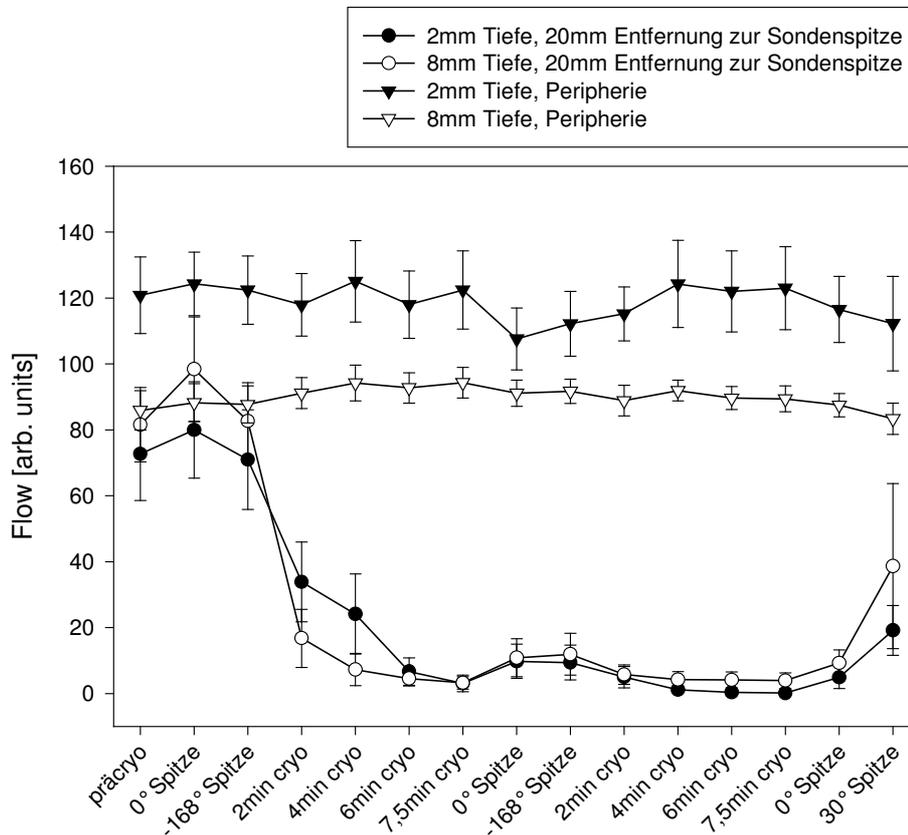


Abb. 4.1:

Flow: Hepatische Mikrohäemodynamik (Flow) bei *Repetitivem Frieren* von 2 x 7,5 min. Schwarze Kreise: Flow in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Flow in 8 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Flow in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Flow in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Abstand zur Kryosonde kam es zu einem Anstieg des Blutflusses bis zum ersten Erreichen von 0°C. Nach 7,5 min Kryotherapie wurde ein kompletter Stillstand des Blutflusses in 2 und 8 mm Gewebstiefe erreicht.

In der Peripherie kam es zum Absinken der Mikroperfusion (Flow) von 120 auf 100 arb. Units in 2 mm Gewebstiefe nach 7,5 min Frieren und Erreichen von 0°C. Nach weiteren 7,5 min Frieren stieg die Perfusion an und sank auf 100 arb. Units in dieser Gewebstiefe.

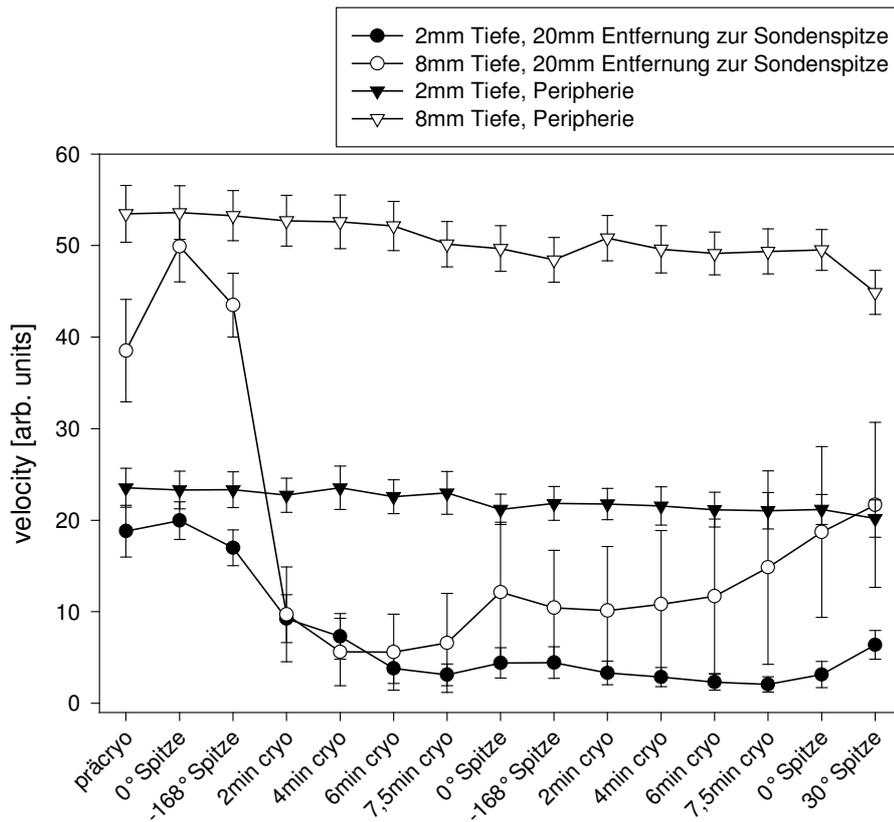


Abb. 4.2:

Velocity: Hepatische Mikrohämdynamik (Velocity) bei *Repetitivem Frieren* von 2 x 7,5 min. Schwarze Kreise: Velocity in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Velocity in 8 mm Tiefe und und 20mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Velocity in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Velocity in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Entfernung zur Kryosonde kam es zu einem Absinken der Fließgeschwindigkeit bis auf 0 arbitrary Units nach 6 min Kryotherapie in 2 mm Gewebstiefe. Dieser Perfusionsstillstand blieb bis zum Therapieende in 2 mm Tiefe bestehen.

In 20 mm Abstand zur Sonde und 8 mm Tiefe kam es nach 4 min Kryotherapie zur Reduktion der Fließgeschwindigkeit von 40 arbitrary Units auf 5 arbitrary Units. Danach kam es zum Wiederanstieg der Fliessgeschwindigkeit bis auf 25 arb. Units bei 30°C Sondentemperatur.

In der Peripherie kam es zu einem geringen Absinken der Fließgeschwindigkeit in 2 und 8 mm Gewebstiefe bis zum Erreichen von 30°C Sondentemperatur.

Gruppe *Einmaliges Frieren*

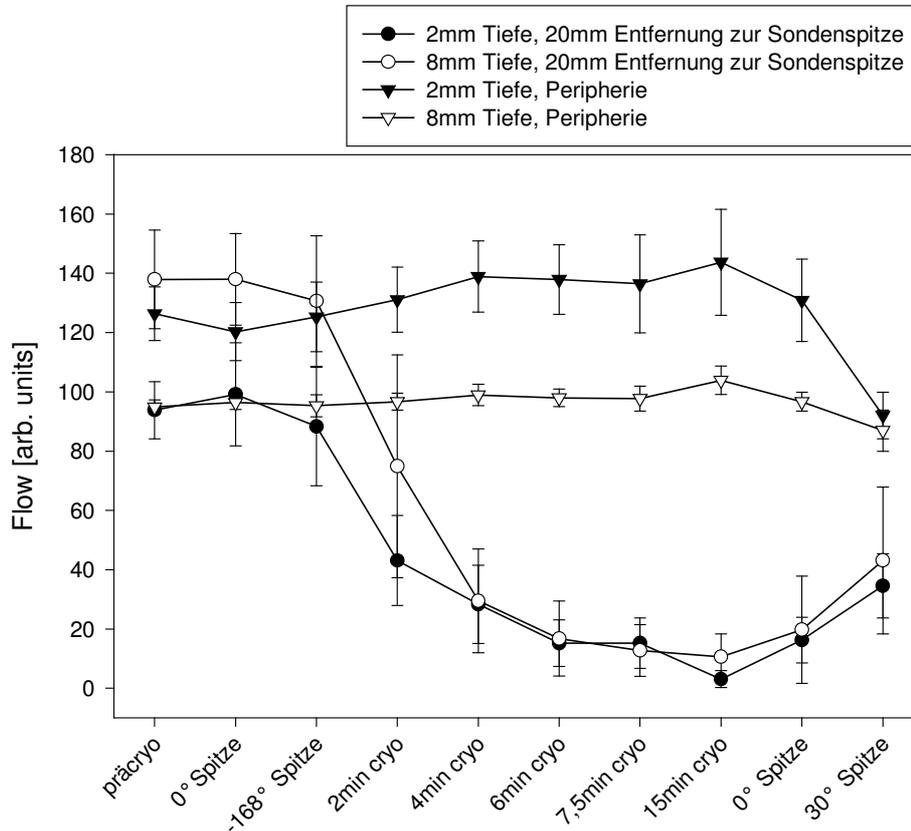


Abb. 4.3:

Flow: Hepatische Mikrohämodynamik (Flow) bei *Einmaligem Frieren* von 15 min. Schwarze Kreise: Flow in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Flow in 8 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Flow in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Flow in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Abstand zur Sonde kam es zu einer kontinuierlichen Reduktion der Mikroperfusion in 2 und 8 mm Lebergewebstiefe. Es kam zu keinem völligen Sistieren des Blutflusses nach 15 min Therapie.

In der Peripherie reduzierte sich in 2 mm Gewebstiefe der Blutfluss von 130 arbitrary Units bei Therapiebeginn auf 100 arb. Units bei 30°C Sondentemperatur. In 8 mm Gewebstiefe kam es zum geringen Absinken des Blutflusses bis Therapieende.

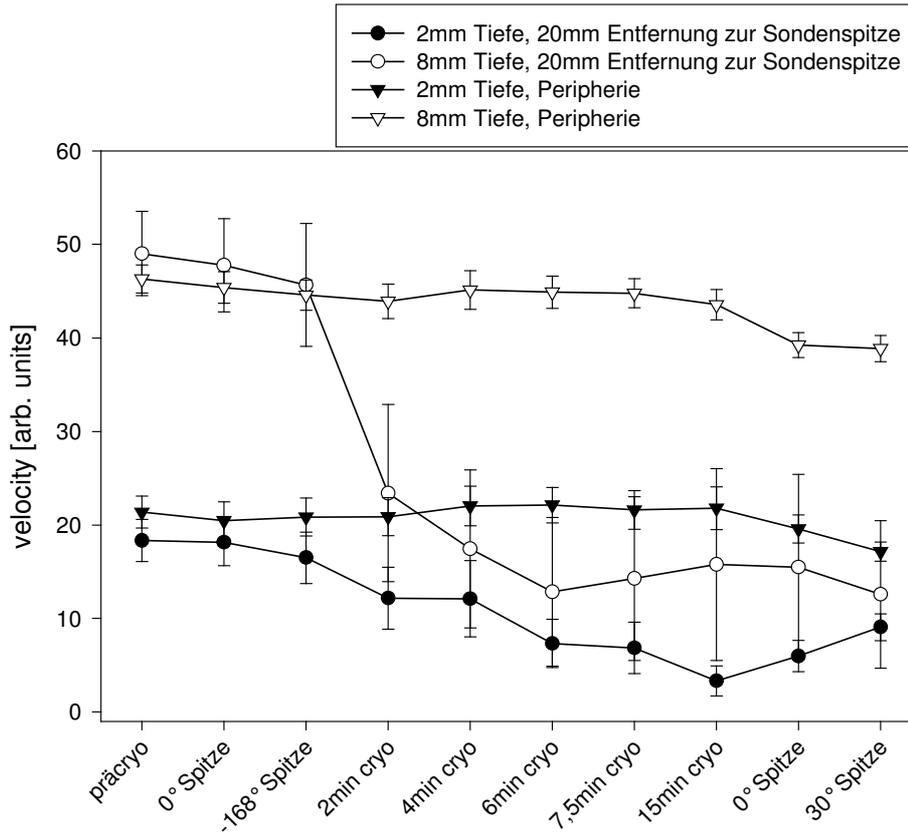


Abb. 4.4:

Velocity: Hepatische Mikrohämdynamik (Velocity) bei *Einmaligem Frieren* von 15 min. Schwarze Kreise: Velocity in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Velocity in 8 mm Tiefe und und 20mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Velocity in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Velocity in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Sondenabstand reduzierte sich die Fließgeschwindigkeit von 18 arb. Units bis auf 5 arb. Units in 2 mm Gewebstiefe. In 8 mm Lebergewebstiefe ging die Fließgeschwindigkeit von 50 arb. Units auf 12 arb. Units bei 30°C Sondentemperatur zurück.

In der Peripherie kam es zum geringen Rückgang der Fliessgeschwindigkeit in 2 und 8 mm Gewebstiefe während der Kryotherapie.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*

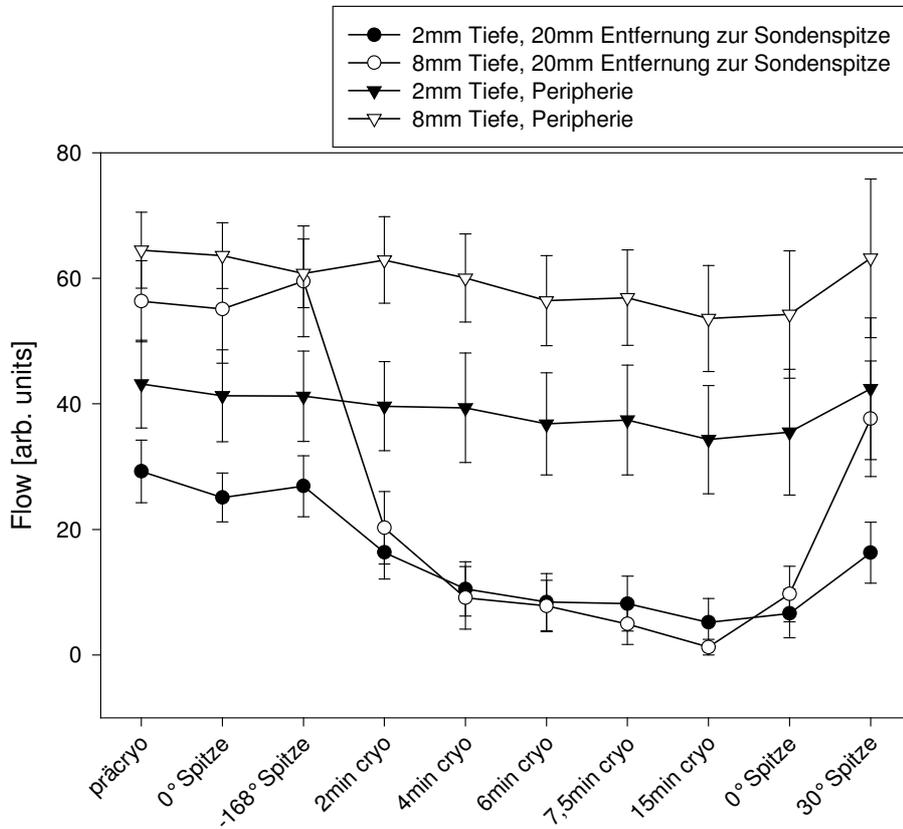


Abb. 4.5:

Flow: Hepatische Mikrohämodynamik (Flow) bei *Einmaligem Frieren und SVC* von 15 min. Schwarze Kreise: Flow in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Flow in 8 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Flow in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Flow in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Abstand zur Kryosonde kam es zum völligen Sistieren des Blutflusses nach 7,5 min Kryotherapie in 2 und 8 mm Lebergewebstiefe.

In der Peripherie reduzierte sich der Blutfluss in geringem Masse bis Therapieende in 2 und 8 mm Gewebstiefe.

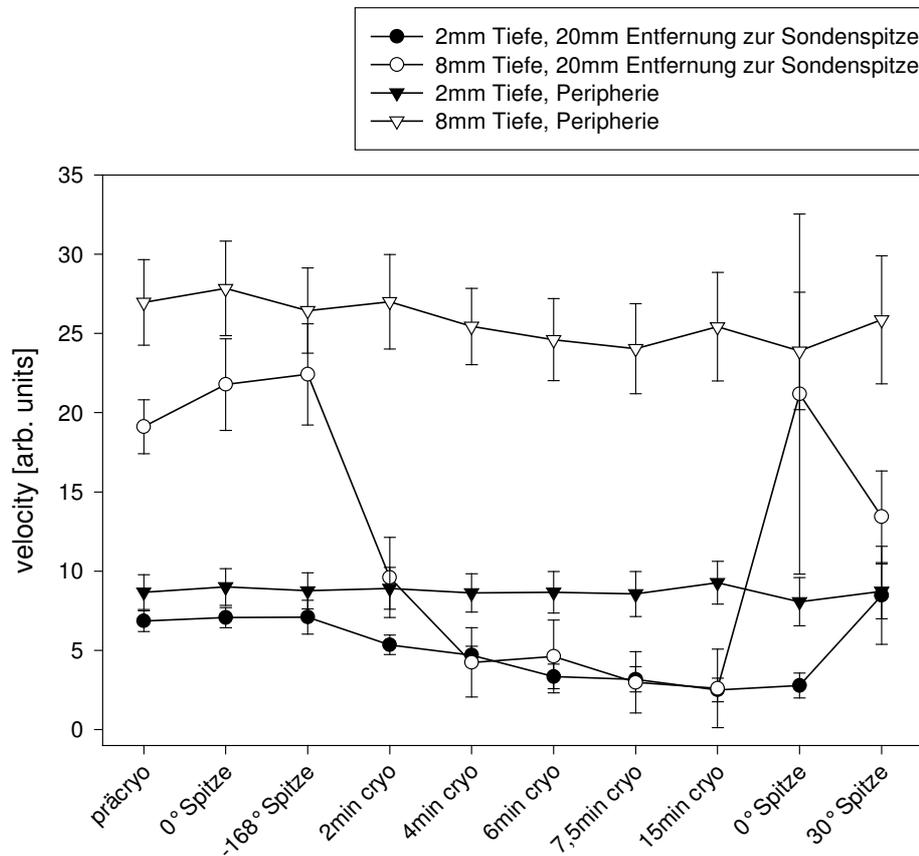


Abb. 4.6:

Velocity: Hepatische Mikrohämodynamik (Velocity) bei *Einmaligem Frieren und SVC* von 15 min. Schwarze Kreise: Velocity in 2 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units, weisse Kreise: Velocity in 8 mm Tiefe und und 20 mm Entfernung zur Sondenspitze in arbitrary Units. Schwarze Dreiecke: Velocity in 2 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units, weisse Dreiecke: Velocity in 8 mm Tiefe in der Peripherie in arbitrary Units.

Mittelwert \pm SEM

In 20 mm Sondenentfernung reduzierte sich die Fliessgeschwindigkeit in 2 und 8 mm Gewebstiefe nach 4 min Therapie auf Werte nahe bei 0 arbitrary Units bis zum Zeitpunkt 15 min Kryotherapie.

In der Peripherie kam es zum geringen Rückgang der Fliessgeschwindigkeit in 2 und 8 mm Gewebstiefe ab Therapiebeginn bis zum Therapieende.

4.3 Makrozirkulation der Leber

Gruppe *Repetitives Frieren*:

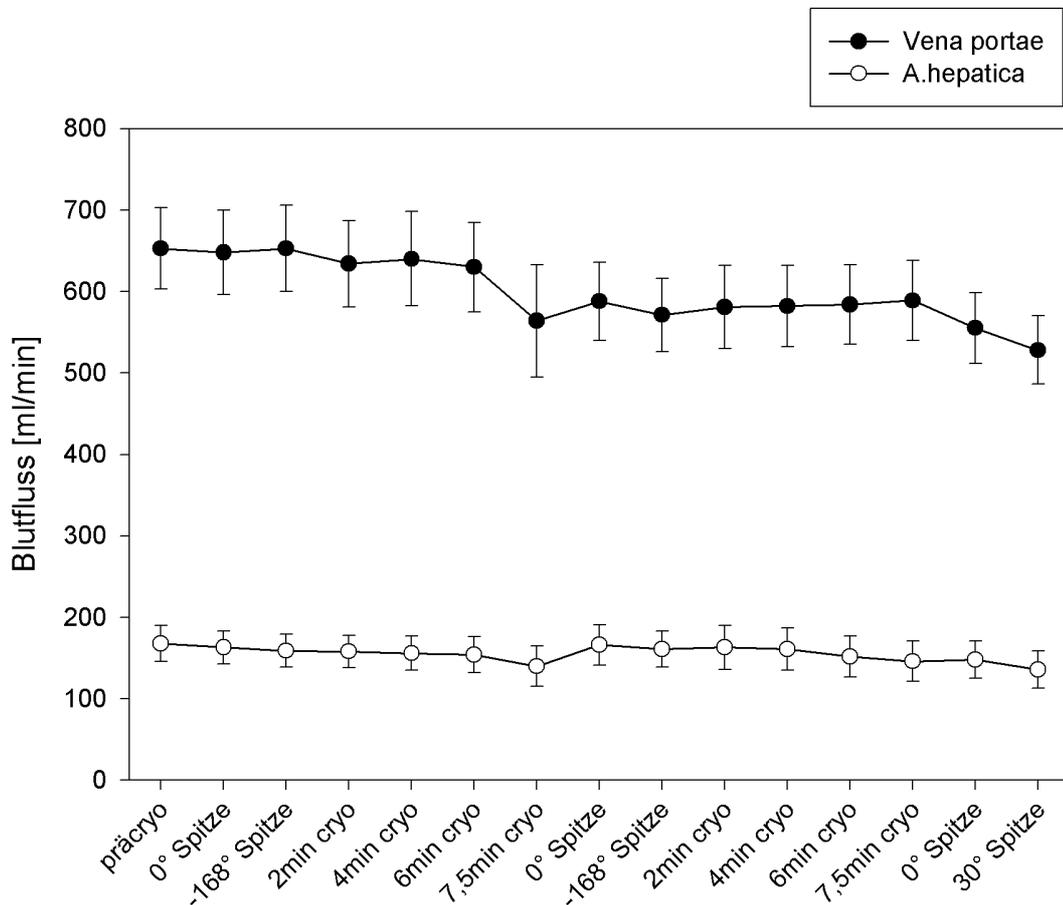


Abb. 4.7:

Hepatische Makrohämodynamik bei *Repetitivem Frieren* von 2 x 7,5 min. Schwarze Kreise: Blutfluss V. portae in ml/min. Weisse Kreise: Blutfluss A. hepatica in ml/min.

Mittelwert \pm SEM

Der Fluss von Vena portae fiel nach 7,5 min Frieren von 750 ml/min auf 580 ml/min, stieg dann auf 600 ml/min und betrug nach Therapieende noch 520 ml/min.

Während der Kryotherapie fiel der Fluss von A. hepatica innerhalb der ersten 7,5 min Frierens von 180 ml/min auf 140 ml/min, stieg dann wieder auf den Ausgangswert an und sank bis zum Therapieende auf 120 ml/min.

Gruppe *Einmaliges Frieren*:

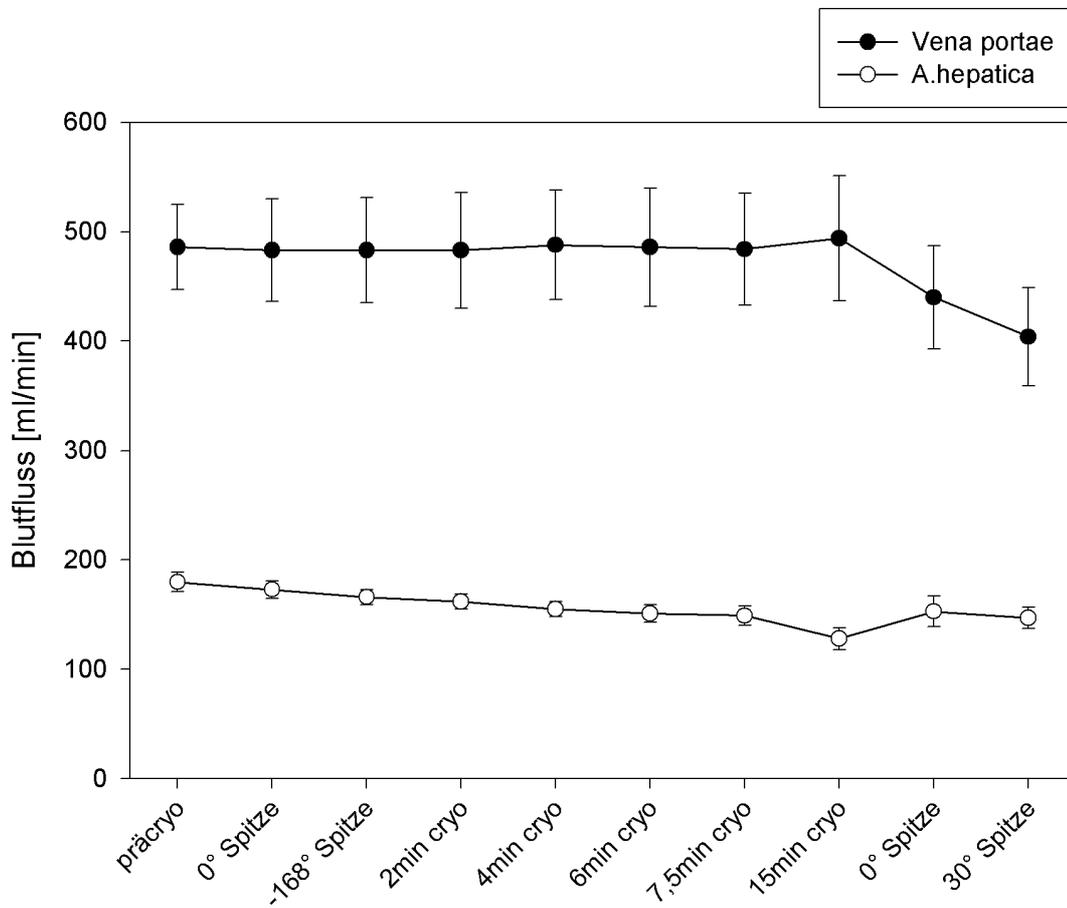


Abb. 4.8:

Hepatische Makrohämodynamik bei *Einmaligem Frieren* von 15 min. Schwarze Kreise: Blutfluss V. portae in ml/min. Weisse Kreise: Blutfluss A. hepatica in ml/min.

Mittelwert \pm SEM

Der Fluss von V. portae blieb während der ersten 7,5 min Frierens relativ konstant bei 480 ml/min, stieg dann leicht beim Halten der Temperatur und fiel dann kontinuierlich bis auf 410 ml/min.

Der Fluss von A. hepatica fiel während des Frierens von 180 ml/min auf 130 ml/min und stieg wieder bis auf 150 ml/min bei 30°C Kryosondentemperatur.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*:

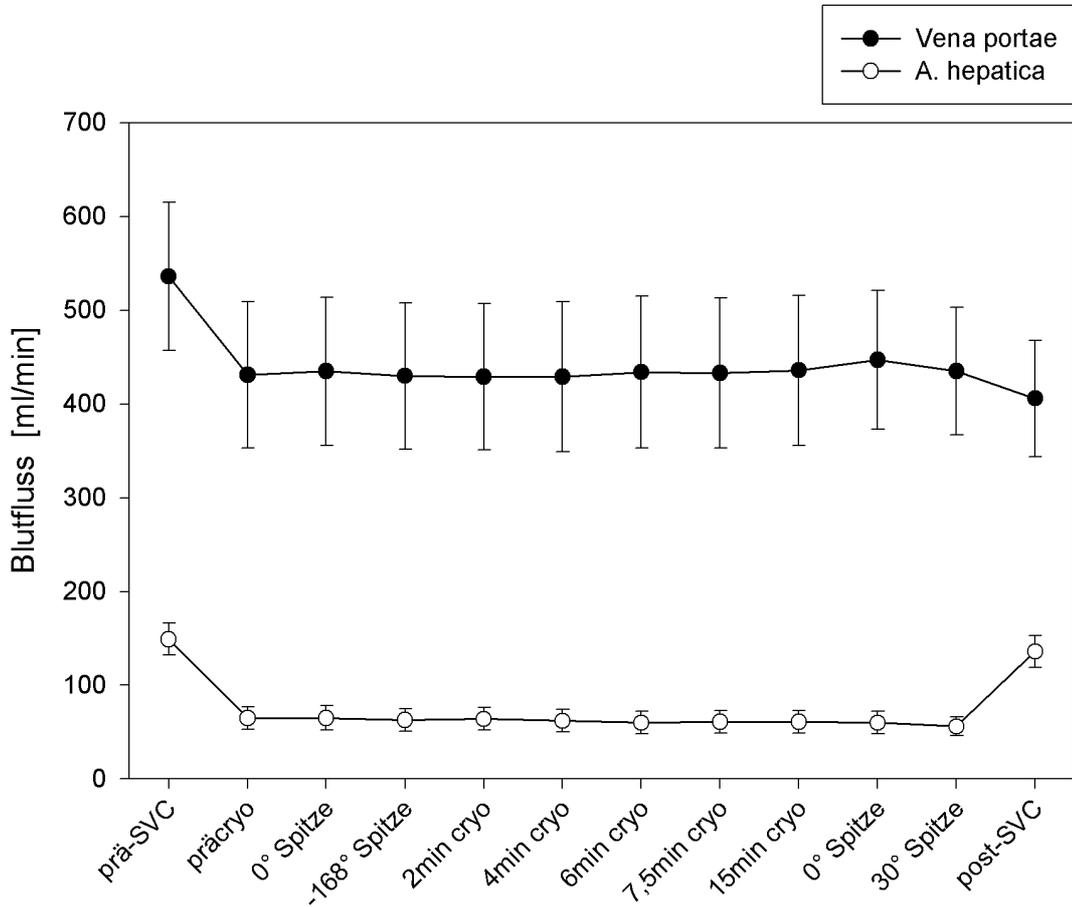


Abb. 4.9:

Hepatische Makrohämodynamik bei *Einmaligem Frieren und SVC* 15 min. Schwarze Kreise: Blutfluss V. portae in ml/min. Weisse Kreise: Blutfluss A. hepatica in ml/min.

Mittelwert \pm SEM

Durch die SVC wurde der Fluss von V. portae von 530 ml/min auf 420 ml/min während des Frierens reduziert. Bei wieder offener Perfusion am Ende der Therapie sank der Fluss weiter ab auf 400 ml/min.

Durch SVC und Kryochirurgie wurde der Fluss von A. hepatica von 150 ml/min auf 50 ml/min reduziert und stieg nach Freigabe der Perfusion bis wieder fast auf den Ausgangswert an.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*:

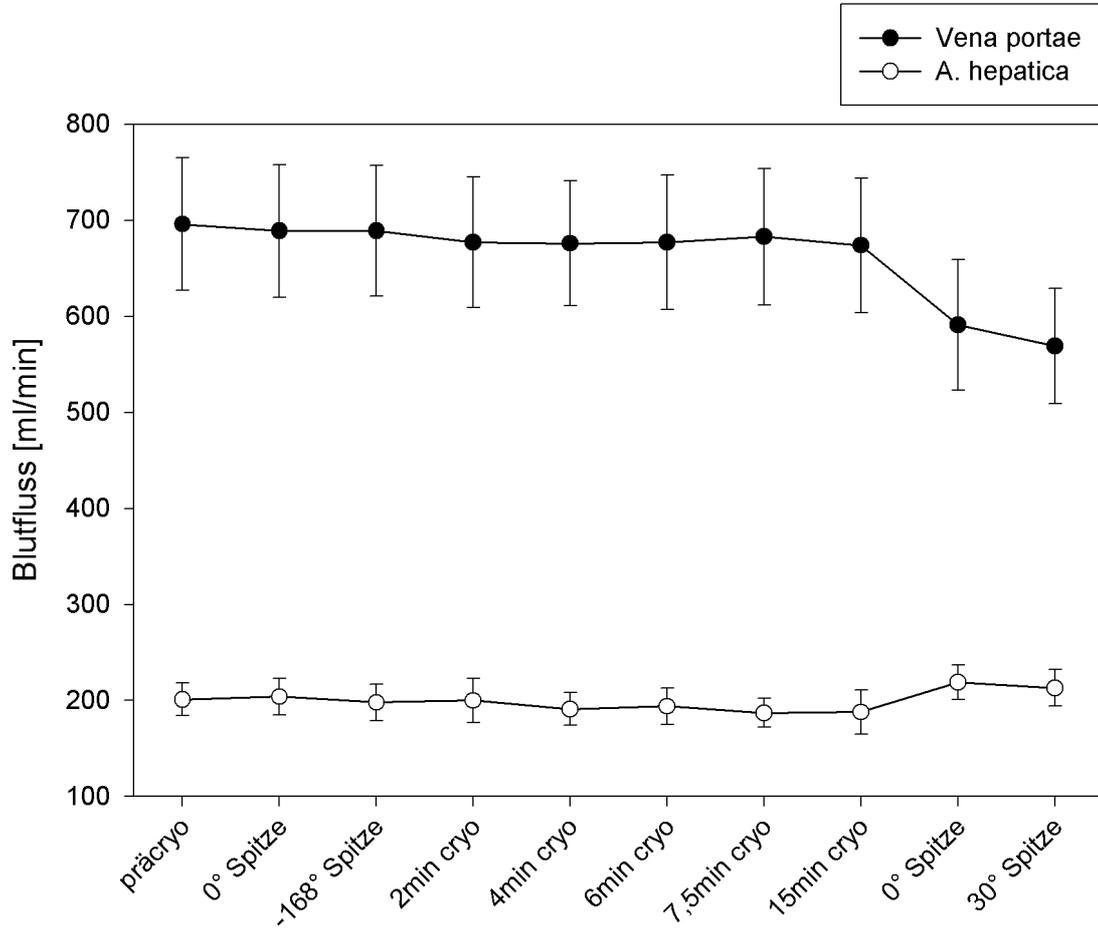


Abb. 4.10:

Hepatische Makrohämodynamik bei *Einmaligem Frieren und Aprotinin* 15 min. Schwarze Kreise: Blutfluss V. portae in ml/min. Weisse Kreise: Blutfluss A. hepatica in ml/min.

Mittelwert \pm SEM

Während der Kryochirurgie blieb der Fluss von V. portae relativ konstant bei 700 ml/min und fiel danach bis auf 580 ml/min bei 30°C Kryosondenspitze.

Der Fluss von A. hepatica blieb vor und während der Therapie bei 200 ml/min und stieg dann leicht an bis zum Erreichen von 30°C Sondentemperatur.

4.4 Laborparameter

4.4.1 Zusammenfassung der statistisch signifikanten Ergebnisse der laborchemischen Methoden

Dargestellt sind die statistisch signifikanten Ergebnisse innerhalb einer Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten. Die detaillierten Ergebnisse können der entsprechenden Graphik entnommen werden. Zusätzlich werden im erklärenden Text der jeweiligen Graphik die statistisch signifikanten Ergebnisse der jeweiligen Therapiegruppe bei einem Zeitpunkt beschrieben.

Therapiegruppe *Repetitives Frieren*

Zeitpunkt	0	1	1/2h	1h	3h	6h	24h	2d	3d	4d	5d	6d	7d	Graphik
Zusammenfassung der statistisch signifikanten Ergebnisse der Laborparameter														
Kreatinin	X	X		X	X	X	X	X						Abb. 4.11
ASAT-Aktivität		X	X	X	X	X	X							Abb. 4.12
ALAT-Aktivität					X								X	Abb. 4.13
GGT-Aktivität									X	X	X			Abb. 4.14
AP-Aktivität						X	X	X						Abb. 4.15
LDH-Aktivität			X		X	X	X	X	X	X				Abb. 4.16
CRP							X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.17
Hämoglobinwerte													X	Abb. 4.18
Leukozytenzahlen					X	X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.19
Thrombozyten														Abb. 4.20
Quick						X								Abb. 4.21
PTT						X	X							Abb. 4.22
Fibrinogen							X		X				X	Abb. 4.23
Antithrombin III	X								X				X	Abb. 4.24
D-Dimere									X					Abb. 4.25
Thrombinzeit						X	X							Abb. 4.26

Tab. 4.1: (^X p < 0,05)

In Gegenüberstellung zu den anderen Messwerten

Therapiegruppe *Einmaliges Frieren*

Zeitpunkt	0	1	1/2h	1h	3h	6h	24h	2d	3d	4d	5d	6d	7d	Graphik
Laborparameter														
Kreatinin	X	X	X	X	X	X	X							Abb. 4.11
ASAT-Aktivität		X	X	X	X	X	X	X						Abb. 4.12
ALAT-Aktivität			X	X	X	X	X	X	X					Abb. 4.13
GGT-Aktivität												X	X	Abb. 4.14
AP-Aktivität	X	X	X	X	X	X	X	X	X					Abb. 4.15
LDH-Aktivität		X	X	X	X	X	X	X						Abb. 4.16
CRP							X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.17
Hämoglobinwerte														Abb. 4.18
Leukozytenzahlen						X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.19
Thrombozyten										X	X			Abb. 4.20
Quick														Abb. 4.21
PTT							X							Abb. 4.22
Fibrinogen							X		X				X	Abb. 4.23
Antithrombin III	X			X			X		X				X	Abb. 4.24
D-Dimere													X	Abb. 4.25
Thrombinzeit					X									Abb. 4.26

Tab. 4.2: (^x p < 0,05)

In Gegenüberstellung zu den anderen Messwerten

Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC*

Zeitpunkt	0	1	1/2h	1h	3h	6h	24h	2d	3d	4d	5d	6d	7d	Graphik
Laborparameter														
Kreatinin	X													Abb. 4.11
ASAT-Aktivität		X	X	X	X	X	X							Abb. 4.12
ALAT-Aktivität	X		X	X	X	X	X	X	X					Abb. 4.13
GGT-Aktivität												X	X	Abb. 4.14
AP-Aktivität						X	X	X						Abb. 4.15
LDH-Aktivität			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.16
CRP							X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.17
Hämoglobinwerte	X				X	X								Abb. 4.18
Leukozytenzahlen					X	X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.19
Thrombozyten														Abb. 4.20
Quick														Abb. 4.21
PTT														Abb. 4.22
Fibrinogen							X		X				X	Abb. 4.23
Antithrombin III	X								X				X	Abb. 4.24
D-Dimere													X	Abb. 4.25
Thrombinzeit														Abb. 4.26

Tab. 4.3: (X p < 0,05)

In Gegenüberstellung zu den anderen Meßwerten

Ergebnisse

Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*

Zeitpunkt	0	1	1/2h	1h	3h	6h	24h	2d	3d	4d	5d	6d	7d	Graphik
Laborparameter														
Kreatinin	X						X							Abb. 4.11
ASAT-Aktivität		X	X	X	X	X	X							Abb. 4.12
ALAT-Aktivität							X							Abb. 4.13
GGT-Aktivität													X	Abb. 4.14
AP-Aktivität						X	X	X						Abb. 4.15
LDH-Aktivität			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.16
CRP							X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.17
Hämoglobinwerte						X								Abb. 4.18
Leukozytenzahlen						X	X	X	X	X	X	X	X	Abb. 4.19
Thrombozyten										X	X	X	X	Abb. 4.20
Quick														Abb. 4.21
PTT													X	Abb. 4.22
Fibrinogen							X		X				X	Abb. 4.23
Antithrombin III									X				X	Abb. 4.24
D-Dimere									X				X	Abb. 4.25
Thrombinzeit														Abb. 4.26

Tab. 4.4: (X p < 0,05)

In Gegenüberstellung zu den anderen Meßwerten

4.4.2 Kreatinin

Bis zum ersten postoperativen Tag kam es in allen Therapiegruppen außer in der *Kontrollgruppe* zu einem Kreatininanstieg. Der steilste Anstieg zeigte sich in der Gruppe *Repetitives Frieren*, in der Gruppe *Einmaliges Frieren* und *Aprotinin* fiel der Anstieg am geringsten aus. In allen Therapiegruppen ausser der *Kontrollgruppe* fielen die Werte nach dem zweiten bis dritten postoperativen Tag bis unterhalb des Niveaus der Ausgangswerte ab. In Gruppe *Repetitives Frieren* war der Zuwachs des Kreatinins innerhalb 24h am grössten, in Gruppe *Einmaliges Frieren* und *Aprotinin* am geringsten. Im Zeitraum vor Kryotherapie und 1h nach Kryotherapie fielen die Kreatininwerte in den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin* ab. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* fielen die Werte in der Zeitspanne vor Kryotherapie bis vor zweitem Kryotherapiezyklus.

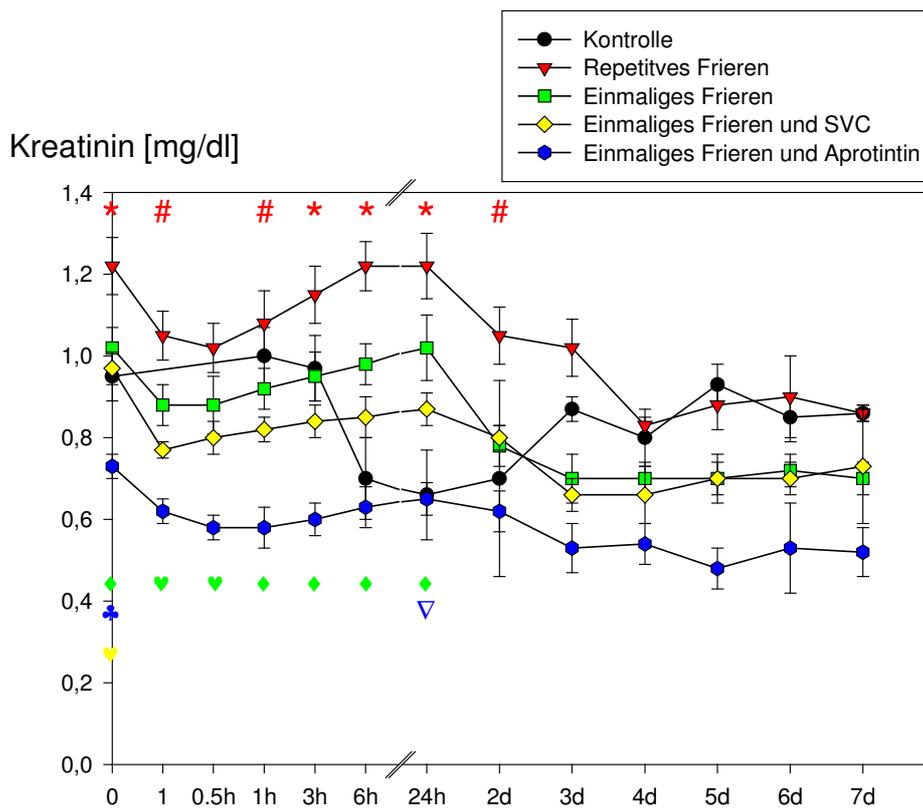


Abb. 4.11:

Kreatininwerte in mg/dl. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Ergebnisse

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

- # p < 0,05 vs 4d, 7d
- * p < 0,05 vs 4d, 5d, 7d
- ◆ p < 0,05 vs 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ♥, ♡ p < 0,05 vs 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ♣ p < 0,05 vs 0,5h, 1h, 3h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ▽ p < 0,05 vs 5d

Des Weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten vor Kryotherapie, zwischen beiden Kryotherapiezyklen, 1h, 3h, 6h, 24h, 2d und 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*, *Einmaliges Frieren und Aprotinin* und *Einmaliges Frieren und SVC*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten 0,5h und 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* und Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt 5d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zu den Zeitpunkten vor Kryotherapie, zwischen beiden Kryotherapiezyklen, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, und 5d vs Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Einmaliges Frieren* zu den Zeitpunkten zwischen beiden Kryotherapiezyklen, 0,5h, 1h, 3h, 6h und 24h vs Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt vor Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten 4 und 5d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*, Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* und Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Einmaliges Frieren* zum Zeitpunkt 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

4.4.4 ALAT-Aktivität

Nach Kryotherapie kam es zu einem Anstieg der ALAT-Aktivitäten. In den Gruppen *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* verlief der Aktivitätszuwachs am steilsten. Die höchsten Werte waren in den allen Therapiegruppen ohne die *Kontrollgruppe* nach 24h erreicht. Zwischen 2h und dem 1. postoperativen Tag fielen die Aktivitäten in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* stark ab. In den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* kam es zu einem geringeren Rückgang. Ab dem 3. postoperativen Tag waren in allen Therapiegruppen ohne die *Kontrollgruppe* die Ausgangswerte wieder erreicht.

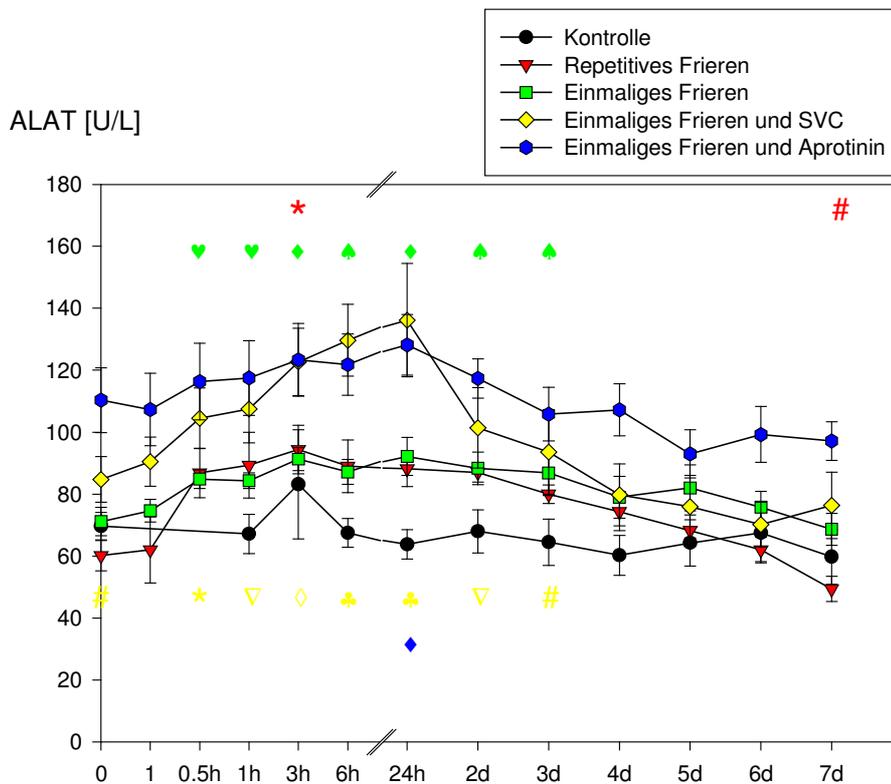


Abb. 4.13:

ALAT-Aktivitäten in U/L. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0.5h, 1h, 3h, 6h, 2d, 3d

* $p < 0,05$ vs 0

- ◆ $p < 0,05$ vs 0, 1, 6d, 7d
- ♣ $p < 0,05$ vs 0, 7d
- ♥ $p < 0,05$ vs 7d
- ♣ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ◇ $p < 0,05$ vs 0,1, 0,5h, 1h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ▽ $p < 0,05$ vs 4d, 5d, 6d, 7d
- # $p < 0,05$ vs 6d, 7d
- ◆ $p < 0,05$ vs 5d

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zu den Zeitpunkten vor Kryotherapie, zwischen beiden Kryotherapiezyklen, 6h nach Kryotherapie, 2d nach Kryotherapie und 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren* und vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zu den Zeitpunkten 4d und 6d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zum Zeitpunkt vor Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zu den Zeitpunkten 6 und 24h nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren* und vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

4.4.5 GGT-Aktivitäten

Es kam zu einem leichten Anstieg der GGT bis zum 7. postoperativem Tag in allen Therapiegruppen ohne die *Kontrollgruppe*. Die Gruppe *Repetitives Frieren* hingegen zeigte einen starken Anstieg zwischen 3h postoperativ und dem 5. postoperativem Tag. Danach fiel in dieser Gruppe die Aktivitäten bis zum 7. postoperativem Tag auf den Ausgangswert ab.

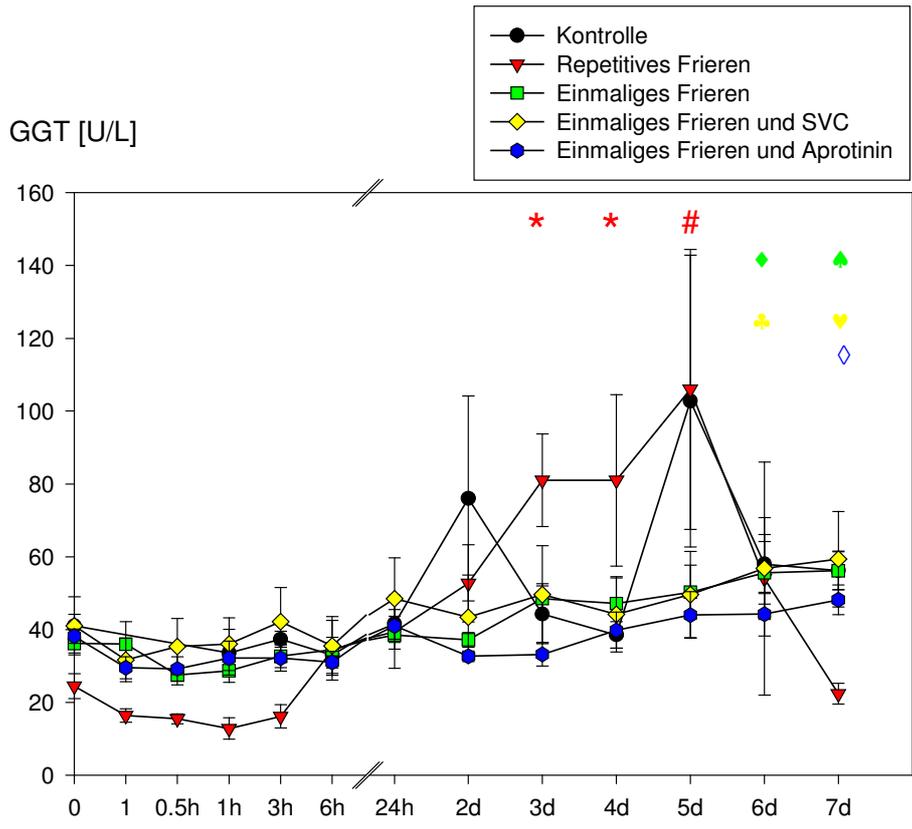


Abb. 4.14:

GGT-Aktivitäten in U/L. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 7d

* p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 7d

◆ p < 0,05 vs 0,5h, 1h, 3h, 6h

▲ p < 0,05 vs 0,5h, 1h, 3h

♣ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 6h

Ergebnisse

♥ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 6h

◇ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 2d, 3d

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zu den Zeitpunkten 0,5 und 3h nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten 1h, 3d und 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*, Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* und Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

4.4.6 AP-Aktivität

Der Gipfel des Anstiegs der Alkalischen Phosphatase zeigte sich um den ersten postoperativen Tag in allen Therapiegruppen, mit Ausnahme der *Kontrollgruppe*, nach Kryotherapie mit einem Rückgang auf Werte unterhalb des Ausgangsniveaus ab dem 3.postoperativen Tag. Der höchste Wert war in Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* nach 24h zu beobachten.

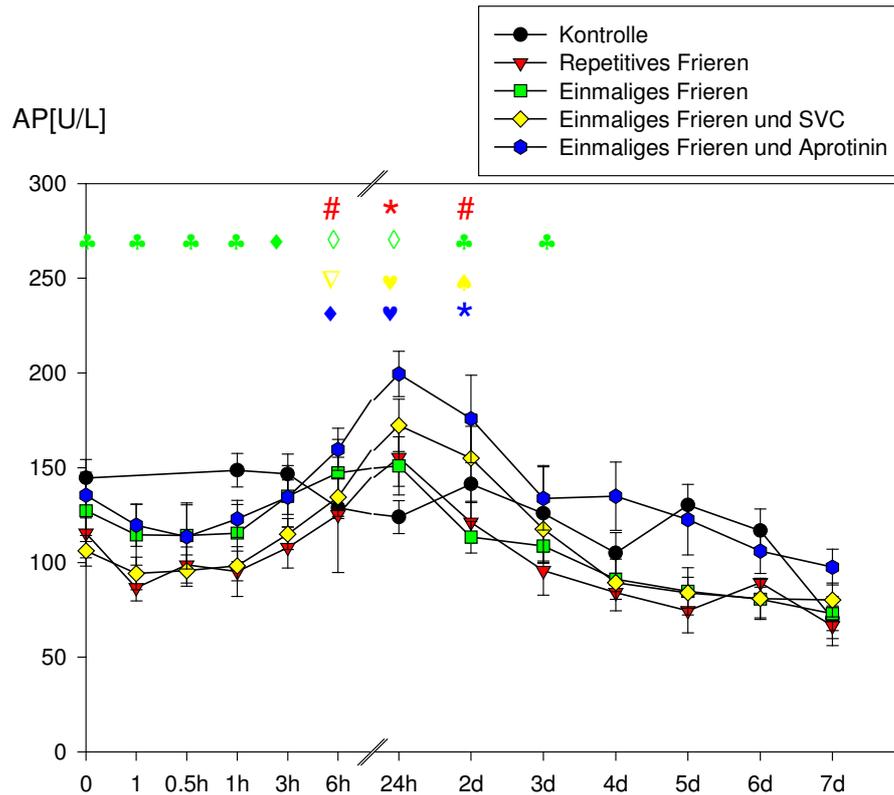


Abb. 4.15:

AP-Aktivitäten in U/L. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

- # p < 0,05 vs 7d
- * p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ♣ p < 0,05 vs 4d, 5d, 6d, 7d
- ◇ p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ◆ p < 0,05 vs 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ▼ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 4d, 5d, 6d, 7d

Ergebnisse

♥ $p < 0,05$ vs 0,1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♠ $p < 0,05$ vs 0,1, 0,5h, 1h, 4d, 5d, 6d, 7d

* $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 4d, 5d, 6d, 7d

♥ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♦ $p < 0,05$ vs 0,5h, 6d, 7d

Des Weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren, Einmaliges Frieren und Einmaliges Frieren und SVC*.

4.4.7 LDH-Aktivität

Es kam zu einem Anstieg der Laktatdehydrogenaseaktivität, deren Maximum sich in den Gruppen *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren* 6h nach Kryotherapie zeigte. In den Gruppen *Einmaliges Frieren* und *SVC* und *Einmaliges Frieren* und *Aprotinin* zeigten sich die höchsten Werte einen Tag nach Kryotherapie. Die Gruppe *Einmaliges Frieren* und *SVC* zeigte im Vergleich zu den übrigen Therapiegruppen die höchsten Aktivitäten. Nach dem Peak ein Tag nach Kryotherapie fielen die LDH-Aktivitäten bis zum 7. postoperativen Tag kontinuierlich ab.

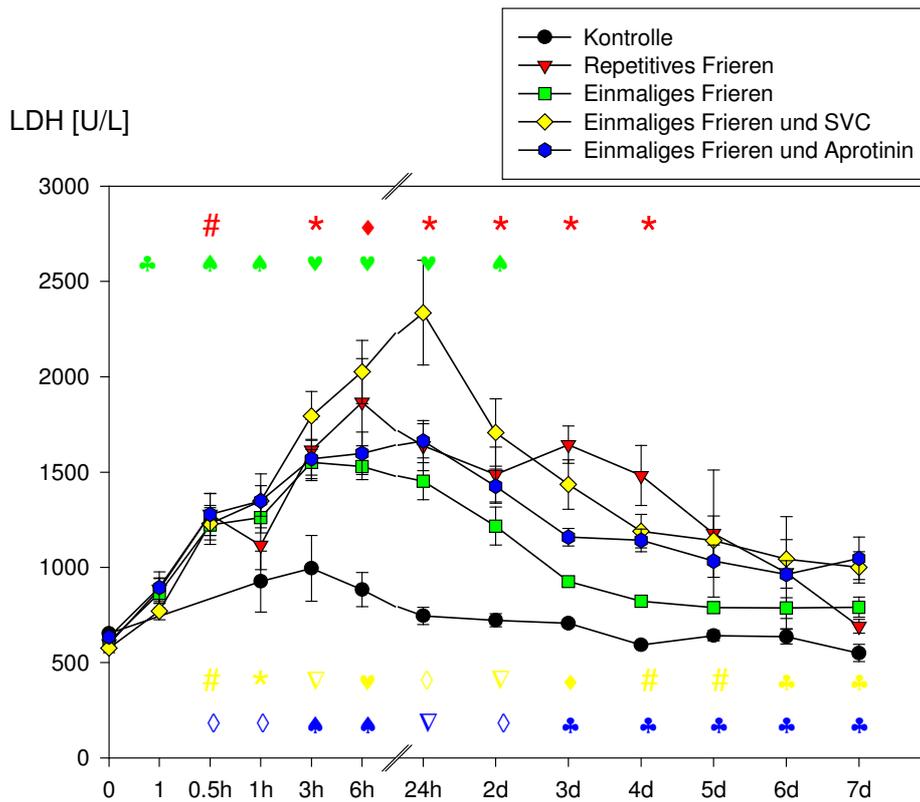


Abb. 4.16:

LDH-Aktivitäten in U/L. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0, 7d

* $p < 0,05$ vs 0, 1, 7d

♦ $p < 0,05$ vs 0, 1, 1h, 6d, 7d

♥ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0.5h, 1h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♠ $p < 0,05$ vs 0, 1, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♣ $p < 0,05$ vs 0

◇ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0.5h, 1h, 3h, 6h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

Ergebnisse

♥ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

▽ $p < 0,05$ vs 0,1,0,5h,1h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♦ $p < 0,05$ vs 0, 1, 6d, 7d

* $p < 0,05$ vs 0, 1, 7d

$p < 0,05$ vs 0,1

♣ $p < 0,05$ vs 0

♣ $p < 0,05$ vs 0

▽ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

♠ $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

◇ $p < 0,05$ vs 0, 7d

Des Weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zum Zeitpunkt 24h nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren, Einmaliges Frieren und Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zu den Zeitpunkten 3 und 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zum Zeitpunkt 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren, Einmaliges Frieren und SVC und Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*.

4.4.8 C-reaktive Proteinwerte

3h nach Kryotherapie kam es zu einem Anstieg des CRPs. Der größte Zuwachs des war zwischen 6h und 2d nach der Operation in den Gruppen *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren* zu beobachten. Auch in der *Kontrollgruppe* stieg das CRP an.

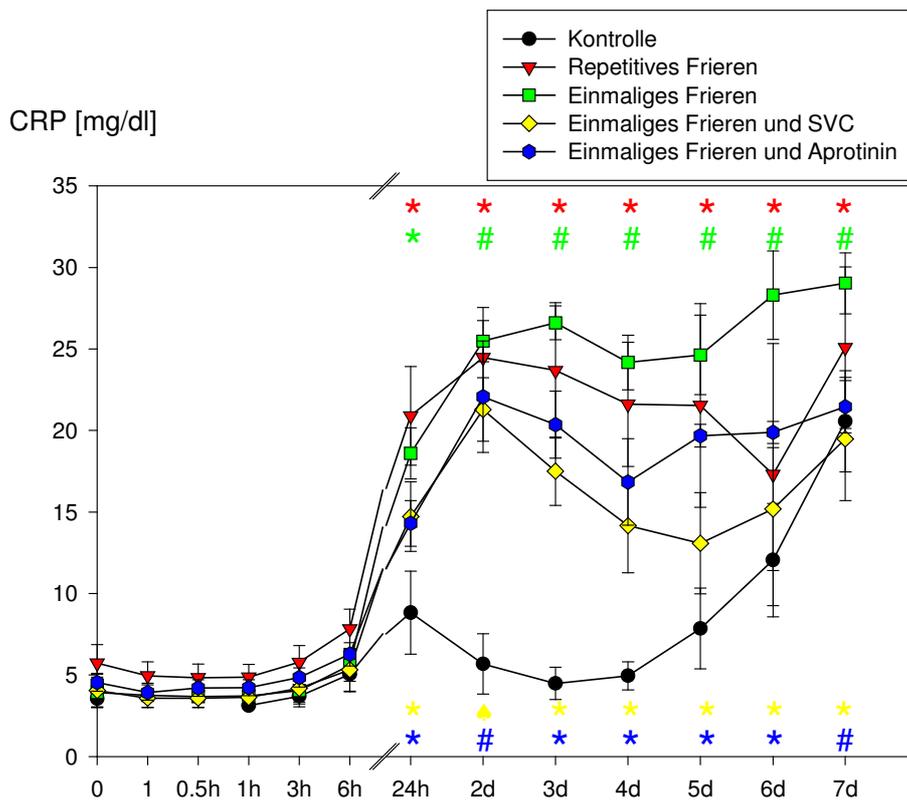


Abb. 4.17:

CRP in mg/dl. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

* , * , * , * p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h

#, # p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h

♣ p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 4d, 5d, 6d

4.4.9 Hämoglobinwerte

Es kam zu kleineren Schwankungen der Hämoglobinwerte, die sich innerhalb des Normbereichs bewegten.

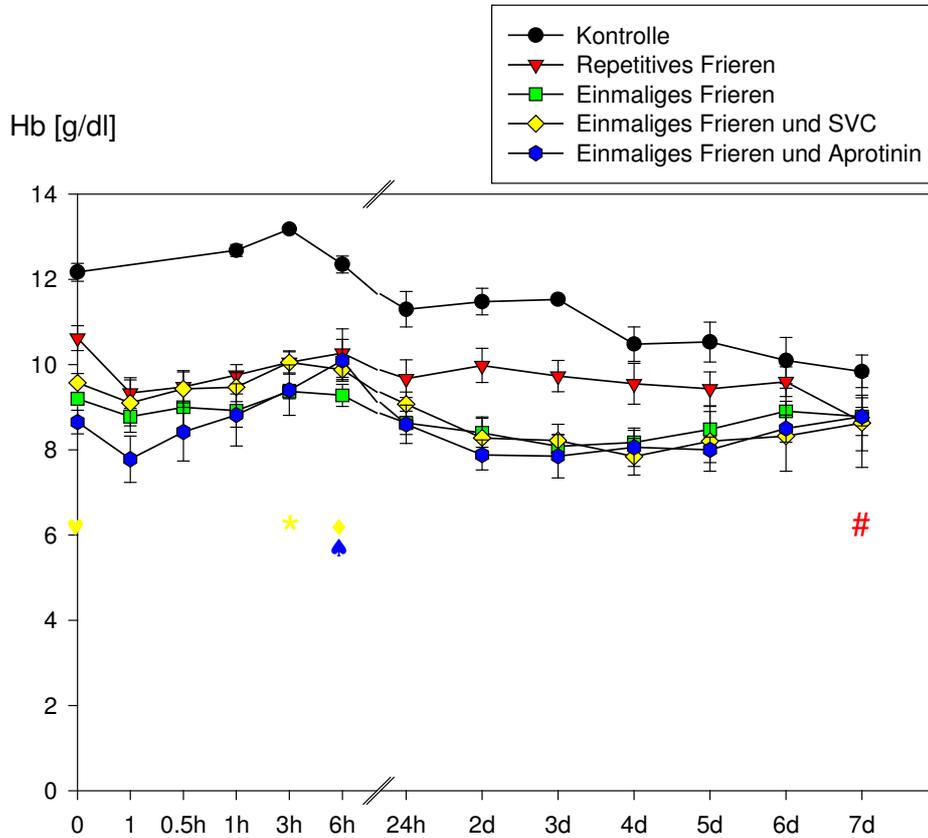


Abb. 4.18:

Hb in g/dl. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

- # p < 0,05 vs 0, 6h
- * p < 0,05 vs 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d
- ◆ p < 0,05 vs 3d, 4d, 5d
- ♥ p < 0,05 vs 4d
- ♠ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Ergebnisse

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten vor Kryotherapie, 2d und 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*, Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*, und Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

Gruppe *Repetitives Frieren* zum Zeitpunkt 4d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zum Zeitpunkt vor Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*.

4.4.10 Leukozytenzahlen

Es kam zu einem Anstieg der Leukozyten, wobei die höchsten Werte sich ab 1h nach Kryotherapie bis zum dritten postoperativen Tag zeigten. In Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* waren im Vergleich zu den restlichen Therapiegruppen die absolut höchsten Zahlen beobachtbar. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* fiel der Leukozytenanstieg im Vergleich zu den restlichen Gruppen geringer aus. In den Gruppen *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* bildete sich ab dem 4. postoperativen Tag eine Art Plateau. Auch in der *Kontrollgruppe* kam es zu einem postoperativen Leukozytenanstieg.

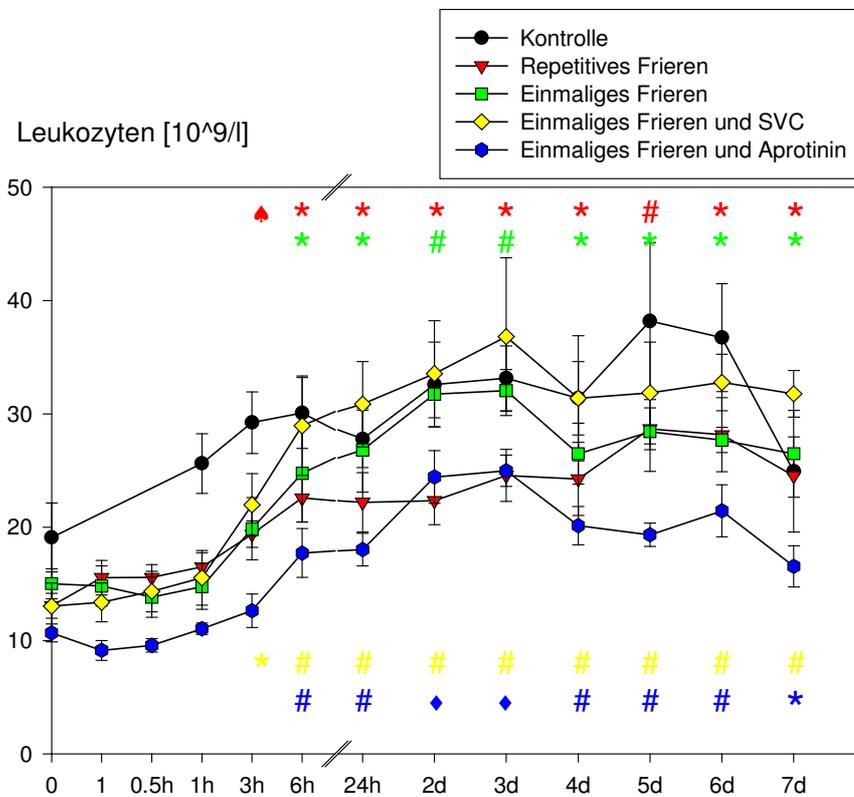


Abb. 4.19:

Leukozyten in 10⁹/l. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Ergebnisse

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

#, #, #, # $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h

*, *, *, * $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h

◆ $p < 0,05$ vs 0, 1, 1h, 3h, 6h, 24h, 7d

♠ $p < 0,05$ vs 0

Des Weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 0,5h nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt zwischen beiden Kryotherapiezyklen vs Gruppe *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zu dem Zeitpunkten 1d und 6d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 7d nach Kryotherapie vs allen anderen Therapiegruppen ohne die *Kontrollgruppe*.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zum Zeitpunkt 7d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren*.

4.4.11 Thrombozytenzahlen

In den Gruppen *Einmaliges Frieren*, *Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin* fielen die Thrombozytenzahlen nach dem 1. Kryotherapiezyklus bis 0,5h nach Kryotherapie ab. Danach kam es in diesen Gruppen zu einem Wiederanstieg bis auf die Ausgangswerte 6h nach Kryotherapie und einem erneuten Abfall bis zum 2. postoperativen Tag. In der Gruppe *Repetitives Frieren* ist ein breiter Thrombozytenabfall vor dem 2. Kryotherapiezyklus beobachtbar. Dieser hält 24h an. Ab diesen Zeitspannen stiegen die Thrombozytenzahlen in allen Therapiegruppen bis auf die *Kontrollgruppe* wieder an bis zum Ende des Beobachtungszeitraums. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* war der höchste „reaktive“ Anstieg der Thrombozytenzahlen im Vergleich mit den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* vom 2. bis zum 7. postoperativen Tag.

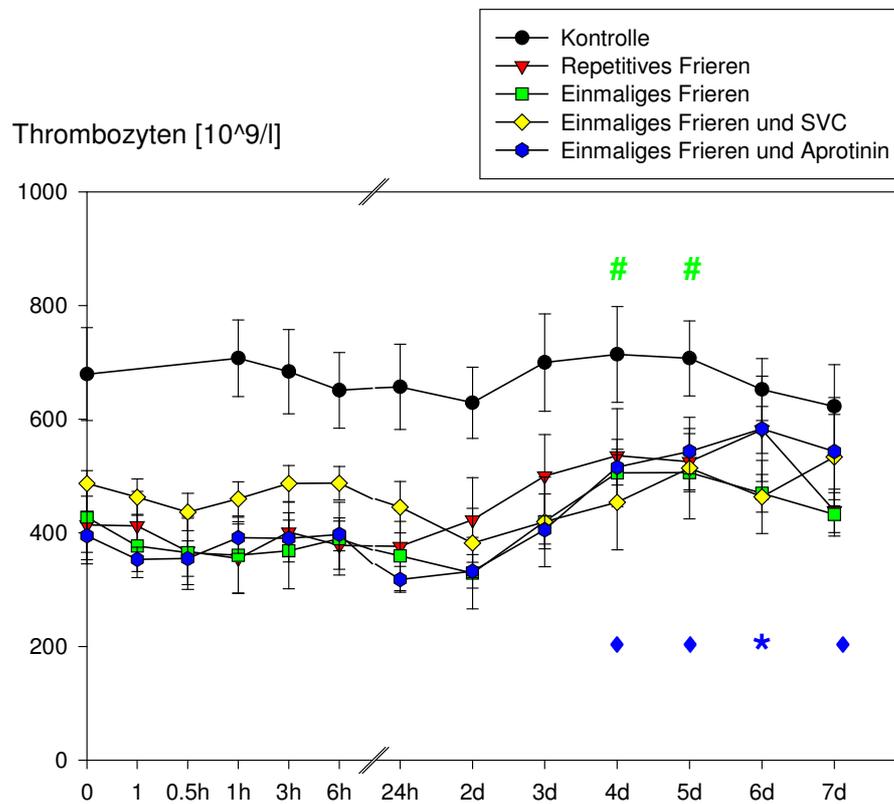


Abb. 4.20:

Thrombozyten in 10⁹/l. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 2d

Ergebnisse

- * $p < 0,05$ vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 2d, 3d
- ◆ $p < 0,05$ vs 1, 0,5h, 24h, 2d

4.4.12 Thromboplastinzeit (Quick)

Intraoperativ kam es zu einem Abfall des Quickwertes in den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*, wohingegen sich die Werte von der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* über den gesamten Beobachtungszeitraum annähernd linear verhielten. Der tiefste Punkt des Quickwertes war in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* 3h nach Kryotherapie erreicht. In den Gruppen *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren* wurde der tiefste Punkt nach 6h erreicht. Danach stieg die Thromboplastinzeit bis zum 7. postoperativen Tag in den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin* wieder bis auf die Ausgangswerte an. Vergleicht man die Gruppen *Einmaliges Frieren*, *Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin* mit der Gruppe *Repetitives Frieren*, so ließ sich der absolut tiefste Thromboplastinzeitwert in der Gruppe *Repetitives Frieren* 6h postoperativ beobachten.

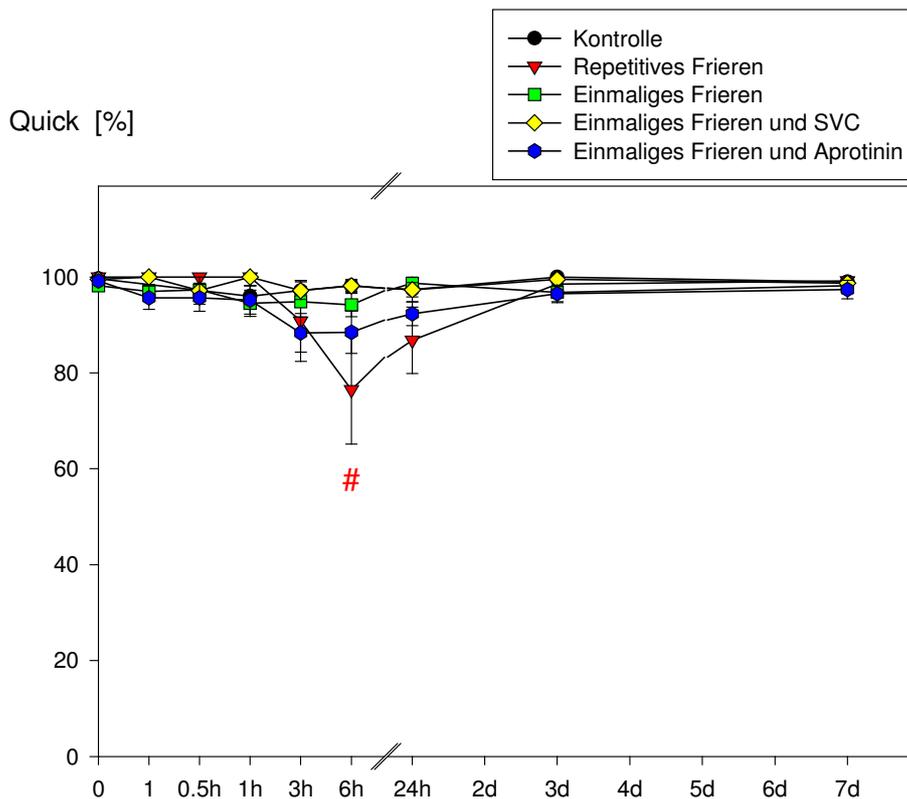


Abb. 4.21:

Quick in %. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Ergebnisse

Die Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3d

Ergebnisse

4.4.13 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (PTT)

In der Gruppe *Repetitives Frieren* kam es zwischen 3h und dem 3.d nach Kryotherapie zum Anstieg der PTT bis auf 100 sec. Nach 7d war in dieser Gruppe der Ausgangswert wieder erreicht. In den restlichen Therapiegruppen zeigten sich über den Beobachtungszeitraum konstante PTT Werte. In der Kontrollgruppe kam es zu einem geringen Anstieg der PTT bis zu 6h nach Kryotherapie. Danach gingen die Werte in der *Kontrollgruppe* wieder auf die Ausgangswerte zurück.

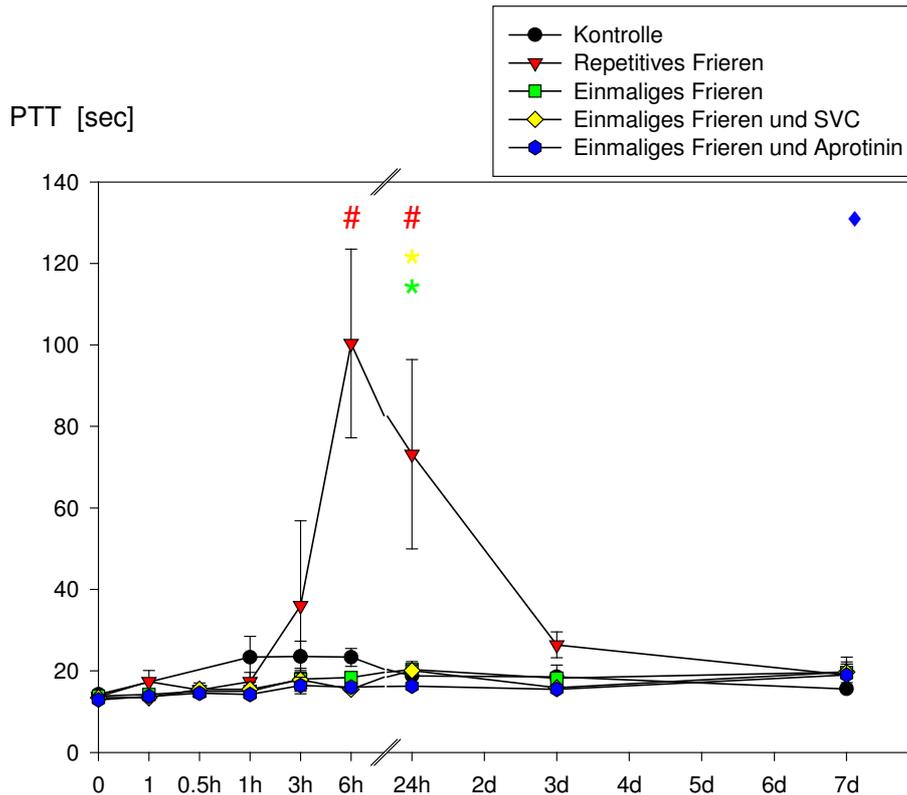


Abb. 4.22:

PTT in sec. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 3d, 7d

*, * $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h

◆ $p < 0,05$ vs 0

Ergebnisse

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten 6h, 24h und 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren, Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

4.4.14 Fibrinogenkonzentration

Nach 6h postoperativ kam es zum Anstieg des Fibrinogens in allen Therapiegruppen. Die höchsten Fibrinogenwerte waren nach 24h erreicht, wobei sich zu diesem Zeitpunkt in der Gruppe *Repetitives Frieren* die höchsten und in Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* die geringsten Fibrinogenkonzentrationen zeigten. Danach bildete sich eine Art Plateau der Fibrinogenwerte in allen Gruppen bis zum 7. postoperativen Tag. Die Fibrinogenkonzentrationen waren zu diesem Zeitpunkt in den Gruppen etwas höher als vor der Kryotherapie.

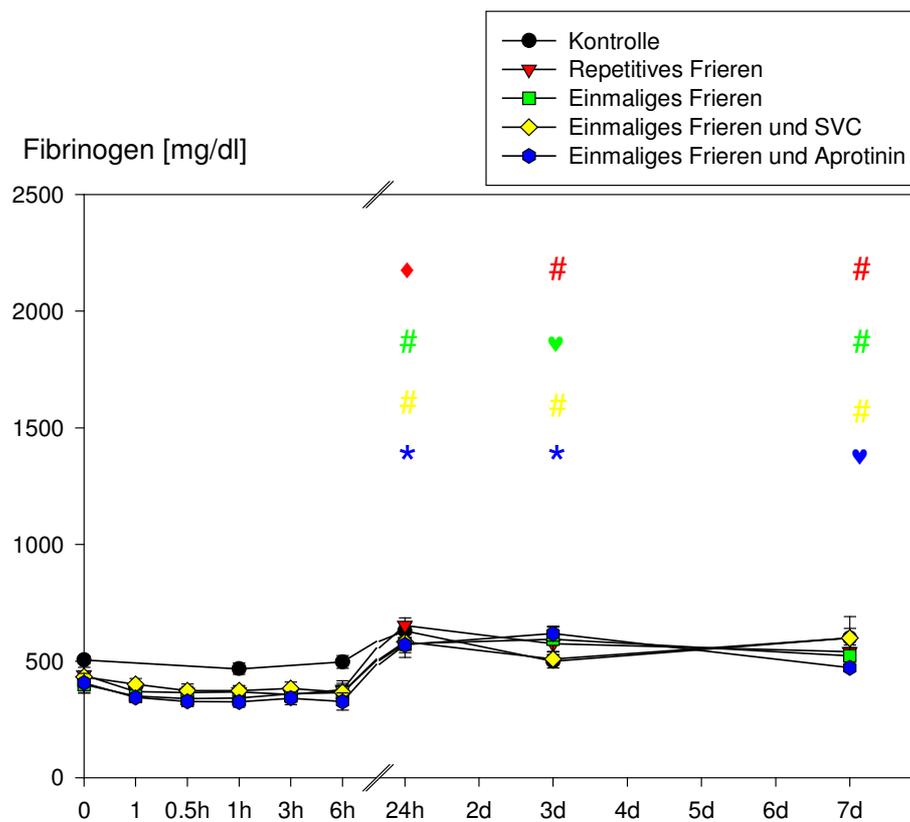


Abb. 4.23:

Fibrinogen in mg/dl. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

#, #, # p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h

* p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 7d

♦ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 3d, 7d

♥, ♡ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h

4.4.15 Antithrombin III

Intraoperativ kam es zu einem Absinken des Antithrombins III zwischen Kryotherapiebeginn und 1h nach Kryotherapie in den allen Gruppen. Das signifikante Absinken war in Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* am stärksten ausgeprägt, gefolgt von Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*, *Einmaliges Frieren* und *Repetitives Frieren*. Danach stiegen die Werte in diesen Gruppen bis zum 3.postoperativen Tag wieder an. In Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* war der Anstieg während dieses Zeitraums am höchsten, gefolgt von den Gruppen *Einmaliges Frieren* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*. Zwischen dem 3. und 7. postoperativen Tag kam es noch zu geringen Veränderungen der AT III- Werte in allen Therapiegruppen ohne die *Kontrollgruppe*.

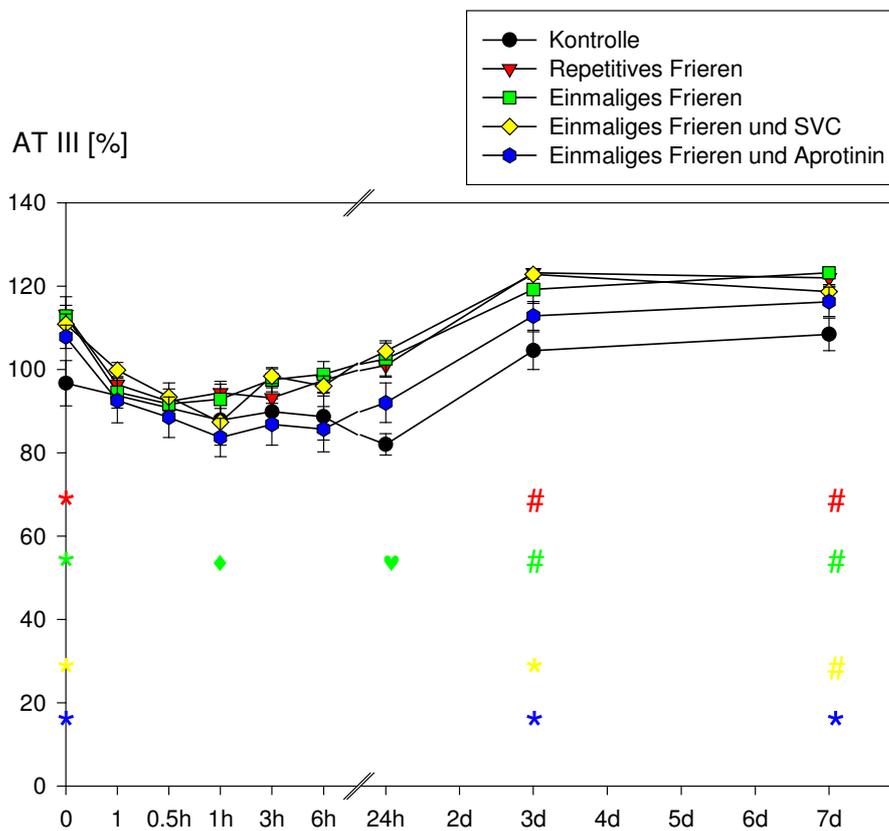


Abb. 4.24:

AT III in %. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert ± SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

#, #, # p < 0,05 vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h

Ergebnisse

* , * , * , * p < 0,05 vs 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h

◆ p < 0,05 vs 1, 0,5h, 3h, 6h

♥ p < 0,05 vs 0,5h, 1h, 6h

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* zum Zeitpunkt 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Repetitives Frieren und Einmaliges Frieren*.

4.4.16 D-Dimere

Es kam zu einem Anstieg der D-Dimere bis 0,5h nach Kryotherapie in der Gruppe *Repetitives Frieren* und danach zu einem Abfall in dieser Gruppe bis zum 3. postoperativen Tag. Zwischen dem 3. und 7. postoperativen Tag stiegen die Werte in der Gruppe *Repetitives Frieren* wieder an. In der Gruppe *Einmaliges Frieren* stiegen die D-Dimere ab Kryotherapiebeginn bis 1h nach Kryotherapie an. Danach fielen die Werte bis 24h nach Therapie in dieser Gruppe wieder ab. Zwischen 24h und dem 7. postoperativen Tag stiegen die Werte in der Gruppe *Einmaliges Frieren* an. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* stiegen die D-Dimere an, ab Kryotherapiebeginn bis 6h nach der Therapie. 24h nach der Kryotherapie fielen die Werte in dieser Gruppe auf einen Tiefpunkt ab. Bis zum 7. postoperativen Tag stiegen die Werte in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* kontinuierlich an. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* stiegen die D-Dimere bis 0,5h nach Kryotherapie an. 1h nach Kryotherapie war ein Abfall in dieser Gruppe zu verzeichnen. Danach stiegen die Werte in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* bis zum 7. postoperativen Tag wieder an, wobei nach 24h ein nochmaliges Absinken zu verzeichnen war.

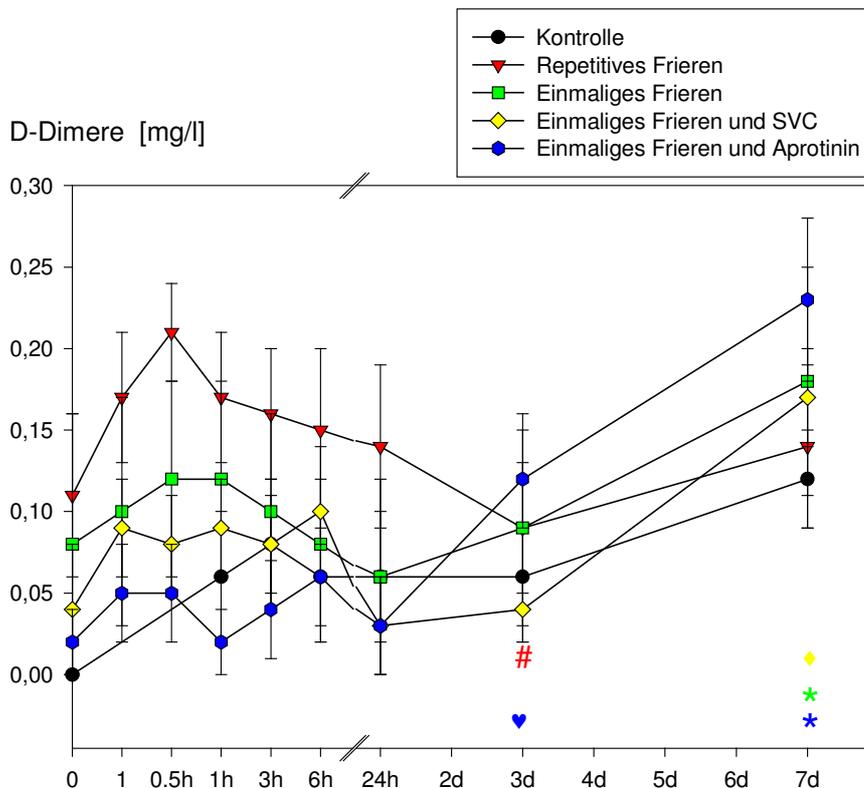


Abb. 4.25:

D-Dimere in mg/l. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 7d

*, * $p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 24h, 3d

◆ $p < 0,05$ vs 0, 6h, 24h, 3d

♥ $p < 0,05$ vs 0, 1h, 24h

4.4.17 Thrombinzeit

Es kam zu einem Anstieg der Thrombinzeit in der Gruppe *Repetitives Frieren* ab Kryotherapiebeginn bis 24h nach Kryotherapie. Der steilste Anstieg war in dieser Gruppe ab 6h bis 24h nach Kryotherapie zu verzeichnen. Danach fiel die Thrombinzeit in dieser Gruppe bis zum 7. postoperativen Tag wieder auf die Ausgangswerte ab. In der Gruppe *Einmaliges Frieren* stiegen die Werte bis 3h nach Kryotherapie an. 6h nach Kryotherapie fielen die Werte in dieser Gruppe ab und stiegen bis 24h nach Kryotherapie wieder an. Danach fielen die Werte in der Gruppe *Einmaliges Frieren* bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes auf die Ausgangswerte ab. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* stiegen bis 3h nach Kryotherapie die Thrombinzeitwerte an, 6h nach der Kryotherapie fielen sie leicht und stiegen nach 24h Kryotherapie wieder an, am 3.postoperativen Tag war in dieser Gruppe der Tiefpunkt erreicht, bis zum 7. postoperativen Tag stiegen die Thrombinzeitwerte wieder. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* stieg die Thrombinzeit bis 3h nach Kryotherapie an, danach fielen die Werte in dieser Gruppe bis zum 7. postoperativen Tag wieder ab. In der Gruppe *Repetitives Frieren* waren die höchsten Thrombinzeitwerte im Vergleich mit den restlichen Therapiegruppen beobachtbar. Der geringste Anstieg der Thrombinzeit im Vergleich mit den Gruppen *Repetitives Frieren*, *Einmaliges Frieren*, und *Einmaliges Frieren und SVC* war in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* beobachtbar.

Ergebnisse

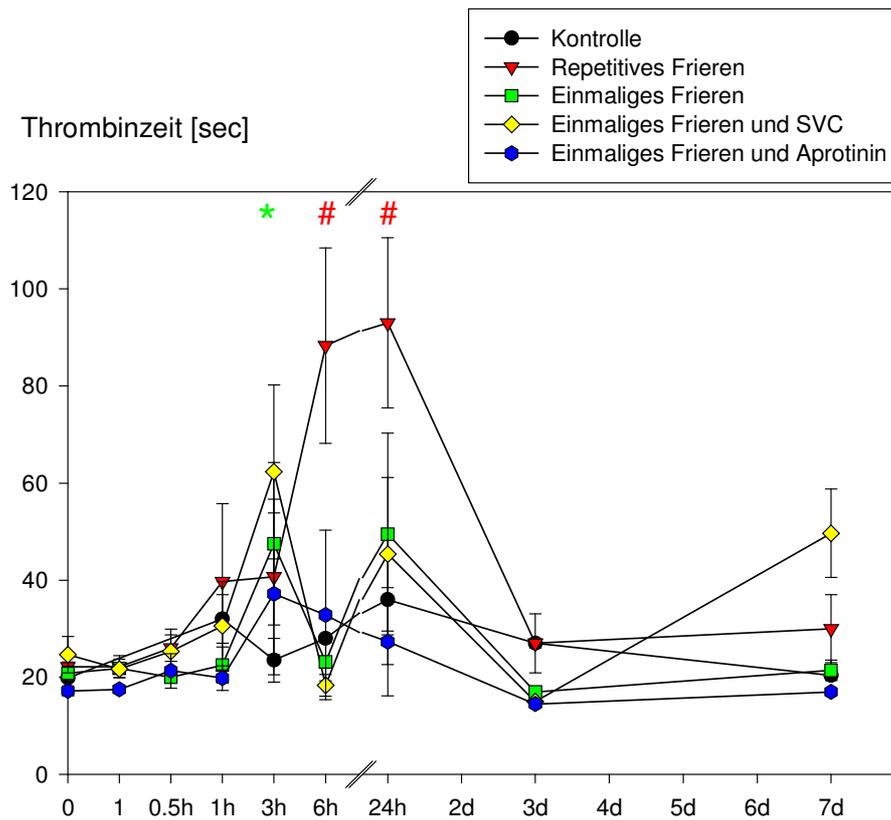


Abb.4.26:

Thrombinzeit in sec. Dargestellt sind die statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Therapiegruppe zu verschiedenen Zeitpunkten.

Mittelwert \pm SEM

Die jeweilige Symbolfarbe entspricht der Gruppenfarbe

$p < 0,05$ vs 0, 1, 0,5h, 1h, 3h, 3d, 7d

* $p < 0,05$ vs 1, 6h, 3d

Des weiteren gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu einem Zeitpunkt:

Gruppe *Repetitives Frieren* zu den Zeitpunkten 6h und 3d nach Kryotherapie vs Gruppe *Einmaliges Frieren*, *Einmaliges Frieren und SVC* und *Einmaliges Frieren und Aprotinin*.

4.5 Kryozonengrösse

Kryoläsionsgrösse 1

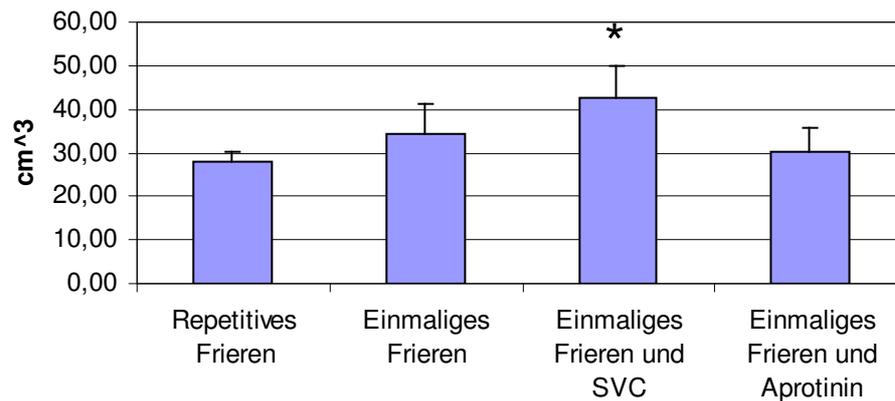


Abb. 4.27:

Dargestellt sind die Kryoläsionsgrössen 1 in cm³. Mittelwert ± SEM. Ein statistisch signifikant grösseres Kryoareal (*p<0,05) gegenüber den anderen Therapiegruppen liess sich in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC* beobachten.

Die Kryoläsionsgrösse 1 betrug in der Gruppe Repetitives Frieren 28 cm³ ± 2, in der Gruppe Einmaliges Frieren 35 cm³ ± 7, in der Gruppe einmaliges Frieren und SVC 43 cm³ ± 7 und in der Gruppe Einmaliges Frieren und Aprotinin 30 cm³ ± 6.

Kryoläsionsgrösse 2

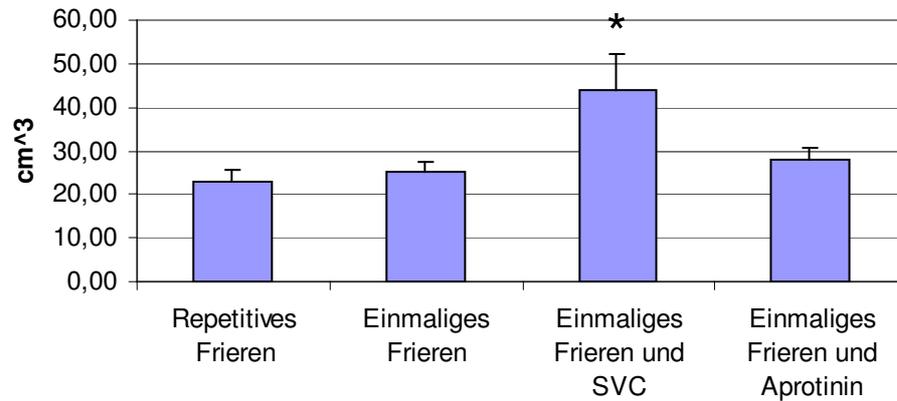


Abb. 4.28:

Dargestellt sind die Kryoläsionsgrössen 2 in cm³. Mittelwert \pm SEM. Ein statistisch signifikant grösseres Kryoareal (* $p < 0,05$) gegenüber den anderen Therapiegruppen liess sich in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC* beobachten

Die Kryoläsionsgrösse 2 betrug in der Gruppe *Repetitives Frieren* 23 cm³ \pm 3, in der Gruppe *Einmaliges Frieren* 25 cm³ \pm 2, in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* 43 cm³ \pm 9 und in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* 28 cm³ \pm 3.

Summe Kryoläsionsgrösse 1+2

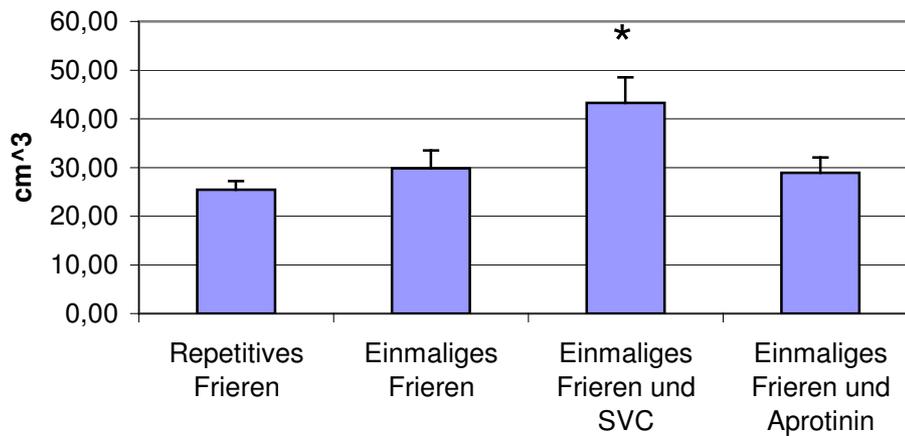


Abb. 4.29:

Dargestellt sind die Kryoläsionsgrössen 1 und 2 in cm³. Mittelwert ± SEM. Ein statistisch signifikant grösseres Kryoareal ($p < 0,05$) gegenüber den anderen Therapiegruppen liess sich in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC* beobachten.

Die Kryoläsionsgrössen 1 und 2 betragen in der Gruppe *Repetitives Frieren* 26 cm³ ± 2, in der Gruppe *Einmaliges Frieren* 30 cm³ ± 4, in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* 43 cm³ ± 5 und in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* 29 cm³ ± 3.

4.6 Temperaturverläufe

Gruppe *Repetitives Frieren*:

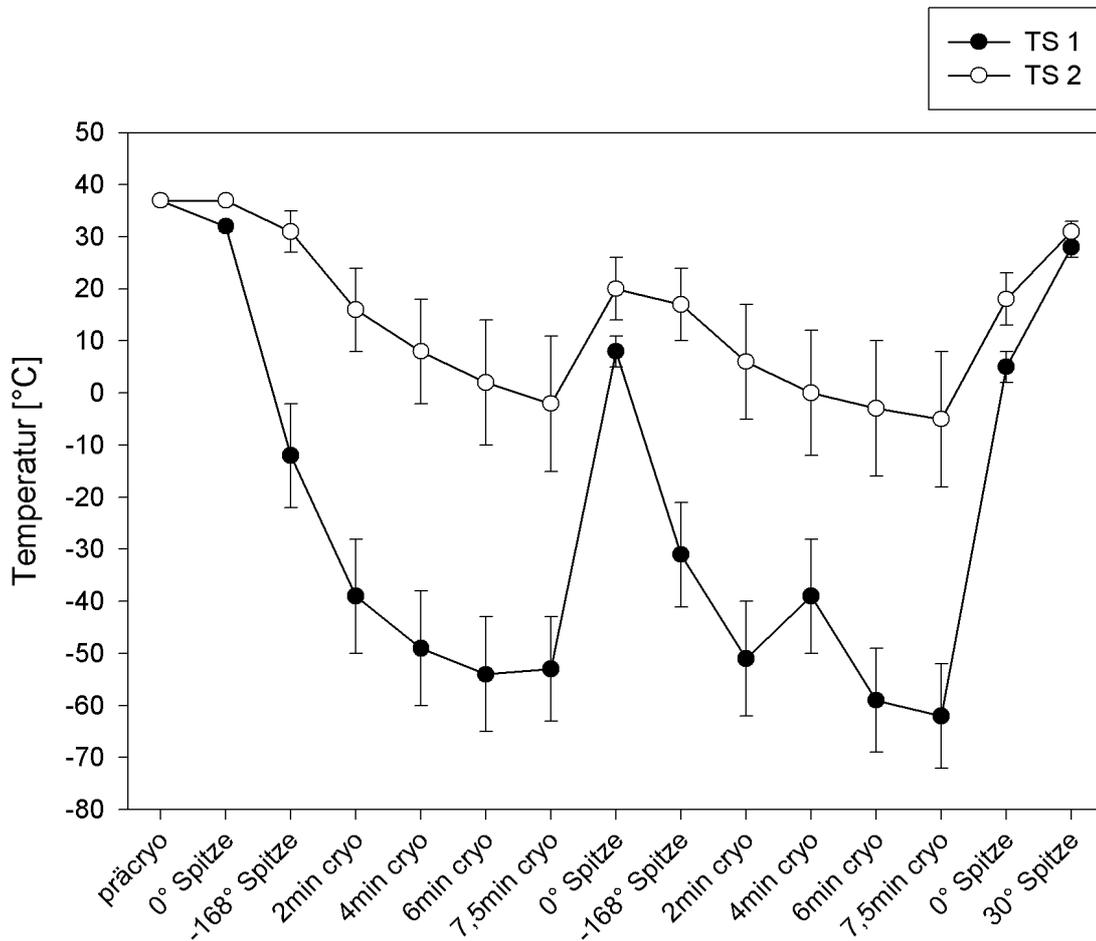


Abb. 4.30:

Hepatische Temperaturen bei *Repetitivem Frieren* 2 x 7,5 min. Schwarze Kreise: Temperatursonde (TS) 1 in °C in 10 mm Entfernung zur Kryosondenspitze. Weiße Kreise: Temperatursonde (TS) 2 in °C in 20 mm Entfernung zur Kryosondenspitze.

Mittelwert ± SEM

Beim proximalen Temperaturmessfühler sank die Lebergewebetemperatur im ersten Frierzyklus auf -55°C , im zweiten Frierzyklus bis auf -65°C .

Beim distalen Thermoelement wurden in beiden Frierzyklen Temperaturen von bis zu -5°C erreicht.

Gruppe *Einmaliges Frieren*:

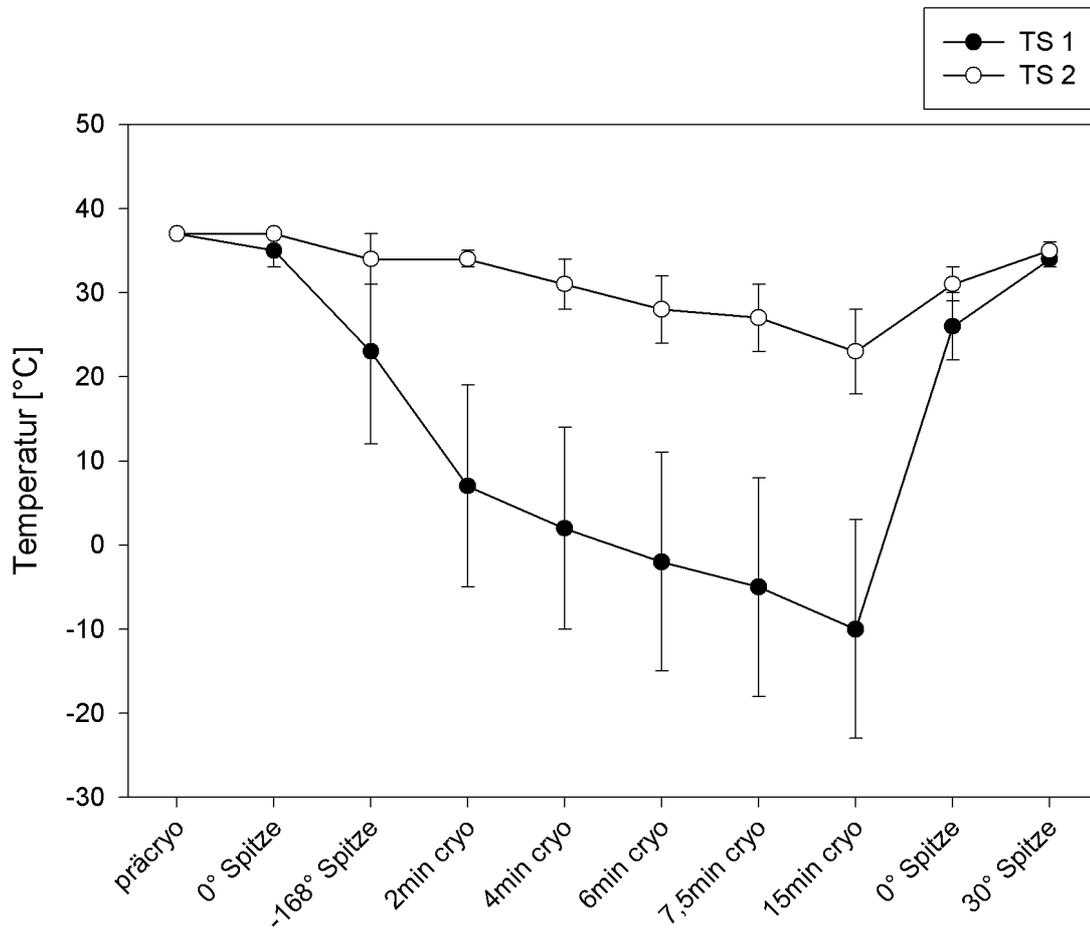


Abb. 4.31:

Hepatische Temperaturen bei *Einmaligem Frieren* 15 min. Schwarze Kreise: Temperatursonde (TS) 1 in °C in 10 mm Entfernung zur Kryosondenspitze. Weiße Kreise: Temperatursonde (TS) 2 in °C in 20 mm Entfernung zur Kryosondenspitze.

Mittelwert ± SEM

Die Temperatur des Lebergewebes fiel im proximalen Messareal auf -10°C und im distalen Messgebiet auf 20°C.

Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*:

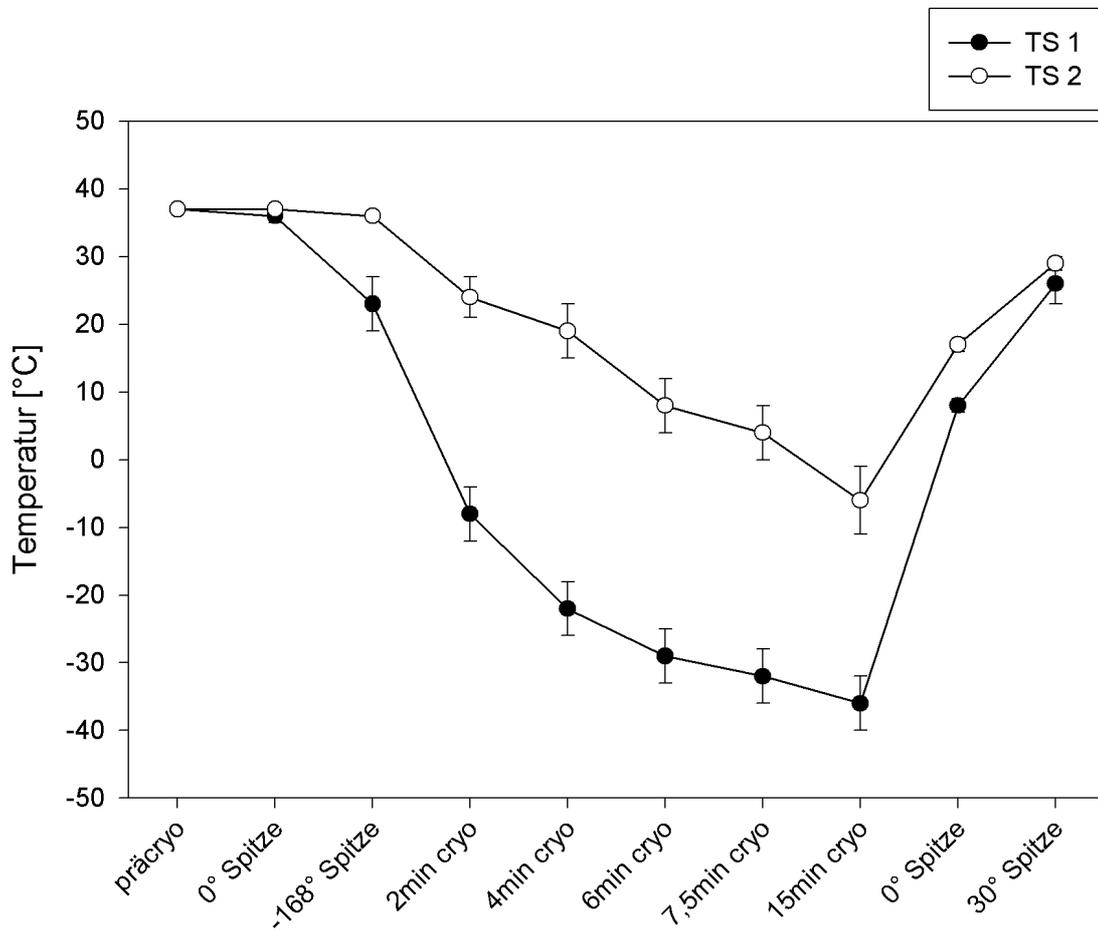


Abb. 4.32:

Hepatische Temperaturen bei *Einmaligem Frieren und SVC* 15 min. Schwarze Kreise: Temperatursonde (TS) 1 in °C in 10 mm Entfernung zur Kryosondenspitze. Weisse Kreise: Temperatursonde (TS) 2 in °C in 20 mm Entfernung zur Kryosondenspitze.

Mittelwert \pm SEM

Durch das SVC fiel die Temperatur der Schweineleber während Kryochirurgie in 1 cm Abstand von der Sonde auf annähernd -40°C , in 2 cm Entfernung von der Sonde liessen sich Temperaturen von bis zu -8°C beobachten.

Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin*:

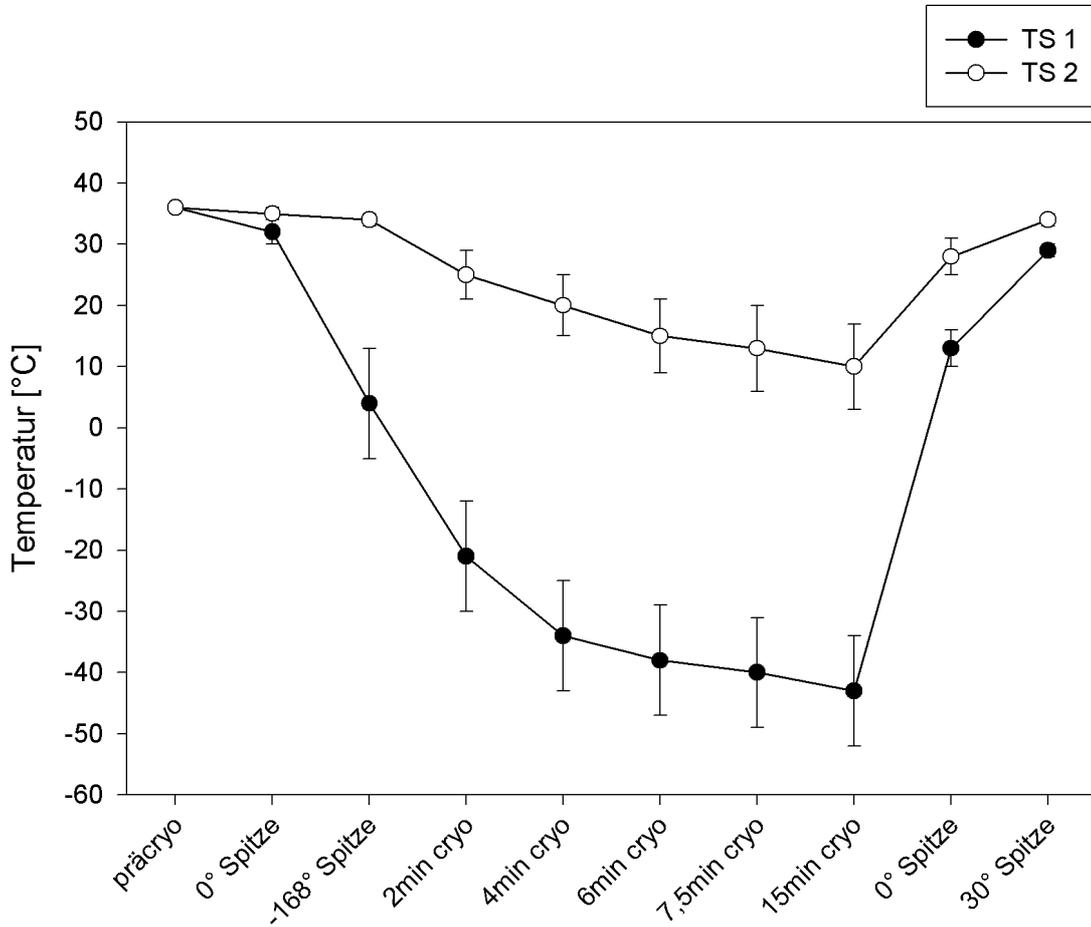


Abb. 4.33:

Hepatische Temperaturen bei *Einmaligem Frieren und Aprotinin* 15 min. Schwarze Kreise: Temperatursonde (TS) 1 in °C in 10 mm Entfernung zur Kryosondenspitze. Weisse Kreise: (TS) 2 in °C in 20 mm Entfernung zur Kryosondenspitze.

Mittelwert ± SEM

Hier sank die Temperatur während der Therapie im proximalen Messgebiet bis auf über -40°C, das distale Thermoelement zeigte eine Temperatursenkung nach 15 min Frierens bei 20°C an.

4.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Mit dem Kryosystem Erbe Cryo 6 liessen sich mit einer 3,2 mm Sonde innerhalb einer Frierzeit von 15 min. in Schweinelebern Kryonekrosen von 26 cm³ bis 43 cm³ kreieren. Die grössten Kryonekrosen waren in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC* zu beobachten, durch temporäre Unterbrechung der Perfusion während des Frierens mit Hilfe des Selektiv Vaskulären Clampings kam es zu einer signifikanten Vergrösserung der Kryoläsionen im Vergleich zu allen anderen Therapiegruppen. So erreichte man ein durchschnittliches Kryovolumen von 43 cm³. Die zweitgrössten Volumina erzielte man in der Gruppe *Einmaliges Frieren* (30 cm³), gefolgt von der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* mit 29 cm³ Leberdestruktionsvolumen. Die kleinsten Kryonekrosen waren in der Gruppe *Repetitives Frieren* mit 26 cm³ zu beobachten. Intraoperativ kam es zu einem absoluten Mikroperfusionsstillstand in den Gruppen *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC*. Während und nach Kryotherapie kam es zu einer Erhöhung der Parameter des lokalen hepatozellulären Schadens ASAT, ALAT und der LDH, wobei die höchsten Werte in der Therapiegruppe *Einmaliges Frieren und SVC* feststellbar waren. Es kam in allen Therapiegruppen zum Anstieg der GGT und der AP. Bezüglich der Akutphasereaktion kam es zu einer Erhöhung des CRPs und der Leukozyten, wobei der Leukozytenanstieg in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* am geringsten ausfiel. Des weiteren kam es zu einem Thrombozytenabfall bis zum 2. POD. Bei den Gerinnungsfaktoren kam es zu einem geringen Abfall des Quickwertes und schwachen Anstiegs der PTT innerhalb der Grenzen für die jeweiligen Normalwerte. Die Fibrinogenwerte stiegen ab 6h nach der Therapie an und blieben bis zum Ende des Beobachtungszeitraum erhöht. Die D-Dimere erhöhten sich ab 24h bis zum 7. POD. Weiter kam es intraoperativ zum Absinken des AT IIIs mit einem Wiederanstieg nach der Therapie. Die Thrombinzeit erhöhte sich initial bis zum 3. POD.

5 Diskussion

5.1 Diskussion des Modells

5.1.1 Das Schwein als Versuchstier

Kryochirurgische Untersuchungen oder Kryochirurgie der Leber können an einer Vielzahl von Modellen durchgeführt werden. So berichten Autoren von Frierversuchen mit Temperaturmessung in Wasser [16] und in einem Gelatinemedium [67]. Des Weiteren liegen Ergebnisse von Studien vor, die Zellsuspensionen mit und ohne Tumorzellen gefroren hatten [70, 86]. Andere Forschungsprojekte beschreiben die Effekte interstitieller Ablationstechniken, die in-ex-vivo Lebergewebe durchgeführt wurden [4, 44, 56, 71]. Auch sind Berichte von Kryochirurgischer Forschung an in-vivo Modellen von Rattenlebern dokumentiert [31, 55, 75, 76]. Grundsätzlich muss die Wahl des Modells problembezogen erfolgen [99], also abhängig von der der Studie zugrundeliegenden Fragestellungen und Hypothesen. Frierversuche in Wasser oder Gelatinemedien können z.B. dazu dienen, die Einheitlichkeit und Zuverlässigkeit eines Kryosystems nachzuweisen. Studien ausserhalb des lebenden Organismus wie z.B. Versuche, die sich auf Zellen, Gewebe oder Organe beschränken, erlauben eine Betrachtungsweise, die sich eher auf spezifische Ursache-Wirkungs-Beziehungen reduziert [99]. Der Nachteil solcher Modelle liegt jedoch in der mangelhaften Berücksichtigung der innerhalb eines Organismus typischen Interaktionen zwischen den einzelnen Organsystemen, welche durch makro- und mikrozirkulatorische Parameter, neuronale Steuermechanismen, metabolische Faktoren sowie humorale Kaskadensysteme vermittelt werden [51]. Die Fragestellung in dieser Studie war herauszufinden, welcher Frierzyklus sich am besten zur Lebertumorderstruktion eignet, wie Nebenwirkungen der Kryochirurgie der Leber wie z.B. die Thrombozytopenie verringert werden können und wie das Medikament Aprotinin die Kryotherapie beeinflusst. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein in-vivo-Modelle gewählt, das demgegenüber die sich überlagernden lokalen und systemischen, positiven und negativen Rückkoppelungsmechanismen in der Regulation und Kontrolle komplexer physiologischer oder pathophysiologischer Prozesse berücksichtigt. Aufgrund der anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten zum Menschen werden Schweine (Minipigs oder normale Hausschweine) in der medizinischen Forschung als Versuchstiere eingesetzt [84, 87, 93]. Biomedizinische Modelle sind vielfach beschrieben und Publikationen über Anästhesie, Analgesie sowie über das prä- und

postoperative Arbeiten mit Schweinen zu Forschungszwecken sind zahlreich vorhanden [88, 89, 93]. Forschungsgebiete, in denen Schweine als Versuchstiere genutzt werden, umfassen unter anderem die Anästhesiologie, die Kardiologie, die Pharmakologie, die Nephrologie, die Transplantationsmedizin und die Chirurgie. Da die Leber des Menschen und des Schweins sehr ähnlich aufgebaut sind, sind diese Tiere für die leberchirurgische Forschung gut geeignet. Die Blutgefäßversorgung ähnelt derjenigen des Menschen. Wie beim Menschen bildet eine Bindegewebskapsel die äußere Begrenzung der Leber [83]. Auch erlaubt das Schwein als Versuchstier die intrahepatische Anwendung der Kryotherapie mit dem in der Klinik verfügbarem Equipment. Da die Leberkapsel und das Leberparenchym des Schweins nicht so fest wie beim Menschen sind und kein Tumor penetriert werden musste, war die Anwendung eines Applikationssets mit Dilatator zur Einführung der Kryosonde, wie in der Klinik üblich, nicht erforderlich. Die wenigen anatomischen Unterschiede der Schweineleber verglichen mit der menschlichen Leber werden wie folgt dargestellt: Die menschliche Leber ist nicht in einzelne Leberlappen gegliedert [77], während beim Schwein die Leber durch Incisurae interlobulares in die einzelnen, leicht gegeneinander beweglichen Leberlappen, den Lobus hepatis sinister lateralis und medialis, sowie den Lobus hepatis dexter lateralis und medialis, auffallend deutlich unterteilt ist [19, 38].

5.1.2 Diskussion der Narkose

Bestandteile der Prämedikation waren in dieser Studie Azaperon und Methomidate Hydrochlorid. Zur Narkoseeinleitung wurde Etomidate verwendet. Schliesslich wurde die balancierte Narkose mit Thiopental Natrium aufrechterhalten. Zalunardo [100] berichtet, dass alle gebräuchlichen intravenösen und Inhalationsanästhetika mit Ausnahme von Halothan und Lachgas zur Anästhesie bei Leberresektionen und Kryochirurgie prinzipiell geeignet sind. Des weiteren sind grundsätzlich Medikamente besonders gut geeignet, die bei ihrer Elimination unabhängig vom Leberblutfluss, der Enzymaktivität und der Proteinbindung sind, da sie die Leber nicht belasten und ihre Elimination weitgehend unbeeinflusst verläuft. Die Leberclearance von Etomidat ist von der Leberdurchblutung (Flow) limitiert, die von Thiopental Natrium ist von der Leberenzymaktivität abhängig und der Proteinbindung unabhängig [100]. Des weiteren werden die wasserlöslichen Bestandteile von Trapanal nach Oxidation und Konjugation mit Glukuronsäure renal ausgeschieden [54]. Zur Prämedikation setzten wir in dieser Studie zuerst Azaperon ein, welches ein oral appliziertes Neuroleptikum vom Typ der

Butyrophenone mit langer Halbwertszeit darstellt, das zur Beruhigung unter anderem bei Schweinetransporten gebräuchlich ist [21], um dann die i.m. Injektion mit Methomidate Hydrochlorid in Ruhe fortsetzen zu können. Danach kamen in dieser Studie wegen des gewünschten sofortigen Wirkungseintritts intravenös applizierbare Narkosemittel zur Anwendung. In der Literatur wird beschrieben, dass i. v. Narkotika mit dem Nachteil der geringen Steuerbarkeit im Vergleich mit Inhalationsnarkotika behaftet sind [54]: Auf das einmal injizierte Pharmakon kann der Anästhesist keinen Einfluss mehr nehmen, der Narkoseverlauf wird nur noch von den im Organismus sich abspielenden kinetischen Vorgängen bestimmt. Etomidate hat eine sehr kurze Halbwertszeit (Wirkdauer von 3-5 min bei i.v. Applikation). Wegen der kurzen Halbwertszeit spielen bei Etomidate nicht beeinflussbare Abbauvorgänge keine entscheidende Rolle. Da das Präparat hepatisch metabolisiert wird, wurde in dieser Studie seine Anwendung auf die Narkoseeinleitung begrenzt. Trapanal[®] wurde wegen der nicht beeinflussbaren Abbaukinetik stark verdünnt in 500 ml NaCl angewendet. Zusätzlich war auch bekannt, dass für die Wirkdauer bei Trapanal die Verteilungsphase bestimmend war. Nach längerer Infusionszeit war die Umverteilung des Medikaments aus dem ZNS in andere Kompartimente (Muskulatur und Fettgewebe) verlangsamt, da diese Kompartimente das Anästhetikum schon speicherten. Die Infusionsgeschwindigkeit wurde deshalb individuell, je nach Narkosetiefe des Schweins, eingestellt. Bis auf ein Schwein der Gruppe *Kontrolle* traten hierdurch keine Probleme auf. Dieses Schwein wurde mit Exitus Letalis am 1. POD aufgefunden, es musste davon ausgegangen werden, dass die Ursache in einem Narkoseüberhang begründet lag. Insgesamt ist die Injektionsnarkose mit Thiopental Natrium jedoch als sicher zu bewerten, da sie bei 30 therapierten Schweinen komplikationslos verlief.

Am Herzen wirkt Thiopental Natrium negativ inotrop und das Herzzeitvolumen nimmt ab, weshalb die Herzfrequenz reflektorisch steigt. Ein Schwein aus Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* musste wegen Kammerflimmern kardiovertiert werden. Ob diese Komplikation von diesem Anästhetikum mitverursacht wurde ist ungewiss.

5.1.3 Diskussion des Beobachtungszeitraums

Für diese Studie wurde ein 7-tägiger Beobachtungszeitraum nach Kryotherapie festgelegt, da Wissenschaftler, die in der kryochirurgischen Forschung tätig sind, nachfolgende Ergebnisse aufzeigten:

Die Abweichung der Serumlaborparameter und Gerinnungsfaktoren sowie der Thrombozyten von den Normalwerten ereignet sich in den ersten Tagen nach der Therapie. Danach werden wieder Ausgangswerte erreicht [61]. Langanhaltende nachteilige Folgen durch die Abweichung sind nicht üblich [1, 13, 25, 26, 36, 55, 62, 70, 73, 81, 86].

In Bezug auf die Kryoläsionsgrösse wird berichtet, dass die Kryonekrose während der Tauphase, also noch intraoperativ mit Ödem und Rötung des Gewebes beginnt. Während der nächsten Stunden ereignen sich vaskuläre Stase, Thrombose und Ischämie. Nach dem 2. und 3. POD ist die Kryoläsion komplett. Sie erscheint dann histologisch wie ein ischämischer Infarkt [70].

Des weiteren berichten Schüder und Mitarbeiter [76] über einen Zusammenbruch der Mikrozirkulation initial mit dem Beginn des Frierens. Die Mikrozirkulation hat sich auch 8h nach der Therapie nicht wieder restituiert. Weitere 8 Wochen nach Kryochirurgie waren Leberregeneration und Remodelling der Mikroperfusion nicht beobachtet worden. Brown et al. [9] beschreibt ebenfalls einen Zusammenbruch der Mikroperfusion bei Beginn der Kryotherapie, der auch noch 8h nach der Therapie anhielt. Nach einem Tag erholte sich die Perfusion in der eben beschriebenen Studie wieder. Auch diese Autoren stellten fest, dass der Zeitraum, in dem die Reduktion der Sauerstoffversorgung stattfand, ausreichend lang gewesen sein muss, um in Zelltod zu resultieren. Deshalb wurde in unserer Studie die intraoperative Veränderung der Mikroperfluationsverhältnisse durch die Kryotherapie untersucht, und wir beschränkten uns auf intraoperative Messungen der Mikro- und Makroperfusion, da ein längerer Beobachtungszeitraum keine neuen Erkenntnisse bezüglich der Mikroperfusion und Gewebedestruktion zugelassen hätte.

5.1.4 Diskussion der untersuchten Parameter

Wie schon im Kapitel 2.2 beschrieben, sind primäre und sekundäre Mechanismen für die Zerstörung von Gewebe durch Kälte verantwortlich. Zu den späteren oder auch als sekundär bezeichneten Effekten der Kryochirurgie gehört der durch den Zusammenbruch der Mikroperfusion und nachfolgender Ischämie und Anoxie entstehender Gewebsuntergang. In dieser Studie untersuchten wir deshalb den relativen Blutfluss und die Blutflussgeschwindigkeit in 2 mm und in 8 mm Lebertiefe. Brown et al. [9] berichten zusammenfassend, dass der Zusammenbruch der Mikrozirkulation ein Faktor ist, der zur Tumornekrose, die sich während und nach Kryochirurgie ereignet,

beiträgt. Schüder und Mitarbeiter [76] kommen zu dem Ergebnis, dass der Verlust des Lebergewebes eng mit dem sinusoidalen Mikroperfusionsversagen während und nach Kryochirurgie der Leber zusammenhängt.

Da die Makroperfusionsverhältnisse, also der Blutfluss von A. hepatica und V. portae direkt die vaskuläre Perfusion beeinflussen, wurden in dieser Studie die Flusswerte von A. hepatica und V. portae dokumentiert, um Zusammenhänge in Bezug auf die Kryodestruktion klären zu können.

In dieser Studie wurde eine Vielzahl von Serumlaborparametern untersucht. So wird übereinstimmend durch eine Reihe von Forschungsergebnissen gezeigt, dass die Transaminasenaktivitäten ASAT und ALAT direkt mit der Grösse des destruierten Lebergewebes, also mit dem Ausmass des Leberzelluntergangs infolge Kryochirurgie korrelieren [13, 55, 73, 81] und weiter ist wissenschaftlich nachgewiesen, dass das Ausmass der Thrombozytopenie mit dem Leberzelldestruktionsvolumen signifikant korreliert [13].

Die GGT ist ein Gallengangs- spezifisches Enzym und dient als empfindlicher Indikator für Dysregulation und Schädigung des Gallengangsystems. Sie gibt Hinweise auf Störungen der Leberstoffwechsellleistungen, insbesondere Exkretion. Daher ist die GGT ein Parameter, um die Integrität der Gallengänge zu überwachen. Liegt z. B. ein Ikterus vor, hat die GGT differentialdiagnostische Bedeutung bezüglich der Abgrenzung einer Cholestase vom alleinigen Zellmembranschaden [92].

Die AP kommt u. a. im Gallenwegsepithel vor. Bezüglich Lebererkrankungen ist sie erhöht bei intrahepatischem Cholestasesyndrom, v. a. bei Verschlussikterus und dient der Diagnose hepatozellulärer Leberschäden [92].

Die LDH ist ein organunspezifisches zytoplasmatisches Enzym und lässt dadurch Zellschäden gut erkennen [8]. Aus diesem Grund dient die vorübergehende postoperative Erhöhung der LDH als Bestätigung des zuvor durchgeführten hepatozellulären Schadens [81].

Weiter sind zahlreiche Publikationen vorhanden, die während und nach Kryotherapie einen signifikanten Abfall der Thrombozytenzahlen beschreiben [3, 20, 61, 73]. Damit assoziiert sind Hämorrhagie und Diathese [80].

Auch wird von ernstzunehmenden septischen Komplikationen und Erhöhung der Leukozytenzahlen nach Kryotherapie berichtet [11, 73]. Wir bestimmten deshalb in dieser Studie die Leukozyten und das CRP, das als klassisches „Akut-Phase-Protein“ gilt und als generelle unspezifische Antwort auf entzündliche Prozesse gebildet wird.

Des Weiteren wird in Studien über vorübergehendes Nierenversagen [3, 14, 80, 81] nach Kryochirurgie der Leber berichtet, daher bestimmten wir die Kreatininwerte. Kreatinin entsteht im Muskel durch Abbau von Kreatinphosphat und wird in der gesunden Niere fast vollständig glomerulär filtriert. Das Serumkreatinin steigt dann an, wenn das Glomerulumfiltrat stark vermindert ist, wie es z.B. nach Tubulusnekrosen der Fall sein könnte.

In relativer Übereinstimmung wird von einer Vielzahl von Forschergruppen über Störungen im Blutgerinnungssystem während und nach Kryochirurgie der Leber berichtet [14, 73, 80]. So ist von Abweichungen der Thromboplastinzeit die Rede und von erhöhten Werten von Abbauprodukten der Blutgerinnung [73]. Es wird auch von einer Verbrauchskoagulopathie berichtet [81]. Als sehr ernst zu nehmende, aber seltene Nebenwirkung ereigneten sich Multiorganversagen mit ernsthafter Gerinnungsstörung und das „Kryoschockphänomen“, das sich zusammensetzt aus Gerinnungsstörung, Multiorganversagen und disseminierter intravasaler Gerinnung [11, 20, 73, 80]. In dieser Studie versuchten wir zu klären, wie diese Dysregulation der Blutgerinnung während und nach Kryotherapie zu erklären und zu vermeiden ist. Deshalb bestimmten wir folgende Gerinnungsparameter:

Die Thromboplastinzeit (Quickwert) dient dem Nachweis von Störungen im exogenen System der Blutgerinnung (Faktor II, V, VII, X). Als Bestimmungsindikation hierfür gelten Leberparenchymschäden und Erniedrigung des Fibrinogenwertes.

Die partielle Thromboplastinzeit (PTT) ist ein Parameter zum Nachweis von Störungen im endogenen System der Blutgerinnung (Faktor I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII). Da die meisten dieser Faktoren in der Leber synthetisiert werden, ist die PTT bei Leberfunktionsstörungen verlängert. Mit der PTT kann somit die postoperative Lebersyntheseleistung beurteilt werden [17].

Der Fibrinogenwert (Faktor I) ist als Substrat von Thrombin Vorstufe von Fibrin. Die Indikationsstellung zur Bestimmung für diesen Parameter sind v. a. Störung der Blutgerinnung, Verlaufskontrolle der Verbrauchskoagulopathie und von Lebererkrankungen.

Die Thrombinzeit ist die Bezeichnung für die zweite Phase der Blutgerinnung, deren Dauer von der Plasmakonzentration an Fibrinogen, AT III und Heparin abhängt. Als Indikation zur Bestimmung gilt die Überwachung von Fibrinsynthesstörungen.

Das Antithrombin III ist ein Inhibitor der Blutgerinnung durch Inaktivierung von Thrombin und den Faktoren IXa, Xa, XIa, und XIIa. Bei einem AT-III Mangel besteht

ein erhöhtes Thromboserisiko, dies kann auch durch einen erhöhten Verbrauch von AT-III bei Verbrauchskoagulopathie bedingt sein.

Die D-Dimere entstehen bei der Spaltung bereits quervernetzter Fibrinmoleküle und sind Ausdruck einer intravasalen Fibrinbildung bei Verbrauchskoagulopathie mit sekundärer Hyperfibrinolyse [17].

Wir bestimmten die Kryozonengrößen, da diese die Lebergewebsnekrose widerspiegelt. Diese entspräche ebenso - in unserem Modell jedoch nicht untersuchbar - der Tumornekrose beziehungsweise Zerstörung von Tumor und umgebenden Lebergewebe. Sie ist der entscheidende Faktor für die postoperative Prognose des Patienten. Deshalb untersuchten wir, inwieweit sich unterschiedliche Frierzyklen, SVC und Aprotinin auf die Kryoläsionsgrösse auswirkten. Darüber hinaus wurde geprüft, mit welcher dieser Friermethoden sich im Randbereich um die Kryonekrose herum eine grösstmögliche Homogenisierung der Kryonekrose zu erzielen sei. Dies bedeutet zu prüfen, mit welchem Friermodus ein Maximum an Zelltod durch Apoptose zu erreichen sei. Diese Apoptose wird eingeleitet durch Ischämie und Hypoxie, was wiederum durch Mikozirkulationsmonitoring in dieser Studie dokumentiert wurde.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Überleben

Gruppe *Kontrolle*: Ein Schwein der Gruppe *Kontrolle* wurde mit Exitus letalis am 1. POD aufgefunden. Dies ist in Kapitel 5.1.2 diskutiert.

Gruppe *Repetitives Frieren*: Ein Schwein dieser Gruppe wurde mit Exitus letalis am 5. POD aufgefunden. Die Obduktion ergab als Todesursache einen hohen Dünndarmileus. Kahlenberg et al. [33] berichten ebenso von einem Todesfall nach Kryochirurgie der Leber bei Schweinen durch Eingeweideobstruktion, bringen diese Komplikation nicht in Zusammenhang mit der zuvor durchgeführten Leberkryochirurgie. Weitere Autoren [98, 41] hatten keine Todesfälle nach Leberkryochirurgie bei Schweinen zu beklagen, jedoch waren hier auch die postoperativen Nachbeobachtungszeiträume kürzer. In einer Studie, die sich ausschliesslich mit Komplikationen nach Kryochirurgie der Leber des Menschen befasst [80], ereigneten sich Ileus und Mesenterialinfarkt jeweils mit einer Häufigkeit von 3 Prozent bezogen auf die gesamte Komplikationsrate. Die Ursache dieser Komplikation wurde nicht der Kryochirurgie zugeschrieben, da bei allen Laparatomien ein gewisses Risiko für postoperative Passagestörungen besteht.

5.2.2 Mikrozirkulation

Bei 30 % der Patienten mit Lebertumoren, die kryotherapiert wurden, kommt es zu einem lokalen Tumorrezidiv [79]. Durch Analyse der Temperaturprofile kam es zur Annahme, dass einige Zellen von Tumorgewebsresten nicht vollständig zerstört wurden, insbesondere im Randbereich um die Kryonekrose herum [82]. Daher stellt sich die Frage, wie niedrig die Temperatur in diesem Randbereich um die Kryonekrose herum sein muss, um sicher das Überleben von Tumorzellresten ausschliessen zu können und wie die Gewebstemperatur und die Mikroperfuationsverhältnisse zusammenhängen. Schüder und Mitarbeiter [75] haben gezeigt, dass es beim Erreichen von 0°C im Lebergewebe zum irreversiblen Untergang der Mikroperfusion im entsprechenden Leberareal kommt. Dadurch führen Temperaturen im Lebergewebe von zumindest 0°C und darunter zu irreversiblen Perfuationsversagen, das konsequenterweise zu Zelltod und Gewebnekrose führen wird. Da Tumore eine eigene Angioarchitektur besitzen, die zu einer gewissen Hyperperfusion im Randbereich des Tumors führt, sind für die Tumordestruktion tiefere Temperaturen notwendig. In unserer Studie versuchten wir zu klären, welches Frierprotokoll am geeignetsten ist, um die Mikroperfusion am effektivsten zum Sistieren zu bringen. Durch Selektiv Vaskuläres Clamping kam es am frühesten zum Zusammenbruch der Mikroperfusion. Dies erklärt sich durch die Elimination des Heat-sink-Effekts aufgrund Reduktion der Makroperfusion, woraus eine schnellere und ausgedehntere Ausbreitung des Eisballs um die Sonde resultiert. Vergleicht man *Repetitives Frieren* mit *Einmaligem Frieren*, so ist durch *Repetitives Frieren* das völlige Sistieren der Mikroperfusion zu erreichen. Durch *Einmaliges Frieren* konnte die Mikroperfusion auch nach 15 min Frieren nicht komplett unterbunden werden. Schüder und Mitarbeiter zeigten ebenfalls, dass durch *Repetitives Frieren* ein stärkerer Mikroperfuationszusammenbruch zu erzielen war, verglichen mit *Einmaligem Frieren* [75, 76].

5.2.3 Makrohämodynamik

In allen Therapiegruppen kam es zu einer deutlichen Verringerung der Makroperfusion vom Beginn bis zum Ende der Kryotherapie. Dies bestätigt das fortschreitende Sistieren der Mikroperfusion im Randbereich um die Kryonekrose herum unter anderem auch verursacht durch retrograd eingeschwemmte Zellfragmente zuvor untergegangener

Leberparenchymzellen aus dem Therapiezentrum in die angrenzenden Leberzellsinusoide und dadurch ausgelöste Perfusionsblockade in diesem Randbereich [76].

5.2.4 Laborparameter und Gerinnungsstatus

In Bezug auf die Kreatininwerte kam es zu einem Abfall des Kreatinins zwischen den Zeitpunkten vor Kryotherapie und vor dem zweiten Kryotherapiezyklus. Den Schweinen war 24h vor der Operation die Nahrung entzogen worden bei freiem Zugang zum Trinkwasser. Intraoperativ wurde im Rahmen der Infusionstherapie für eine ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz gesorgt, sodass hierin die Ursache des Rückgangs der Kreatininwerte zwischen diesen beiden Zeitpunkten zu finden sein könnte. Der Anstieg des Kreatinins bis 24h nach Kryotherapie in dieser Studie deckt sich mit den Beobachtungen von Goodie et al., der die höchsten Kreatininwerte am 1.POD feststellte [25]. Ernsthafte Nierenfunktionsstörungen oder sogar Todeseintritte von Schweinen durch akutes Nierenversagen waren bei uns nicht beobachtbar gewesen. Bagia et al. [3] resümieren, dass Nierenfunktionsstörungen eher eine seltene aber ernsthafte Komplikation nach Kryotherapie der Leber darstellen. Sie sind auch Bestandteil des Kryoschockphänomens. Auch korreliert die Nierenfunktionsstörung mit der Kryoläsionsgrösse, der Frierzeit und dem postoperativem ASAT-Anstieg [25]. Nur ein Patient, der schon eine präoperative Nierenfunktionsstörung hatte, entwickelte in der vorgenannten Studie postoperativ eine Verschlechterung der Nierenfunktion.

Den postoperativ höchsten Zuwachs der Transaminasen war in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* festzustellen. Daher deckt sich das Ergebnis unserer Studie, dass der Transaminasenanstieg mit dem destruierten Tumolvolumen und der Anzahl der ausgeführten Frierzyklen korreliert [1, 13, 26, 36, 55, 70, 73, 86].

Als gallengangsspezifisches Enzym gilt die GGT als Überwachungsparameter für die Störung der Exkretion. Daher ist der geringe Anstieg der GGT bis zum 7.POD in den Gruppen, die kryotherapiert wurden gut zu erklären.

Da durch Lebergewebsdestruktion auch kleinste Gallenabflusswege unterbunden worden sind, deckt sich die vorübergehende Erhöhung der AP in dieser Studie mit dem Anstieg der AP bei Korpan et al. [36].

Der Serumlaborparameter LDH zeigt das Ausmass der Zellschädigung auf [8]. Die höchsten Werte dieses Enzyms in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* passen deshalb gut zu den entsprechenden Kryoläsionsgrössen dieser Studie.

Das CRP ist vor allem erhöht bei akuten bakteriellen Entzündungen, Nekrosen, chronisch entzündlichen Prozessen [8]. Ausserdem kommt es postoperativ zum Anstieg des Werts. Dadurch erklärt sich, dass das CRP auch in Gruppe *Kontrolle* erhöht war. Des weiteren muss auch der ZVK als Fremdkörper und potentielle Infektionsquelle mit in Betracht gezogen werden.

Die Leukozytenzahlen sind erhöht bei Infektionen, akuten und chronischen Entzündungen und Gewebsinfarkten. Deshalb ist es verständlich, dass in Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* die höchsten Leukozytenzahlen beobachtbar waren.

Der Thrombozytopenie und den Veränderungen des Blutgerinnungssystems kommen eine erhebliche Bedeutung zu, wenn man realisiert, dass die Mehrheit der Komplikationen und Todesfälle nach Kryotherapie von malignen Lebertumoren durch Blutung und Gerinnungsstörungen bedingt sind [80]. Insgesamt decken sich unsere Ergebnisse vom Zeitpunkt der Thrombozytopenie mit den Beobachtungen weiterer Autoren [1, 13, 25, 26, 62, 81]. Auffallend ist auch, dass neben der Thrombozytopenie noch zusätzliche Veränderungen des Gerinnungssystems beschrieben sind, wie z.B. eine signifikante Erhöhung der PTT und der Thromboplastinzeit [18, 28, 97]. Bei unseren Versuchstieren kam es zwar ebenfalls zu einer Erhöhung dieser Werte, ausserhalb des Normbereichs lagen sie nur in Gruppe *Repetitives Frieren* 6h und 24h nach der Therapie. Nachdem bereits Untersuchungen, die 20 Jahre zurückliegen, zeigen konnten, dass der Thrombozytenabfall nach Kryotherapie umso stärker ist, je ausgedehnter die Kryonekrose ist [28, 42] demonstrieren neuere Untersuchungen auch direkte Korrelation zwischen Thrombozytenabfall und dem Parametern des lokalen hepatozellulären Schadens [13]. Auch in unserer Studie liess sich in der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC*, welche den grössten Leberschaden aufwies, die höchsten Werte des Transaminasen- und LDH-Verlauf nach Kryotherapie beobachten. Leider lassen unsere Ergebnisse bei alleiniger Beobachtung des Thrombozytenverlaufs in Bezug auf die unterschiedlichen Therapieverfahren in den jeweiligen Gruppen keinen eindeutigen Rückschluss darauf zu, welches der Therapieverfahren nun am geeignetsten ist, um bei Kryotherapie der Leber einen Thrombozytenabfall abzuschwächen oder gar zu verhindern, denn in dieser Studie war das destruierte Lebervolumen zu gering, um eine noch deutlicher ausgeprägte Thrombopenie mit Blutungskomplikationen zu erhalten [60].

Des weiteren wird auch immer wieder die Induktion einer disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie als Ursache der Thrombozytopenie diskutiert, wobei jedoch

keine intravasale Thrombenbildung nachweisbar ist [28]. Die von uns bestimmten Laborveränderungen sprechen für einen der disseminierten intravasalen Gerinnung zumindest ähnlich ablaufendem Mechanismus. So kommt es neben der Thrombozytopenie zu einem Abfall des Antithrombin III, der auf eine erhöhte Thrombinfreisetzung hinweist [63]. Der AT III Abfall gilt auch als frühes Zeichen einer disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie [63]. Das Fibrinogen stieg in unserer Studie zwischen 6h und 24h nach Kryotherapie an und hielt sich auf diesem erhöhten Niveau bis zum Ende des Beobachtungszeitraums. Gleichzeitig kam es zu einem Anstieg der D-Dimere, der sich aber noch innerhalb der Grenzen für Normalwerte bewegte. Die Grössenordnung des Anstiegs der D-Dimere erlaubt Rückschlüsse auf das Ausmass der Aktivität der disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie [69]. Dieser D-Dimer Anstieg ist durch die reaktive Hyperfibrinolyse zu erklären, welche ihrerseits ein Charakteristikum der disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie ist [48, 53, 63]. Durch diese Fibrinolyse erklärt sich schliesslich bei begleitender Thrombozytopenie, warum eine hohe Zahl von Patienten Blutungskomplikationen nach Kryotherapie entwickeln. Letztendlich stellt sich die Frage, welchem Pathomechanismus die Thrombozytopenie und die begleitenden Veränderungen im Gerinnungssystem zuzuschreiben sind. Pistorius et al. [61], Hamad et al. [26] und Richter et al. [68] wiesen darauf hin, dass die Ursache der systemischen Thrombozytopenie in einem lokalen „Thrombozyten-Trapping“ begründet ist. Neueste Untersuchungen [35, 60] konnten mit histologischen Präparaten und nuklearmedizinischen Methoden zeigen, dass es zu einer verstärkten Anreicherung von Thrombozyten in der Leber am Rand um die Kryonekrose herum kommt. Hiermit sind in unserer Studie die messbaren Laborveränderungen als Folge der lokalen Gerinnungsaktivierung und der fibrinolytischen Gegenregulation durch lokale Einflüsse erklärbar. Es kommt im Rahmen der Kryodestruktion zur Schädigung kleinerer Gefässe mit entsprechenden Endothelschäden [33, 98]. Diese Endothelschäden können eine direkte Plättchenaggregation und auch intravasale Thrombinbildung induzieren [52]. Die Mediatorfreisetzung aus angelagerten Thrombozyten aktiviert weitere Thrombozyten und führt zu einer anhaltenden Thrombozytenaggregation [5, 29]. Da es in unserer Studie postoperativ zu keinen Blutungsereignissen kam, ist davon auszugehen, dass für diese in der Literatur beschriebenen Nachblutungen noch grössere und/oder mehr Kryoläsionsgrössen als in unserer Studie hätten erzeugt werden müssen. Wir verwendeten in dieser Studie eine Kryosonde mit 3,2mm Durchmesser. Die höhere

Komplikationsrate früherer Autoren ist auch damit erklärbar, dass sie über ein Kryoequipment verfügten, deren kleinste Sondendurchmesser 6mm betragen.

In einer gewissen Anzahl von Fällen sind Patienten vor Kryochirurgie der Leber durch eine vorausgegangene Zytostatikatherapie in ihrem Blutgerinnungssystem auch schon beeinträchtigt worden [73].

Im Gegensatz hierzu handelte es sich bei den intraoperativ aufgetretenen Blutungen um parenchymale Blutungen, sogenanntem „Cracking“ [15, 73, 80, 97]. In allen Fällen war eine Blutstillung durch Naht und/oder Verwenden eines Tabocomb Vlieses möglich. Als Ursache für die entstandenen Blutungen durch „Cracking“ des Leberparenchyms sind Frier-Auftauvorgänge mit daraus folgenden Ausdehnungsprozessen des Eisballs denkbar. Da Wasser im Aggregatzustand Eis ein grösseres Volumen besitzt als in flüssiger Form kommt es dann durch verursachte Gewebsspannungen zum Platzen von Gefässen während der intravasalen Eisbildung. Beim nachfolgenden Auftauen zeigt sich dieses Phänomen als Blutung. Des weiteren können intraoperative Bewegungen des Schweins gegenüber der fixierten Sonde in Form von Atemexkursionen des Zwerchfells ausreichend gewesen sein, um speziell im Bereich der Leberkapsel eine Rissbildung hervorzurufen. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, daß ein „Cracking“ des Leberparenchyms – im Zusammenhang mit hepatischer Kryotherapie - als allgemeines Phänomen zu verstehen ist. Eine zusätzliche Gefährdung besteht durch die gefäßnahe Anwendung der Kryotherapie nicht. Spekulationen, die besagen, daß ein „Cracking“ der Gefäßwand unter Kryotherapie ein unkalkulierbarer Risikofaktor ist, lassen sich daher nicht bestätigen.

5.2.5 Kryozonengrösse:

In der Gruppe *Repetitives Frieren* betrug die Grösse $25 \pm 2 \text{ cm}^3$. Die Grösse in der Gruppe *Einmaliges Frieren* betrug $30 \pm 4 \text{ cm}^3$. In der Gruppe *Einmaliges Frieren und SVC* $43 \pm 5 \text{ cm}^3$ und in der Gruppe *Einmaliges Frieren und Aprotinin* $29 \pm 3 \text{ cm}^3$.

Dilley et al. und Neel et al. [16, 55] beschreiben übereinstimmend in ihren Versuchen, dass nach Repetitivem Frieren signifikant grössere Läsionen als nach Einmaligem Frieren entstanden sind. Jedoch sind die Ergebnisse dieser Autoren mit unserer Studie nicht vergleichbar, denn die reale Frierzeit war in diesen Studien bei *Repetitivem Frieren* deutlich länger im Vergleich mit *Einmaligem Frieren*. Die ähnlich grosse Ausdehnung der Kryoläsionsgrösse nach *Repetitivem Frieren* im Vergleich mit

Einmaligem Frieren in unserer Studie erklärt sich damit, dass die Therapiedauer in den gerade beschriebenen Friermodi jeweils exakt 15 min betrug.

5.2.6 Einfluss von SVC:

In dieser Therapiegruppe waren die grössten Kryoläsionen beobachtbar. Während des Frierens wurde der Blutfluss des gerade therapierten Leberlappens reduziert, indem die zuführende Abzweigung des Pfortaderastes und die arterielle Blutversorgung für diesen Zeitraum geklemmt wurden, d. h. Selektiv Vaskuläres Clamping (SVC) wurde induziert. Dadurch konnte die Wirkung des sogenannten „Heat-sink-Effekts“ während des Frierens eliminiert werden. Der „Heat-sink-Effekt“ bewirkt eine Verminderung der Frierleistung der Kryosonde durch vorbeifliessendes warmes Blut in grösseren Gefässen [73]. Es konnten in unserer Studie durch SVC die Kryoläsionen mit maximalem Durchmesser erzeugt werden, was auch andere Forschergruppen experimentell so bestätigten [55]. Weiter wurde von Pistorius gezeigt, dass der Tumorrandbereich stärker vaskularisiert ist, verglichen mit tumorfreiem Lebergewebe und deshalb hier tiefere Frieremperaturen nötig sind, um einen kompletten Blutzirkulationsstopp zu erzielen [60]. Durch SVC ist es möglich, die Frierleistung in diesem Bereich zu verbessern.

5.2.7 Einfluss von Aprotinin

Aprotinin ist ein Proteaseinhibitor, der Kallikrein, Thrypsin, Chymothrypsin, Plasmin und einige Plasminogenaktivatoren hemmt. Aprotininingabe erfolgt z.B als Antidot zur Unterbrechung einer antifibrinolytischen Therapie [54]. Weiter wird Aprotinin wegen seiner antifibrinolytischen Wirkung eingesetzt, um eine Verbrauchskoagulopathie abzuschwächen und zu beenden [8]. Neben dieser antifibrinolytischen Eigenschaft ist Aprotinin ebenso dazu fähig, die Thrombozyten-Endothel-Zell Interaktionen abzuschwächen, möglicherweise durch Verminderung der Expression von P-Selectin [30] und durch die Verringerung von aktivierten Glykoprotein IIb bis IIIa Komplexen [37]. Durch den Einsatz von Aprotinin konnte in unserer Studie erstmals gezeigt werden, dass der postoperative Leukozytenanstieg deutlich geringer ausfiel, verglichen mit den anderen Therapiegruppen. Wie sich Aprotinin auf die lokale Thrombozytenaktivität im Bereich der Kryoläsion auswirkt, müssen weitere Experimente klären, die histologische Lebergewebsaufbereitungen mit einschliessen.

5.3 Klinische Relevanz der Ergebnisse

Die Kryotherapie erweitert das Rüstzeug des Chirurgen: Zur Therapie von Lebertumoren eröffnet die Kryotherapie bestimmten Patienten eine zusätzliche Therapieoption [1]. Mit Hilfe des Kryosystems Erbe Cryo 6 liessen sich in dieser Studie mit einer Sonde Kryoläsionen von 25 bis 43 cm³ ohne postoperative Blutungskomplikation erzeugen. Die intra- und postoperative Thrombozytopenie führte zu keinen ernsthaften Blutungen. Die Werte der Transaminasen- sowie der Laktatdehydrogenaseaktivitäten bestätigten das Ausmass des lokalen hepatozellulären Schadens. Um im kritischen Randbereich um die Kryoläsion herum das Überleben einzelner Tumorzellen sicher ausschliessen zu können, sind Messungen der Lebergewebstemperatur durch Thermosonden sowie Laser-Doppler-Mikroperfusionsmessungen empfehlenswert. Bezüglich des Frierzyklus liessen sich durch *Repetitives Frieren* und *Einmaliges Frieren und SVC* in 2 cm Entfernung zur Kyosonde, also im Randbereich um die Kryonekrose herum 0°C und ein völliges Sistieren der Mikroperfusion erreichen. Daher sind diese beiden Friermodi am geeignetsten, um postoperative Tumorrezidive aus dem Randbereich der Kryoläsion verhindern zu können. Weiter war durch *Einmaliges Frieren und SVC* das maximale Volumen der Kryonekrose in dieser Studie zu erreichen. Daher sollte der Friermodus *Einmaliges Frieren und SVC* zur Destruktion grosser Tumorumfänge eingesetzt werden. Hier an dieser Stelle sollte noch kurz auf die Ischämiezeit nach SVC, die in dieser Studie 60 Minuten betrug eingegangen werden. Es gab bei uns keinerlei Anhaltspunkte auf Schäden im Lebergewebe ausserhalb des Friergebiets durch die temporäre Abklemmung des linken Pfortaderasts und der A. hepatica sinistra. In der Literatur ist beschrieben, dass die normotherme Ischämie durch Pringle-Manöver von der Leber gut toleriert wird, auch bei kontinuierlichen Abklemmphasen die über 60 Minuten ausgedehnt wurden, ohne dass ein signifikanter Unterschied im postoperativen Verlauf der Patienten mit kürzeren Abklemmzeiten berichtet wurde [66]. Für Patienten mit einer Child-A-Zirrhose sollte die komplette Abklemmzeit des Ligamentum Hepatoduodenale möglichst unter 30 bis 40 Minuten liegen [34]. Wir empfehlen deshalb ebenso wie diese Autoren bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion und Leberzirrhose, für die ein komplettes Pringle-Manöver ein Risiko darstellen würde, die hemihepatische vaskuläre Kontrolle durch selektives vaskuläres Clamping, wie in dieser Studie dargestellt. Der Einsatz des Medikaments Aprotinin während Kryochirurgie

dient der Abschwächung des postoperativen Leukozytenanstiegs und könnte somit dazu beitragen, septische Komplikationen zu verhindern.

Sein Einfluss auf den Thrombozytenverlauf könnte die intra- und postoperative Thrombozytopenie während Kryochirurgie abschwächen und den nachfolgenden reaktiven Thrombozytenanstieg erhöhen. Somit wäre es möglich, letale Komplikation durch Gerinnungsstörung infolge Kryotherapie vom Patienten abzuwenden.

6 Literaturverzeichnis

1. Adam, R, Akpınar, E, Johann, M, Kunstlinger, F, Majno, P and Bismuth, H (1997) *Place of Cryosurgery in the Treatment of Malignant Liver Tumors*. *Ann Surg* **225**(1): 39-50.
2. Asahina, E and Emura, M (1966) *Types of cell freezing and the post-thawing survival of mammalian ascites sarcoma cells*. *Cryobiology* **2**(5): 256-262.
3. Bagia, J, Perera, D and Morris, D (1998) *Renal Impairment in Hepatic Cryotherapy*. *Cryobiology* **36**: 263-267.
4. Berger, W, Schüder, G and Feifel, G (1996) *Temperaturverteilungsmuster im Lebergewebe bei Einfriervorgängen mit neuen Kryosonden*. *Chirurg* **67**: 833-838.
5. Bick RL (1996) *Disseminated intravascular coagulation and related syndromes: a clinical review* *Semin Thromb Hemostas* **14** 299-338
6. Bischof, J, Christov, K and Rubinsky, B (1993) *A Morphological Study of Cooling Rate Response in Normal and Neoplastic Human Liver Tissue: Cryosurgical Implications*. *Cryobiology* **30**: 482-492.
7. Bismuth, H, Castaing, D and Garden, J (1989) *Major Hepatic Resection Under Total Vascular Exclusion*. *Ann Surg* **210**: 13-19.
8. Bob A, Bob K (2001) *Duale Reihe Innere Medizin*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
9. Brown, N, Bayoo, P and Reed, M (1993) *Effect of Cryosurgery on Liver Blood Flow*. *Br J Cancer* **68**(1): 10-12.
10. Brunken, C, Topp, S, Tesch, C, Drüge, G, Malagò, M, Meiners, J, Püschel, K, Schäfer, H, Diekmann, C, Scholz, J, Nicolas, V, Izbicki, J and Rogiers, X (1999) *Systemic side effects of interstitial techniques used in liver tissue*. *J Am Coll Surg* **188**: 636-642.
11. Cohnert, T, Rau, H, Buttler, E, Hernandez-Richter, T, Sauter, G, Reuter, C and Schildberg, F (1997) *Preoperative risk assessment of hepatic resection for malignant disease*. *World J Surg* **21**: 396-401.
12. Cooper, I (1963) *Cryogenic surgery - A new method of destruction or Extirpation of Benign or Malignant Tissues*. *N Engl J Med* **268**(14): 743-749.

13. Cozzi, P, Stewart, G and Morris, D (1994) *Thrombocytopenia after hepatic cryotherapy for colorectal metastases: Correlates with hepatocellular injury*. World J Surg **18**: 774-777.
14. Curley, S, Izzo, F, Delrio, P, Ellis, L, Granchi, J, Vallone, P, Fiore, F, Pignata, S, Daniele, B and Cremona, F (1999) *Radiofrequency Ablation of unresectable Primary and Metastatic Hepatic Malignancies*. Ann Surg **230**(1): 1-8.
15. Cushieri, A, Crosthwaite, G, Shimi, S, Pietrabissa, A, Joypaul, V, Tair, I and Naziri, W (1995) *Hepatic Cryotherapy for Liver Tumors*. Surg Endosc **9**: 483-489.
16. Dilley, A, Dy, D, Warlters, A, Copeland, S, Gillies, A, Morris, R, Gibb, D, Cook, T and Morris, D (1993) *Laboratory and Animal Model Evaluation of the Cryotech LCS 2000 in Hepatic Cryotherapy*. Cryobiology **30**: 74-85.
17. Dörner K (1999) *Klinische Chemie und Hämatologie* Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 3. Auflage.
18. Dutta P, Montes M, Gage AA (1979) *Large volume freezing in experimental hepatic cryosurgery. Avoidance of bleeding in hepatic freezing by an improvement in the technique*. Cryobiology **16**: 50-55.
19. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJ (1991) *Anatomie der Haustiere*, übersetzt von Budras KD, Goller H, Goller I, Hofmann RR, Hummel G, Weyrauch KD, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
20. Feifel, G, Schüder, G and Pistorius, G (1999) *Kryochirurgie - Renaissance oder echter Fortschritt?* Chirurg **70**: 154-159.
21. Frey HH, Löschner W (2003) *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für Veterinärmediziner*. 2. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
22. Gage, A (1985) *Effect of varying freezing and thawing rates in experimental cryosurgery*. Cryobiology **22**: 175-182.
23. Geoghegan, J and Scheele, J (1999) *Treatment of colorectal liver metastases. Review*. Br J Surg **86**: 158-169.
24. Gill, W, Fraser, J and Carter, D (1968) *Repeated freeze/thaw cycles in cryosurgery*. Nature **219**: 410-413.
25. Goodie, D, Horton, A, Morris, R, Nagy, L and Morris, D (1992) *Anaesthetic Experience with Cryotherapy for Treatment of Hepatic Malignancy*. Anaesth Intens Care **20**: 491-496.

26. Hamad, G and Neifeld, J (1998) *Biochemical, hematologic and immunologic alterations following hepatic cryosurgery*. *Semin Surg Oncol* **14**: 122-128.
27. Hansen, P, Rogers, S, Corless, C, Swanstrom, L and Siperstien, A (1999) *Radiofrequency Ablation Lesions in a Pig Liver Model*. *J Surg Res* **87**: 114-121.
28. Healey WV, Priebe CJ, Farrer SM, Phillips LL (1971) *Hepatic cryosurgery*. *Arch Surg* **103**: 384-392.
29. Himmelreich G, Riess H (1993) *Pathophysiologie und Therapie der Verbrauchskoagulopathie* *Klin Lab* **39** 25-30.
30. Inui K, Shimazaki Y, Watanabe T, Kuraoka S, Uesho K, Uchida T et al. (1998) *Aprotinin reduces the expression of p-selectin on the surface of platelet and leukocyte-platelet conjugats*. *Artif Organs* **22**: 1018-1022.
31. Jacob, G, Kurzer, M and Fuller, B (1985) *An Assessment of Tumor Cell Viability after in Vitro Freezing*. *Cryobiology* **22**: 417-426.
32. Johnson, L, Krebs, T, Van Echo, D, Plotkin, J, Njoku, M, Wong, J, Daly, B and Kuo, P (1997) *Cytoablative Therapy with Combined Resection and Cryosurgery for Limited Bilobar Hepatic Colorectal Metastases*. *Am J Surg* **174**: 610-613.
33. Kahlenberg, M, Volpe, C, Klippenstein, D and et al. (1998) *Clinicopathologic effects of cryotherapy on hepatic vessels and bile ducts in a porcine model*. *Ann Surg Oncol* **5**(8): 713-718.
34. Kohlhaw, K, Schwarz, R, Geißler, F, Witzigmann, H, Lamesch, P and Haus, J (1999) Besonderheiten der Technik der Leberresektion in der Zirrhoseleber in *Leberchirurgie: Anatomie, Operationstechniken, Komplikationsvermeidung. Ergebnisse und Perspektiven*. Hrsg. F. Köckerling und H. Waclawiczek. Barth: Heiderberg, Leipzig. S. 168f.
35. Kollmar O, Richter S, Czyborra J, Menger MD, Dietrich S, Schilling MK, Kirsch CM, Pistorius GA (2004) *Aprotinin inhibits local platelet trapping and improves tissue destruction in hepatic cryosurgery* *Surg* **136** 624-632.
36. Korpan, N (1997) *Hepatic Cryosurgery for Liver Metastases. Long-Term Follow-Up*. *Ann Surg* **225**(2): 193-201.
37. Kozek-Langenecker SA, Mohammad SF, Masaki T, Green W, Kamerath C, Cheung, AK (2000) *The effects of aprotinin on platelets in vitro using whole blood flow cytometry*. *Anesth Analg* **90**: 12-16.

38. Krahmer R, Schröder L (1986) *Atlas der Anatomie der Haustiere*. 2. Auflage S. Hirzel Verlag, Leipzig.
39. Lam, C, Shimi, S and Cushieri, A (1995) *Ultrasonographic Characterization of Hepatic Cryolesions. An Ex Vivo Study*. Arch Surg **130**: 1068-1072.
40. Lee FT jr, Mahvi DM, Chosy SG, Onik GM, Wong WS, Littrup PJ, Scanlan KA (1997) *Hepatic cryosurgery with intraoperative US guidance*. Radiology **202**: 624-632.
41. Lee, F, Chosy, S, Littrup, P, Warner, T, Kuhlmann, J and Mahvi, D (1999) *Ct-monitored Percutaneous Cryoablation in a Pig Liver Model: Pilot Study*. Radiology **211**: 687-692.
42. Littlewood K (1998) *Anesthetic considerations for hepatic cryotherapy* Semin Surg Oncol **14** 116-121.
43. Livraghi, T and Solibati, L (1993) *Percutaneous ethanol injection in liver cancer: method and results*. Semin Intervent Radiol **10**: 69-77.
44. Livrahgi, T, Goldberg, S, Monti, F, Bizzini, A, Lazzaroni, S, Meloni, F, Pellicanò, S, Solibati, L and Gazelle, G (1997) *Saline-enhanced Radio-Frequency Tissue Ablation in the Treatment of Liver Metastases*. Radiology **202**: 205-210.
45. Lorenz, M, Staib-Sebler, E, Gog, C, Vetter, G, Petrowsky, H and Müller, H (1999) *Die Stellung der regionalen Langzeitchemotherapie bei Lebermetastasen*. Chirurg **70**: 141-153.
46. Lovelock, J (1953) *The Hemolysis of Human Red Blood Cell by Freezing and Thawing*. Biochem Biophys Acta **10**: 414-426.
47. Mahvi, D and Lee, F (1999) *Radiofrequency Ablation of Hepatic Malignancies: Is Heat Better than Cold? (Ed)*. Ann Surg **230**(1): 9-11.
48. Mant MJ, King EG (1979) *Severe, acute disseminated intravascular coagulation. A reappraisal of its pathophysiology, clinical significance and therapy based on 47 patients*. Am J Med **76**: 557-563.
49. Mazur, P (1963) *Kinetics of water loss from cells at subzero temperatures and the likelihood of intracellular freezing*. J Gen Physiol **47**: 347-369.
50. Mazur, P (1970) *Cryobiology: The freezing of biological systems*. Science **168**: 939-949.

51. McCuskey RS (1986) *Microscopic methods for studying the microvasculature of internal organs*. In: Microcirculatory technology (eds. Baker CH, Nastuk WL), pp247-264, Academic Press, Orlando.
52. McKillop C, Howie PW, Forbes CD, Prentice CR (1976) *Soluble fibrinogen/fibrin complexes in pre-eclampsia* Lancet **i** 56-58.
53. Muller-Berghaus G (1977) *Pathophysiology of generalized intravascular coagulation*. Semin Thromb Hemostas **3**: 209-246.
54. Mutschler (2001) *Arzneimittelwirkungen* 8. Auflage Wiss Verl. Ges., Stuttgart.
55. Neel, H, Ketcham, A and Hammond, W (1971) *Cryonecrosis of normal and tumor-bearing rat liver potentiated by inflow occlusion*. Cancer **28**: 1211-1218.
56. Onik, G, Cooper, C, Goldberg, H, Moss, A, Rubinsky, B and Christianson, M (1984) *Ultrasonic Characteristics of Frozen Liver*. Cryobiology **21**: 321-328.
57. Onik, G, Rubinsky, B, Reuben, Z, Weaver, L, Diamond, D, Cobb, C and Porterfield, B (1991) *Ultrasound-Guided Hepatic Cryosurgery in the Treatment of Metastatic Colon Carcinoma. Preliminary Results*. Cancer **67**: 901-907.
58. Orpwood, R (1981) *Biophysical and engineering aspects of cryosurgery (Review)*. Phys Med Biol **26**(4): 555-575.
59. Pearson, A, Izzo, F, Fleming, R, Ellis, L, Delrio, P, Roh, M, Granchi, J and Curley, S (1999) *Intraoperative radiofrequency ablation or cryoablation for hepatic malignancies*. Am J Surg **178**(6): 592-599.
60. Pistorius, GA (2000) *Lokale Komplikationen und systemische Nebenwirkungen nach Kryotherapie von malignen Lebertumoren*. Habilitationsschrift zur Erlangung der venia legendi für das Fach Chirurgie an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes.
61. Pistorius, GA, Alexander, C, Kirsch, C, Feifel, G, Schilling, M and Menger, M (2005) *Local Platelet Trapping as the Cause of Thrombozytopenia after Hepatic Cryotherapy*. WJS **29**: 657-661.
62. Pistorius, GA, Menger, M and Feifel, G (1999) *Letters to the editor: Systemic side effects of Cryosurgery Used in Liver Tissue*. J Am Coll Surg **189**: 637-639.
63. Prentice CR (1985) *Acquired coagulation disorders*. Clin Haematol **14**: 413-442.

64. Pringle JH (1908) *Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma.* Ann Surg **48**: 541-549.
65. Ravikumar, T, Kane, R, Cady, B, Jenkins, R, Clouse, M and Steele, G (1991) *A 5-Year Study of Cryosurgery in the Treatment of Liver Tumors.* Arch Surg **126**: 1520-1524.
66. Reck, T, Köckerling, F, Hohenberger, W (1999) Mobilisierung der Leber, Pringle-Manöver, Totale vaskuläre Isolation, Einsatz von Klammernahtgeräten in der Leberchirurgie, in *Leberchirurgie: Anatomie, Operationstechniken, Komplikationsvermeidung. Ergebnisse und Perspektiven.* Hrsg. F. Köckerling und H. Waclawiczek. Barth: Heiderberg, Leipzig. S. 74f.
67. Rewcastle, J, Hahn, L, Saiken, J and McKinnon, J (1997) *Use of a moratorium to achieve consistent liquid nitrogen cryoprobe performance.* J Surg Oncol **66**(2): 110-113.
68. Richter S, Kollmar O, Igna D, Menger MD, Schilling MK, Pistorius GA, (2003) *Impact of Pringle's manoeuvre during cryosurgery of porcine liver: strategy for reduction of cryotherapy-associated thrombocytopenia?* Kongressband Chirurgisches Forum **32** 175-177.
69. Riess H (1998) *Hämostasestörungen im Umfeld von Sepsis und SIRS.* Internist **39**: 479-484.
70. Rivoire, M, Voiglio, E, Kaemmerlein, P, Molina, G, Treilleux, I, Finzy, J, Delay, E and Gory, F (1996) *Hepatic Cryosurgery Precision: Evaluation of ultrasonography, Thermometry, and Impedancemetry in a Pig Model.* J Surg Oncol **61**: 242-248.
71. Rubinsky, B, Lee, C, Bastacky, J and Onik, G (1990) *The process of freezing and the mechanism of damage during hepatic cryosurgery.* Cryobiology **27**: 85- 97.
72. Ruers TJ, Joosten J, Jager GJ, Wobbes T (2001) *Long-term results of treating hepatic colorectal metastases with cryotherapy.* Br J Surg **88**: 844-849.
73. Sarantou, T, Bilchik, A and Ramming, K (1998) *Complications of hepatic cryosurgery.* Surg Oncol **14**: 156-162.
74. Schlag, P, Benhidjeb, T and Kilpert, B (1999) *Curative resection of liver metastases (German).* Chirurg **70**: 123-132.

75. Schüder G, Pistorius GA, Fehringer M, Feifel G, Menger MD, and Vollmar B (2000) *Complete shutdown of microvascular perfusion upon hepatic cryothermia is critically dependent on local tissue temperature* Br J Can **82** 794-799.
76. Schüder, G, Vollmar, B, Richter, S, Pistorius, GA, Fehringer, M, Feifel, G and Menger, M (1999) *Epi-illumination Fluorescent Light Microscopy for the In Vivo Study of Rat Hepatic Microvascular Response to Cryothermia*. Hepatology **29**: 801-808.
77. Schummer A, Habermehl KH (1987) *Eingeweide*. In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Nickel R, Seiferle E, Schummer A (Hrsg), Band II, 6. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg.
78. Seifert JK, Morris DL (1998) *Prognostic factors after cryotherapy for hepatic metastases from colorectal cancer*. Ann Surg **228**: 201-208.
79. Seifert JK, Morris DL(1999) *Indicators of recurrence following cryotherapy for hepatic metastases from colorectal cancer* Br J Surg **86** 234-240.
80. Seifert, J and Morris, D (1999) *World survey on the Complications of Hepatic and Prostate Cryotherapy*. World J Surg **23**: 109-114.
81. Shafir, M, Shapiro, R, Sung, M, Warner, R, Sicular, A and Klipfel, A (1996) *Cryoablation of unresectable Malignant Liver Tumors*. Am J Surg **171**: 27-31.
82. Smith JJ, Fraser J, MacIver AG (1978) *Ultrastructure after cryosurgery of rat liver* Cryobiology **15** 426-432.
83. Smollich A, Michel G (1992) *Mikroskopische Anatomie der Haustiere*. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 2. Auflage.
84. Stanton HC, Mersmann HJ (1986) *Swine in cardiovascular research*. In: CRC Press, Boca Raton (Florida), Band 1 und 2.
85. Steele, G (1994) *Cryoablation in hepatic surgery*. Semin Liver Dis **1994**(14): 120-125.
86. Stewart, G, Preketes, A, Horton, M, Ross, W and Morris, D (1995) *Hepatic Cryotherapy: Double-Freeze cycles Achieve Greater Hepatocellular Injury in Man*. Cryobiology **32**: 215-219.
87. Swindle MM (1992) *Swine as models in biomedical research*. In: Iowa State University Press, Ames (Iowa).

88. Swindle MM, Smith AC, Hepburn BJ (1988) *Swine as models in experimental surgery*. J. Invest Surg **1**: 65-79.
89. Swindle MM, Smith AC, Laber Laird K, Dungan L (1994) *Swine in biomedical research: management and models*. Ilar News **36**: 1-5.
90. Tandan, V, Harmantas, A and Gallinger, S (1997) *Long-term Survival after Hepatic Cryosurgery versus Surgical Resection for Metastatic Colorectal Carcinoma: A critical Review of the literature*. CJS **40**(3): 175-181.
91. Taschenlexikon, Meyers großes (1995) Hrsg. R. Ohlig. BI-Taschenbuchverlag: Mannheim; Leipzig; Wien; Zürich. S. 264.
92. Thomas L (1998) *Labor und Diagnose Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnose* Th-Books 5. Aufl.
93. Tumbleson ME (1986) *Swine in biomedical research*. In: Plenum Press New York, Band 1.
94. Vogl, T, Muller, P, Hammerstingl, R, Weinhold, N, Mack, M, Philipp, C, Deimling, M, Beuthan, J, Pegios, W, Riess, H, Lemmens, H-P and Felix, R (1995) *Malignant liver tumors treated with MR imaging-guided laser-induced thermotherapy: technique and prospective results*. Radiology **196**: 257-265.
95. Vogl, T, Muller, P, Philipp, C, Hammerstingl, R, Bottcher, H, Riess, H, Beuthan, J and Felix, R (1995) *Laser-induced thermotherapy of liver metastases with MRI control. Prospective results of an optimized therapy procedure (German)*. Radiologe **35**(3): 188-199.
96. Weaver ML, Ashton JG, Zemel R (1998) *Treatment of colorectal liver metastases by cryotherapy*. Semin Surg Onkol **14**: 163-170.
97. Weaver, M, Atkinson, D and Zemel, R (1995) *Hepatic Cryosurgery in Treating Colorectal Metastases*. Cancer **76**: 210-214.
98. Weber, S, Lee, F, Chinn, D, Warner, T, Chosy, S and Mahvi, D (1997) *Perivascular and intralesional tissue necrosis after Hepatic Cryoablation: Results in a porcine model*. Surgery **122**: 742-747.
99. Wortha H.-P., Adams J (1992) *Die Rolle von Modellen in der Wissenschaft*. In: Einführung in die medizinische Biometrie (ed.: Adams, J.) pp18-19, Gustav Fischer, Jena.
100. Zalunardo M P (2003) *Anästhesiologisches Management bei Leberresektionen und Kryochirurgie der Leber*. Anästhesist **52**:89-97.

101. Zhou, X, Tang, Z, Yu, Y, MA ZC (1988) *Clinical evaluation of cryosurgery in the treatment of primary liver cancer. Report of 60 cases.* Cancer **61**:1889-1892.
102. Zhou, X, Tang, Z, Yu, Y, Weng, J, Ma, Z, Zhang, B and Zheng, Y (1993) *The role of cryosurgery in the treatment of hepatic cancer: a report of 113 cases.* J Cancer Res Clin Oncol **120**: 100-102.

7 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Georg Pistorius für die Überlassung des Themas, für die Planung der Versuche und die Unterstützung bei der Projektdurchführung, sowie für die freundschaftliche Zusammenarbeit. Dadurch trug er wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit bei.

Für die regelmässige Mithilfe und die zahlreichen Impulse während der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. Michael D. Menger (Direktor des Instituts für klinisch-experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes).

Mein persönlicher Dank gilt ganz besonders Herrn Dr. med. Sven Richter und Herrn Dr. med. Otto Kollmar. Mit ihnen zusammen durfte ich die Versuche ausführen. Sie waren als Ansprechpartner in wissenschaftlichen Fragen jederzeit für mich da und standen mir bei der Auswertung der Ergebnisse stets mit Rat und Tat zur Seite. Mit Geduld lehrten sie mich Genauigkeit in Arbeitsweise und Denken und wissenschaftliches Verständnis.

Danken möchte ich auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, in deren Hause wir die Versuche durchführen durften. Sie brachten mir stets Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft entgegen, insbesondere Frau Elisabeth Gluding und Frau Janine Steiner.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des hämatologischen Labors der Chirurgischen Universitätskliniken des Saarlandes für die prompte Bearbeitung der ihnen überlassenen Blutproben und ihrer guten Zusammenarbeit.

Mein persönlicher Dank gilt auch Herrn Ludwig Sorg, dem Leiter des Gerinnungslabors der Chirurgischen Universitätskliniken des Saarlandes und seinen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die Bearbeitung der Gerinnungsproben und das gegenseitige gute Zusammenarbeiten.

8 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Dietrich
Vornamen: Stefan Andreas Carl
Geburtsdatum: 03 März 1968
Geburtsort: Stuttgart
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: seit 16. März 2001 verheiratet mit
Miriam Decker, Logopädin
Konfession: evangelisch
Eltern: Karl Dietrich
Agnes Dietrich, geb. Haupt
Wohnsitz: Fridinger Str. 24
70619 Stuttgart
Tel. 0711/4780571

Schule:

1974-1978 Grundschule in Böblingen
1978-1985 Gymnasium in Böblingen
1985-1987 Gynmasium in Mössingen, Abitur

Wehrdienst:

1987-1988 Luftwaffensicherungssoldat in Landsberg/Lech

Arbeit:

1991-1993 Mitarbeit in der Maschinenbaufabrik Rudolf Bock
in Holzgerlingen

Praktikum:

1993-1994 Krankenhauspraktikum am Diakonissenkrankenhaus
In Schwäbisch Hall

Lebenslauf

Berufsausbildung:

1994-1997 Ausbildung zum Krankenpfleger am Kreiskrankenhaus
Nürtingen

Arbeit:

1997-1998 Krankenpfleger an den Städtischen Krankenanstalten
in Esslingen

1998-1999 Krankenpfleger am Kreiskrankenhaus Nürtingen

Studium:

10/1991-09/2004 Medizinstudium an der Universität des Saarlandes
in Homburg/Saar

ab 10/2004 Medizinstudium an der Universität Tübingen
mit Beginn des Praktischen Jahres

10/2004-2/2005 Innere Medizin Abteilung für Onkologie und Abteilung
für Kardiologie am Katharinenhospital in Stuttgart

2/2005-6/2005 HNO-Heilkunde am Katharinenhospital in Stuttgart

6/2005-8/2005 Chirurgie am Katharinenhospital Stuttgart

Ärztliche Tätigkeit:

Seit 2/2006 Assistenzarzt für Chirurgie am Kreiskrankenhaus Buchen