

# **Strategien und Elektrodendesign für die patientenindividuelle tumortherapeutische Anwendung der Elektroporation**

Von der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik  
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen  
zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Ingenieurwissenschaften  
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Ingenieur  
Andreas Ritter  
aus Rheinbach

Berichter: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Armin Schnettler  
apl. Prof. Dr. rer. nat. Dipl.-Ing. Martin Baumann, MME

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Mai 2017

**Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar.**



# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b>	<b>v</b>
<b>Kurzfassung</b>	<b>vii</b>
<b>Abstract</b>	<b>ix</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Tumortherapie und Elektroporation . . . . .	1
1.1.1 Klassische Methoden der Tumortherapie . . . . .	1
1.1.2 Minimal-invasive Techniken der lokalen Tumortherapie . . . . .	2
1.1.3 Auf Elektroporation basierende Verfahren der Tumortherapie . . . . .	3
1.1.4 Grenzwerte der reversiblen und irreversiblen Elektroporation . . . . .	8
1.1.5 Vergleich der minimal-invasiven Ablationsverfahren . . . . .	8
1.1.6 Vergleich von IRE und ECT . . . . .	10
1.1.7 Anwendungsmöglichkeiten und Fallzahlen . . . . .	11
1.1.8 Computersimulation in der EP-basierten Tumortherapie . . . . .	13
1.2 Anknüpfung an die Elektrotechnik . . . . .	13
1.3 Motivation . . . . .	14
1.4 Zielsetzung der Arbeit . . . . .	17
1.5 Struktur der Arbeit . . . . .	17
<b>2 Grundlagen</b>	<b>19</b>
2.1 Elektrotechnische Grundlagen . . . . .	19
2.1.1 Zusammenhang zwischen elektrischer Feldstärke und Spannung . . . . .	19
2.1.2 Das elektrische Feld zwischen zwei Plattenelektroden . . . . .	22
2.1.3 Das elektrische Feld zwischen zwei Nadelelektroden . . . . .	23
2.1.4 Elektrische Felder in Materie . . . . .	24
2.1.5 Elektrische Felder an Grenzflächen . . . . .	26
2.1.6 Das E-Feld an der Grenzfläche von gesundem und tumorösem Gewebe .	27
2.1.7 Hochspannungstechnik . . . . .	27
2.2 Biomedizinische Grundlagen . . . . .	32
2.2.1 Elektrische Gewebeeigenschaften . . . . .	32
2.2.2 Elektroporation . . . . .	33
2.2.3 Impulsfolgen der Elektroporation . . . . .	37
2.2.4 Anwendungsgebiete der Elektroporation . . . . .	37
2.2.5 EKG-Synchronisation . . . . .	41
<b>3 Elektroporation auf Zellebene</b>	<b>43</b>
3.1 Motivation und Zielsetzung . . . . .	43
3.2 Materialien und Methoden . . . . .	43
3.3 Durchführung und Ergebnisse . . . . .	45
3.3.1 Monolayer . . . . .	46
3.3.2 Zellsuspension . . . . .	51
3.3.3 In-vitro-Gel . . . . .	54
3.4 Zusammenfassung und Diskussion . . . . .	56

<b>4 Elektrodenkonzepte und -designs</b>	<b>59</b>
4.1 Cholangiokarzinome . . . . .	59
4.2 Hepatozelluläres Karzinom . . . . .	63
<b>5 iECT - Neuartige Sonde und darauf abgestimmte klinische Methode</b>	<b>65</b>
5.1 Entwicklung der Sonde . . . . .	65
5.1.1 Anforderungsanalyse und Lösungen . . . . .	65
5.1.2 Machbarkeitsanalyse mit Computersimulationen . . . . .	66
5.1.3 Variation der Potentiale . . . . .	69
5.1.4 Prototyp . . . . .	69
5.1.5 Ex-vivo-Versuchsreihe zur Evaluierung der Sonde . . . . .	70
5.2 Entwicklung der klinischen Anwendung . . . . .	72
5.2.1 Kombinationstherapie aus IRE und ECT . . . . .	72
5.2.2 Studiendesign zur Evaluierung der Sonde und der Methode . . . . .	74
5.2.3 Entwicklung eines Gütemodells . . . . .	74
<b>6 Entwicklung eines experimentellen Elektroporators</b>	<b>79</b>
6.1 Anforderungsanalyse . . . . .	79
6.2 Hochspannungsimpulserzeugung . . . . .	80
6.2.1 Bestimmung der Bauteile und Schaltungsaufbau . . . . .	81
6.2.2 Vergleich mit klinischem Elektroporator . . . . .	85
6.3 Steuerung und Benutzerinterface . . . . .	86
6.3.1 Konzeption der Software . . . . .	86
6.3.2 EKG-Aufnahme . . . . .	87
6.3.3 EKG-Synchronisation . . . . .	88
6.3.4 Evaluation . . . . .	89
<b>7 Elektrische Gewebeeigenschaften</b>	<b>91</b>
7.1 Zusammenfassung des Literaturstandes . . . . .	91
7.1.1 Zahlenwerte . . . . .	91
7.1.2 Abschätzungen nach Literaturstand . . . . .	92
7.1.3 Diskussion des Literaturstandes . . . . .	93
7.2 Parameterstudie zum Einfluss der Permittivität auf die Güte . . . . .	94
<b>8 PACET - Patient-customized electroporation therapy</b>	<b>95</b>
<b>9 Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>99</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>125</b>
<b>Glossar</b>	<b>127</b>
<b>Appendix</b>	<b>133</b>
A Ergänzungen zu den Grundlagen in Kap. 2 . . . . .	133
B Vorversuche zu den Zellmonolayern in Kap. 3.3.1 . . . . .	137
C Vorversuche zu den Zellsuspensionen in Kap. 3.3.2 . . . . .	143
D Zahlenwerte zu den Zellsuspensionsversuchen in Kap. 3.3.2 . . . . .	147
E Protokoll zur Produktion von Agarose Gel in Kap. 3.3.3 . . . . .	149
F Programmcode des Gütemodells in Kap. 5.2.3 . . . . .	151
G Zahlenwerte und Zwischenergebnisse der Sondenoptimierung in Kap. 5.2.3 . . . . .	161
H Vertiefende Informationen zur Elektroporatorenentwicklung in Kap. 6 . . . . .	189
I Zahlenwerte zur Variation des Permittivitätsverhältnisses in Kap. 7.2 . . . . .	197
<b>Lebenslauf</b>	<b>199</b>

# Vorwort

Die vorliegende Dissertation ist im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Angewandte Medizintechnik (AME) der RWTH Aachen und der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Uniklinik RWTH Aachen entstanden. Von Seiten der Fakultät für Elektrotechnik wurde sie durch das Institut für Hochspannungs-technik (IFHT) der RWTH Aachen betreut. Durch das interdisziplinäre Umfeld verfolgt die Arbeit den Anspruch, sowohl für Experten der Medizin wie auch der Ingenieurwissenschaften verständlich zu sein. Fachtermini beider Disziplinen sind daher mit einem Pfeil (⇒) gekennzeichnet und im Glossar ab Seite 131 erklärt.

Während meiner Zeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter haben mir sehr viele Menschen aus beruflichem und privatem Umfeld zur Seite gestanden. Für die Zeit, die Erfahrungen und nicht zuletzt die gemeinsame Arbeit bin ich allen sehr dankbar! Einige Personen möchte ich besonders hervorheben:

Allen voran Herrn apl. Prof. Dr. rer. nat. Dipl.-Ing. Martin Baumann, MME, der seit Betreuung meiner Diplomarbeit im Jahr 2009 unentwegt an mich geglaubt und meine Arbeit unterstützt hat. Durch seine besonders wertschätzende Art hat er für seine ganze Arbeitsgruppe eine perfekte Arbeitsatmosphäre geschaffen, wie sie sonst nur selten anzutreffen ist. Von der inhaltlichen Betreuung bis zur Unterstützung aller meiner Projekte und Weiterbildungen abseits der Dissertation war er stets ansprechbar und stand immer mit Rat und Tat zur Seite. Mein besonderer Dank gilt außerdem Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. Armin Schnettler, der mir die Promotion in der Fakultät meines ursprünglichen Studienfachs ermöglicht hat. Von seiner Betreuungszusage im ersten Gespräch über die Unterstützung einer Konferenzreise, die mir überhaupt erst den Austausch mit der sehr spezifischen Fachcommunity eröffnet hat, bis hin zur Promotionsprüfung hat er trotz seines angespannten Zeitplans diese Arbeit umfassend betreut. Frau Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dorit Merhof, Herr Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Michael Vorländer und Prof. em. Dr. rer. nat. Günther Rau haben sich sofort für die Promotionskommission bereit erklärt und somit einen organisatorisch einfachen Ablauf ermöglicht. Auch hier verliefen alle im Vorfeld geführten Gespräche mit hohem Interesse und hoher Motivation, was mir für die mündliche Prüfung viele Ängste nahm. Für das Interesse an meiner Arbeit und die Erfahrung, dass sogar Prüfungen Spaß machen können, bin ich allen genannten Professoren sehr dankbar!

Von Seiten der Radiologie habe ich bei allen Fragen jede erdenkliche Unterstützung erhalten: Ich danke allen voran Herrn PD Dr. med. Philipp Bruners sowie Herrn PD Dr. med. Peter Isfort und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Andreas H. Mahnken, MBA, MME, die das

Projekt von medizinischer Seite begleitet haben. Mein besonderer Dank gilt Frau Univ.-Prof. Dr. med. Christine Kuhl, die meine Forschungsarbeit auch nach meiner Zeit am AME weiter unterstützt hat. Dank der weitreichenden Erfahrungen von Herrn Joachim Pfeffer konnten Prototypen überhaupt erst Realität werden und dank Herrn Federico Pedersoli wurden diese erfolgreich im Tierversuch evaluiert.

Am AME bin ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Schmitz-Rode für die Möglichkeit an seinem Institut arbeiten, lehren und promovieren zu dürfen sehr dankbar! Zu einer idealen Arbeitsatmosphäre gehören natürlich auch gute Kollegen, und mein ganz besonderer Dank gilt hier Frau Dr. rer. nat. Ioana Slabu und Herrn Ulrich Engelmann, die mich beide bis heute immer zur rechten Zeit mit Hilfbereitschaft, Besonnenheit und Verständnis unterstützen, und nicht zuletzt auch für ein aktives soziales miteinander sorgen. Fachlich und Inhaltlich hatte ich das Glück von vielen guten und interdisziplinären Abschlussarbeiten profitieren zu können: Miriam Menzel, Pierre Aldag, Karolina Kulas, Hannah Meyer, Katharina Kolvenbach, Max Orth, Johann Lütticke, Ahmed El Mahmoudi und Jula Schmitz.

Bei aller Freude über die Arbeitsatmosphäre ist der Weg durch das Studium bis hin zum erfolgreichen Abschluss einer Dissertation kaum ohne eine Familie, die einem jederzeit den Rücken stärkt, zu bewältigen: Meine Eltern haben maßgeblich zum gelingen dieser Leistung beigetragen, und dafür bin ich ganz besonders dankbar! Abschließen freue ich mich über eine verständnisvolle Freundin, die mir immer die nötige Zeit und Ruhe gegeben hat.

Aachen im August 2017

Andreas Ritter  
E-Mail: [andreas.ritter@rwth-aachen.de](mailto:andreas.ritter@rwth-aachen.de)

## Kurzfassung

Mit dem aus der Zellbiologie stammenden Verfahren der Elektroporation (EP) können im menschlichen Gewebe präzise definierte Volumina irreversibel zerstört oder reversibel zur gesteigerten Pharmakaaufnahme verändert werden. Darauf basierend wurden für die klinische Anwendung die tumortherapeutischen Verfahren Elektrochemotherapie (ECT) und Irreversible Elektroporation (IRE) entwickelt. Beide sind nicht-thermische und zugleich minimal-invasive Verfahren; sie stellen für Patienten, bei denen eine chirurgische Tumorresektion ausgeschlossen oder die systemische Therapie zu belastend ist, eine aussichtsreiche Behandlungsalternative dar. Für auf EP basierende klinische Verfahren werden im  $\mu$ s-Takt gepulste elektrische Felder mit Feldstärken bis zu mehreren  $\frac{kV}{cm}$  in unregelmäßig geformten Tumorgeometrien von typischerweise mehreren  $cm^3$  Volumen generiert. Dafür werden Platten- oder Nadelelektroden am oder im Tumorgewebe platziert.

In dieser Arbeit werden erstmals alle relevanten Komponenten (Feldwirkung auf Zell- und Gewebeebene, Elektrodendesign, HV-Pulserzeugung und klinischer Workflow) für die patienten-individuelle Anwendung der IRE und ECT integriert. Es werden verschiedene in-vitro-Modelle entwickelt, mit denen gezeigt wird, dass - entgegen der gängigen Literaturdarstellung - nicht nur Feldstärke und Pulsdauer, sondern auch Zelltyp und Stromfluss einen signifikanten Einfluss auf die Wirkung der EP haben. Weiterhin wird eine dreidimensionale, multipolare Elektrodenkonfiguration entwickelt und konstruiert, mit der künftig eine Kombinationstherapie aus IRE und ECT interstitiell an Lebertumoren angewendet werden kann. Mittels Computersimulationen wird die Feldverteilung vorab auf den Tumor des Patienten individuell abgestimmt. Dadurch können möglichst viele gesunde Gewebebereiche erhalten bleiben, und gleichzeitig alle Tumorzellen abgetötet werden. Dies steigert die Effektivität des Verfahrens und führt für den Patienten zu einer geringeren Belastungen.

Die Simulation der elektrischen Feldverteilung und die objektive Bewertung der Feldwirkung im Gewebe anhand eines programmiertechnisch umgesetzten Gütemodells sind zentrale Bestandteile des konzipierten klinischen Workflows. Der Literaturstand der elektrischen Gewebe-eigenschaften, deren Kenntnis für die korrekte Berechnung der Feldverteilung notwendig ist, wird dabei berücksichtigt und problematisiert. Um Versuchsreihen am Gewebe- und Tiermodell mit kontrollierten Pulsprotokollen durchführen zu können und dabei gleichzeitig die bei der humanen Anwendung der IRE geforderte EKG-Synchronisation zu gewährleisten, wird ein für Forschungszwecke prototypischer Elektroporator, bestehend aus Hochspannungsschaltung, EKG-Analyse und Benutzerinterface, entwickelt.

Sowohl die vorliegenden Ergebnisse der Grundlagenforschung als auch die entwickelten Prototypen stoßen bei Fachkonferenzen auf großes Interesse. Aus der Sicht der Ingenieurwissenschaften ist die Machbarkeit dieser Therapieform mit den vorliegenden Ergebnissen nachgewiesen. Der voll funktionale Prototyp stellt dem Mediziner das Werkzeug zur Verfügung, die geplante Kombinationstherapie *in vivo* am Tumormodell zu erproben.



# Abstract

With about 220 000 cancer-related deaths per year, malignant tumors are the second most common cause of death in Germany. In case of operability, surgical resection of the primary tumor and its metastases is the treatment of choice, but this option is only available for a minority of patients because of tumor spread and/or comorbidities.

As an alternative to chemotherapy, various minimally invasive endovascular and percutaneous tumor treatments have gained clinical acceptance. Widespread treatments are percutaneous thermal ablation procedures like radiofrequency ablation (RFA) or microwave ablation (MWA), both using different technologies to apply heat to destroy the tumor.

Irreversible electroporation (IRE) and electrochemotherapy (ECT) are two new, innovative electroporation-based minimally-invasive therapies for the treatment of cancer. Combining non-thermal properties of IRE with local application of chemotherapy, ECT is an established treatment modality for superficial malignancies of the skin. Since the application of ECT in solid organs is a promising approach, this dissertation describes the development of a prototype applicator for ECT in solid organs.

For a better understanding of the effects described above, an in vitro model for the medical application of IRE has been developed. Multiple studies made with this model provide information about the required amount of electric field strength to ensure absolute cell death in correlation to different cell lines.

Using CAD design and FEM computer simulations, a complete new needle-shaped multipolar probe with telescopic electrodes for percutaneous image-guided IRE as well as ECT in solid organs has been developed. A fully functional prototype of the applicator contains four expandable hollow electrodes in a semicircular configuration used for both: interstitial injection of the therapeutic agent and generation of the electric field.

With the prototype it is possible to place five independent electrodes doing a single stitch only, which has major advantages for IRE (time of the intervention, accuracy, risk of needle tract seeding). Results of the first in vivo trials show an excellent accordance of simulated and measured ablation volumes. The promising results for ECT legitimate the redesign of an multipole electroporation system to vary tumor coverage per software, even after the electrodes were positioned. The prototype already covers this concept and a hard- and software design for this purpose is also included in this dissertation.

To rate the direct effects, a Q factor model with weighting coefficients has been developed to optimize the geometric and electric parameters dispassionately. In clinical applications, this will enable the physician to adapt the desired ablation zone to the patient individual 3D tumor geometry. It is also possible, that an electroporator will correct small deviations in the intended location of each electrode, by adapting the potential of all electrodes individually.

To conclude, an integrated workflow for a case-specific clinical application has been designed: Patient-customized electroporation therapy (PACET).



# 1 Einleitung

Zu Beginn werden der Stand des Wissens, die hinter dieser Arbeit stehende Motivation und die Zielsetzung dargelegt. Die abschließende Struktur erläutert den roten Faden der Arbeit, indem die einzelnen Kapitel als Teilprojekte der Zielsetzung eingeordnet werden. Fachtermini sind mit einem Pfeil gekennzeichnet (⇒) und im Glossar ab Seite 131 erklärt.

## 1.1 Tumorthерапie und Elektroporation

Im Jahr 2012 sind allein in Deutschland 477.950 Menschen neu an Krebs erkrankt. Die Bezeichnung Krebs ist ein Sammelbegriff für die Gruppe der malignen (bösartigen) Tumorerkrankungen. Ihr gemeinsames Merkmal ist das unkontrollierte Wachstum von Tumorzellen, die gesundes Gewebe verdrängen und zerstören können [RKI15].

Mit 220.923 Krebstoten im Jahr 2012 sind maligne Tumoren die zweithäufigste Todesursache. Aufgrund der Änderung der demographischen Verhältnisse wird bis 2050 mit einem Anstieg der Prävalenz von Krebserkrankungen um ca. 30 % gerechnet [RKI15]. Das Thema Tumorthерапie ist daher nicht nur aktuell, sondern auch durch signifikant steigende Fallzahlen, verbunden mit Grenzen und Nebenwirkungen der aktuellen Behandlungsmethoden, gesellschaftspolitisch relevanter denn je. Aktuelle Forschungen versuchen sich dem Thema von biologischer (z. B. passives Drug Targeting durch zytotoxisch wirksame humane Enzyme) und technischer Seite (z. B. Radiofrequenzablation, Elektroporation oder aktives Drug Targeting durch magnetische Nanopartikel [Sla15]) anzunehmen. Ein weites, interdisziplinäres Forschungsgebiet ist die tumortherapeutische Anwendung der Elektroporation, in dem diese Arbeit angesiedelt ist.

### 1.1.1 Klassische Methoden der Tumorthерапie

Wird ein Patient mit einer positiven<sup>1</sup> Krebsdiagnose konfrontiert, gilt es die bestmögliche Behandlungsstrategie – bevorzugt eine ⇒kausale Therapie, d. h. das bösartige Gewebe, den ⇒malignen Tumor, komplett zu töten oder komplett zu entfernen – zu finden:

Die chirurgische ⇒Resektion ist bei malignen Tumoren das Behandlungsverfahren der Wahl, sofern der Primärtumor auf diese Weise vollständig entfernt werden kann und der Patient sich in einem operablen Zustand befindet. Dies ist nur bei einer Minderheit der Patienten der Fall, beispielsweise weil sich bereits zu viele ⇒Metastasen gebildet haben.

Die systemische Chemotherapie ist die zweite Säule der Tumorthерапie. Durch die aktuell eingesetzten Chemotherapeutika konnten in den letzten Jahren wichtige Fortschritte im Hinblick

<sup>1</sup> Eine „positive“ Diagnose in der Medizin ist meist nicht positiv für den Patienten: Dieser Terminus bringt vielmehr zum Ausdruck, dass ein Befund – hier die Identifikation eines Krebstumors – vorliegt.

auf das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben der Betroffenen erzielt werden. Trotzdem bleibt dieser Ansatz meist nur eine lebensverlängernde bzw. symptomlindernde Maßnahme (Symptomatische Therapie), mit entsprechenden Nebenwirkungen und Einschränkung der Lebensqualität [Cat11].

Der Vollständigkeit halber sei ebenfalls die Strahlentherapie als dritte Säule genannt [Li14a], die aber im Kontext dieser Arbeit nicht relevant ist.

### 1.1.2 Minimal-invasive Techniken der lokalen Tumortherapie

Eine neue, vierte Säule der lokalen Tumorbehandlung stellen minimal-invasive Techniken (⇒MIC) dar, die derzeit deutlich an Bedeutung gewinnen. Die Entwicklung findet in der Regel in einem interdisziplinären Umfeld statt (Ingenieurwissenschaften, Biologie und Medizin). Ziel solcher Verfahren ist es, den Tumor mithilfe chirurgischer Instrumente mit möglichst kleinem Trauma zu erreichen (z. B. Katheter durch Gefäßsysteme) und an Ort und Stelle (lokal) zu zerstören. Die derzeit in der Tumortherapie üblichen MIC-Verfahren sind sog. hyper- und hypotherme Techniken, bei denen in dem zu behandelnden Areal mittels bildgesteuert eingebrachter Sonden sehr hohe (Radiofrequenz-Ablation, kurz ⇒RFA; Mikrowellenablation, kurz MWA) oder niedrige Temperaturen (Kryoablation) erzeugt werden. Temperaturerhöhungen auf mehr als 43 °C führen zur Denaturierung der Proteine [Sch07; Cho13] und zum ⇒Zelltod durch ⇒Nekrose [Kew05], analog Temperaturen unter 6 °C [Bar10]. Für maligne Lebertumoren (hepatozelluläre Karzinome) wird derzeit die RFA als beste Behandlungswahl angesehen [Wig12a]. Die Kryoablation wird bevorzugt in der Kardiologie und der Herzchirurgie verwendet [San14], im Rahmen von Studien auch an der Leber [Mal06] oder der Niere [El 12].

Grenzen dieser hyper- und hypothermen Ablationsverfahren sind die limitierte Anwendbarkeit bei sehr großen Tumoren<sup>2</sup> sowie Tumoren in der Nähe großer Gefäße oder anderer leicht verletzbarer Strukturen (sog. ⇒vulnerable Strukturen) [Nie12]. RFA und MWA werden vor allem bei Tumoren der Leber, seltener der Lunge, Niere und Knochen angewendet [Li14a].

Da diese Verfahren auf einem anderen als in dieser Arbeit behandelten Wirkungsmechanismus beruhen, wird auf diese im Folgenden nicht weiter eingegangen.

Ein gemeinsamer Vorteil aller minimal-invasiver Verfahren ist deren Kombinierbarkeit mit einer Echtzeit-Bildgebung: Mit Ultraschall kann der Eingriff überwacht und angepasst werden (z. B. Echtzeitanpassung der Pulsprotokolle), was bei thermischen Methoden nicht möglich ist [Lee11; Lee07]. Insbesondere *Kontrastverstärkte Ultraschall-Untersuchungen* (CEUS) wurden schon an der Leber bei IRE-Interventionen erfolgreich getestet [Wig12b]. Auch die vergleichsweise neue *Elektrische Impedanz-Tomografie* (EIT) wird dafür als geeignet angesehen [Gra09].

---

<sup>2</sup> Definition der *Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe* (CIRSE) beim hepatozellulären Karzinom: Weniger als 5 Läsionen, kleiner als 3 cm im Durchmesser [Cro10].

Definierte Behandlungskriterien aus der Patienteninformation des Klinikums Stuttgart, Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie: „Beim bösartigen primären Lebertumor darf der Tumordurchmesser fünf Zentimeter nicht überschreiten, und es dürfen nicht mehr als drei Herde pro Leberlappen vorliegen. Bei Lebermetastasen eines kolorektalen Karzinoms dürfen nicht mehr als fünf Herde vorliegen, bei einem maximalen Tumordurchmesser von 5 cm beim solitären Herd und 3,5 cm bei mehreren Herden.“ [Kli15]

### 1.1.3 Auf Elektroporation basierende Verfahren der Tumorthерапie

Mithilfe des biologischen Verfahrens der Elektroporation (⇒EP, vgl. Kap. 2.2.2) können präzise definierte Gewebebereiche irreversibel zerstört oder zur gesteigerten Aufnahme pharmakologisch wirksamer Substanzen reversibel verändert werden (vgl. Kap. 2.2.4). Die aussichtsreichsten klinischen Verfahren der EP sind die *Elektrochemotherapie* (⇒ECT) und die *irreversible Elektroporation* (⇒IRE, seltener auch *Nonthermal Irreversible Electroporation*, kurz *NTIRE*, genannt [Phi14])). Beide sind minimal-invasiv einsetzbar und – im Gegensatz zu den im vorherigen Absatz genannten Techniken – *nicht-thermische*<sup>3</sup> Verfahren [Lac09; Sch07]. Sie stellen gerade für Patienten, bei denen eine chirurgische Tumorresektion ausgeschlossen oder die systemische Therapie zu belastend ist, eine aussichtsreiche Behandlungsalternative dar.

#### ECT - Elektrochemotherapie

1991 berichtete Mir erstmals, EP in der Tumorthерапie eingesetzt zu haben [Mir91a; Mir91b]. Das Verfahren, bei dem reversible EP genutzt wird, um Chemotherapeutika in die Tumorzellen einzubringen (vgl. Kap. 2.2.4), wurde *Elektrochemotherapie* (ECT) genannt und ist in Abbildung 1.1 schematisch dargestellt: Zunächst wird auf herkömmliche Art das Chemotherapeutikum (üblicherweise Bleomycin, inzwischen auch vermehrt Cisplatin [Mir06]) in den Tumor gebracht, entweder *intratumoral*, d. h. direkt hinein gespritzt, oder *systemisch / intravenös*, d. h. über den Weg des Blutkreislaufs (sog. periphere Venenpunktion).<sup>4</sup> Die Zeit, bis das Pharmakon sich in ausreichender Konzentration im Tumor angesammelt hat, wird mit 1 bis 10 min intratumoral bzw. 8 bis 28 min intravenös angegeben [Cam14; Hal14]. Über angepasste Elektroden nahe dem Tumor (vgl. Abb. 1.2) werden elektrische Spannungspulse abgegeben, die das notwendige elektrische Feld über dem Tumor erzeugt, so dass reversible EP eintritt: Die Zellmembran wird durch das elektrische Feld temporär destabilisiert. Entstehende Poren in der Membran ermöglichen dem lokal applizierten Therapeutikum die deutlich erhöhte Diffusion (bis zu 1.000 fache Aufnahme bei Bleomycin) in die Zelle (biologisch: den Transfer ins Zytosol), wo es den Tod der Zielzelle durch ⇒Apoptose herbeiführt [OSu14]. Ohne elektrisches Feld verteilen sich die applizierten Pharmaka hauptsächlich im Körper und wirken nur in proportional geringer Menge am Tumor. Durch EP reicht jedoch eine sehr viel geringere Dosis aus, von der ein Großteil in die Zelle gelangt, nur wenig Anteile verteilen sich im übrigen Körper. Als Folge erfährt der Patient deutlich weniger Nebenwirkungen.

Das aktuelle Anwendungsgebiet umfasst maligne Tumoren der Oberhaut (Hautkrebs): Zahlreiche Studien belegen dafür die – im Vergleich zur konventionellen Chemotherapie – gesteigerte Wirksamkeit (z. B. [Ser00; Mir03; Mar06; Mik12]). Mit dem ESOPE-Projekt (European Standard Operating Procedures for Electrochemotherapy) konnte ein standardisiertes Therapieverfahren für Hautkrebs basierend auf ECT entwickelt werden [Mir06; Mar06], das auch

<sup>3</sup> Thermische Effekte treten bei Temperaturen unter 6 °C bzw. über 43 °C auf [Bar10; Dav10].

<sup>4</sup> Eine weitere Möglichkeit bei der Chemotherapie ist es, das Pharmakon lokal über das versorgende arterielle Gefäß einzubringen. Das Vorgehen ist z. B. für Tumoren in der Leber üblich, seltener auch bei Melanomen („schwarzer Hautkrebs“) an den Extremitäten.

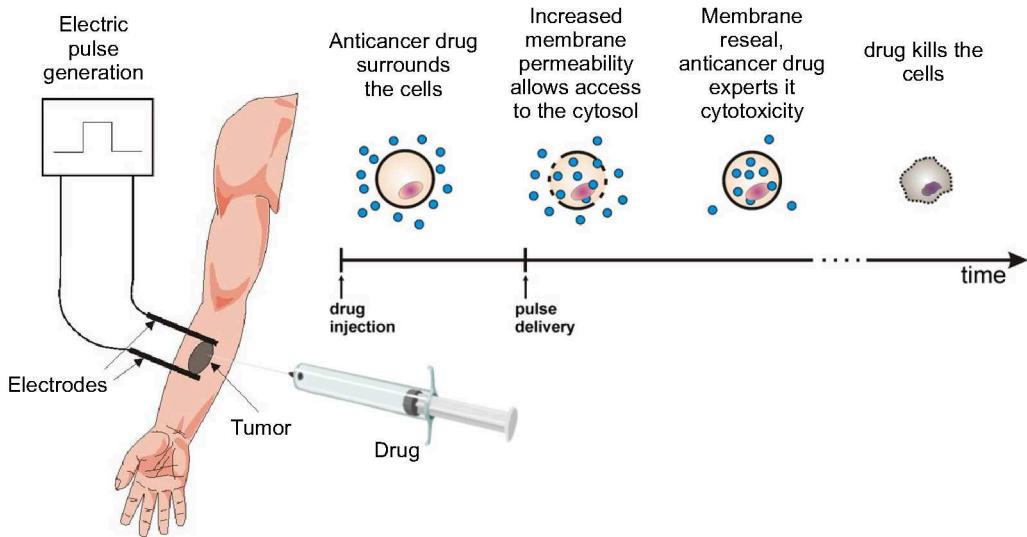


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der ECT nach Miklavčič aus [Mik12] und [Ser08].



Abbildung 1.2: ECT von Hautkrebs. Links: ⇒nicht-invasiver Einsatz mit Plattenelektroden, Rechts: ⇒invasiver Einsatz mit einem Nadelelektroden-Array [Ser08].

bei der Adaption auf andere Tumortypen als Ausgangsbasis verwendet wird (z. B. aktuell bei Brustkrebs [Cam14]). ECT ist für diesen Tumortyp klinisch etabliert und wird mit Stand 2014 in 85 europäischen Kliniken angewendet [OSu14], seit 2016 auch in der Klinik für Dermatologie und Allergologie der Uniklinik RWTH Aachen.

Ein aktuelles Review zeigt eine Statistik über die Anzahl an Publikationen zum klinischen Einsatz der ECT (vgl. Abb. 1.5), was die Relevanz des Themas belegt [Mik14]. Auch jenseits wissenschaftlicher Fachartikel wurde die Methode bereits in Nachrichtenmagazinen und in der Tagespresse vorgestellt [Kun12; WAZ14; May15]. Das Verfahren wird derzeit für die Anwendung an inneren Organen (Leber, Pankreas) [Sha06; Ser11; Edh11; OSu14] (u. A. auch Teil dieser Arbeit, vgl. Kap. 5) und Brustkrebs [Cam14; Sun14b] weiterentwickelt.

Für ECT gibt es bereits mehrere klinisch zugelassene Elektroporatoren am Markt, u. A. den „ECM 830“ (BTX Instrument Division, Harvard Apparatus, Inc., Holliston, USA), der auch im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt wird. Das Gerät lässt eine weitreichende Parametrisierung der abzugebenden Pulse zu, bietet aber kaum Informationen über den Erfolg der Pulsabgabe. Der „Cliniporator“ (IGEA Medical Devices, Carpi, Italien, Unternehmensgründung der

*University of Modena*, Italien) ist das einzige ECT-Gerät am Markt, das auch eine visuelle Rückmeldung über die Qualität der Pulse liefert. Das Unternehmen war maßgeblich am ESOPE-Projekt beteiligt [Mir06]. Weitere am Markt befindliche Geräte wie z. B. der „Eppendorf Eporator“ (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland), „Gene Pulser Xcell“ (Bio Rad Laboratories, Inc., Hercules, USA) oder „Axoporator 800A“ (Molecular Devices LLC., Sunnyvale, USA) besitzen keine klinische Zulassung und werden als Laborgeräte vermarktet.

Für die ECT wurde inzwischen eine breite Datenbasis aufgebaut: Typische Pulsprotokolle (ESOPE Standard [Mir06]) für maligne Tumoren sind acht Pulse mit je  $t_b = 100 \mu\text{s}$  und einer Periodendauer von  $T = 1 \text{ s}$ . Die Spannung variiert je nach Abstand, die zu erreichende Feldstärke liegt im Bereich 1 bis  $1,4 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  [Ser08; Mik12; Spu14; Hal14].

Bedingt durch die derzeitige Anwendung an der Hautoberfläche und die im Vergleich zur IRE geringeren Spannungen ist eine EKG-Synchronisation nicht erforderlich [Mir06]. Keines der aufgeführten oder für die ECT zugelassenen Geräte sehen dies vor, so dass sich bei einer interstitiellen Anwendung zunächst die Frage der Gerätetechnik stellt (vgl. Kap. 6). Neben Plattenelektroden gibt es für den klinischen Einsatz der ECT Nadelelektroden bis maximal 30 mm Länge [Cam14], die z. B. für einen Lebertumor viel zu kurz sind. Daher ist auch die Neuentwicklung von Elektroden erforderlich (vgl. Kap. 4 und 5).

## IRE - Irreversible Elektroporation

Eine neuere Alternative der lokalen Tumorbehandlung ist die *irreversible Elektroporation* (IRE). Zunächst hauptsächlich in der Lebensmittelindustrie angewendet [Bar99; Jey99; Toe07], stellte erst 2005 die Forschungsgruppe von Rubinsky IRE als Methode der Krebsbekämpfung vor [Mil05; Dav05; Edd06]. IRE beruht auf dem gleichnamigen Effekt (vgl. Kap. 2.2.4) und wird genutzt, um die Membranen der Zellen im Behandlungsareal ohne Zusatz von Pharmaka irreversibel zu schädigen. Je nach Pulsparametern wird der natürlichen Zelltod,  $\Rightarrow$  Apoptose, oder aber  $\Rightarrow$  Nekrose herbeigeführt [Ivo10b; Lee10; Jou14].

Die Wirkmechanismen der IRE sind nur unzureichend bekannt und sowohl *in vivo* [Nea15; Wei14] als auch *in vitro* [Jia15] Forschungsschwerpunkt. Es gibt weltweit nur ein einziges nach dem Medizinproduktegesetz ( $\Rightarrow$  MPG) zugelassenes System, das „NanoKnife“ (AngioDynamics, NY, USA, vgl. Abb. 1.3a). Dieses wird als *Black-Box* mit geringen Einstellmöglichkeiten angeboten, es liegen keine wissenschaftlichen Publikationen des Herstellers zur genaueren Funktionsweise und -wirkung vor. Das Gerät kann nur mit den herstellereigenen Nadelelektroden (vgl. Abb. 1.3b) verwendet werden (Listenpreis Stand 2015 der sog. *Aktivator-Elektrode* beträgt 2.780 €). Die Anwendung an einem Nierentumor (Sarkom) im CT-Bild zeigt Abbildung 1.3c. Insbesondere die minimal-invasive Technik ist in Abbildung 1.4 bei der Anwendung an der Leber (Singuläre Lebermetastase eines Mammakarzinoms) sehr gut erkennbar.

Ein aktuelles Review hat eine Statistik über die rapide steigende Zahl der durchgeführten klinischen IRE Studien mit jeweils durchschnittlicher Anzahl an Studienteilnehmern, aufgeschlüsselt nach dem Jahr der Veröffentlichung, zusammengetragen, was die Aktualität des Themas belegt (vgl. Abb. 1.5) [Jia15].

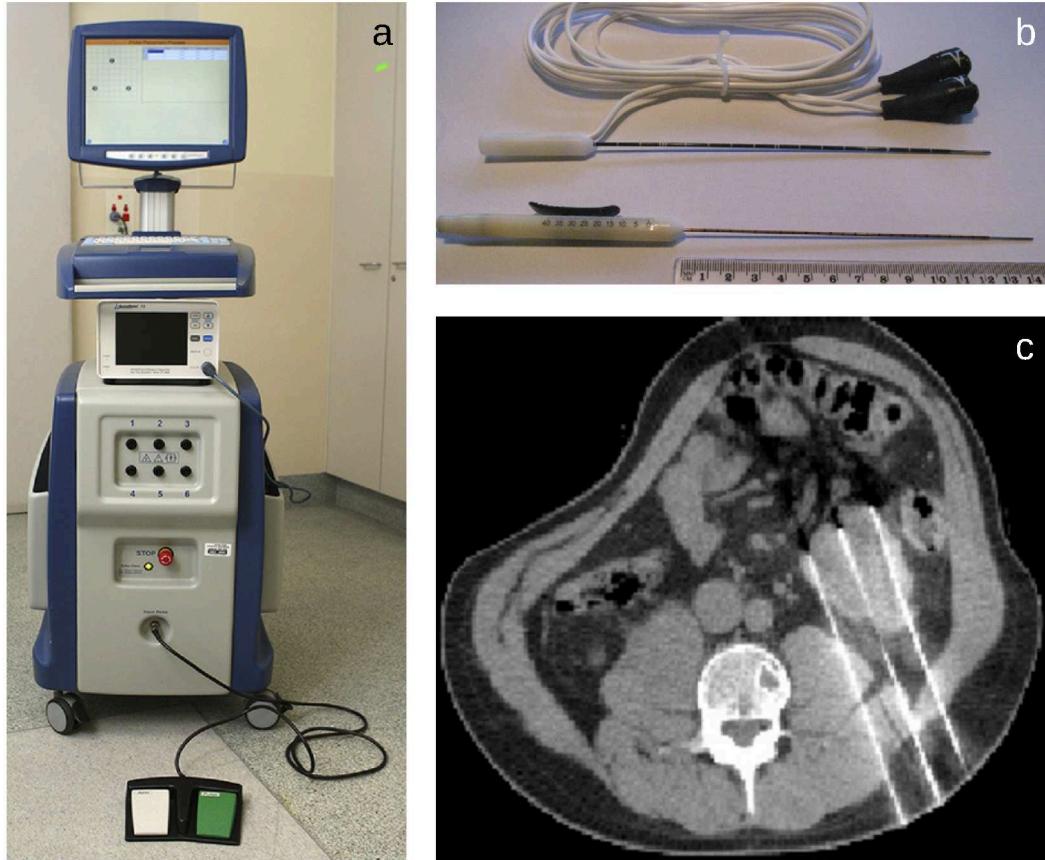


Abbildung 1.3: a) *NanoKnife Ablation System von AngioDynamics (Latham, NY, USA).*  
b) *Passende Elektroden des Herstellers.*  
c) *CT-Bild eines Nierentumors (Sarkom) mit drei Elektroden wie in b).* Für die Ablation werden die Elektroden jeweils paarweise aktiviert [Tho11].

Abseits der unzureichenden Herstellerangaben geben klinische Patientenstudien jedoch Aufschluss über das Gerät [Bal10; Cha11; Deo11; Tho11; Jou14]: Es verwendet typischerweise 90 Pulse zu je  $t_b = 70 \mu\text{s}$  und Spannungen im Bereich  $U_{min} = 1,5 \text{ kV}$  bis  $U_{max} = 3 \text{ kV}$ . Generell liegen die optimalen Pulslängen für IRE im Bereich von  $t_{b,min} = 50 \mu\text{s}$  bis  $t_{b,max} = 100 \mu\text{s}$  [Ivo10b]. Diese 90 Pulse werden EKG-synchronisiert abgegeben, d. h. ein Puls pro Herzschlag in einem Zeitintervall, das über ein externes EKG-Gerät<sup>5</sup> via TTL-Triggersignal als sicher eingestuft wird. Für die Zielfeldstärke zwischen zwei Nadelelektroden wird mindestens  $E_{min} = 1 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  angegeben. Die Feldstärke wird vom NanoKnife automatisch in Abhängigkeit des Elektrodenabstandes, der zuvor im CT-Bild (vgl. Abb. 1.4 rechts und 1.3c) manuell ausgemessen werden muss, berechnet, dementsprechend wird die zu erzeugende Spannung angepasst. Daraus resultiert der maximal mögliche Elektrodenabstand von  $d_{max} = 2,5 \text{ cm}$ . Bei Verwendung von mehr als zwei Elektroden (maximal sechs können angeschlossen werden) sind immer nur zwei gleichzeitig aktiv [Tho11], d. h. die einzige mögliche Feldgeometrie ist die im Beispiel in Kapitel 2.1.3 gezeigte Feldverteilung zwischen zwei Nadelelektroden. Es ist für Tumoren mit einem

<sup>5</sup> Von AngioDynamics empfohlen und auch an der Uniklinik RWTH Aachen eingesetzt wird das Accusync 72 ECG Trigger Monitor (AccuSync Medical Research Corporation, Milford, CT, USA).

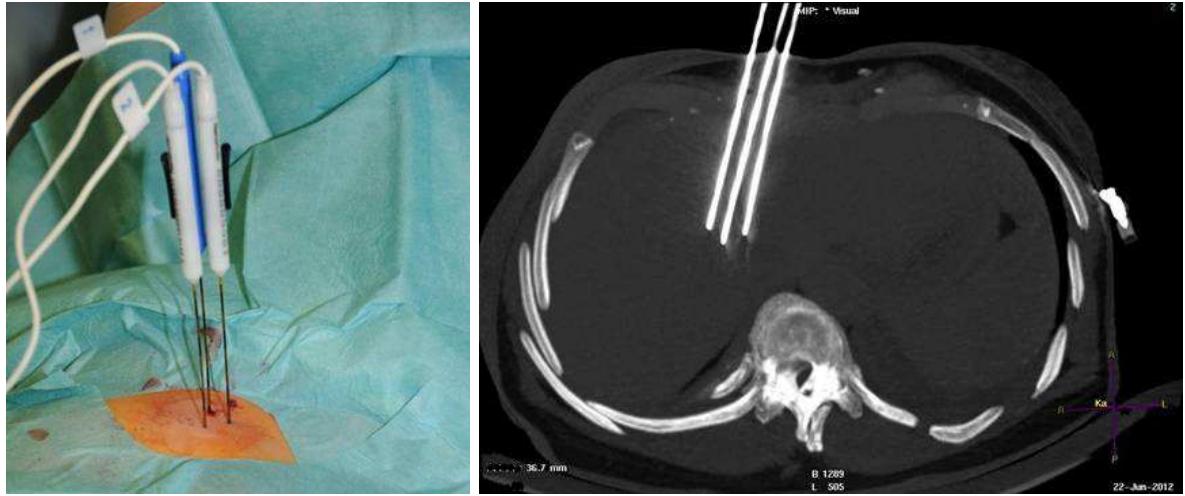


Abbildung 1.4: Links: Drei NanoKnife-Elektroden wurden durch die Haut (perkutan) in die Leber gestochen (vgl. ⇒MIC). Rechts: passendes CT-Bild. Quelle: Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Uniklinik RWTH Aachen.

Volumen von 50 bis  $70\text{ cm}^3$  ausgelegt [Jou14]. Der Erfolg kann per CT- oder MRT-Scan 24 bis 72 Stunden nach der Behandlung kontrolliert werden [Dol14], was dem derzeit üblichen Vorgehen – auch an der Uniklinik RWTH Aachen – entspricht.

Das NanoKnife besteht aus einer DC-Konstantspannungsquelle mit proprietären, redundanten Schaltkreisen (bekannte Eckdaten sind max. 3 kV und 50 A [Jou14]), die den Stromfluss überwachen. Der Stromfluss darf  $I_{therm} = 50\text{ A}$  nicht für mehr als  $t_{min} < 1\text{ }\mu\text{s}$  überschreiten, sonst sind thermische Effekte nicht auszuschließen. In der von Ball veröffentlichten Studie werden zudem erstmals Eckwerte für die notwendige Energie pro Puls<sup>6</sup> angegeben [Bal10]:

$$W_{min} = 0,2\text{ J} \approx 70\text{ }\mu\text{s} \cdot 5\text{ A} \cdot 500\text{ V} \quad (1.1)$$

$$W_{max} = 15\text{ J} = 100\text{ }\mu\text{s} \cdot 50\text{ A} \cdot 3000\text{ V} \quad (1.2)$$

Welchen Einfluss die Stromstärke auf den Erfolg der IRE hat ist damit nicht vollständig geklärt. Dies bestätigt auch ein Service-Techniker des Herstellers (persönliche Information, 11.09.2015). Die Studie von Thomson gibt aufbauend auf Ball [Bal10] die Grenzen von  $I_{min} = 25$  bis  $I_{max} = 45\text{ A}$  Gleichstrom an [Tho11]. Das NanoKnife protokolliert den Stromfluss während der Pulsabgabe und zeigt diesen hinterher in einem Zeit-Stromstärke-Diagramm zur Kontrolle an<sup>7</sup>.

Grundsätzlich gilt die Wirksamkeit der IRE als belegt: Der Erfolg der Ablation kann mit einem sog. Redox-Indikator<sup>8</sup> 15 min nach der Behandlung am dann explantierten Organ nachgewiesen werden. Dies bedeutet weiterhin, dass 15 min die Zeitspanne ist, die von der Elektroporation der Membran bis zum Absterben des Gewebes eingerechnet werden muss [Cha11].

<sup>6</sup> Vergleichswert Nervenstimulation: 40 bis 70 mA mit  $t_b \approx 200\text{ }\mu\text{s}$ .

<sup>7</sup> Unklar ist jedoch, ob der Wert berechnet oder gemessen wurde.

<sup>8</sup> Tetrazoliumchlorid (TTC)

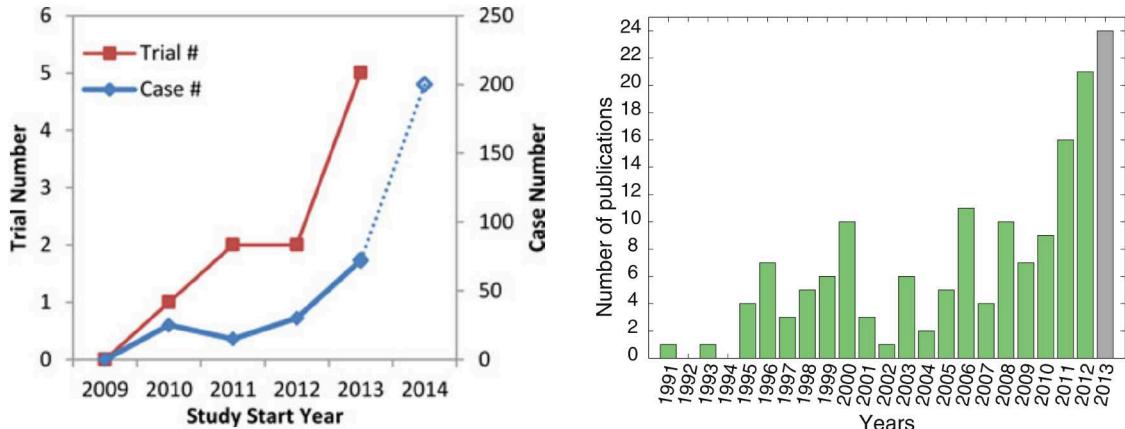


Abbildung 1.5: Links: Anzahl klinischer IRE Studien sowie Anzahl der Fälle je Studie, aufgeschlüsselt nach dem Jahr der Veröffentlichung [Jia15]. Rechts: Anzahl der Publikationen zum klinischen Einsatz von ECT [Mik14].

Eindringlich gewarnt wird vor der Positionierung der IRE-Elektroden in der Nähe von  $\Rightarrow$  Stents aus Metall, was aber gerade bei Patienten mit Pankreas-Tumoren oft der Fall ist [Män14]. Ende 2014 erhielt das NanoKnife in Deutschland die  $\Rightarrow$  OPS-Klassifizierung, so dass hier – zumindest in einem gewissen Umfang – mit einem klinischen Einsatz gerechnet werden kann. Bis zu diesem Stichtag waren sieben Systeme in deutschen Kliniken vorhanden<sup>9</sup> [Glo14], eines davon an der Uniklinik RWTH Aachen.

### 1.1.4 Grenzwerte der reversiblen und irreversiblen Elektroporation

Miklavčič et al. haben die EP in Lebergewebe von Ratten in vivo untersucht (Nadelelektroden, Abstand  $d = 8$  mm, Pulsbreite  $t_b = 100$   $\mu$ s, 8 Pulse mit einer Periodendauer  $T = 1$  s) [Mik00a; Mik00b]. Dabei ergaben sich für reversible bzw. irreversible EP folgende Schwellenwerte:

$$E_{rev} = 362 \pm 21 \frac{\text{V}}{\text{cm}} \quad (1.3)$$

$$E_{irrev} = 637 \pm 43 \frac{\text{V}}{\text{cm}} \quad (1.4)$$

Diese Werte können nicht als allgemeingültiger Grenzwert angesehen werden, sondern nur als grobe Anhaltspunkte, wie noch in Kapitel 3 nachgewiesen wird.

### 1.1.5 Vergleich der minimal-invasiven Ablationsverfahren

Wie zuvor erwähnt, sind die auf EP basierenden klinischen Verfahren nicht-thermische Ablationsverfahren: In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass IRE<sup>10</sup> von thermischen Effekten<sup>3</sup> isoliert betrachtet werden kann [Dav05; Mil05; Lac09; Cho09]. Dies hat mehrere Vorteile gegenüber den bisherigen, thermischen Verfahren (RFA, MWA, Kryoablation):

<sup>9</sup> Bisher wurden die Kosten für die Nutzung des NanoKnives in der Regel direkt vom Patienten übernommen oder durch ein Forschungsstipendium an einer Universitätsklinik abgedeckt.

<sup>10</sup> Deckt auch ECT ab, da bei gleichem elektrotechnischen Vorgehen geringere Feldstärken erforderlich sind.

1. Mit EP-basierten Verfahren können Tumoren auch in der Nähe größerer Gefäße behandelt werden, denn die EP lässt vulnerable Strukturen unbeschädigt: Zellarme Gewebe (z. B. Wandungen von Gefäßen, Gallenwegen, Hohlorganen) werden durch die EP nicht nachhaltig beeinträchtigt [Pak10; Nie12]. Die Aussage erscheint logisch und wird von Medizinern derzeit auch allgemein akzeptiert [Are13]. Eine Tierversuchsstudie bestätigt die Annahme [Mao07], belastbare humane Studien fehlen jedoch noch.
2. Meist erfolgt der  $\Rightarrow$ Zelltod durch  $\Rightarrow$ Apoptose: Apoptose ist Teil des Stoffwechsels jeder Zelle und wird somit auch *natürlicher, kontrollierter Zelltod* genannt. Es entsteht keine Entzündungsreaktion (wie bei  $\Rightarrow$ Nekrose, die bei thermischen Verfahren eintritt) und ebenso ist gewährleistet, dass die betreffende Zelle ohne Schädigung des Nachbargewebes abstirbt [Gis11; OSu14]. Dies führt zu einem narbigen Gewebeumbau statt zu einer Ablationshöhle (RFA) oder flüssigkeitsgefüllten Nekrosehöhle (MWA) [Li14a; Jou14].
3. Die technische Umsetzung ist flexibel: Die elektrotechnischen Eckdaten (zu erzeugende Feldgrößen) lassen sehr flexible Elektroden zu, da kein dauerhafter, hoher Stromfluss benötigt wird. Dünne, flexible Materialien und Konstruktionen (z. B. Nadelelektroden) können verwendet werden. Die Neutralelektrode muss nicht außerhalb des Körpers platziert werden, sondern kann Teil der Elektrodenkonstruktion sein. Auch das Ablationsareal kann sehr variabel angepasst werden, nicht nur durch die Elektrodengeometrie selbst, sondern auch durch eine individuelle elektrische Ansteuerung multipler Einzelelektroden.
4. Ein bestimmter Gewebebereich ist über die zuvor genannten Möglichkeiten präzise definiert erreichbar, d. h. das Tumorgewebe kann sehr selektiv zerstört werden und das umliegende gesunde Gewebe maximal schonen [Hal14]. In der Literatur spricht man auch von *geringen Kollateralverletzungen* [OSu14].
5. Der klinische Eingriff ist mittels Computersimulation vorab gut planbar: Die Simulation der elektrischen Feldverteilung kann vorab am PC mit dem CAD-Modell des patienten-individuellen Tumors sehr gut vorbereitet und optimiert werden, sofern die elektrischen Gewebeeigenschaften bekannt sind (vgl. Kap. 8). Grundsätzlich wäre dies auch bei thermischen Verfahren möglich, ist aber komplizierter (z. B. ist der Wärmetransport durch das Blut schwierig zu erfassen) [Mac14; Sub15; Nie12].
6. ECT ist schonender für den Patienten: Die Studien zeigen, dass Blutungen sofort nach der Behandlung stoppen und schmerzvolle Verletzungen drastisch abnehmen [Mir06] (Vergleich zu konventionellen Therapien). Im Vergleich zur RFA oder MWA sind durch die IRE entstehende  $\Rightarrow$ Läsionen kleiner [Li14a].
7. Die Operationszeit des klinischen Eingriffs ist kürzer: Die Ablation per IRE oder ECT ist in der klinischen Anwendung im Vergleich zur RFA oder MWA kürzer, damit ist die Narkosedauer des Patienten kürzer und die Behandlung kostengünstiger. Aktuell wirkt sich dieser Punkt nur bedingt aus, da das korrekte Setzen der Elektroden ein zeitaufwändiger Vorgang ist. Erst durch Echtzeitbildgebung und/oder vorab berechneter Zugangswegeplanung kann sich dieser Vorteil auswirken.

Insbesondere der erste und der dritte Vorteil führen zu neuen Anwendungsbereichen: Wie in der Einleitung schon angedeutet, sind durch Gefäße bis zum Tumor transportierte Elektroden, die vor Ort die IRE ermöglichen, denkbare Operationsstrategien. Ein solcher Eingriff wäre patientenschonender als die Öffnung des Bauchraums oder ermöglicht überhaupt erst die Therapie von bisher nicht behandelbaren Fällen (z. B. den in Kapitel 1.1.7 gezeigten Klatskin-Tumor). Die EP birgt daher für die Krebstherapie hohes Innovationspotential.

### 1.1.6 Vergleich von IRE und ECT

Die IRE hat gegenüber der ECT den Vorteil, dass keine Pharmaka verwendet werden, d. h. ausschließlich eine Elektrodenkonfiguration zum Tumor gebracht werden muss. Umgekehrt müssen bei der ECT zwar auch die Pharmaka in den Tumor gegeben werden – was bei Tumoren an der Haut deutlich einfacher ist, als bei Anwendungen im Körperinneren – hat darüber hinaus aber zwei Vorteile:

Für eine erfolgreiche Behandlung werden bei der ECT geringere Feldstärken – und damit Spannungen – als bei der IRE benötigt, bzw. bei gleicher Spannung kann ein größeres Behandlungsareal abgedeckt werden.

Der zweite Vorteil ist biologischer Natur: Vereinfacht ausgedrückt zerstört das durch die ECT eingebrachte Pharmakon eine Zelle erst bei einer daraufhin auftretenden Zellteilung. Da Tumorzellen sich per Definition oft teilen, dabei also mit eingebrachtem Pharmakon sofort sterben, zielt die ECT nicht nur durch die Feldverteilung, sondern auch durch diesen Aspekt sehr viel selektiver auf das Tumorgewebe ab, als die IRE: Gesunde Zellen können auch mit dem eingeschlossenen Pharmakon weiterleben und ihre Funktion im Körper erfüllen. Tumorzellen, die sich nicht sofort teilen und nach der Behandlung inaktiv am Ort verbleiben, würden jedoch sterben, sobald der Prozess der Zellteilung wieder einsetzt (persönliche Information von Luis M. Mir, Erfinder der ECT, auf der BioEM2015). Dies entspricht der grundlegenden Funktionsweise von Bleomycin als Zytostatikum [Got03].

Dritter Vorteil ist der zuvor bereits angesprochene  $\Rightarrow$ Zelltod durch  $\Rightarrow$ Apoptose oder  $\Rightarrow$ Nekrose (vgl. Abb. 1.6): Bei der ECT sprechen die Quellen von Apoptose und minimaler Entzündung [Mik00a; Lar07; Sad08; Mik14]. Nur vereinzelt wird von teilweise auftretender Nekrose berichtet [Ess07; Hal14], was mit höheren Feldstärken in der Nähe von Nadelelektroden zu erklären wäre oder ggf. auch mit dem Einstich der Nadeln selbst verbunden sein kann.

Bei der IRE variieren die Aussagen [Ivo10b; Lee10; Jou14]. Esse spricht durchgängig von Nekrose bei IRE und Apoptose bei ECT [Ess07]. Trotzdem ist auch bei der IRE das Ergebnis abhängig von den Pulsparametern: Apoptose ist reproduzierbar nachgewiesen bei Nanopulsen mit  $t_b = 30$  ns und einer Feldstärke von  $E = 25 \frac{kV}{cm}$  [Sch07] sowie mit  $t_b = 100$  ns bei *mehreren hundert*  $\frac{kV}{cm}$  [Neu10]. Bei vergleichsweise langen Pulsen, d. h.  $t_b = 20$  ms mit  $E = 1 \frac{kV}{cm}$ , tritt reproduzierbar Nekrose auf [Edd06].

Ein aktuelles Review [Jou14] berichtet etwas vage von Apoptose bei niederer Spannung mit vielen Pulsen und Nekrose bei hoher Spannung und wenigen Pulsen. Dies deckt sich grundsätzlich

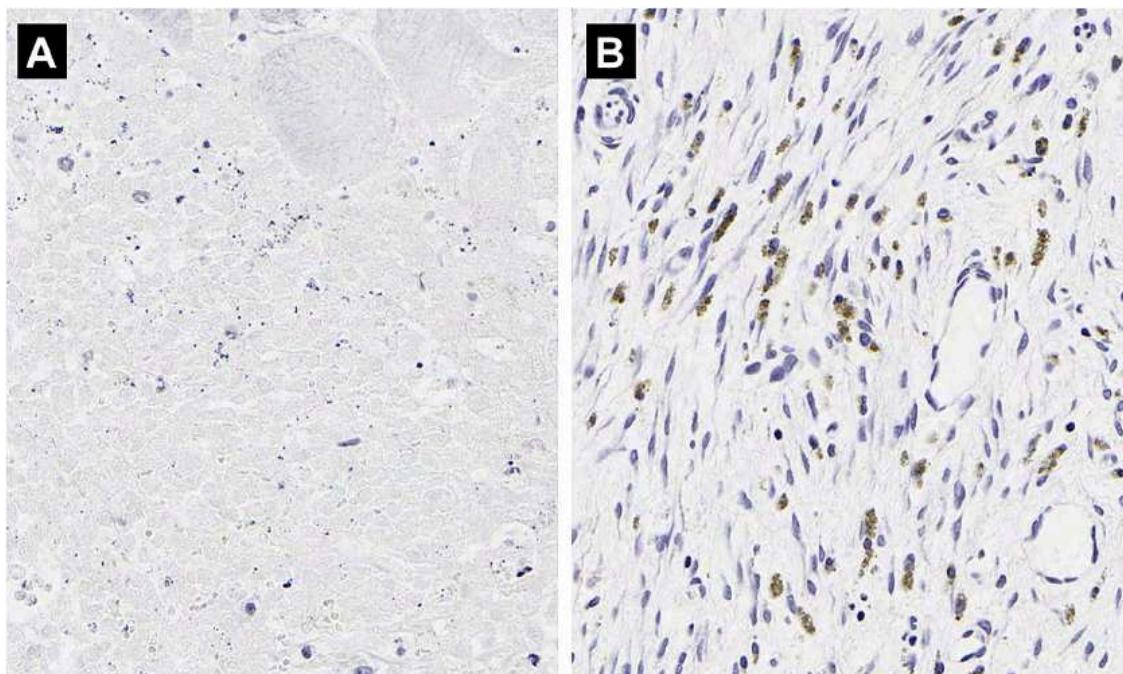


Abbildung 1.6: *Histologische Schnittbilder von abladiertem Lebergewebe im direkten Vergleich (Maßstab in der Quelle nicht genannt):*

*A)  $\Rightarrow$  Nekrose, verursacht durch  $\Rightarrow$  RFA.*

*B)  $\Rightarrow$  Apoptose, verursacht durch  $\Rightarrow$  IRE, erkennbar an den braunen Apoptose-Markern (TUNEL-Methode) [Jou14]*

mit den etwas genauer bezifferten Angaben von Jiang [Jia15]: Die IRE tötet erfolgreich Zellen bei hohen Feldstärken (1 bis  $10 \frac{kV}{cm}$ ) und langer Pulsdauer ( $\mu s$  bis ms), dies führt aber zu Nekrose. Höhere Feldstärken ( $10$  bis  $100 \frac{kV}{cm}$ ) und kürzere Pulse ( $< \mu s$ ) führen zu Apoptose, der Zelltod ist aber nicht in jedem Fall gesichert.

Zieht man die in Kapitel 1.1.3 zusammengefassten Unklarheiten bzgl. der Stromstärke hinzu, wird deutlich, dass die IRE zwar ein aussichtsreiches Verfahren darstellt, aber weitreichende Grundlagenforschung zum Verständnis der Vorgänge erforderlich ist. Trotzdem ist die IRE mit dem NanoKnife schon vereinzelt in der klinischen Anwendung zu finden. Diese Arbeit befasst sich daher in den folgenden Kapiteln mit beiden Seiten: Der Grundlagenforschung (vgl. Kap. 3 und 7) und der klinischen Anwendung (vgl. Kap. 4, 5 und 8).

### 1.1.7 Anwendungsmöglichkeiten und Fallzahlen

In der Onkologie zielen neu zu entwickelnde Behandlungsmethoden in der Regel auf zwei klinische Anwendungsfälle: 1. möglichst große Fallzahlen (d. h. eine Verbesserung für möglichst viele Patienten), 2. bisher nicht behandelbare Tumoren mit in der Regel geringen Fallzahlen (sog. *rare diseases*). Soweit im Folgenden nicht anders angegeben, stammen die deutschen Zahlen aus dem derzeit aktuellsten Bericht des Robert Koch-Instituts [RKI15], die weltweiten

wurden von der WHO publiziert [WHO14]. Im Jahr 2012 sind in Deutschland 477.950 Menschen an Krebs neu erkrankt (weltweit 14,09 Mio.), für 2016 sind 498.700 Neuerkrankungen prognostiziert, die Sterbefälle lagen 2012 bei 220.923 Patienten (weltweit 8,2 Mio.).

Eine der häufigsten Krebserkrankungen ist Darmkrebs (kolorektales Karzinom, kurz CRC). Alleine in Deutschland traten 2012 etwa 62.230 Neuerkrankungen (weltweit 1,4 Mio.) und 25.972 Sterbefälle auf. Die derzeitige Langzeitüberlebensrate liegt bei etwa 50 % [Hou10].

Krebs an der Bauchspeicheldrüse (*Pankreas*) wird mit 16.730 Neuerkrankungen (weltweit 330.372) und 16.120 Sterbefällen angegeben. Einer der häufigsten Tumoren des Gastrointestinaltraktes ist das duktale Adenokarzinom, bei dem nur etwa 20 % der Patienten durch eine chirurgische Resektion heilbar sind [Cat11].

Häufigster Sitz von ⇒Metastasen ist die Leber. Bei zahlreichen Tumorerkrankungen ist die Lebermetastasierung ein überlebenslimitierender Faktor des entsprechenden Tumorleidens, was direkten Einfluss auf die Fallzahlen hat: 8.580 neue Fälle von Leberkrebs und 7.670 Todesfälle traten in Deutschland 2012 auf (weltweit 0,782 Mio Neuerkrankungen, 0,746 Mio Sterbefälle [WHO14; For12]). Für das Organ Leber steigt die ⇒Inzidenz für ⇒Sekundärtumoren wie ⇒Primärtumoren besonders steil an [Sal11].

Der Klatskin-Tumor (perihiläres Gallengangskarzinom, kurz pCCA, vgl. Abb. 1.7) als Sonderform eines Gallengangstumor (Cholangiokarzinom, kurz CCA) ist ein Beispiel für eine seltene Erkrankung. Unter Tumoren an Gallenblase und Gallenwegen (CCA) sind insgesamt 5.300 Neuerkrankungen pro Jahr bei 3.275 Sterbefällen verzeichnet; wie viele davon auf Klatskin-Tumoren entfallen, ist nicht bekannt. Die Diagnose eines Klatskin-Tumors erfolgt meist erst bei fortgeschrittenem Tumorstadium, entsprechend schlecht sind derzeit die Prognosen für diese Patientengruppe [Büc06]: Die 5-Jahres-Überlebensraten nach chirurgischer Resektion liegt im einstelligen Prozentbereich, erst neuere, kostenintensive Spezialzentren konnten diese Rate

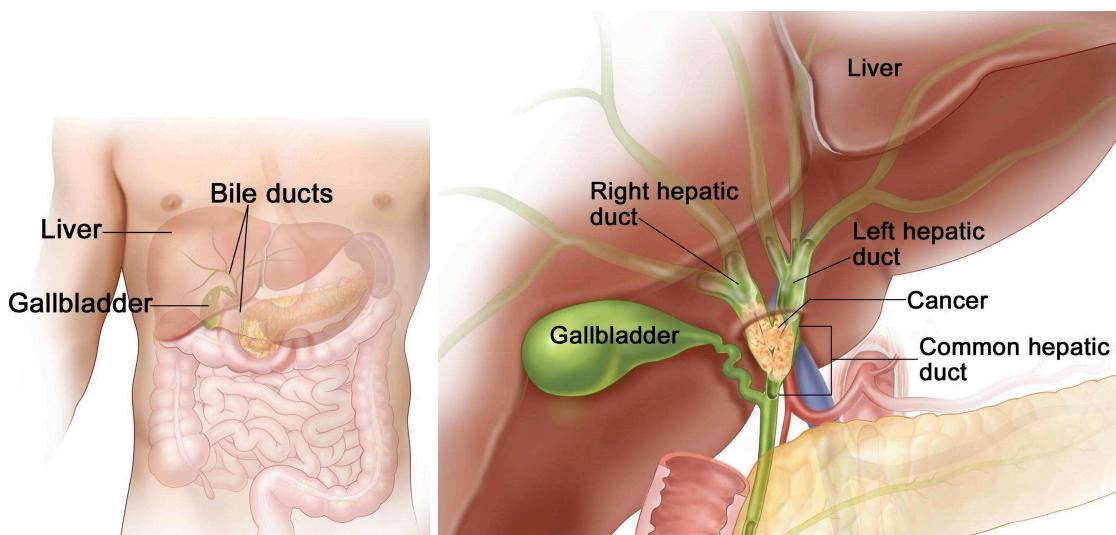


Abbildung 1.7: Beispiel eines Klatskin-Tumors (Cancer) an der Hepatikusgabel, d. h. wo die Gallengänge aus den einzelnen Leberlappen zum gemeinsamen Gallengang, dem Ductus choledochus (common hepatic duct) zusammenlaufen [Nat15].

auf 40 – 50 % steigern [Vog14]. Die Uniklinik RWTH Aachen behandelt pro Jahr ca. 25 Patienten mit dieser Erkrankung (durchschnittliche Fallzahl von 2012-14).

Die Literatur zu Anwendungsfällen der IRE befasst sich vorwiegend mit den Krankheitsbildern Pankreaskarzinom [Bow11; Dun13; Mån14; Bus14], hepatzelluläres Karzinom (Leberzellenkrebs) [Cha11; Edh11; Pav13; Li14a; Spu14] und CRC [Bar10; Vog14] (vgl. auch aktuelle Reviews [Mik14; Jia15]), woran sich auch diese Arbeit orientiert. Eine IRE von Klatskin-Tumoren ist bislang in der Literatur nicht aufgegriffen worden, die Konzepte basieren auf interdisziplinären Kooperationen (vgl. Kap. 4.1) und sind bisher nicht veröffentlicht.

### 1.1.8 Computersimulation in der EP-basierten Tumortherapie

Mit Computersimulationen auf der Basis von  $\Rightarrow$ FEM lassen sich Feldverteilungen, auch von komplizierten Geometrien, berechnen und visualisieren. Durch leistungsfähigere Hardware und einfachere, preiswertere Software sind Simulationen heutzutage auch für kleinere Forschergruppen auf handelsüblichen PCs durchführbar. Da ein maßgeblicher Faktor einer erfolgreichen EP der Betrag der elektrischen Feldstärke ist, liegt es nahe, dass auf diesem Gebiet zunehmend Computersimulationen eingesetzt werden. Als Simulationssoftware wurde in allen zitierten Quellen Comsol Multiphysics (COMSOL AB, Stockholm, Schweden; vor 2005 FEMLAB) verwendet. Auch alle in dieser Arbeit gezeigten Simulationen sind ebenfalls mit Comsol Multiphysics (Version 4.0 bis 5.1) erstellt worden.

Larkin veröffentlichte 2007 eine der ersten Simulationen in der EP-basierten Tumortherapie, die die Feldverteilung von zwei Plattenelektroden für die ECT darstellt (vgl. Abb. 1.8).

Anspruchsvoller und vor allem aussagekräftiger werden die Simulationen bei realistischen Geometrien: Abbildung 1.9 zeigt erneut die Elektroden aus Abbildung 1.2, jetzt aber mit entsprechenden Simulationsbildern.

## 1.2 Anknüpfung an die Elektrotechnik

Die Verknüpfung dieses biomedizinischen Themenkomplexes zur klassischen Elektrotechnik liegt in den *Stellschrauben* der EP: Elektrische Feldstärke, angelegte Spannung, Permittivität (der Gewebe), Pulsbreite, -länge und -abstand sowie Frequenz und Anzahl der Pulse sind klassische Begriffe der Elektrotechnik, von denen der Erfolg und die Art (reversibel / irreversibel) der EP maßgeblich abhängt.

Weiterhin ist das Thema prädestiniert für die in den klassischen Ingenieurwissenschaften immer umfangreicher eingesetzten Computersimulationen auf Basis von  $\Rightarrow$ FEM: Modelliert man einen Tumor mit umliegendem Gewebe am PC, d. h. geometrisch identische Areale mit realistischen elektrischen Gewebeeigenschaften, kann man die Verteilung der elektrischen Feldstärke vorab am PC bestimmen.

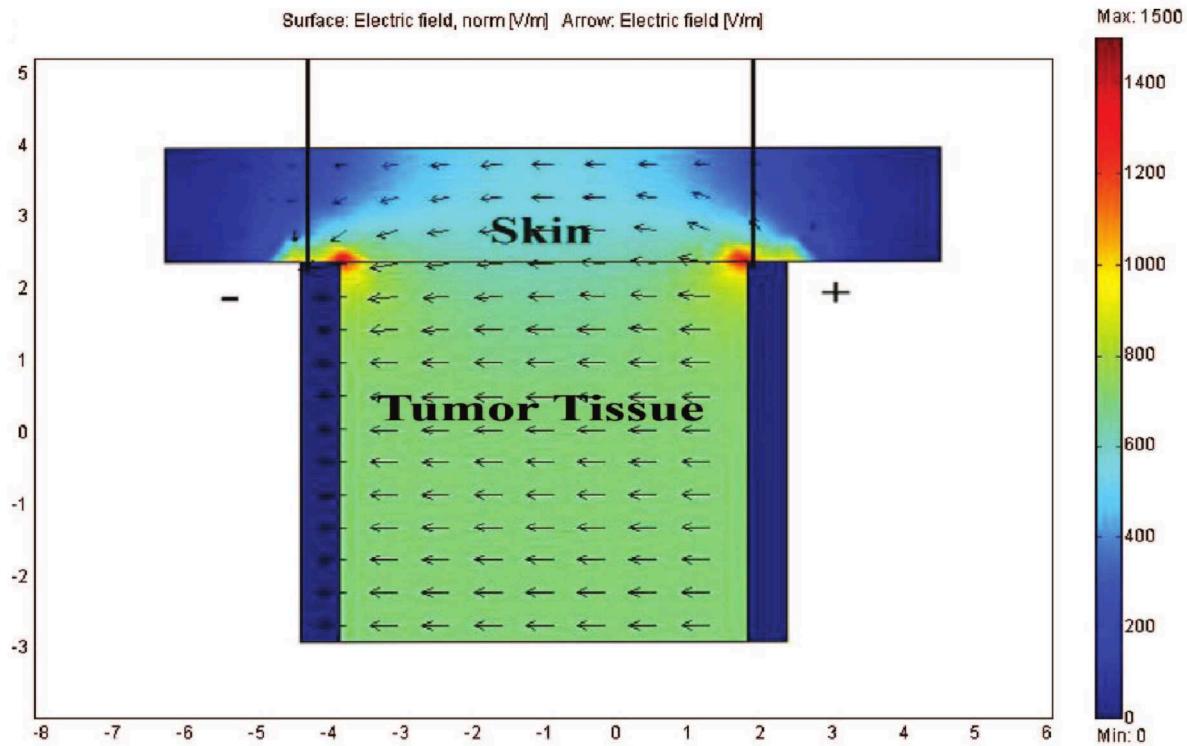


Abbildung 1.8: Eine der ersten Computersimulationen im Bereich der EP-basierten Tumorthерапie: ECT eines Hauttumors mit Plattenelektroden. Zu sehen ist die homogene Feldverteilung im Tumor, der zwischen den Plattenelektroden eingeklemmt wird, und das abfallende Feld im gesunden Gewebe (Skin) [Lar07].

### 1.3 Motivation

Der EP wird als einer tumortherapeutischen Anwendung (ECT, IRE) hohes Potential als zukünftige Standardtherapie ( $\Rightarrow$  Goldstandard) zugeschrieben. Ein solcher Eingriff, der das Ziel hat, den Tumor im Patienten komplett abzutöten, soll patientenindividuell vorab am PC geplant und optimiert werden: Mittels der bildgebenden Verfahren der Medizin (vorwiegend CT und MRT) können CAD-Modelle der einzelnen Tumoren am Computer generiert werden, mit denen per Computersimulation die Verteilung der elektrischen Feldstärke auf den jeweiligen Tumor angepasst werden kann. Dazu passend müssen Elektroden entwickelt werden, die eine entsprechende Feldgeometrie erzeugen können.

Im Idealfall wird das tumoröse Gewebe vollständig abgetötet und der Erhalt der gesunden Gewebebereiche maximiert. Diese Vision könnte durch EP-basierte Verfahren zudem mit einem minimalen Patiententrauma und ohne die bei der Chemotherapie sonst üblichen Nebenwirkungen erreicht werden. Darüber hinaus bietet das Verfahren erstmals Heilungsaussichten für Patienten, die derzeit als nicht heilbar angesehen werden (vgl. Fallbeispiele Kap. 1.1.7). Weitere Motivationsgründe liegen in den technischen Entwicklungsmöglichkeiten dieser vergleichsweise neuen Methoden und im Marktpotential:

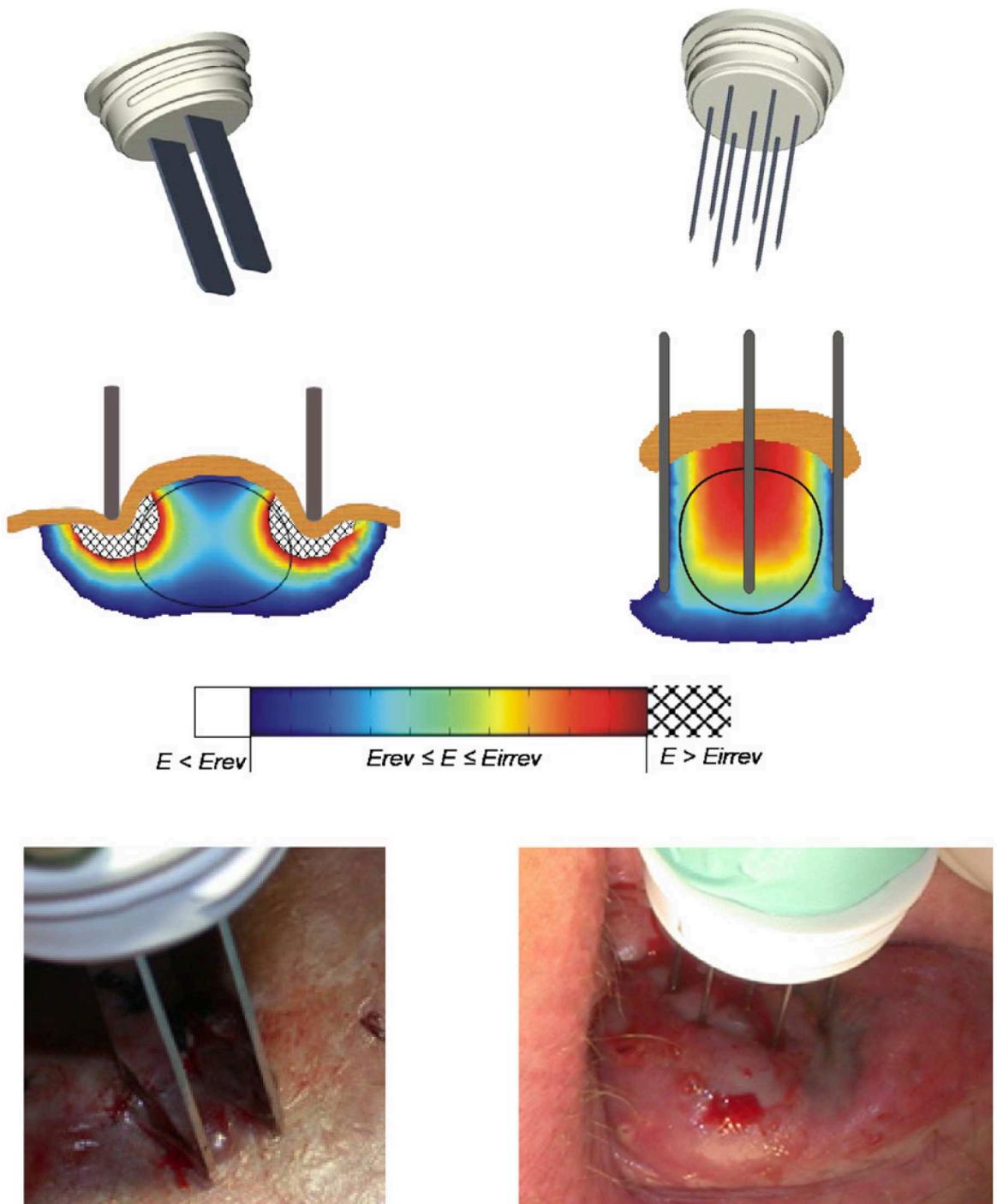


Abbildung 1.9: Realistische Simulation der ECT für Plattenelektroden ( $\Rightarrow$  nicht-invasiver Einsatz, links) und einem Nadelelektroden-Array aus sieben Einzelnadeln ( $\Rightarrow$  invasiver Einsatz, rechts).  
 Oben: CAD-Modell der Elektroden.  
 Mitte: Schnittbild der simulierten elektrischen Feldverteilung im Gewebe, wobei nicht zwischen Tumor und gesundem Gewebe unterschieden wurde.  
 Unten: Zur besseren Vergleichbarkeit erneute Darstellung von Abb. 1.2 aus der jeweiligen realen Anwendung der Elektroden [Ser08].

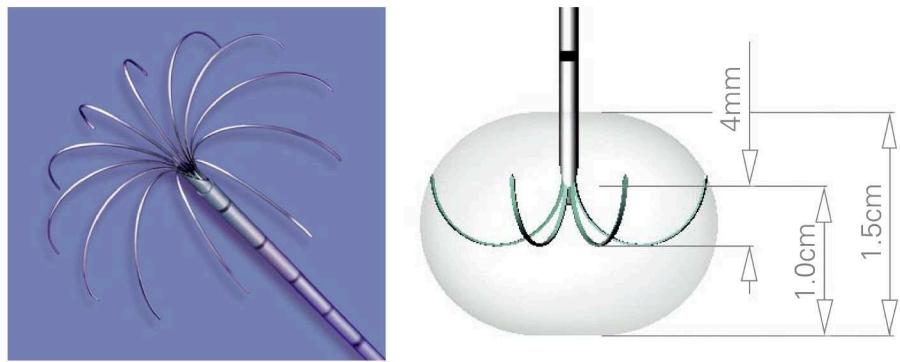


Abbildung 1.10: Links: LeVeen Elektrode von Boston Scientific (Natick, MA, USA). Rechts: Abmessungen und vom Hersteller angegebenes Ablationsareal [Bos10].

### Innovationspotential

Wie in Kapitel 1.1.3 dargelegt, gibt es am Markt für die klinische Anwendung der IRE und ECT derzeit ausschließlich Platten- und starre Nadelelektroden. Beides ist für die ECT von Hauttumoren in Bezug auf die Tumorgeometrie ausreichend. Für eine Anwendung an inneren Organen (*interstitiell*) sind Plattenelektroden keine Option, da z. B. ein Leber-tumor nicht *auf* dem Organ platziert ist, sondern sich in der Regel eingefasst in gesundes Lebergewebe befindet. Das Einsetzen einer Platte würde daher in den gesunden Anteilen große Beschädigungen verursachen. Daher sind derzeit für eine solche Anwendung starre Nadelelektroden (vgl. Abb. 1.4) die einzige am Markt erhältliche Bauform.

Bei der  $\Rightarrow$ RFA von Lebermetastasen sind sogenannte *LeVeen* Elektroden üblich [Mah04] (Markenname von Boston Scientific, Natick, MA, USA), in der Literatur auch *umbrella-shaped expandable radiofrequency electrodes* genannt: In einer Hohlnadel (Größenordnung des Durchmessers 2 - 2,5 mm [Bos10; Bos13]) sind mehrere Einzelelektroden untergebracht, die sich am Zielgebiet bogenförmig ausfahren lassen (vgl. Abb. 1.10). Diese Bauweise ermöglicht im eingefahrenen Zustand einen minimal-invasiven Zugang ( $\Rightarrow$ MIC) und expandiert ein Ablationsareal in der Form eines Ellipsoiden [Bos10]. Das Konzept einer Hohlnadel mit bogenförmig ausfahrbaren, einzelnen Elektroden lässt sich adaptieren und für verschiedene Geometrieverformen beliebig erweitern, wodurch ein hohes Innovationspotential eröffnet wird. Konzepte dazu werden in Kapitel 4 vorgestellt.

Die zweite Limitierung der *interstitiellen IRE* nach dem Stand der Technik ist die Ansteuerung von maximal zwei Elektroden gleichzeitig. Mehrere gleichzeitig mit unterschiedlichen Potentialen ansteuerbare, ggf. gebogene Nadelelektroden ermöglichen aus elektrotechnischer Sicht eine Fülle weiterer Feldausbreitungsgeometrien (im Vergleich zur „Erdnussform“ mit zwei starren Nadelelektroden, vgl. Kap. 2.1.3) bzw. aus medizinischer Sicht sehr viel variabler abdeckbare Tumorgeometrien. Eine solche Sonden-Entwicklung wird in Kapitel 5 beschrieben. Drittens ist das Setzen jeder einzelnen Nadelelektrode ein zeitaufwändiger Vorgang. Ein Elektrodenarray mit nur einem Einstich kann diesen Vorgang bis zu sechsfach beschleunigen (im Vergleich zur Nutzung des NanoKnifes mit allen sechs Elektroden).

### Marktpotential

Wie die steigenden Fallzahlen aus Kapitel 1.1.7 zeigen, ist der Markt für tumortherapeutische klinische Verfahren sehr groß, das Wachstum stetig steigend. Selbst seltene Erkrankungen (*rare diseases*) können hohe Umsätze auslösen: Die Uniklinik RWTH Aachen behandelt pro Jahr durchschnittlich ca. 25 Patienten mit Klatskin Tumor und erwirtschaftet dabei knapp 520.000€ DKR Erlöse<sup>11</sup> pro Jahr (Durchschnittszahlen aus den Jahren 2012-14). Diese Umsätze könnten es ermöglichen, auch Einzelschicksale zu behandeln.

Die EP als medizinische Behandlung für Tumoren ist derzeit eines der aussichtsreichsten Verfahren (vgl. Kap. 1.1.3) und vergleichsweise neu, d. h. weder einzelne Geräte, noch Hersteller haben den Markt bislang unter sich aufgeteilt. *AngioDynamics* (Latham, NY, USA) hat durch sein proprietäres und gerade zugelassenes Produkt *NanoKnife* einen Vorsprung, ebenso *IGEA Medical Devices* (Carpi, Italien) durch seine kooperationsintensive Forschung. Für Medizintechnikunternehmen, die Strategien der Produktentwicklung<sup>12</sup> oder der horizontalen Produktdiversifikation<sup>12</sup> anstreben, aber auch Start-Ups mit konkreten Speziallösungen, sind die Wachstumschancen enorm, sofern sich EP-basierte Verfahren für einen Großteil aller Tumoren als die primären Behandlungverfahren etablieren.

## 1.4 Zielsetzung der Arbeit

Mittels CAD-Design und FEM-Simulation soll eine neuartige Elektrode entwickelt werden, die erstmals eine interstitielle ECT-Therapie ermöglicht. Daraus hervorgegangen sind 1. ein klinisch neues, patientenindividuelles Verfahren, das IRE und ECT vereint, und 2. die Notwendigkeit eines neuen Elektroporators, dessen Entwicklung ebenfalls abgehandelt wird. Um die Simulationsgenauigkeit bewerten zu können wird der Literaturstand aus elektrotechnischer Sicht analysiert und mit den Ergebnissen von eigenen Zellversuchen in Beziehung gesetzt.

## 1.5 Struktur der Arbeit

Die bearbeiteten Themenfelder sind in Abbildung 1.11 visualisiert und im Folgenden strukturiert zusammengefasst. Am Anfang eines jeden Kapitels wird die Einordnung in den Gesamtkontext nochmals aufgegriffen.

In Kapitel 2 sind sowohl elektrotechnische als auch biomedizinische Grundlagen aufbereitet, die zum Verständnis der Arbeit notwendig sind.

Kapitel 3 geht auf Grundlagenforschungen ein: Es wurden die Überlebensraten von verschiedenen Zelllinien unter realitätsnahen Bedingungen bestimmt sowie weitere Versuchsaufbauten entwickelt, die das Ziel verfolgen, zukünftig notwendige Tierversuche zu minimieren.

<sup>11</sup> „Um [...] eine Basis [...] zu schaffen, wurden verbindliche Kodierrichtlinien (Deutsche Kodierrichtlinien) zusammengestellt, die wie die ICD- und ⇒OPS-Kataloge jährlich aktualisiert werden. Viele Fachgesellschaften haben fachspezifische Empfehlungen zur Kodierung zusammengestellt, die auf den DKR beruhen.“ [Bro10]

<sup>12</sup> Nach Produkt-Markt-Matrix von H. Ansoff [Ans65].

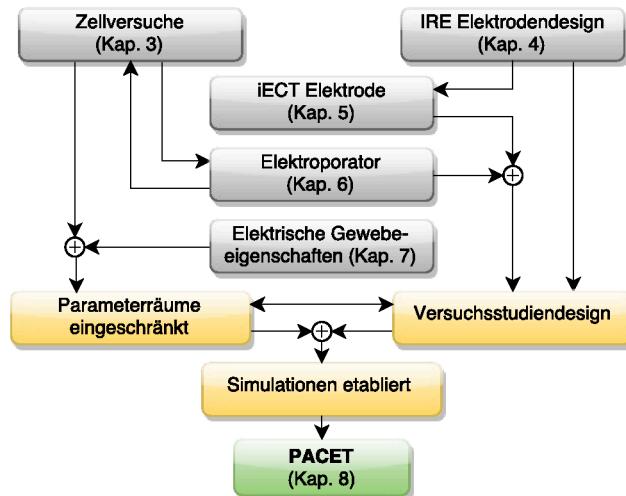


Abbildung 1.11: *Pfad durch die Arbeit: Die grauen Felder zeigen die bearbeiteten Themenkomplexe und die dazugehörigen Kapitelnummern, die gelben Felder die in dieser Arbeit erreichten Meilensteine. Das charakterisierte Fernziel, („Patient-customized electroporation therapy“), ist grün dargestellt.*

Es folgt der Übergang auf die klinische Anwendung der EP: Dafür sind sowohl ein Elektroporator, der die Spannungspulse erzeugt, als auch Elektroden, die bei passender Beschaltung die gewünschte Feldgeometrie erzeugen, notwendig. Ziel ist es, eine Feldverteilung an eine vorgegebene Tumorgeometrie anzupassen: Dafür werden in Kapitel 4 grundlegende Überlegungen zu denkbaren Elektrodendesigns für verschiedene Anwendungen skizziert, in Kapitel 5 wird die konkrete Weiterentwicklung eines solchen Ansatzes vom CAD-Modell bis hin zum funktionalen Prototypen beschrieben. Diese Entwicklung beinhaltet  $\Rightarrow$ FEM-Simulationen, die die Machbarkeit belegen, daraus abgeleitet neue Elektroporationsmethoden und abschließend ein Gütemodell zur Optimierung und Evaluierung.

Den nächsten Schritt auf dem Weg zur klinischen Anwendung stellen Tierversuche dar. Die mit dem Prototypen entwickelten Elektroporationsstrategien sind mit den am Markt erhältlichen Geräten jedoch nicht durchführbar, so dass in Kooperation mit dem Institut für Hochspannungstechnik die Entwicklung eines eigenen Elektroporators eingeleitet wurde. Die Diskussion der Notwendigkeit sowie die erzielten Ergebnisse sind in Kapitel 6 zusammengefasst.

Aus den einzelnen Projekten heraus hat sich ein Problemfeld rund um die nur unzureichend bekannten elektrischen Gewebeeigenschaften ergeben, das in Kapitel 7 diskutiert wird.

Kapitel 8 führt die einzelnen roten Fäden der vorangestellten Projekte inhaltlich zusammen. Das in der Motivation skizzierte Fernziel, eine patientenindividuelle, minimal-invasive, nicht-thermische Behandlung am PC vorab zu planen und zu optimieren, wurde *PACET* getauft: Patient-Customized Electroporation Therapy. Die methodische Aufbereitung und – soweit nach derzeitigem Stand möglich – Vorbereitung für den klinischen Einsatz, schließt die bearbeiteten Themenfelder ab. Im letzten Kapitel werden die Ergebnisse der einzelnen Projekte zusammengefasst und mit Blick auf dieses Fernziel diskutiert, was zum abschließenden Ausblick führt.

## 2 Grundlagen

Die interdisziplinäre Fragestellung dieser Arbeit erfordert Hintergrundwissen aus den verschiedenen Fachgebieten: Zunächst werden aus den Bereichen Elektrotechnik und Physik die theoretischen Grundlagen erläutert, auf denen im weiteren Verlauf die Darstellung der biologischen Grundlagen der  $\Rightarrow$ EP und deren Anwendungen aufbaut.

### 2.1 Elektrotechnische Grundlagen

In der Literatur wird als maßgebliche Größe für die EP die **elektrische Feldstärke  $E$**  genannt [Dev00] (genauer: der Betrag der elektrischen Feldstärke  $|\vec{E}|$  im statischen Fall, vgl. Kap. 1.1.4). Zwar werden bei der Anwendung Impulsfolgen mit Pulsbreiten von 100 bis 300  $\mu\text{s}$  verwendet (vgl. Kap. 1.1.6), entsprechend treten hohe Frequenzanteile im Bereich der Flanken auf. Trotzdem ist der Literaturstandard – auch in aktuellen Publikationen [Yar14; Mik14; Jia15] – die statisch berechnete Feldstärke. Um eine unmittelbare Vergleichbarkeit mit den Literaturwerten zu gewährleisten, wird in dieser Arbeit genauso verfahren. Die üblichen Einheiten in Publikationen dieses Themas sind  $\frac{\text{V}}{\text{cm}}$  bzw. bei größeren Feldstärken  $\frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ .

Zunächst wird auf die Berechnung dieser Größen sowie auf das Verhalten elektrischer Felder in Materie eingegangen, d. h. die Abhängigkeit des E-Feldes von Materialparametern (Permittivität  $\epsilon$ ) thematisiert und mit Beispielen aus der Anwendung veranschaulicht.

Um die erforderlichen Feldstärken zu erzielen, müssen für den medizinischen Bereich vergleichsweise hohe Spannungen erzeugt und geschaltet werden, was den abschließenden Themenschwerpunkt dieses Abschnittes darstellt.

#### 2.1.1 Zusammenhang zwischen elektrischer Feldstärke und Spannung

Die Herleitung und Berechnung des Betrages der elektrischen Feldstärke  $|\vec{E}|$  gehört zum Gebiet der Elektrostatik und hängt insbesondere von der Elektrodengeometrie und den elektrischen Parametern im Areal der Felderzeugung ab. Die Erläuterungen dieses Kapitels orientieren sich an den Lehrbüchern FLIESSBACH (Kap. 5 – 8, 30) [Fli04], GIANCOLI (Kap. 21 – 23, 24.6) [Gia06] und JACKSON (Kap. 1 – 4) [Jac06], KÜCHLER (Kap. 2.1, 2.3 – 2.5, 6.2) [Küc09], LEHNER (Kap. 1.2 – 1.8, 2.6, 2.8) [Leh10], TIPLER (Kap. 21 – 23, 24.6) [Tip06], SCHWAB (Kap. 4) [Sch02]. Nur Textpassagen, die sich auf ein bestimmtes Lehrwerk beziehen, sind mit expliziten Literaturangaben gekennzeichnet.

## Elektrisches Feld

Die elektrische Kraft ist (analog zur Gravitationskraft  $F = m \cdot g$ ) eine Fernwirkungskraft. Um die Fernwirkung mathematisch zu beschreiben, wird das Konzept des elektrischen Feldes eingeführt: Um jede Ladung bildet sich ein elektrisches Feld aus, über das Kräfte auf andere Ladungen ausgeübt werden (vgl. Coulomb-Gesetz Anhang A). Das elektrische Feld wird durch die **elektrische Feldstärke**  $\vec{E}$  beschrieben. Sie ist definiert als die auf eine positive Probeladung<sup>1</sup>  $q$  wirkende Kraft  $\vec{F}$ , normiert auf die Probeladung  $q$  selbst (vgl. Abb. 2.1):

$$\vec{E} = \frac{\vec{F}}{q}. \quad (2.1)$$

Aus dem Coulombgesetz ergibt sich für das elektrische Feld einer Punktladung  $q_1$  am Ort  $\vec{r}_1$

$$\vec{E}(\vec{r}) = \frac{q_1}{4\pi\epsilon_0} \frac{\vec{r} - \vec{r}_1}{|\vec{r} - \vec{r}_1|^3} \quad (2.2)$$

Für eine positive Punktladung ist der elektrische Feldvektor  $\vec{E}$  radial nach außen gerichtet, für eine negative radial nach innen.

Für Felder verschiedener Ladungen gilt erneut das Superpositionsprinzip:  $\vec{E} = \sum_i \vec{E}_i$ . In der Realität hat man aber selten einzelne Ladungen, sondern eine kontinuierliche Ladungsverteilung, so dass aus der Summe der Einzelladungen ein Integral über die Raumladungsdichte  $\rho(\vec{r})$  wird:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int \rho(\vec{r}') \frac{\vec{r} - \vec{r}'}{|\vec{r} - \vec{r}'|^3} d\vec{r}' \quad (2.3)$$

Das elektrische Feld wird grafisch mit Hilfe **elektrischer Feldlinien** dargestellt. Die Feldlinien verlaufen an jedem Ort tangential zu den Feldvektoren und zeigen in Richtung der Kraft, die auf eine positive Probeladung wirkt (vgl. Abb. 2.1.1). Da die Krafrichtung in jedem Punkt eindeutig ist, schneiden sich die Feldlinien nicht. Die Dichte der Feldlinien repräsentiert die Feldstärke am jeweiligen Ort. Dieser Sachverhalt ist wichtig für die Interpretation der in dieser Arbeit enthaltenen Grafiken zur simulierten elektrischen Feldstärkeverteilung.

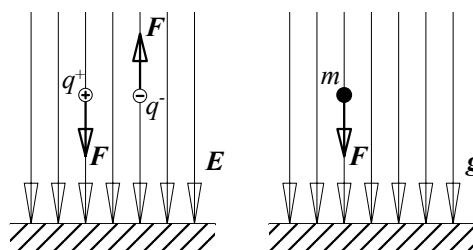


Abbildung 2.1: Kräfte auf Probekörper im E-Feld (links) und Gravitationsfeld (rechts) [Küc09]

<sup>1</sup> Eine Probeladung ist eine Ladung, die so klein ist, dass sie die Ladungsverteilungen und deren Felder nicht signifikant verändert [Gia06, S. 740].

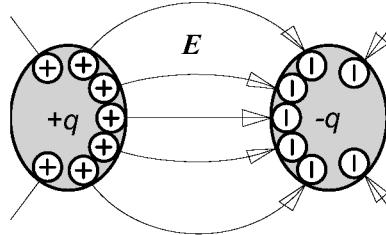


Abbildung 2.2: Elektrisches Feld mit Feldlinien [Kuc09]

### Potential und Spannung

Da an Elektroporatoren die Spannung eingestellt wird, die Feldstärke aber die relevante Größe für den Erfolg der EP ist, wird der Zusammenhang dieser beiden Größen betrachtet: Das elektrostatische Feld ist ein konservatives Kraftfeld, d. h. die **elektrische Arbeit**  $W$ , die geleistet werden muss, um eine Ladung  $q$  im elektrischen Feld zu bewegen, ist erstens vom Weg unabhängig und zweitens entlang eines geschlossenen Weges gleich Null:

$$W = - \oint \vec{F} \cdot d\vec{s} = -q \oint \vec{E} \cdot d\vec{s} = 0 \quad (2.4)$$

Damit sind die Voraussetzungen zur Definition eines skalaren Potentials erfüllt.

Das **elektrische Potential**  $\Phi$  wird als potentielle Energie pro Ladungseinheit definiert:

$$\Phi(\vec{r}) = \Phi_0 - \int_{\vec{r}_0}^{\vec{r}} \vec{E}(\vec{r}') \cdot d\vec{s} \quad (2.5)$$

Die Wahl des Anfangspunktes ist willkürlich, wird aber in der Regel zu  $\vec{r}_0 = \infty$  definiert, so dass  $\Phi_0 = \Phi(\vec{r} = \vec{r}_0) = 0$  ist. Mit Gleichung (2.3) lässt sich das elektrische Potential in Abhängigkeit der Ladungsdichte  $\rho(\vec{r})$  ausdrücken:

$$\Phi(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' \quad (2.6)$$

Potential und elektrische Feldstärke enthalten dieselben physikalischen Informationen. Das elektrische Potential wird in der Elektrostatisik jedoch oft als mathematische Hilfsfunktion zur Berechnung von Randwertproblemen verwendet, da  $\Phi$  im Gegensatz zu  $\vec{E}$  ein skalares Feld darstellt und so anstelle von drei Funktionen nur eine Funktion betrachtet werden muss. Daraus ergibt sich, dass die elektrische Feldstärke auch als negativer Gradient von  $\Phi(x,y,z)$  ausgedrückt werden kann:

$$\vec{E} = -\vec{\nabla} \cdot \Phi \quad (2.7)$$

Der Wert des Potentials hat keine physikalische Bedeutung, messbar ist nur die Potentialdifferenz: Die sogenannte **Spannung  $U$**  zwischen zwei Orten  $\vec{r}_2$  und  $\vec{r}_1$  ist definiert als:

$$U_{21} = \Phi_2 - \Phi_1 = \int_{\vec{r}_2}^{\vec{r}_1} \vec{E}(\vec{r}) \cdot d\vec{s} \quad (2.8)$$

### 2.1.2 Das elektrische Feld zwischen zwei Plattenelektroden

Sowohl bei der EP von Zellen (in-vitro-Versuchsreihen wie z. B. [Rub08] oder die in Kapitel 3 gezeigten Suspensionsversuche) als auch bei der Anwendung der ECT bei Hauttumoren (wie z. B. [Lar07], vgl. Kap. 1.1.8) kann die Anwendung mit einem idealisierten Plattenkondensator näherungsweise modelliert werden.

Wie in Abbildung 2.3 dargestellt, verlaufen die elektrischen Feldlinien zwischen den Platten des Plattenkondensators stets parallel zueinander (Randbereiche werden zunächst nicht betrachtet<sup>2</sup>). Es liegt ein homogenes elektrisches Feld vor. Somit kann der Lösungsansatz auf den eindimensionalen Fall reduziert werden (X-Komponente). Es folgt aus der Laplace-Gleichung A.10 gemäß der Herleitung in Anhang A:

$$\Delta\phi = \frac{\partial^2\phi}{\partial^2x} = 0 \quad (2.9)$$

Mit der Annahme  $\phi(x = 0) = 0$  und  $\phi(x = d) = U$  lautet die Lösung der Laplace-Gleichung in kartesischer Form:

$$\phi(x) = -\frac{U}{d} \cdot x + U \quad (2.10)$$

Nach Einsetzen der Gleichung 2.10 in Gleichung 2.7 folgt:

$$E(x) = \frac{\partial\phi}{\partial x} e_x = \frac{U}{d} = \text{const.} \quad (2.11)$$

Das elektrische Feld zwischen den Platten<sup>2</sup> ist unabhängig von der x-Koordinate und somit wie oben angenommen homogen.

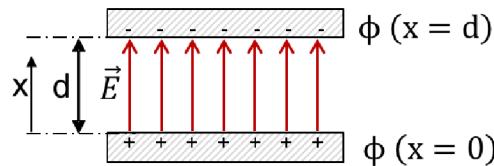


Abbildung 2.3: *Elektrisches Feld zwischen zwei planaren Kondensatorplatten<sup>2</sup> (Feldlinien: rot)*

<sup>2</sup> Randbereiche werden in diesem Beispiel – analog zu den zitierten Literaturbeispielen – nicht betrachtet. Später in der Anwendung wird jedoch darauf eingegangen (vgl. Kap. 3.3.1).

### 2.1.3 Das elektrische Feld zwischen zwei Nadelelektroden

Bei der  $\Rightarrow$ IRE kommen meist Nadelelektroden zum Einsatz, daher wird die Herleitung der elektrischen Feldstärke zwischen zwei kreisförmigen Ladungsträgern, die die Nadelelektroden<sup>3</sup> in der Ebene des horizontalen Querschnitts abbilden (vgl. Abb. 2.4), betrachtet.

Diese Anordnung hat – im Vergleich zur Feldausbreitung zwischen zwei Plattenlektroden – zusätzlich zu der X- eine Y-Komponente. Die Potentiale liegen auch hier auf den Elektroden. Die elektrische Feldstärke für die dargestellte Schnittansicht lässt sich mit der Laplace-Gleichung wie folgt beschreiben:

$$\Delta\phi(x,y) = \frac{\partial^2\phi}{\partial^2x} + \frac{\partial^2\phi}{\partial^2y} = 0 \quad (2.12)$$

Um die Berechnung der Lösung auf eine Dimension zu beschränken, können die kartesischen x- und y-Komponenten zum Betrag  $r$  in Polarkoordinaten zusammengefasst werden:

$$r = \sqrt{x^2 + y^2} \quad (2.13)$$

Es wird zunächst nur eine Elektrode betrachtet: Da es sich um eine radial-symmetrische Anordnung handelt, wird der Winkel der Polarkoordinaten nicht betrachtet. Es ergibt sich eine reduzierte Darstellung der Laplace-Gleichung:

$$\Delta\phi(r) = 0 \quad (2.14)$$

Als Lösungsansatz für das gegebene Problem kann durch das Superpositionsprinzip ( $N$  ist die Anzahl der Elektroden, hier also  $N = 2$ ) folgende Gleichung aufgestellt werden [Cor07]:

$$\phi(r) = \sum_{n=1}^N C_n \ln \frac{a}{r - r_n} \quad (2.15)$$

Nach Einsetzen der Potentiale der beiden Elektroden und Umformungen ergibt sich:

$$C_1 = C_2 = \frac{U}{\ln \frac{d}{a}} \quad (2.16)$$

Hierbei ist analog zu Kapitel 2.1.2  $U$  die Spannung zwischen den Elektroden,  $d$  der Abstand zwischen den Elektroden und  $a$  der Radius beider Elektroden. Mithilfe der Gleichung 2.7 ergibt sich schließlich für das elektrische Feld folgende Gleichung:

$$E(r) = \frac{U}{\ln \frac{d}{a}} \left[ \frac{1}{r - r_1} - \frac{1}{r - r_2} \right] \quad (2.17)$$

<sup>3</sup> Auch in diesem Beispiel werden Randbereiche der Nadelelektroden, also die Randbereiche auf der Z-Achse, nicht betrachtet: Das Beispiel soll das Prinzip der Feldausbreitung zwischen zwei Nadeln verdeutlichen und nicht durch z. B. angespitzte Enden unnötig verkompliziert werden. Die Nadelelektroden sind also als unendlich ausgedehnte Linienelektroden modelliert.

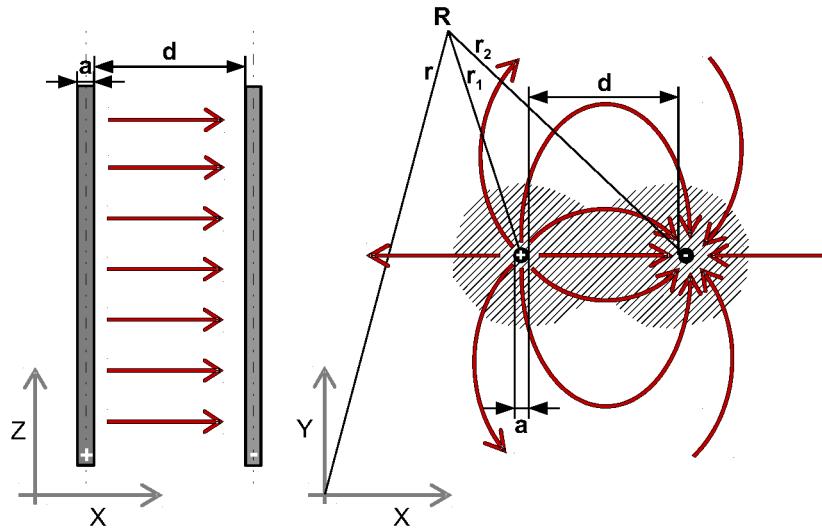


Abbildung 2.4: *Elektrisches Feld zwischen zwei Nadelelektroden (Feldlinien: rot).* Typischerweise wird für den Elektrodenabstand der eingezeichnete Minimalabstand  $d$  angegeben.

Links: Seitliche Ansicht in der X/Z-Ebene. Die grauen Balken stellen die Nadeln<sup>3</sup> dar. Das Feld gleicht in dieser Ebene dem Feld des Plattenkondensators. Rechts: X/Y-Schnittebene. Schraffiert hinterlegt ist der Bereich hoher elektrischer Feldstärken (qualitativ, „Erdnussform“,  $E \gtrsim 0,5 E_{max}$ ). Als Beispielpunkt für eine Berechnung ist der Punkt R markiert.

Die Feldstärke ist immer am höchsten im Nahbereich der Elektroden. Relevant ist die Feldgeometrie zwischen den Nadelelektroden („Erdnussform“, vgl. Abb. 2.4), das als Zielgebiet definiert wird: Dort befindet sich der Tumor. Der Abstand zwischen den Elektroden spielt eine wichtige Rolle für die Feldverteilung im Zielgebiet: Wird der Abstand größer, verschmälert sich der Bereich von höheren Feldstärken immer mehr. Wird der Abstand klein gewählt, ist der Bereich breiter, es passen aber nur kleinere Tumoren dazwischen. Um erfolgreich zu elektroporieren, muss neben der Eingangsspannung auch der Elektrodenabstand beachtet werden, damit im Zielgebiet (Tumorgewebe) ausreichend hohe Feldstärken anliegen. Dies ist ein gutes Beispiel für die interdisziplinäre Zusammenarbeit: Die Feldverteilung an eine vorgegebene Geometrie anzupassen ist eine typische Aufgabe aus der Elektrotechnik, den Bereich des tumorösen Gewebes zu bestimmen, und damit die Geometrie vorzugeben, eine typische aus der Medizin.

#### 2.1.4 Elektrische Felder in Materie

Für die Anwendung der EP ist die elektrische Feldstärke in Gewebe, Zellen oder Zellsuspensionen, d.h. in Materie, relevant. Jede Materie ist aus Atomen aufgebaut, die aus positiv geladenen Atomkernen und negativ geladenen Elektronen bestehen. Je nach Beweglichkeit der Ladungsträger wird zwischen Leitern und Isolatoren (Dielektrika) unterschieden:

## Leiter im elektrischen Feld

In einem Leiter (wie den Elektroden) sind Elektronen frei beweglich. Daher weisen Leiter in elektrostatischen Feldern bestimmte Eigenschaften auf:

- Das Innere eines Leiters ist feldfrei ( $\vec{E} = 0$ ): Ein äußeres elektrisches Feld verschiebt die Elektronen im Leiter so, dass zwischen den Elektronen und den ortsfesten positiven Atomrumpfen ein gleich starkes, aber entgegengesetzt gerichtetes Feld entsteht, welches das äußere Feld im Innern des Leiters aufhebt (Abschirmung durch Influenz<sup>4</sup>).
- Leiteroberflächen sind Äquipotentialflächen: Da das Leiterinnere feldfrei ist, ist das elektrische Potential in einem Leiter überall gleich ( $\vec{E} = -\vec{\nabla}\Phi = 0 \Rightarrow \Phi = \text{const.}$ ).
- Elektrische Feldlinien stehen immer senkrecht auf der Leiteroberfläche, sonst wäre die Oberfläche keine Äquipotentialfläche ( $E_t = 0$ , vgl. Kapitel 2.1.5).
- Auf der Oberfläche von Leitern bilden sich Flächenladungen aus, so dass das äußere Feld nicht ins Leiterinnere gelangen kann ( $E_n = \frac{\sigma}{\epsilon}$ , vgl. Kapitel 2.1.5).

## Dielektrika im elektrischen Feld

Die  $\Rightarrow$ Lipiddoppelschicht einer Zellmembran ist funktionsbedingt ein Isolator mit einer Durchschlagsfestigkeit von  $50 - 160 \frac{\text{kV}}{\text{mm}}$ <sup>5</sup> [Ayr94] bzw.  $500 - 1600 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ , so dass einzelne Zellen sowie daraus aufgebautes Gewebe<sup>6</sup> zu den *Dielektrika* zählen. In der zitierten Literatur wird Gewebe in Simulationen stets als homogenes Dielektrikum behandelt (z. B. [Lar07; Pav08b; Deo11; Cor13; Mik14]) und aus Gründen der Vergleichbarkeit werden in dieser Arbeit die gleichen Annahmen getroffen.

Dielektrika sind Stoffe, die elektrischen Strom nur schwach oder gar nicht leiten, da die Elektronen an die Atomkerne gebunden sind. Wird von außen ein elektrisches Feld angelegt, kommt es zur Polarisation des Mediums: Innerhalb der Atome werden die positiven gegen die negativen Ladungsträger verschoben, so dass **induzierte Dipole** entstehen (Verschiebungspolarisation), wodurch das elektrische Feld abgeschwächt wird. Dieser Zusammenhang wird durch die Einführung der **dielektrischen Verschiebung**  $\vec{D}$  (auch *elektrische Flussdichte* oder *elektrische Erregung* genannt) beschrieben. Für homogene lineare isotrope Dielektrika gilt [Leh10]:

$$\vec{D} = \epsilon_0 \epsilon_r \vec{E} = \epsilon \vec{E} \quad (2.18)$$

Die **relative Permittivität**  $\epsilon_r$  ist eine materialspezifische Eigenschaft und beschreibt die Leitfähigkeit einer Materials für elektrische Felder. Zur Berechnung elektrischer Felder in Medien muss in allen Gleichungen, die nur  $\epsilon_0$  enthalten, die Dielektrizitätskonstante des Vakuums durch  $\epsilon = \epsilon_0 \epsilon_r$  ersetzt werden.

<sup>4</sup> Influenz, auch *Elektrostatische Induktion* genannt, beschreibt die Ladungstrennung in einem Leiter (Verschiebung der beweglichen Elektronen auf der Leiteroberfläche) unter dem Einfluss eines äußeren elektrischen Feldes. Durch Influenz erzeugte Kräfte wirken immer anziehend.

<sup>5</sup> Übliche Einheit für die Durchschlagsfestigkeit von Isolatoren, daher zum besseren Vergleich mit angegeben.

<sup>6</sup> Jedes Gewebe enthält grundsätzlich auch frei bewegliche Ionen, welche auch zu einer Leitfähigkeit führen. Dies ist Grundvoraussetzung für die EP, worauf in Kap. 3 noch eingegangen wird.

### 2.1.5 Elektrische Felder an Grenzflächen

Um die elektrische Feldverteilung der Elektrodenkonfiguration zu berechnen, ist es wichtig, neben dem Verhalten elektrischer Felder in Medien auch das Verhalten elektrischer Felder an Grenzflächen (wie dem Übergang zwischen Elektrode und Gewebe bzw. Leber- und Tumorgewebe) zu kennen. Die hier vorgestellten Stetigkeitsbedingungen gelten nur für Grenzflächen zwischen homogenen Medien. Für die Brechungen werden die Maxwell-Gleichungen (vgl. Anhang A) vorausgesetzt, aber zum grundlegenden Sachverständnis nicht benötigt.

#### Stetigkeit der Tangentialkomponente von $\vec{E}$

Wird mit Gleichung (A.7) das Linienintegral von  $\vec{E}$  längs eines Rechtecks ausgewertet, dessen Längsseiten (Länge  $\ell$ ) jeweils auf einer Seite der Grenzflächen liegen und dessen Schmalseiten (Länge  $\Delta x$ ) vernachlässigbar klein sind ( $\hat{n}$  bezeichnet den Einheitsnormalenvektor der Grenzfläche), so ergibt sich:

$$\oint_{\partial A} \vec{E} \cdot d\vec{s} = 0 \xrightarrow{\Delta x \rightarrow 0} \ell \hat{n} \times (\vec{E}_2 - \vec{E}_1) = 0 \quad (2.19)$$

$$\Rightarrow \mathbf{E}_{1t} = \mathbf{E}_{2t} \quad (2.20)$$

An Grenzflächen ist die **Tangentialkomponente des elektrischen Feldes  $E_t$  stetig** (vgl. Abb. 2.5: Länge von  $E_t$  gleich). Für Metalloberflächen gilt  $\vec{E}_1 = 0 \Rightarrow E_{2t} = 0$ : Elektrische Feldlinien stehen daher senkrecht auf Leiteroberflächen (vgl. Kap. 2.1.2).

#### Stetigkeit der Normalkomponente von $\vec{D}$

Wird in Gleichung (A.8) das Oberflächenintegral von  $\vec{D}$  für ein Volumenelement ausgewertet, das aus zwei Flächenelementen (Fläche  $A$ ) parallel zur Grenzfläche mit vernachlässigbar kleinem Abstand  $\Delta x$  gebildet, so ergibt sich:

$$\oint_{\partial V} \vec{D} \cdot d\vec{A} = Q_{\text{ein}} \xrightarrow{\Delta x \rightarrow 0} A \hat{n} \cdot (\vec{D}_2 - \vec{D}_1) = A\sigma \quad (2.21)$$

$$\Rightarrow D_{2n} - D_{1n} = \sigma \quad (2.22)$$

Die Normalkomponente der dielektrischen Verschiebung  $\vec{D}_n$  macht einen Sprung beim Durchgang durch eine Fläche  $A$  mit Flächenladungsdichte  $\sigma \neq 0$  ( $\Rightarrow D_{1n} \neq D_{2n}$ ). Liegt keine Oberflächenladung vor ( $\sigma = 0$ ), ist die Normalkomponente von  $\vec{D}$  stetig ( $\Rightarrow D_{1n} = D_{2n}$ ).

Daraus folgt, dass an Grenzflächen von zwei Dielektrika ( $\sigma = 0$ ) auch die **Normalkomponente des elektrischen Feldes  $E_n$  einen Sprung** aufweist (vgl. Abb. 2.5: Länge von  $E_n$  ungleich). Aus den Gleichungen (2.18) und 2.22 ergibt sich:

$$\epsilon_1 E_{1n} = \epsilon_2 E_{2n} \quad (2.23)$$

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt: An Metalloberflächen ( $\sigma \neq 0$ ) gilt:  $\vec{E}_1 = 0 \Rightarrow E_{2n} = \frac{\sigma}{\epsilon_2}$ .

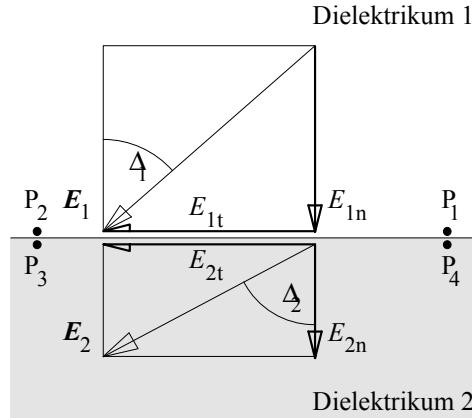


Abbildung 2.5: Vektoren der elektrischen Feldstärke an einer Grenzfläche zwischen zwei Dielektrika mit unterschiedlicher Permittivität [Küc09]

## 2.1.6 Das E-Feld an der Grenzfläche von gesundem und tumorösem Gewebe

Die Relevanz der Kapitel 2.1.4 und 2.1.5 wird an einem prototypischen Fall erläutert: Welchen Einfluss auf die elektrische Feldverteilung – und damit auf den Erfolg der  $\Rightarrow$ EP – hat die Permittivität?

Zu diesem Zweck wird das Modell aus Kapitel 2.1.2 zwischen den beiden Plattenelektroden mit zwei verschiedene Dielektrika erweitert: Das Verhältnis der Permittivitäten von tumorösem  $\epsilon_{r2}$  und gesundem Lebergewebe  $\epsilon_{r1}$  berechnet sich zu (vgl. Kap. 7.1.2) [Lau10; ORo07]:

$$\frac{\epsilon_{r1}}{\epsilon_{r2}} = 1,2 \quad (2.24)$$

Dieser Wert wird im Folgenden als derzeit akzeptierter Literaturstand verwendet und in Kapitel 7.1.1 hergeleitet und genauer diskutiert. Die mit diesem Wert erzeugte Simulation der elektrischen Feldstärke  $|\vec{E}|$  zeigt Abbildung 2.6: An der Grenzfläche liegt eine Feldstärkendifferenz von  $\Delta E = 153 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  vor.

## 2.1.7 Hochspannungstechnik

Um die zuvor beschriebenen gepulsten elektrischen Felder erzeugen zu können, wird gepulste Hochspannung<sup>7</sup> benötigt, die ein Elektroporator erzeugt. Marktübliche Geräte für den klinischen Einsatz erzeugen und schalten Spannungen bis zu 3 kV.

### Hochspannungserzeugung: Greinacher-Kaskade

Eine gängige Schaltung zur Erzeugung hoher Gleichspannungen aus einer Eingangswechselspannung ist die sogenannte Greinacher-Kaskade, bestehend aus Kondensatoren und Dioden, die schematisch in Abbildung 2.7 dargestellt ist [Küc09]. Durch eine gegenseitige Aufladung der

<sup>7</sup> Diese Arbeit orientiert sich an den VDE-Normen, die von Hochspannung bei Spannungen über 1 kV sprechen.

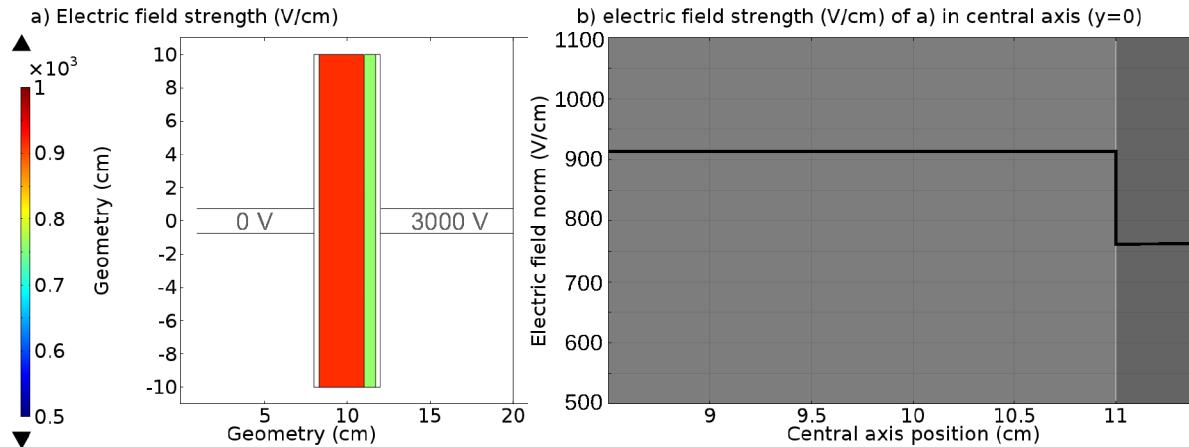


Abbildung 2.6: *Elektrostatische Simulation des elektrischen Feldes  $|\vec{E}|$  an der Grenzfläche von gesundem und tumorösem Lebergewebe. Modellierung nach [Ivo10c].*

Links: Plattenelektroden mit einer Potentialdifferenz von  $U = 3 \text{ kV}$  und zwei homogenen Medien (rot  $\epsilon_{r1}$ , grün  $\epsilon_{r2}$ ). Resultierende, simulierte Feldstärken:  $E_1 = 914 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  (rot),  $E_2 = 761 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  (grün).

Rechts: Feldstärke aufgetragen entlang der Zentralachse (linkes Bild bei  $y = 0$ ): Sprung  $\Delta E = 153 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  bei Übergang von gesundem ( $x < 11 \text{ cm}$ , rot hinterlegt) zu tumorösem ( $x > 11 \text{ cm}$ , grün hinterlegt) Lebergewebe.

Kapazitäten kann am Ausgang (4) eine Spannungserhöhung beobachtet werden. Der Transformator wird dabei von einer Wechselspannung gespeist. Die Ausgangsspannung entspricht dem Scheitelwert der sekundärseitigen Transformatorspannung, multipliziert mit der Zahl der Dioden. Die Kaskade kann theoretisch unendlich viele Stufen haben und eine extrem hohe Spannung liefern, ist jedoch in der Praxis durch die in Reihe geschalteten Kapazitäten begrenzt, die zu einem Spannungseinbruch führen.

Die in Abbildung 2.7 gezeigte zweistufige Greinacher-Kaskade kann eine anliegende Spannung vervierfachen: Liegt anfangs eine negative Spannung an  $U_e$  an, wird  $C_1$  auf die Spannung  $-U$  geladen, Knoten (1) liegt weiterhin auf 0V. Bei der Umpolung der Spannung verhindert die Diode das Entladen des Kondensators  $C_1$  und die Spannungsänderung von  $-U$  zu  $+U$  an (0) wird an (1) als erhöhtes Potenzial von  $2U$  wahrgenommen. Durch die Verbindung der Knoten (1) und (2) wird auch  $C_2$  auf die Spannung  $2U$  aufgeladen.  $C_3$  und  $C_4$  sind weiter ungeladen. Bei wiederholter Umpolung liegt an Knoten (1) wieder ein Potenzial von 0 V an,  $C_1$  ist auf  $-U$  geladen. Durch die Verbindung zwischen Knoten (2) und (3) wird  $C_3$  auf  $2U$  aufgeladen. Bei erneuter Polungsänderung auf  $+U$  an Knoten (0) und somit  $2U$  an Knoten (1) geschieht an  $C_3$  das Gleiche wie vorher an  $C_1$ , die Spannung wird erneut hochgeschoben, hier auf  $4U$  an Knoten (3).  $C_4$  wird damit ebenfalls mit  $2U$  geladen. An Knoten (4), also als Ausgangsspannung  $U_a$ , liegt somit eine Spannung von  $U_a = 4U$  an, die sich aus der Spannung über  $C_2$  und  $C_4$  zusammensetzt [Küc09].

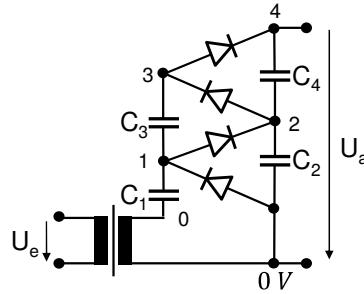


Abbildung 2.7: Aufbau einer zweistufigen Greinacher-Kaskade, bestehend aus Dioden und Kondensatoren [Kuc09]

### Hochspannungserzeugung: Impulsübertrager

Eine zweite Möglichkeit der Umwandlung eines niedrigen Spannungspulses in Spannungen bis 3 kV ist der Einsatz eines Übertragers: Der Aufbau ist, vereinfacht gesehen, eine Kombination von zwei Spulen, deren Enden eingangs- bzw. ausgangsseitig abgegriffen werden können. Die beiden Spulen sind um einen Ferritkern gewickelt und so miteinander gekoppelt. Wenn an einer Spule eine Wechselspannung anliegt und ein Strom fließt, wird im Ferritkern ein Magnetfeld aufgebaut. Dieses Magnetfeld erzeugt eine Flussänderung in der zweiten Spule, was zu einem Spannungsabfall über den Abgreifpunkten führt. Über das Windungsverhältnis der Spulen kann das Spannungsverhältnis, also die Höhe der Ausgangsspannung  $U_a$  im Verhältnis zur Eingangsspannung  $U_e$  eingestellt werden.

Der Aufbau ist vergleichbar zu einem Transformator<sup>8</sup>, Übertrager sind jedoch nicht auf eine bestimmte Frequenz optimiert (vgl. Netztrafo auf 50 Hz), sondern auf breitbandige Informationsübertragung mit möglichst hoher Signalqualität.

Bei einem idealen Übertrager wird das Spannungsverhältnis von Ausgang und Eingang durch das Windungsverhältnis eingestellt. Die Form der Ausgangsspannung ist identisch mit der Eingangsspannung, jedoch müssen einige Verluste berücksichtigt werden (Verluste im Ferritkern; ohmsche und induktive Verluste in den Spulen, die zu Schwingverhalten und zu Streuungen führen).

Abbildung 2.8 zeigt das Ersatzschaltbild eines realen Übertragers mit Kupferverlusten der Windungen, den Verlusten im Ferritkern sowie den Induktivitäten der beiden Spulen. Im rechten Teil ist der ideale Übertrager mit dem Übersetzungsverhältnis  $\ddot{u}$  dargestellt, der die Spannung transformiert [Har13].

Bei der Berechnung der o. g. Komponenten kommen folgende Gleichungen zum Einsatz [Wei13]:

$$\ddot{u} = \sqrt{\frac{L_1}{L_2}} \quad (2.25)$$

$$M = k \cdot \sqrt{L_1 \cdot L_2} \quad (2.26)$$

<sup>8</sup> Der prinzipielle Aufbau ist identisch, die Optimierungen ergeben sich aus Materialwahl, Art der Wicklung, Qualität/Genauigkeit der Fertigung etc..

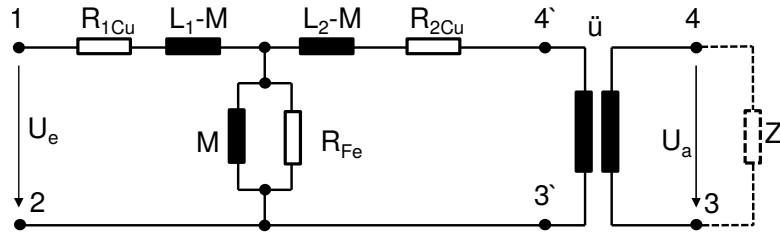


Abbildung 2.8: *Ersatzschaltbild eines Übertragers. Im linken Teil sind die durch die Spulenwicklungen und den Ferritkern entstehenden ohmschen Verluste sowie die Induktivitäten der Spulen dargestellt, rechts ist der ideale Übertrager mit dem Übersetzungsverhältnis  $\ddot{u}$  zu sehen [Har13].*

Hierbei ist  $k$  der Kopplungsfaktor der beiden Spulen; er nimmt Werte zwischen Null und Eins an. Das Induktionsverhältnis ergibt sich auch aus dem Verhältnis der Windungszahlen. Die Lastimpedanz muss für die Berechnung auf die Eingangsseite transformiert werden, da sie am Eingang als transformierte Last in Erscheinung tritt [Wei13]:

$$Z' = \ddot{u}^2 \cdot Z \quad (2.27)$$

Mit diesen Gleichungen und den material- und aufbauabhängigen Widerstandseigenschaften lassen sich die realen Eigenschaften eines Übertragers nachbilden. Ein solcher Übertrager ist auch im klinisch verwendeten Elektroporator ECM 830 verbaut (vgl. Abb. A.1).

### Hochspannungsschaltung

Die EP-basierenden Verfahren  $\Rightarrow$ IRE und  $\Rightarrow$ ECT nutzen kurze Spannungspulse im Bereich  $100\mu\text{s}$ , d. h. neben der Erzeugung der notwendigen Hochspannung ist die Schaltung dieser Spannungen zur Impulserzeugung ebenfalls relevant.

Eine einfache und für die EP übliche Variante der HV-Pulserzeugung, die schon in den ersten Veröffentlichungen zu diesem Thema verwendet wurde [Neu82], ist das Prinzip der Kondensatorentladung (vgl. Abb. 2.9): Ein Kondensator  $C$  wird durch eine Spannungsquelle  $V$  auf eine Spannung  $U_q$  aufgeladen. Wird der Schalter  $S$  umgelegt, entlädt sich der Kondensator über den Lastwiderstand  $Z$ . Der parallel geschaltete Widerstand  $R$  (mit  $R \ll |Z|$ ) bestimmt die Zeitkonstante der Entladung ( $\tau = R \cdot C$ ). Nach der Dauer des Impulses wird der Schalter zurückgelegt, der Spannungsabfall über dem Widerstand ist  $0\text{V}$ , und der Kondensator lädt sich wieder auf die Ladespannung  $U_q$  auf.

Die Kondensatorentladung erzeugt keinen perfekten Rechteckimpuls, da die Spannung des Kondensators exponentiell abfällt, wenn der Widerstand angelegt wird (vgl. Abb. 2.9).

Zur schnellen Schaltung der Last am Kondensator werden üblicherweise Power-MOSFETs eingesetzt [Man00] (vgl. Anhang A). Ein für die Anwendung ausreichend genaues und übliches Modell [Puc04] ist die Betrachtung als idealer Schalter (vgl. Abb. 2.10), der über eine Triggerschaltung (z. B. Mikrocontroller) gesteuert werden kann. Funktionsweise und Spannungsverlauf entsprechen im Übrigen dem vorherigen Beispiel.

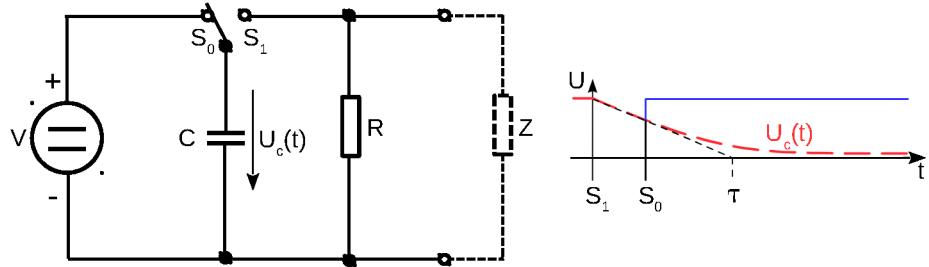


Abbildung 2.9: Links: Pulserzeugung durch Kondensatorentladung: Diese Schaltung generiert exponentiell abfallende Impulse und besteht aus Spannungsversorgung, Kondensator, Schalter und ggf. Widerstand (nach [Puc04]). Rechts: Spannungsverlauf (hellrot) der Kondensatorentladung (nach [Sch00]). Eingezeichnet wurden zusätzlich die Schaltungszeitpunkte  $S_1$  (Kondensator wird an den Ausgang geschaltet) und  $S_0$  (Schalter zurück in Ausgangslage, Kondensator wird wieder aufgeladen, blau skizziert).

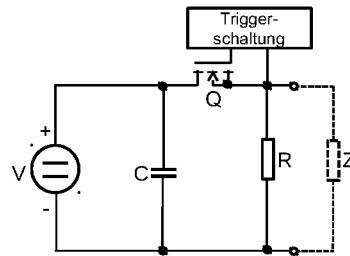


Abbildung 2.10: Hochspannungspulsgenerator: Die Spannungsquelle lädt den Kondensator. Die Triggerschaltung schaltet den Power-MOSFET, so dass der Kondensator die Last mit einer rechteckförmigen Spannung versorgt. Nach [Puc04].

Mit Power-MOSFETs können generell höhere Spannungen als mit normalen integrierten MOSFETs geschaltet werden, allerdings ist auch hier die Schaltspannung auf einige hundert Volt begrenzt. Um die erforderlichen 3 kV zu erreichen, muss die Spannung des erzeugten Impulses weiter erhöht werden. Dazu bietet sich der Einsatz des oben beschriebenen Übertragers an, der hier als idealer Transformator betrachtet wird und im Schaltungsbeispiel aus Abbildung 2.10 den Widerstand  $R$  ersetzt, wobei die Last  $Z$  entsprechend an der Ausgangsseite des Übertragers angeschlossen wird. Damit wird die Spannung an der Eingangsseite mit einem linearen Vergrößerungsfaktor an die Ausgangsseite transformiert. Ein realistisches Zahlenbeispiel wäre eine Kondensatordadespannung von  $U_C = 300$  V, die durch einen Übertrager mit dem Verhältnis 1:10 zu einer Spannung am Lastwiderstand von  $U_Z = 3$  kV transformiert wird. Eine zweite Möglichkeit, Hochspannungsimpulse zu erzeugen, ist die serielle Verschaltung von Power-MOSFETS, um die Limitierung durch die Drain-Source-Spannung zu umgehen bzw. zu erhöhen (Schaltungsbeispiel siehe Abb. 2.11). Ein kapazitiver Spannungsteiler hält am Eingang (Gate) der einzelnen MOSFETs die Eingangsspannung (Gate-Source-Spannung) konstant und verhindert damit das Überschreiten der maximalen Gate-Source-Spannung. Eine Zenerdiode schützt das Gate-Oxid vor Überspannung und minimiert beim Schalten auftretende Leckströme [Bak92].

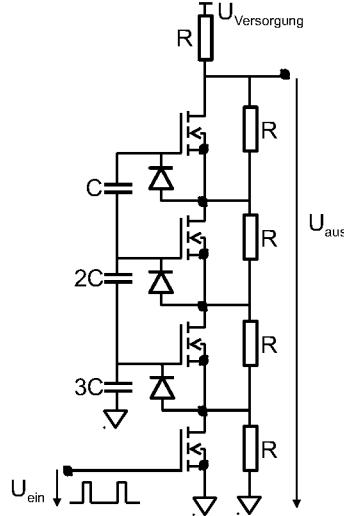


Abbildung 2.11: Beispiel für die serielle Verschaltetung von MOSFETs zur Erhöhung der maximal möglichen Spannung [Bak92].

## 2.2 Biomedizinische Grundlagen

Im zweiten Abschnitt dieses Kapitels werden die fachlichen Grundlagen aus den Bereichen Biologie und Medizin im interdisziplinären Kontext erörtert, wofür die Kenntnis insbesondere von elektrischen Feldern des vorherigen Kapitels voraussetzt werden.

### 2.2.1 Elektrische Gewebeigenschaften

Wie in Kapitel 2.1.4 gezeigt, hängt die elektrische Feldstärke von materialspezifischen Parametern ab, so dass zunächst auf die elektrischen Eigenschaften von Gewebe eingegangen wird. Die Stromdichte, die sich in einem Material bei einem induzierten elektrischen Feld einstellt, ist abhängig von den Materialeigenschaften Leitfähigkeit  $\sigma$  und Permittivität  $\epsilon$  [Sch02]:

$$J = (\sigma + j\omega\epsilon) \cdot E \quad (2.28)$$

Die Einteilung aus Kapitel 2.1.4 in Leiter ( $\sigma \gg \omega\epsilon$ ), Isolierstoffe ( $\sigma \ll \omega\epsilon$ ) und Halbleiter, deren Leitfähigkeit temperaturabhängig ist, kann nicht ohne Weiteres auf Bioorganismen übertragen werden; Bioorganismen gehören zu einer Grauzone: Eine Zellmembran ist kein reines Dielektrikum, sondern hat auch einen leitfähigen Anteil [Ivo10c]. Bei einem Zellverbund bzw. Gewebe sind sowohl  $\sigma$  als auch  $\epsilon$  stark frequenzabhängig, so dass das Material je nach Frequenz als Leiter oder Isolator eingestuft wird [Sch02]. Die Leitfähigkeit ergibt sich aus dem elektrischen Widerstand des intrazellulären ( $R_i$ ) und extrazellulären Mediums ( $R_e$ ). Wie in Abbildung 2.12a zu sehen, werden bei niedrigen Frequenzen die Zellen vom Strom umflossen, bei hohen Frequenzen fließt der Strom durch sie hindurch. Daraus resultiert, dass der Gesamtwiderstand für Frequenzen bis 10 kHz als  $R_e$  angenommen werden kann, für Frequenzen ab 1 MHz die Parallelschaltung aus  $R_e$  und  $R_i$  gilt (vgl. Abb. 2.12b). Diese Größenordnung der

Frequenz gilt für die meisten tierischen Gewebearten [Ivo10c]. Da  $R_e \gg R_i$  ist, wird Gewebe für kleine Frequenzen als Dielektrikum angesehen, für große Frequenzen als Leiter.

### Ersatzschaltbild

Aus dieser Überlegung geht das Ersatzschaltbild für lebendes Gewebe in Abbildung 2.13a hervor: Das zuvor beschriebene Modell wird um den Kurzschlusswiderstand der Ionenkanäle  $R_m$  sowie um den variablen Widerstand  $R_{EP}$  erweitert, der die variable Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit durch EP verursachte Phänomene abbildet. Weiterhin beinhaltet der Strompfad durch die Zellen eine durch die Zellmembran verursachte Kapazität  $C_m$ , die experimentell ermittelt wurde und mit  $0,01 \text{ F/m}^2$  angegeben wird [Ivo10c].

Der Verlauf der Impedanz über die Frequenz mit und ohne EP ist in Abbildung 2.13b zu sehen: Für hohe Frequenzen hat die EP kaum Einfluss auf die Impedanz, bei niedrigen Frequenzen verringert die EP sie deutlich.

## 2.2.2 Elektroporation

Die Elektroporation ( $\Rightarrow$ EP) ist ein biologischer Effekt, der sich durch Bildung von Poren in einer Zellmembran auszeichnet, wenn ein ausreichend starkes elektrisches Feld extern an die Zelle angelegt wird (schematische Darstellung vgl. Abb. 2.14). Als Folge ist die Durchlässigkeit der Zellmembran für Ionen und Makromoleküle stark erhöht [Ivo10b].

Man unterscheidet zwischen *reversibler EP* und *irreversibler EP*: Bei der reversiblen EP schließen sich die Poren wieder, sobald kein Feld mehr anliegt. Durch eine zu große Feldstärke und Pulsdauer wird die Zelle irreversibel geschädigt, so dass sie nicht mehr lebensfähig ist und durch  $\Rightarrow$ Apoptose abstirbt (irreversible EP). Dies ist – im Vergleich zum  $\Rightarrow$ Zelltod durch  $\Rightarrow$ Nekrose – einer der wesentlichen Vorteile der EP (vgl. Kap. 1.1.5).

Die Membran wird hier idealisiert als eine Phospholipid-Doppelschicht ( $\Rightarrow$ Lipiddoppelschicht) aufgefasst: Phospholipide sind polar aufgebaute Moleküle, die einen hydrophilen Kopf und einem hydrophoben Schwanz besitzen. Die vom elektrischen Feld erzeugten Membrandefekte, auch Nanoporen genannt, haben eine Größenordnung von  $20 - 120 \text{ nm}$  [Haa01], einzelne Anwendungen berichten von bis zu  $178 \text{ nm}$  [Cor98a] und  $186 \text{ nm}$  [Cor98b]. Die Untergrenze einer solchen Pore liegt bei  $6,2 \text{ nm}$ , wozu alleine osmotischer Druck ausreicht [Bau98].

Das *dynamische Phänomen EP* basiert auf der lokalen transmembranären Spannung an jedem Punkt der Lipiddoppelschicht, deren  $\Rightarrow$ Ruhepotential bei  $U_R \approx -70 \text{ mV}$  liegt. Die Dicke dieser Doppelschicht hat die Größenordnung  $4-10 \text{ nm}$  [Kar05]. Die typische Biomembrandicke wird mit  $d = 7 \text{ nm}$  angegeben [Sau99]. Dieser Wert wird auch von den meisten Reviews zum Thema EP [Rub10] verwenden und daher im Folgenden zugrunde gelegt. Daraus resultiert eine transmembranäre elektrische Feldstärke der Größenordnung

$$E_R = \left| \frac{U}{d} \right| = \frac{0,07 \text{ V}}{7 \cdot 10^{-9} \text{ m}} \approx 10^7 \frac{\text{V}}{\text{m}} = 100 \frac{\text{kV}}{\text{cm}} \quad (2.29)$$

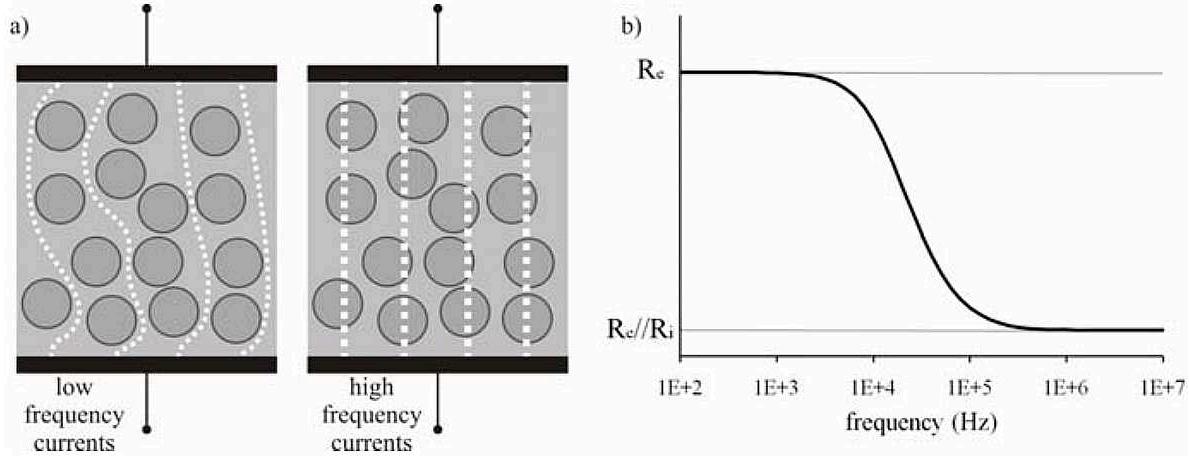


Abbildung 2.12: *Modell des elektrischen Widerstandes einer Zellsuspension / von Gewebe.*  
 a) *Grafisch anschauliche Darstellung des Stromflusses durch das Modell bei niedrigen und hohen Frequenzen.*  
 b) *Resultierender Verlauf des Widerstandes in Abhängigkeit der logarithmisch aufgetragenen Frequenz: Für niedrige Frequenzen hat nur der extrazelluläre Widerstand  $R_e$  einen Einfluss, für hohe Frequenzen die Parallelschaltung aus  $R_e$  mit dem intrazellulären Widerstand  $R_i$  [Ivo10c].*

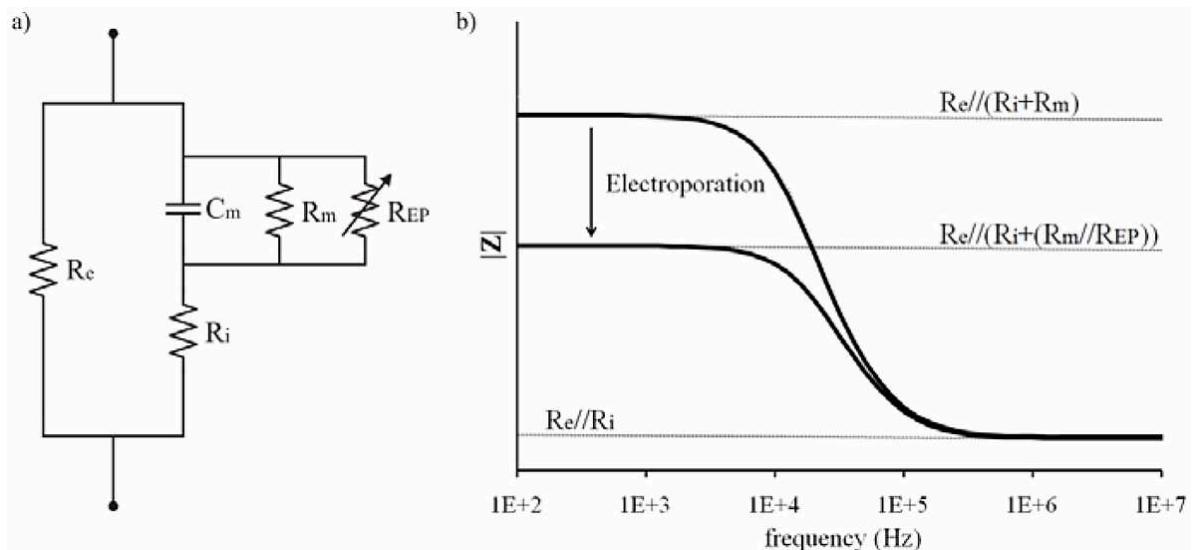


Abbildung 2.13: a) *Ersatzschaltbild für Gewebe.* b) *Daraus resultierender Verlauf der Impedanz über der logarithmisch aufgetragenen Frequenz; mit und ohne EP [Ivo10c].*

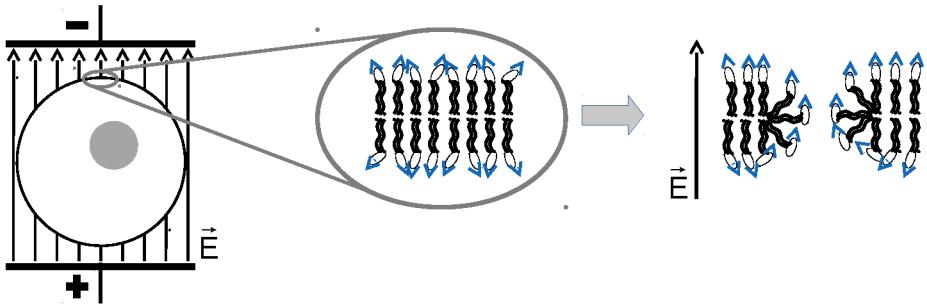


Abbildung 2.14: Schema der EP einer einzelnen Zelle. Links: Zelle in  $E$ -Feld. Mitte: Vergrößerter Ausschnitt der  $\Rightarrow$  Lipiddoppelschicht. Schwarz: hydrophober Anteil; weiße Ellipse: hydrophiler Kopf. Die blauen Pfeilspitzen symbolisieren die Polarität der einzelnen Lipide bei Modellierung als Dipol. Rechts: Gleicher Ausschnitt, aber nach Anlegen eines  $E$ -Feldes (weitere Auswirkungen zeigt Abb. 2.15).

Die hier errechnete Feldstärke entspricht dem in der Literatur als Ruhefeldstärke angegebenen Wert [Pak10]. Wird ein externes elektrisches Feld – erzeugt durch einen Spannungspuls – an einer Zelle, einer Zellsuspension oder einem Zellverbund (Gewebe) angelegt, superponiert dies eine zusätzliche transmembranäre Spannung. Ist die resultierende Feldstärke hoch genug, führt dies zum Effekt der EP [Ivo10b]. Der Effekt ist abhängig von der Pulsform (üblicherweise Rechteckimpulsfolge) und -dauer (vgl. Kap. 2.2.4), es gilt aber als allgemein anerkannt, dass die Grenzwerte der transmembranären Spannung für das Auftreten von EP ab  $0,2 \mu\text{s}$  für reversible EP [Wea00; Ivo10a; Ben10] bis  $1,0 \text{ V}$  für irreversible EP [Wea00; Ben10; Gol10; Hal14] liegen. Setzt man in Gleichung 2.29 eine Spannung dieser Größenordnung ein, erhält man eine Feldstärke, die in der Größenordnung der in Kapitel 2.1.4 angegebenen Durchschlagsfestigkeit liegt ( $E_R \approx 1500 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  mit  $U = 1 \text{ V}$ ).

Das zu Grunde liegende biophysikalische Phänomen ist dabei noch nicht vollständig geklärt. In der aktuellen Literatur [Pak10; Sun14a; Kee11; Yar14] wird der Effekt der EP dadurch erklärt, dass die vom externen elektrischen Feld erzeugte Kraft sowohl auf die polaren (Kopfgruppen) als auch die apolaren (Fettsäureketten) Anteile der Membrankomponenten wirkt: Das elektrische Feld an der Zellmembran entsteht durch die Ionen nahe der inneren und äußeren Oberfläche der dielektrischen Membran und wirkt ebenfalls auf die von der Membran adsorbierten Moleküle. Die in Folge des externen elektrischen Feldes auf die Membranbestandteile wirkenden Kräfte führen zu einer Reorganisation der Lipide, vgl. Abbildung 2.14. Diese Polenstruktur steigert den transmembranen Transport von Ionen in den Zellinnenraum deutlich stärker, als es Ionenkanäle können [Hal14], zudem ermöglicht es das Eindringen von extern eingebrachten Substanzen. Analog steigt der Transport von intrazellulären Komponenten aus der Zelle heraus [Pak10].

Je nach Dauer, Höhe und Anzahl der Spannungspulse (bzw. resultierender Feldstärke) variiert der Einfluss auf die Zelle. In Abbildung 2.15 sind typische Veränderungen der (a) Zellmembran bei Anlegen eines elektrischen Feldes dargestellt: Es kommt zunächst zu einer (b) lokalen

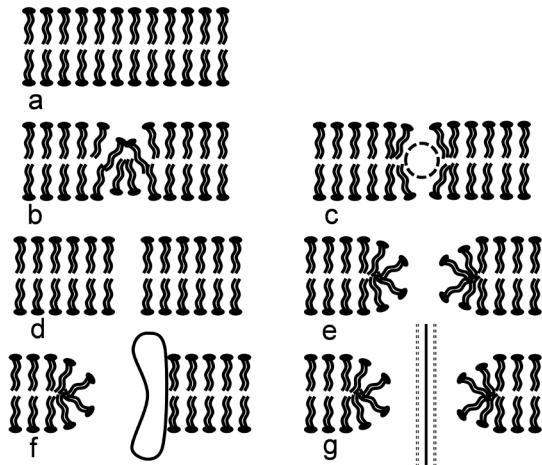


Abbildung 2.15: Änderungen der Zellmembran bei reversibler EP: a) Normalzustand, b) lokale Membrankompression und Verdünnung, c) freie Fluktuation erlaubt Eindringen eines ungeladenen Moleküls in die Membran, d) hydrophobe Pore, gilt als Vorstufe zu e), der hydrophile Pore, der typischen Pore für Elektroporation, f) Pore involviert ein Membranprotein, g) „Fuß-in-der-Tür“-Interaktion; ein langes, geladenes Molekül tritt durch eine hydrophile Pore [Wea00].

Membrankompression und damit zu einer Verdünnung der Phospholipid-Doppelschicht. (c) Es können auch kleinere, ungeladene Moleküle in die Membran eindringen. (d) Hydrophobe Porenbildung ist eine weitere Folge. Diese Poren schließen sich entweder nach kurzer Zeit (Größenordnung einige *Sekunden* [Jia15]) oder entwickeln sich (e) zu einer längerlebigen hydrophilen Pore (Größenordnung *Stunde* [Jia15]), welche als typisch für die Elektroporation gilt. Durch diese Poren können Pharmazeutika oder andere geladene Moleküle in die Zelle geschleust werden. Variationen von Poren in der Membran können ein Membranprotein beinhalten (f). (g) stellt den Zeitpunkt dar, in dem ein langes, geladenes Molekül in die hydrophile Pore eindringt und aufgrund seiner Länge die Membran daran hindert, sich wieder zu schließen. Die Pore bleibt so lange geöffnet bis sich das Molekül vollständig in der Zelle befindet, oder wieder ausgetreten ist (auch „Fuß-in-der-Tür“-Interaktion genannt) [Wea00]. Die genannten Zeitfenster sind in Abbildung 2.16 genauer dargestellt: Die Membrandefekte (Poren) der reversiblen EP bestehen in der Größenordnung von Sekunden, die komplette Wiederherstellung kann bis zur einer Stunde andauern. Bei der irreversiblen EP verschließen sich die Poren nicht nach Abschalten des Feldes, sondern bilden in den nächsten Sekunden die notwendigen Defekte aus, die zum ⇒Zelltod führen. Das Zellsterben kann sich über mehrere Stunden erstrecken. Beide Varianten der EP sind mit Spannungspulsen im Bereich von Millisekunden erzielbar [Jia15].

Die Wirkweise und damit die Anwendung hängt – bei fest definierter Geometrie des Problems und homogener Feldstärkeverteilung wie in Abbildung 2.14 symbolisiert – im Wesentlichen von dem Betrag der elektrischen Feldstärke  $|\vec{E}|$  und der Impulsdauer  $t$  ab. Die Grenzwerte werden oft als nominell feste Schwellwerte angegeben [Mik00a; Dev00], obwohl sie nach eigenen Erkenntnissen (vgl. Kap. 3) von Problemstellung und Material (hier: Zelltyp / Gewebe) abhängig

sind. Die in Abbildung 2.17 klassifizierten Bereiche basieren daher qualitativ auf [Dev00] und zeigen, welche Größenordnungen für die elektrische Feldstärke und die Impulsbreite benötigt werden, um reversible bzw. irreversible EP zu erreichen. Bei Feldstärken von mehreren  $\frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und einer Impulsbreite im Bereich  $t = 20 \text{ ms}$  und mehr tritt eine nicht mehr vernachlässigbare Hitzeentwicklung auf, so dass ab dieser Größenordnung nicht mehr der Effekt der EP, sondern die durch einen Stromfluss verursachte Hitzeentwicklung (Joulesche Erwärmung) für den Tod der Zellen verantwortlich ist (vgl. Radiofrequenzablation in Kap. 1.1.2) [Dav10].

Typische Einstellungen und Einheiten der EP liegen bei  $E = 1 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und  $t = 100 \mu\text{s}$  für das Einbringen von Pharmazeutika in Zellen,  $E = 50 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  und  $t = 20 \text{ ms}$  verwendet man zum Einbringen von großen Molekülen und Genen in Zellen [Dev00]. Bei diesen Größenordnungen wurde die Wärmeentwicklung geprüft und als unkritisch angesehen (vgl. Abb. 2.18).

Vor diesem Hintergrund können nun auch die Zahlenwerte aus Beispiel drei (Kap. 2.1.6) interpretiert werden: Die angegebene Differenz der elektrischen Feldstärke von  $\Delta E = 153 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  kann für den Erfolg der EP entscheidend sein. Bei simulierten Feldverteilungen mit gesundem und tumorösem Gewebe, also mit verschiedenen Dielektrika, sollte daher die direkte Umgebung der Grenzflächen genauere Beachtung finden.

### 2.2.3 Impulsfolgen der Elektroporation

Die im Anwendungsgebiet der EP eingesetzten Signale sind Impulsfolgen mehrerer Rechteckimpulse. Übliche Pulsbreiten sind  $t_1 = 100 \mu\text{s} = 100 \cdot 10^{-6} \text{ s}$ , die Impulsfolgefrequenz variiert in der Größenordnung  $f_1 = 1 \text{ Hz}$  bis  $f_2 = 100 \text{ Mhz}$  (vgl. Abb. 2.19).

Im Vergleich zur Dauer der steigenden und fallenden Flanken, die ein Wechselfeld bewirken, ist die Zeit ohne bzw. mit vollständig ausgeprägtem Feld sehr lang, so dass die vergleichsweise kurze Zeit des nichtstationären Feldes vernachlässigt werden kann. Dadurch können für diese Anwendungsfälle die im Anhang beschriebenen vereinfachten Maxwellschen Gleichungen für statische Anwendungen verwendet werden. Dies ist in der Literatur zu EP-basierten Anwendungen üblich (vgl. z.B. [Dev00; Lar07; Deo11; Pav13; Jia15]), so dass auch hier aus Gründen der Vergleichbarkeit auf die Berechnung zeitvarianter Felder nicht weiter eingegangen wird.

### 2.2.4 Anwendungsgebiete der Elektroporation

Der biologische Effekt *Elektroporation* kann wie gezeigt für viele verschiedene Methoden benutzt werden, angefangen vom gezielten Einbringen definierter Substanzen bis zur beabsichtigten Zerstörung von Zellen (ausführlicher Überblick siehe [Mir14]). Dazu ist es sinnvoll, die Elektrodengeometrien auf die Problemstellung so anzupassen, dass die Spannungsimpulse ein elektrisches Feld über den Zellen im Zielgebiet aufspannen. Die notwendige Anzahl der Spannungsimpulse hängt von der Anwendung ab und reicht von einem einzelnen Impuls bis hin zu längeren Impulsfolgen, die ggf. auch wiederholt werden können. Es werden Spannungen im Bereich von wenigen Volt bis hin zu mehreren Kilovolt genutzt [Dev00].

Die erste wissenschaftliche Erkenntnis zu dem Effekt der EP schreibt man J.A. Nollet und

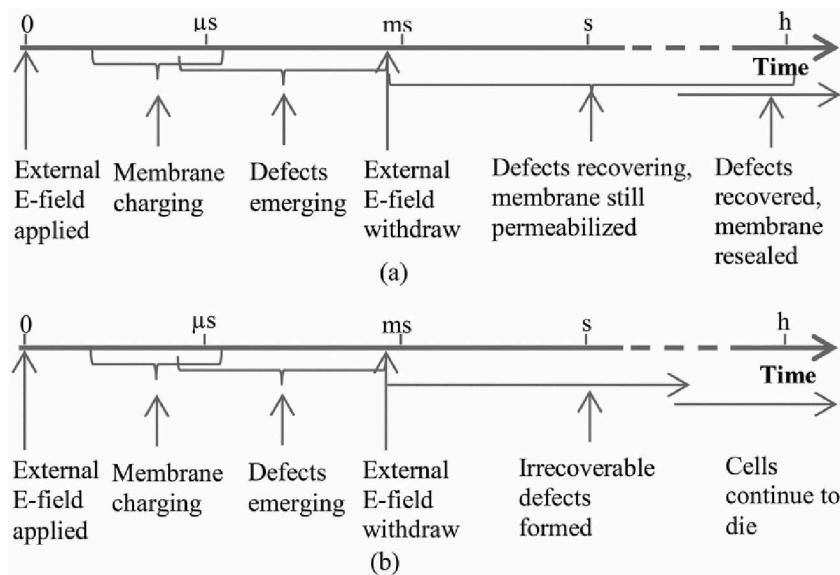


Abbildung 2.16: Zeitfenster für a) reversible und b) irreversibel EP [Jia15]

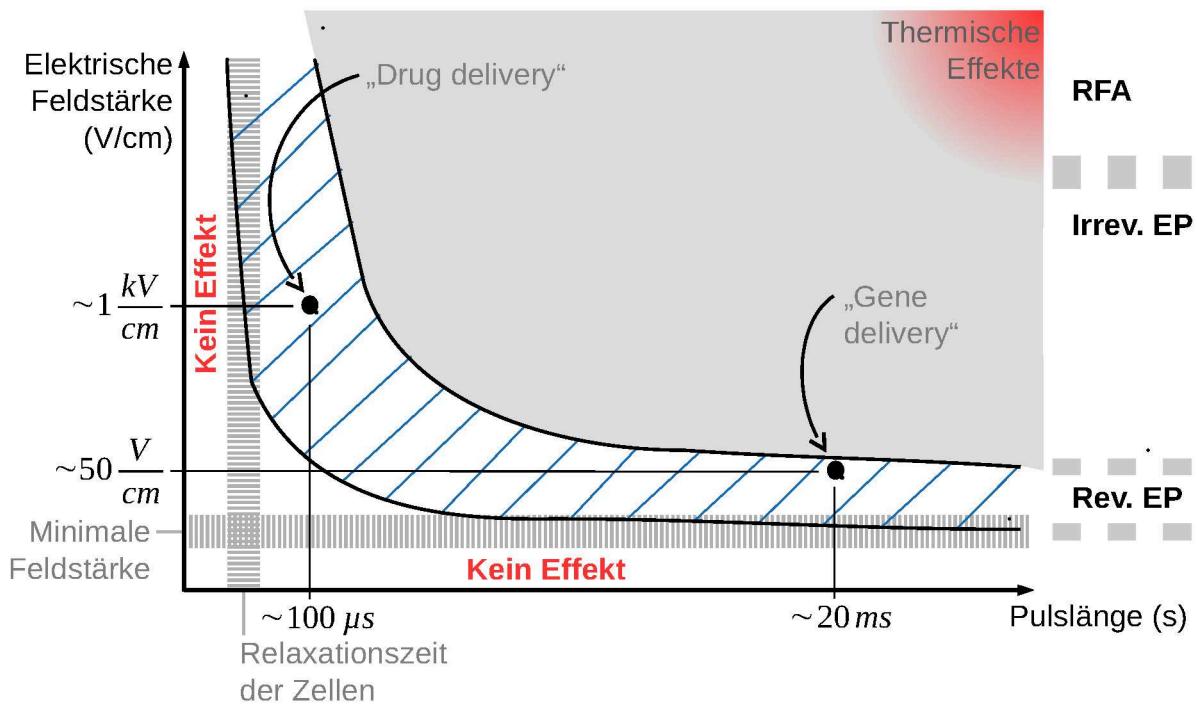


Abbildung 2.17: Einfluss der elektrischen Feldstärke und Impulsbreite auf Wirkweise und Anwendung der EP. Die Grafik basiert qualitativ auf [Dev00] und wurde um Übergangsbereiche statt fester Grenzwerte erweitert.

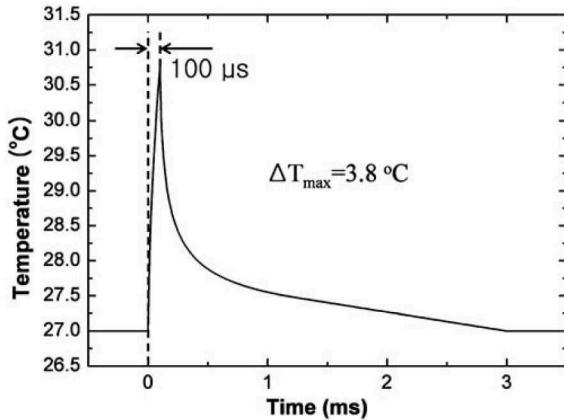


Abbildung 2.18: *Gemessene Temperaturerhöhung bei typischem EP-Puls ( $t = 100 \mu\text{s}$ ) [Cho09]*

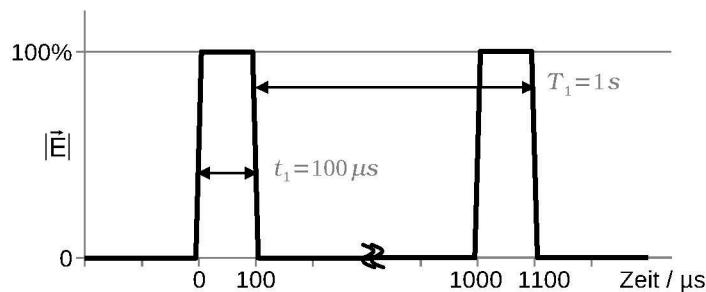


Abbildung 2.19: *Beispiel für typische Pulsfolge bei der Elektroporation*

seinem 1749 veröffentlichten Buch „*Recherches sur les causes particulières des phénomènes électriques*.“ [Nol49] zu. In der aktuellen Literatur wird aber der 1982 publizierte Gentransfer in Bindegewebszellen von Mäusen (*LTK<sup>-</sup>*-Zellen) meist als erste erfolgreiche, produktive Anwendung der EP genannt. [Ivo10b] Neumann et al. nutzten dabei eine Kondensatorentladungsschaltung, wie in Abbildung 2.9 gezeigt [Neu82].

Abbildung 2.20 zeigt einige übliche Beispiele der Anwendungen: Dazu gehören das Einsetzen von Proteinen in die Zellmembran (a) oder das Einbringen von kleinen (b) und großen (c) Molekülen in die Zelle selber. Möglich ist auch eine Fusionierung von zwei oder mehr Zellen zu einem Zellcluster. Je nach Spannung und Pulsdauer ist auch eine Zerstörung der Zellmembran möglich, was zum Zelltod führt [Puc04].

### **Elektroporation in der Biologie und in der Lebensmittelindustrie**

In der Genübertragung ist es eine gebräuchliche Methode, modifizierte Gene an Viren zu heften, welche dann in die Zellen gelangen und den DNA- oder RNA-Strang abgeben. Diese Methode hat aber einige Nachteile, z. B. vermindert die Immunabwehr des Körpers, dass identische Viren ein zweites Mal in die Zellen gelangen. Somit ist eine wiederholte Genübertragung mit dem gleichen Virustyp nicht mehr möglich. Auch sind nicht alle Arten von DNA für die Anhaftung an Viren geeignet. Ebenso ist die Anzahl der DNA-Stränge, die eingebracht werden können, limitiert. Eine Abhilfe schafft hier die EP, mit deren Hilfe DNA-Stränge ohne

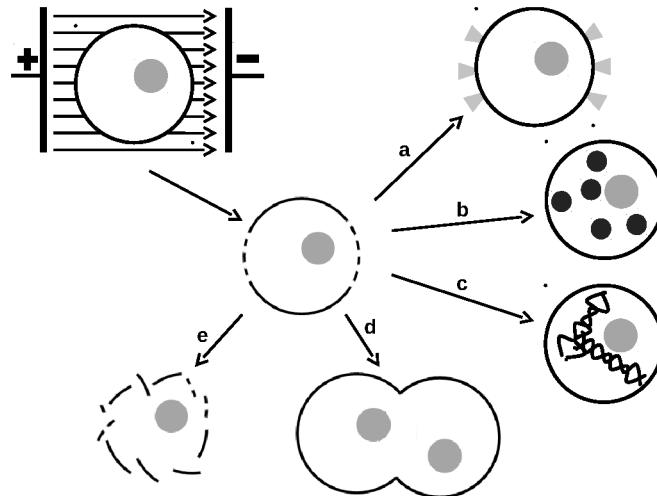


Abbildung 2.20: *Anwendungsgebiete der EP. Nachdem die Zelle dem elektrischen Feld ausgesetzt war, ist ihre Zellmembran porös. Das wird ausgenutzt um a) Proteine in die Zellmembran einzusetzen, b) kleine oder c) große Moleküle in die Zelle zu bringen, d) Zellen zu fusionieren oder e) die Zelle irreversibel zu schädigen. a) bis d) bezeichnet man als reversible EP. Basierend auf [Puc04].*

den Gebrauch von Viren in die Zellen eingebracht werden können. Auch die anderen Nachteile werden so umgangen. Erfolgreiche Anwendungen finden bisher *ex vivo* statt, die modifizierten Zellen werden anschließend wieder in den lebenden Organismus zurückgegeben. Auch *in vivo* wurde die Genübertragung und Gentherapie bereits erfolgreich getestet [Dev00; Li14b].

Auch zur Vermessung von roten Blutkörperchen, den Erythrozyten, kann EP verwendet werden: Durch Anlegen eines elektrischen Feldes wie in Abbildung 2.14 an einen einzelnen Erythrozyt verändert dieser seine Form. Vermisst man diese Formveränderung, erhält man eine Aussage über dessen Zustand und das Fließverhalten des Vollblutes [Bau01; Bau02].

In der Lebensmittelindustrie sind Einsatzbereiche der EP ebenfalls bereits etabliert: Mit höheren Feldern von  $10\text{-}20 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  werden Mikroorganismen abgetötet. Mit dem zusätzlichen Einsatz von Permanganaten oder Peroxiden kann die Haltbarkeit von Lebensmitteln verlängert werden [Haa99]. Zudem wird EP in der Weinkelterei angewandt, um den Gärprozess durch Öffnen der Zellen zu beschleunigen [Sac10]. Die Sterilisation von Trinkwasser und anderen Flüssigkeiten durch diese Methode wird derzeit erforscht [Liu13].

### **Elektroporation in der Medizin**

Neben den hier relevanten Anwendungsmöglichkeiten in der Tumorthерапie (vgl. Kap. 1.1.3) gibt es weitere Beispiele für den Einsatz von EP in der Medizin, deren Status größtenteils noch präklinisch bzw. prototypisch ist:

Bei der *Elektroinsertion* wird ein Wirkstoff in die Zellmembran eingesetzt. Je nach eingesetzten Wirkstoffen können gesunde Zellen so gegen „Killer-Zellen“ geschützt werden. Konkrete Forschungen zielen auf die Therapie von AIDS ab [Dev00].

Die sogenannte *Elektroenkapsulation* bezeichnet das Einbringen von nichttoxischen Molekülen

in die Zelle selber. Diese Therapie wird insbesondere im vaskulären und kardiologischen Bereich angewendet: Hier können Substanzen in die Zelle gebracht werden, die es z. B. Erythrozyten ermöglichen, mehr Sauerstoff zu transportieren, oder aber der Transport eines Therapeutikums zur Operationsstelle nach einer Herzoperation wird unterstützt, um eine erneute Stenose zu verhindern [Dev00].

Die intraokulare Therapie wird bei Menschen mit einem Glaukom eingesetzt (*Grüner Star*). Hierbei leidet der Patient unter einem stark erhöhten Augeninnendruck, der auf Dauer zur Erblindung führen kann. EP wird zusammen mit einem die Zellvermehrung hemmenden Stoff angewendet, um den Augeninnendruck zu senken. Auch hier wurden mit dieser Technik bereits Fortschritte erzielt [Dev00].

Die Behandlung von Leukämie ist ein weiterer Forschungsschwerpunkt [Ram14].

In der vaskulären Therapie wird EP ebenfalls mit einem antiproliferativen (zellwachstums-hemmenden) Wirkstoff eingesetzt. Dazu wird ein Katheter an die zu behandelnde Stelle vorgeschnitten und mit einem Ballon verschlossen, anschließend wird das Medikament freigesetzt und die elektrischen Impulse werden abgegeben. Diese Form der Behandlung ist sehr erfolgversprechend bei Arteriosklerose und Thrombosen, aber auch nach Operationen zur Prävention einer Restenose [Dev00].

Eine weitere Anwendung ist das transdermale (durch die Haut) Einbringen von Arzneistoffen und Genen in Zellen. Dazu muss die äußerste Schicht der Haut (*stratum corneum*) überwunden werden. Das Ziel ist die Injektion eines Medikaments durch EP, ohne bzw. mit möglichst geringer Irritation der Haut. Für diese Anwendung wird mit sehr hohen elektrischen Feldern ( $20 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und höher) gearbeitet. Unmittelbar nach der EP können Arzneistoffe und Gene nachweisbar leichter durch die Haut ins Gewebe diffundieren [Dev00].

### 2.2.5 EKG-Synchronisation

Wird  $\Rightarrow$ IRE oder  $\Rightarrow$ ECT nicht an der Haut, sondern im Körperinneren angewendet, ist für die patientensichere Abgabe der Pulse die Kenntnis der momentanen Herzaktivität unerlässlich. Das Herz ist ein Muskel, der getriggert durch eine elektrische Erregung eine synchronisierte Kontraktionsfolge aufweist. Über das herzeigene elektrische Leitungssystem aus spezialisierten Herzmuskelzellen läuft die Erregung zu den übrigen Herzmuskelzellen. Diese elektrischen Spannungsänderungen am Herzen kann man an der Körperoberfläche messen, der zeitliche Verlauf dieser Spannungsmessung wird Elektrokardiogramm (EKG) genannt. Es lässt Rückschlüsse auf die aktuelle Herzaktivität zu. Ein prototypischer Verlauf ist in Abbildung 2.21 dargestellt, die wichtigsten Abschnitte (P-Welle, QRS-Komplex, T-Welle) sind entsprechend gekennzeichnet. Für die Grundlagen (Aktionspotential, Refraktärzeit, Herz- / Kreislaufphysiologie, Entstehung und Ableitung des EKGs) sei auf die medizinische Fachliteratur verwiesen [Sil03].

Externe elektrische Signale können die Abfolge der Kontraktionen im Herzmuskel stören, insbesondere eine Störung in der sogenannten *vulnerable Phase* (vgl. Abb. 2.21) ist lebensgefährlich: Hier sind Teile des Herzmuskelgewebes (*Myokard*) noch unempfindlich bzw. nicht beeinflussbar (*refraktär*), während andere bereits wieder erregbar sind. Kommt es in dieser

Phase zu einer externen Erregung, kann dies durch ein Kreisen dieser Erregung im Myokard zu Kammerflimmern und damit zum kompletten Pumpversagen des Herzens führen. Sind jedoch alle Herzmuskelzellen noch absolut refraktär, was vor der vulnerable Phase der Fall ist, so kann ein externes Signal das Herz nicht stören. Am EKG kann die vulnerable Phase mit Beginn der T-Welle erkannt werden [Sil03].

Bei der Anwendung der EP an inneren Organen (⇒interstitiell oder ⇒intraabdominal) ist daher die Synchronisation der Spannungspulse, die bei marktüblichen Elektroporatoren bis zu 3 kV betragen, mit der Herzaktivität zwingend erforderlich. Studien von Thomson [Tho11], Mali [Mal08] und Deodhar [Deo11] belegen die Notwendigkeit.

Für die Sicherheit der Patienten sollten die Spannungspulse der EP nur dann abgegeben werden, wenn alle Herzmuskelzellen noch absolut refraktär sind. Mali et al. sehen diesen Zeitpunkt zwischen Beginn der R-Zacke und Beginn der T-Welle [Mal08], Deodhar et al. sehen als den spätesten Zeitpunkt die Mitte der abfallenden T-Welle an [Deo11]. Nach Rücksprache mit Kardiologen der Uniklinik RWTH Aachen wird der gesamte QRS-Komplex bis Beginn der T-Welle als sicher angenommen, die T-Welle selbst wird, genau wie von Mali et al., als kritisch angesehen, was sich auch mit der zuvor angegebenen physiologischen Literatur deckt. Zusammengefasst zeigt Abbildung 2.21 die in dieser Arbeit als für die Pulsabgabe sicher angenommenen Phase im Verlauf des EKGs.

Abnormitäten des Herzrhythmus können am RR-Intervall detektiert werden: Bei starken Schwankungen sowie Abweichungen von durchschnittlichen Werten sollte die Behandlung abgebrochen werden (z. B. schaltet das NanoKnife bei einer Herzfrequenz von über 120 bpm sofort autonom ab) [Mal05].

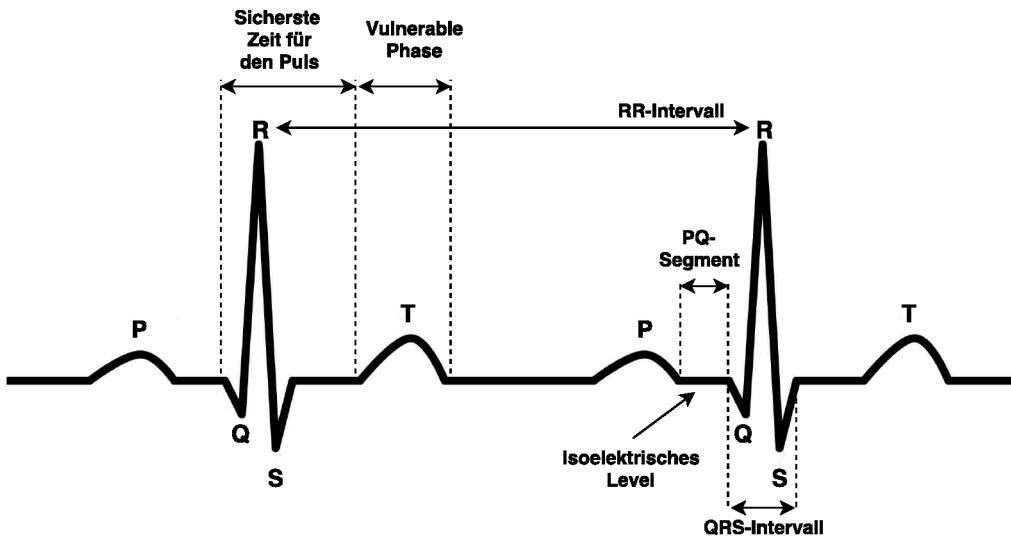


Abbildung 2.21: *Prototypisches EKG zweier Herzschläge mit grundlegenden Abschnittsbezeichnungen (P-Welle, QRS-Komplex, T-Welle). Markiert sind die für IRE-Spannungspulse als sicher geltenden Intervalle. Basierend auf [Mal08; Bar09].*

## 3 Elektroporation auf Zellebene

Zellversuche sind im Bereich der Elektroporation bereits etabliert und erscheinen auf den ersten Blick als ausreichend beforscht. Wie in den Grundlagen dargelegt, sind Fragestellungen bzgl. der tumortherapeutischen Anwendung der EP offen, deren Betrachtung zunächst auch auf Zellebene möglich ist. Versuche in der Zellkultur sind im Vergleich zu Tierversuchen deutlich einfacher zu realisieren, u. a. da hier keine ethischen Aspekte zu berücksichtigen sind und deutlich geringere Kosten anfallen. Die Versuchsreihen wurden in Kooperation mit und in den Laboren der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Uniklinik RWTH Aachen durchgeführt.

In diesem Kapitel werden die offenen Fragestellungen erörtert, daraus hervorgehend das Profil der Anforderungen an die Versuchsaufbauten beschrieben, sowie fertige Setups und durchgeführte Versuchsreihen gezeigt. Abschließend werden die Ergebnisse unmittelbar zusammengefasst und diskutiert.

### 3.1 Motivation und Zielsetzung

In den Kapiteln 1.1.4 und 2.2.2 wurden bereits Grenzwerte für die reversible und irreversible EP als ein Schwerpunkt für den Forschungsbedarf angesprochen: Gelten diese Grenzwerte für jede Art von Gewebe bzw. jede Art von Tumorgewebe (vgl. Abb. 2.17)? Ist das elektrische Verhalten z. B. einer Fettleber identisch zu gesundem Lebergewebe? Selbst für ein einziges Organ betrachtet, gibt es nicht *das eine* Tumorgewebe, sondern verschiedene Tumorarten, die sich u. a. in der zellulären Zusammensetzung, dem Bindegewebsanteil oder der Vaskularisierung, unterscheiden. Die sog. Zelllinien kann man einzeln erwerben und kultivieren, so dass man mit jeder Zelllinie getrennt identische Versuchsreihen durchführen kann.

Ziel dieses Teilprojekts ist es, herauszufinden, ob alle Zelllinien die identischen Grenzwerte für eine erfolgreiche IRE aufweisen oder ob relevante Unterschiede erkennbar sind. Eine derartige Vergleichsstudie für mehr als eine Tumorzelllinie, bei der nur ein einziger Parameter reproduzierbar geändert wird, wurde bislang nicht durchgeführt bzw. publiziert.

### 3.2 Materialien und Methoden

Zellversuche mit dem Hintergrund der tumortherapeutischen Anwendung der EP sind in drei verschiedenen Varianten durchgeführt worden: Zellsuspensionen, In-vitro-Gele und Zellmonolayer. Deren Vor- und Nachteile sind in Tabelle 3.1 aufgeführt und werden in den jeweiligen

Unterkapiteln näher erläutert. In der Literatur sind überwiegend Versuche an Zellsuspensionen beschrieben [Mil05; Pav05; Mov11; Iwa14; Jia15], In-vitro-Gele und Versuchsreihen an Monolayern sind in der aufgeführten Literatur nicht enthalten.

Als Material für die Elektroden hat sich 1.4571 Edelstahl<sup>1</sup> bewährt und wurde in allen hier beschriebenen Versuchsreihen verwendet: Dieser Typ weist erhöhte Beständigkeit für Chloride bzw. gegen Korrosion und Lochfraß auf, hohe Temperaturstabilität (im Autoklaven sterilisierbar), ist für den Lebensmittelkontakt vorgesehen und wird daher auch nach Datenblatt hauptsächlich in der medizinischen und pharmazeutischen Industrie verwendet [Deu15b].

Im Rahmen der Vorversuche wurde auch mit Elektroden aus Aluminium experimentiert, aber diese hatten sich bei den Versuchen optisch verfärbt, d. h. die Aluminiumoxid-Oberfläche wurde von den Chlorid-Ionen der Versuchslösungen angegriffen. Damit kann ein Einfluss auf die Versuche nicht ausgeschlossen werden, so dass auch bei Zellversuchen für die Elektroden 1.4571 Edelstahl bevorzugt wurde.

Isolierende Schichten und andere funktionale Bauteile wurden entweder aus PVC oder RGD720 (Kunstharz 3D Druck) gefertigt.

Als Elektroporator wurde das ECM 830 electroporation system (BTX Instrument Division, Harvard Apparatus, Inc., Holliston, USA) beschafft und eingesetzt.

Zum Testen der jeweiligen Setups wurden Fibroblasten (Zelllinienbezeichnung: *L929*) verwendet, da diese Zellen das günstigste Standardmaterial der Zellkultur darstellen. Für die eigentlichen Versuchsreihen wurden drei verschiedene Pankreas<sup>2</sup>-Tumorzelllinien miteinander verglichen: BxPc3, MiaPaCa2 und Panc1. Leider konnten im Rahmen der hier beschriebenen Versuchsreihen nicht wie ursprünglich geplant humane Pankreaszellen – d. h. nicht tumoröse („gesunde“) Vergleichszellen – bereitgestellt werden.

Als Zellmedium<sup>3</sup> wurde eine 330 millimolare Glukoselösung verwendet, die in eigenen Vorversuchen die besten Resultate lieferte (vgl. Anhang C) und auch von anderen Arbeitsgruppen bei vergleichbaren Versuchsreihen verwendet wird [Gar07; Iwa14; Jia15].

Um die Zellviabilität, d. h. die Überlebensrate der Zellen, zu bestimmen, wurde mit zwei in der Zellbiologie üblichen Färbemethoden gearbeitet, die auch in Publikationen zum Thema EP oft genannt werden [Gar07; Iwa14; Jia15]: Bei der *Trypanblau-Färbung* dringt der Farbstoff in die defekte Zellmembran ein und färbt tote Zellen, so dass diese unter dem Durchlichtmikroskop als blau erscheinen, lebende Zellen bleiben weiß-grau. Die zweite Methode ist eine *Fluoreszenzfärbung* mit Fluoresceindiacetat und Ethidiumbromid. Das Fluorescein wird von der intakten Membran lebender Zellen zurückgehalten und erscheint bei UV-Anregung grün. Ethidiumbromid dringt durch die defekte Zellmembran toter Zellen ein, diese erscheinen bei UV-Anregung rot. Zellen lassen sich durch diese leuchtende rot/grün-Ansicht

---

<sup>1</sup> Für experimentelle Aufbauten aus Metall, die in Tierversuchen eingesetzt werden, wird grundsätzlich dieser Edelstahl in der wissenschaftlichen Werkstatt des Helmholtz-Instituts der RWWTH Aachen verwendet.

<sup>2</sup> Die Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie hat ein bevorzugtes Interesse an IRE-Forschung bzgl. der Pankreas, so dass aus diesem Grunde diese Zelllinien ausgewählt wurden.

<sup>3</sup> Ein möglichst realistischer Versuchsaufbau sollte eine Osmolalität (d. h. eine Konzentration osmotisch aktiver Teilchen in einer Lösung, bezogen auf die Masse des Lösungsmittels) haben, die der des menschlichen Körpers entspricht. Diese beinhaltet Werte zwischen 260 und 320 mosm/kg H<sub>2</sub>O [Puc01].

Tabelle 3.1: Varianten der durchgeführten EP Zellversuche

	Struktur	Vorteile	Nachteile
<b>Zell-suspension</b>	Flüssigkeit (i.d.R. Nährmedium), in der sich Zellen frei bewegen.	Einfache Umsetzung. Übliches Verfahren in fachbezogener Literatur.	Ortsbezogene Aussagen nicht möglich.
<b>In-vitro-Gel</b>	Auch 3D-Zellcluster genannt: Zellen verteilen sich in Gel, das dann aushärtet.	Ortsbezogene Aussagen in drei Dimensionen möglich.	Komplizierte und langwierige Vorbereitung, problembehaftete Versuchsdurchführung.
<b>Mono-layer</b>	Einschichtige Zellen in einer Petrischale.	Ortsbezogene Aussagen in zwei Dimensionen möglich. Einfache Vorbereitung, da in der Zellkultur übliches Verfahren.	Monolayer befindet sich an Grenzfläche zw. Elektrode und Feldausbreitung, d. h. homogenes Feld über dem Monolayer nur mit kompliziertem Aufbau möglich.

sehr schnell auszählen, die Durchführung ist jedoch deutlich aufwändiger und zeitintensiver als die Trypanblau-Färbung. Außerdem wird ein UV-Fluoreszenzmikroskop benötigt. Da die Trypanblau-Färbung für die Zellen schonender ist (nur ein Farbstoff, Zeit von Färbung bis Anfertigung der Fotos deutlich kürzer) und die Auszählung für im Versuch eingewiesene Personen nur unwesentlich länger dauerte, wurde diese in den umfangreicheren Versuchsreihen bevorzugt (verwendet wurde ein *DM IL LED F1* von Leica Microsystems, Deutschland).

Zur Auszählung der Zellen wurden unter dem Durchlichtmikroskop sofort nach der Färbung Fotos angefertigt. Monolayer wurden direkt im Kulturgefäß (Petrischale) abfotografiert, Zellsuspensionen vorher in eine Neubauerkammer (übliche Zählkammer für manuelle Auszählung in der Zellbiologie) gegeben. Die Auszählungen erfolgten später am PC, wobei jeweils bis zu vier Personen unabhängig die Auszählung übernahmen, die Fotos jeweils unsortiert erhielten und keine Kenntnis über die Versuchsdaten der Fotos besaßen (Einfachblindstudie).

Das *Logos Biosystems LUNA-FL Dual Fluorescence Cell Counter*, ein Gerät zur automatischen Auszählung einer Zellsuspension (laut persönlicher Mitteilung des Herstellers für diese Art der tot/lebend Auszählung geeignet), wurde erprobt, erbrachte jedoch – im Gegensatz zur manuellen Auszählung in der Neubauerkammer – keine reproduzierbaren Ergebnisse.

### 3.3 Durchführung und Ergebnisse

Im Folgenden sind alle durchgeführten Zellversuchsreihen und die dazu hergestellten Aufbauten zusammengetragen. Aufgrund der verschiedenen Versuchsreihen und unterschiedlichen Projektstadien wurde zugunsten der Übersichtlichkeit auf die sonst übliche Trennung von Durchführung und Ergebnissen verzichtet. Zunächst werden verschiedene Setups für Monolayer abgehandelt, danach vergleichende Versuchsreihen mit Zellsuspensionen für verschiedene

Zelllinien, die erfolgreich durchgeführt werden konnten. Zuletzt wird auf den Entwicklungsstand der neuartigen Tumorgele eingegangen. Die für diese Arbeit relevanten Ergebnisse werden im letzten Abschnitt zusammenfassend bewertet. Studien an Monolayern und In-vitro-Gelen befinden sich noch im Versuchsstadium, so dass die bei der Versuchsdurchführung aufgetretenen Probleme abschließend diskutiert werden.

#### 3.3.1 Monolayer

Der Begriff *Monolayer* ist eine in der Zellbiologie übliche Bezeichnung für Zellschichten in Kulturgefäßen, die aus genau einer Zellschicht bestehen: Im Gegensatz zu einem Multilayer liegen die Zellen nicht übereinander, sondern ausschließlich nebeneinander. Die verwendeten Kulturgefäße werden Petrischalen genannt und sind in der Regel durchsichtig: Die Auswirkungen der Versuchsreihe sind im Durchlichtmikroskop nur durch den Boden der Petrischale sichtbar, ein Herauslösen des Monolayers wäre nicht ohne Beeinträchtigung der Zellen möglich. Als Folge davon sind die Zellen ortsfest und eine Auswertung der Zellviabilität in Relation zur Lage der Elektrode oder Richtung des Feldes wird möglich.

#### Vorversuche und Anforderungen

Abbildung 3.1a zeigt den ersten Versuchsaufbau sowie die mit diesem Aufbau verbundenen Probleme: Über dem Monolayer liegt keine homogene Feldverteilung an, da sich der Monolayer nicht zwischen den Elektroden (modelliert als Plattenkondensator) befindet, sondern in der Randebene (vgl. schwarze Markierung in Abb. 3.1c). Da in der Mitte dieser Randebene das Feld deutlich abfällt (vgl. Abb. 3.1d), sind die dort befindlichen Zellen nur dieser geringeren Feldstärke ausgesetzt, so dass keine EP eintritt und die Zellen die Behandlung überleben. Grundsätzlich funktioniert die EP jedoch: Betrachtet man den Zellbereich nahe der Elektrode (3.1b), so kann man eine Trennlinie zwischen den toten Zellen und lebenden Zellen identifizieren: Die toten Zellen lagen zwischen den Elektroden, waren also dem Feld ausgesetzt, die lebenden Zellen lagen außerhalb des Feldeinflusses unter der Elektrode. Es war möglich, die Feldstärke so weit zu erhöhen, dass auch die Zellen in der geometrischen Mitte zwischen den Elektroden abgetötet wurden, eine fundierte Aussage über den Zusammenhang von Feldstärke und Zellviabilität ist so jedoch nicht möglich. Die Versuchsprotokolle der Versuchsreihen sind in Anhang B gelistet. Daraus ergeben sich drei zusätzliche Anforderungen:

1. Der Monolayer muss zwischen den Elektroden liegen.
2. Der Boden unter dem Monolayer muss für die Auswertung mittels Durchlichtmikroskopie transparent sein.
3. Die Gefäße, in denen die Zellen kultiviert werden, müssen sterilisierbar sein.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup> Dies war bisher nicht notwendig, da Petrischalen sterilisiert angeliefert und als Einmalartikel verwendet werden. Stellt man geeignete Schalen selbst her oder bearbeitet handelsübliche Petrischalen, müssen diese danach für folgende Zellversuche zwingend sterilisiert werden.

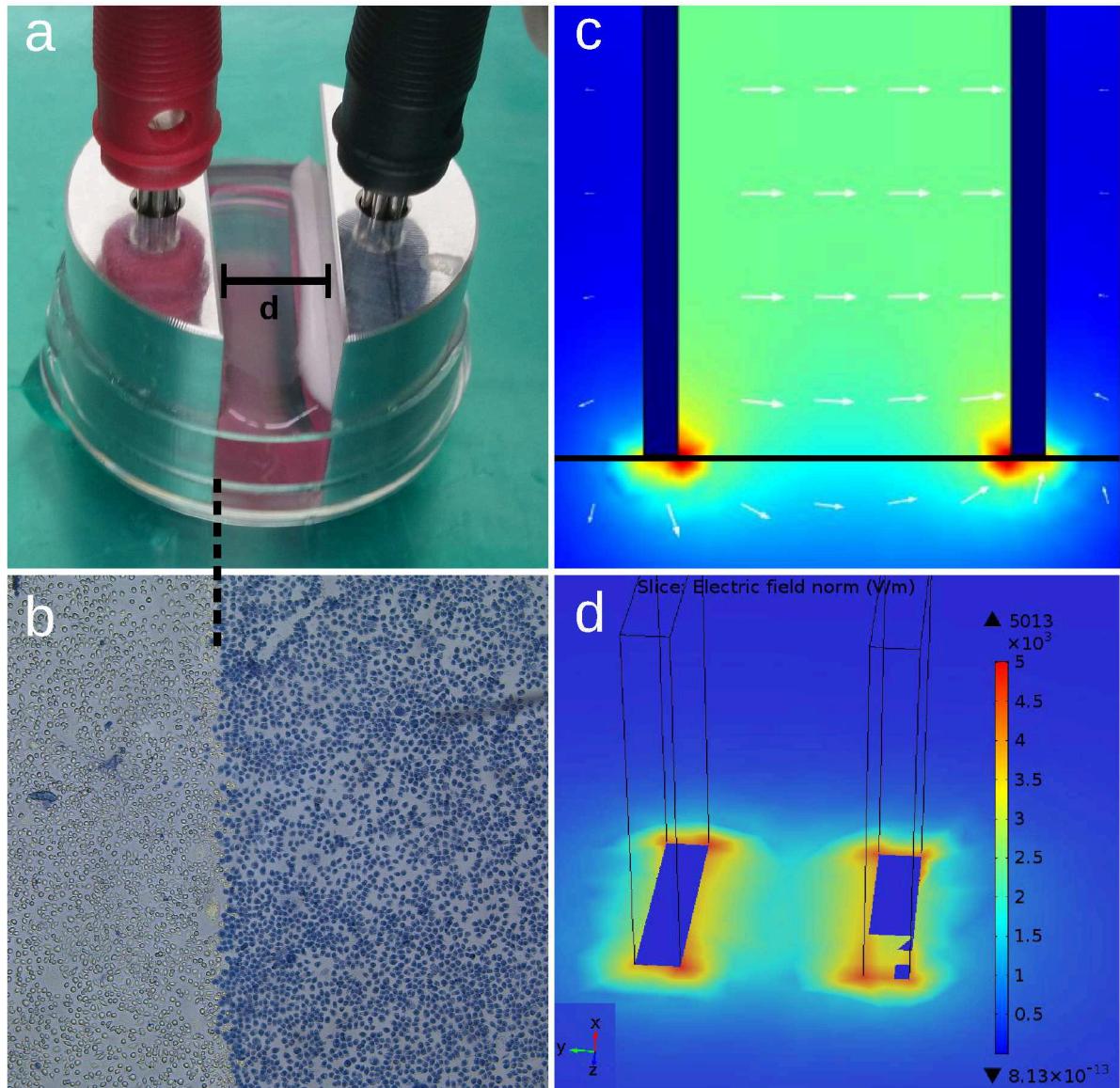


Abbildung 3.1: a) Erster Aufbau für Versuchsreihen mit Zellmonolayern während der Versuchsdurchführung. Der Elektrodenabstand ist  $d = 5$  mm.  
 b) Mikroskopbild von L929-Zellen nach EP mit  $U = 600$  V bzw.  $E = 1,2 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und anschließender Trypanblau-Färbung (blaue Zellen sind tot). Die gestrichelte Linie symbolisiert die Lage der Elektrode aus a).  
 c) Feldverteilung im Plattenkondensator, der schwarze Strich symbolisiert die Lage des Zellmonolayers bzw. der Petrischale.  
 d) Simulation der Feldverteilung in der Ebene des Zellmonolayers (schwarzer Strich in c). Im mittleren Bereich zwischen den Elektroden ist das Feld deutlich abgeschwächt.

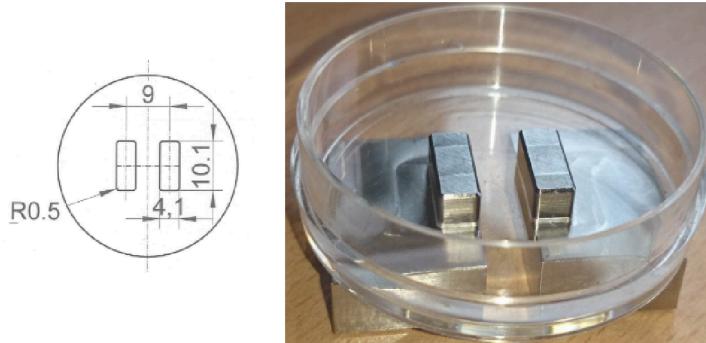


Abbildung 3.2: *Zweiter Aufbau für Versuchsreihen an Monolayern: Passend gefertigte Elektroden (Flächenmaß  $10 \times 4 \text{ mm}^2$ ) werden durch rechteckig gefräste Löcher im Boden einer handelsüblichen Petrischale ( $d = 35 \text{ mm}$ ) gesteckt.*  
*Links: Werkstattzeichnung mit Bemaßung für die Fräseung (Einheit: mm); Rechts: fertiger Aufbau.*

### Neu konstruierte Versuchsaufbauten

Nach diesen Anforderungen sind zwei Aufbauten konstruiert worden, die sich im Vorversuchsstadium befinden: Abbildung 3.2 zeigt eine handelsübliche Petrischale, in die zwei rechteckige Löcher gefräst wurden. Durch diese Löcher können passend gefertigte Elektroden eingebracht werden, so dass der Steg zwischen den Löchern nicht mehr am Randbereich des Plattenkondensators liegt. Die Konstruktion ist wasserdicht (Zellmedium ist zu keinem Zeitpunkt entwichen). Abbildung 3.3 zeigt ein nach diesen Anforderungen konstruiertes Kulturgefäß, hergestellt aus Silikon, mit passenden Elektroden. Ziel ist es, die Zellen auf dem Steg anwachsen zu lassen. Silikon ist grundsätzlich geeignet, da es keine toxische Wirkung auf die Zellen hat. Außerdem ist es transparent genug, um tote Zellen sicher von lebenden unterscheiden zu können.

Bei beiden Aufbauten haben sich dennoch Probleme mit dem Zellwachstum ergeben: Bei der ersten Variante vermehren sich die Zellen nur in den Außenbereichen und wachsen nicht auf dem Steg zwischen den Löchern an. Mögliche Gründe sind eine minimale Wölbung des Bodens der Petrischale, die durch die Bearbeitung des Materials (Fräseung, Einklemmung im Schraubstock) zustande gekommen sein könnte. Eine weitere Erklärung ist die scharfe Schnittkante, von der sich die Zellen laut Erfahrungen der Biologisch-technischen Assistenten (BTAs) fern halten. Auch auf dem Silikonsteg des zweiten Aufbaus wachsen die Zellen nicht an. Lösungsversuche wie die Beschichtung mit Agarosegel sind Gegenstand weiterer Forschung.

### Sonderfall: Isoliertes Setup

In den meisten Publikationen (z. B. in der Quelle der Referenzgrafik Abb. 2.17 [Dev00], aber auch in aktuellen Reviews [Jia15]) wird die Stromstärke als relevanter Faktor nicht erwähnt. Daher wurde ein Setup entwickelt, das es ermöglicht, an einen Zellmonolayer eine ausreichend hohe Feldstärke anzulegen, dabei aber keinen Stromfluss durch die Zellen erzeugt.

Abbildung 3.4 zeigt das CAD-Modell sowie den fertigen Aufbau bei der Versuchsdurchführung: Über der Petrischale (Durchmesser 35 mm, Material Polystyrol, Permittivität schwankt je nach

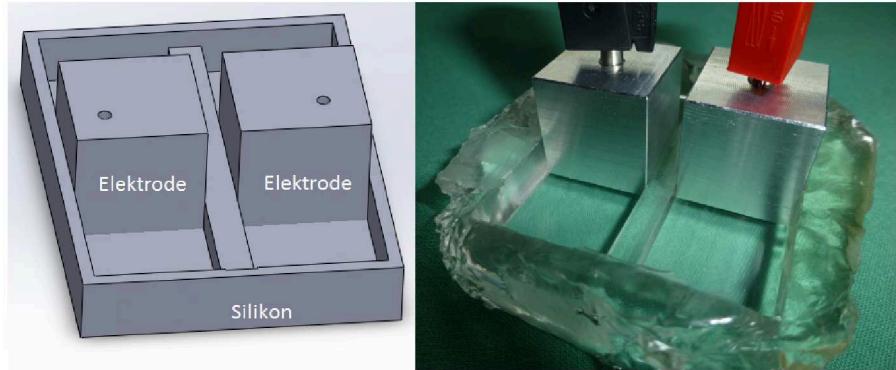


Abbildung 3.3: Dritter Aufbau für Versuchsreihen an Monolayern: Aus Silikon gegossenes Kulturgefäß (Innenmaß 60 mm × 45 mm) mit erhöhtem Steg ( $d = 5$  mm) zwischen zwei Elektroden ( $10 \text{ mm}^3$ ). Rechts: CAD-Modell, links: fertiger Aufbau.

Quelle zwischen  $\epsilon_{r1} = 2,5$  (Scripte Uni Kassel, Uni Frankfurt) und  $\epsilon_{r1} = 2,7$  [Bau13]), hängt zentriert eine Elektrode (Durchmesser 5 mm) mit einer entsprechenden Gegenelektrode auf der Außenseite der Petrischale. Der Elektrodenabstand entspricht somit der Dicke des Bodens der Petrischale ( $d_1 = 1,01$  mm) plus der Abstand zwischen Petrischale und Elektrode ( $d_2 = 5$  mm). Die maximale Spannung des Elektroporators ist  $U_{max} = 3 \text{ kV}$ . Daraus ergibt sich eine Feldstärkeverteilung von  $E_{max1} \approx 25,6 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  in der Petrischale und  $E_{max2} \approx 0,88 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  in der Glukoselösung ( $\epsilon_{r2} = 80$  [Yoo11]). Für  $d_2 = 1,5$  mm ergibt sich eine Feldstärkeverteilung von  $E_{max1} \approx 28,6 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  in der Petrischale und  $E_{max2} \approx 0,97 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  in der Glukoselösung.

Würden die Zellen durch die Wirkung des elektrischen Feldes infolge der EP absterben, so müsste im Bereich zwischen den Elektroden ein kreisförmiger Verbund überwiegend toter Zellen zu sehen sein. Die Versuche wurden mit Fibroblasten (L929) und Panc1 Zellen durchgeführt, auch das Zellmedium wurde variiert (RPMI-1640, 330 mmol Glukoselösung). Pulssprotokolle:  $t_1 = 100 \mu\text{s}$ ,  $t_2 = 300 \mu\text{s}$ , jeweils 70 Impulse mit einem Intervall von  $T = 0,1 \text{ s}$ . Die Zellviabilität wurde sowohl mit Trypanblau als auch der Fluoreszenzfärbung getestet, ohne dass Abweichungen auftraten: Im Bereich der Elektroden konnte bei keinem Versuch eine verringerte Zellviabilität im Vergleich zu den Außenbereichen nachgewiesen werden.

Im Rahmen einer weiteren Versuchsreihe mit L929-Zellen wurde zusätzlich ein elektrischer Stromfluss mit einer dritten Elektrode erzeugt (vgl. Abb. 3.5). Mit diesem Setup wurden drei Versuchsvarianten durchgeführt: 1) Die Zellen wurden einem elektrischen Feld ausgesetzt, das alleine durch die obere und untere Elektrode erzeugt wurde (exakt wie zuvor schon beschrieben). 2) Im Medium wurde durch die beiden oberen Elektroden ein Stromfluss eingekoppelt. Die durch diese beiden Elektroden erzeugte Feldstärke ist durch den vergleichsweise großen Abstand deutlich geringer. 3) Das Medium erfuhr durch alle drei Elektroden gemeinsam einen Stromfluss und eine kombinierte Feldstärke. Nur im letztgenannten Fall sind Zellen abgestorben, und zwar ausschließlich in dem Bereich zwischen der oberen und unteren Elektrode. Außerhalb davon konnte keine verringerte Zellviabilität beobachtet werden, auch nicht zwischen den beiden oberen Elektroden (vgl. Abb. 3.5, rechtes Bild).

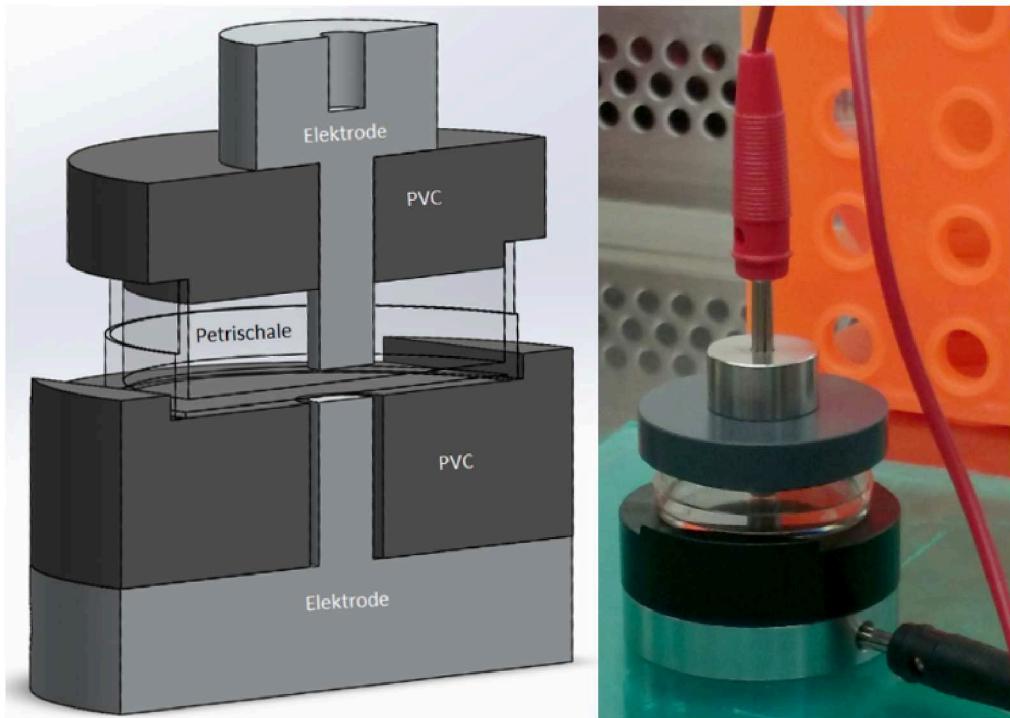


Abbildung 3.4: *Aufbau für Versuchsreihen mit hoher Feldstärke, aber ohne Stromfluss. Links: CAD-Modell; Rechts: Aufbau im Labor bei Versuchsdurchführung.*

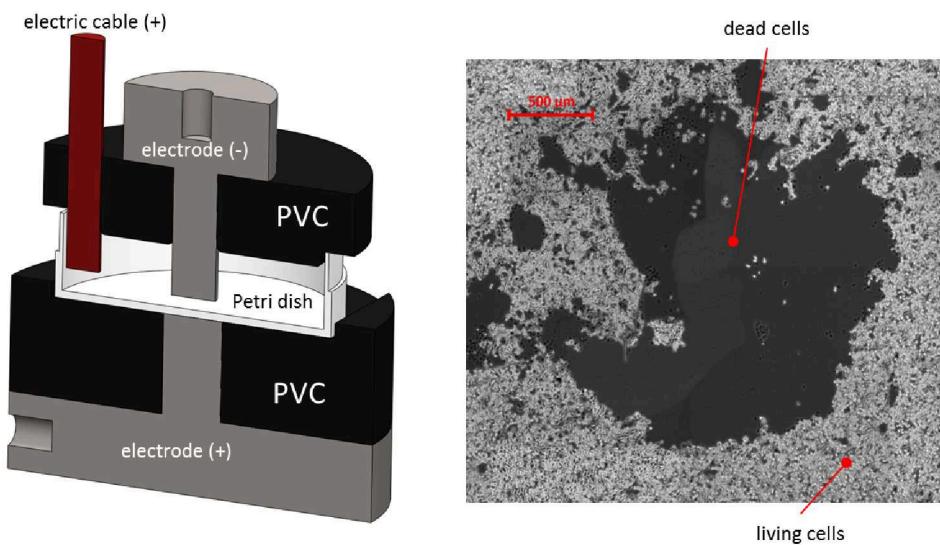


Abbildung 3.5: *Links: CAD-Modell des Aufbaus aus Abb. 3.4, aber mit zusätzlich eingebrachter dritter Elektrode (rot) zur Einkopplung eines Stromflusses [El 16]. Rechts: Mikroskopbild der toten L929-Zellen zwischen den Elektroden bei 300 V und 3 mm Elektrodenabstand. In den Bereichen außerhalb der mittleren, grauen Elektroden konnte keine verringerte Zellviabilität beobachtet werden [El 16].*

### 3.3.2 Zellsuspension

Nach den in Anhang C beschriebenen Vorversuchen hat sich der in Abbildung 3.6 gezeigte und insbesondere in der Handhabung verbesserte Aufbau bewährt: Die isolierende Schicht zwischen den Elektroden (Außenmaß:  $100 \times 20 \times d_x \text{ mm}^3$ , Material: RGD720) wurde in mehreren Ausführungen gefertigt (vgl. Abb. 3.7) und fungiert damit als variabler Elektrodenabstandhalter (Abstand entspricht der Dicke  $d_x$  mit  $d_1 = 2 \text{ mm}$ ,  $d_2 = 4 \text{ mm}$ ,  $d_3 = 6 \text{ mm}$ ,  $d_4 = 8 \text{ mm}$ ). In den Abstandhaltern befindet sich zudem ein Reservoir für die Zellsuspension (rechteckiger Ausschnitt, Mitte), dessen Volumen in allen vier Modellen unverändert bleibt ( $0,7 \text{ ml}$ ). Die Elektroden aus 1.4571 Edelstahl ( $100 \times 20 \times 5 \text{ mm}^3$ ) werden mit zwei isolierenden PVC-Platten ( $100 \times 20 \times 3 \text{ mm}^3$ ) von außen mit Schnellspannern zusammengehalten und dichten das Reservoir ab.

Zur Durchführung wurde das Reservoir mit  $0,5 \text{ ml}$  Zellsuspension befüllt ( $330 \text{ mmol}$  Glukose-Lösung mit  $10^6$  Zellen/ml), die dann mit 70 Impulsen mit einer Pulsbreite von  $t = 100 \mu\text{s}$  und einem Intervall von  $T = 0,1 \text{ s}$  elektroporiert wurde. Insbesondere die Reproduzierbarkeit ist bei derartigen Versuchsreihen wichtig: Jeder einzelne Versuch wurde (mit neuer Suspension) insgesamt viermal durchgeführt, die Schwankungen sind als Fehlerbalken im Ergebnisgraph dokumentiert (Abb. 3.8). Eine weitere Versuchsreihe wurde als Vergleichsgruppe herangezogen, die dem gleichen Ablauf unterzogen wurde, nur ohne Feldexposition: Die Referenz-Suspension wurde in das Reservoir gegeben, kurze Zeit später entnommen, gefärbt und ausgezählt (durch den angeschlossenen Elektroporator lagen beide Elektroden auf gleichem Potential). Die Überlebensrate dieser Vergleichsgruppe wurde als 100 % Viabilität definiert<sup>5</sup>.

Der Suspension wurde sofort nach der EP ein Probevolumen von  $10 \mu\text{l}$  entnommen. Diese Probe wurde dann mit Trypanblau gefärbt und unter dem Mikroskop in der Neubauerkammer fotografiert (im Ergebnisgraphen *sofort nach EP* genannt, real dauert dieser Vorgang ca. fünf Minuten). Zwei Stunden nach der Behandlung wurden erneut  $10 \mu\text{l}$  entnommen, gefärbt und fotografiert. Die Auszählung als solche erfolgte anhand der Fotos (vgl. Anhang C, Passagen 11 bis 14 wurden ausgezählt).

#### Variation der elektrischen Feldstärke

In dieser Versuchsreihe wurde das beschriebene Setup aus Abbildung 3.6 mit einem Elektrodenabstand von  $d_1 = 2 \text{ mm}$  verwendet. Es wurden jeweils  $0,5 \text{ ml}$  einer Zellsuspension mit den drei genannten Tumorzelllinien verwendet. Variiert wurde die angelegte Spannung ( $0, 100, 200, 400, 800 \text{ [V]}$ ), aus der sich gemäß  $E = \frac{U}{d}$  (vgl. Gleichung 2.11) entsprechende Feldstärken ergeben ( $0, 500, 1000, 2000, 4000 \text{ [}\frac{\text{V}}{\text{cm}}\text{]}$ ). Die Ergebnisgraphen zeigt Abbildung 3.8, die Zahlenwerte der Einzelversuche sind in Anhang D hinterlegt.

<sup>5</sup> Bei allen Arbeiten in der Zellkultur sterben stets Zellen alleine durch Vorgänge wie z. B. Pipettieren. Bereits in der Glukoselösung, die für alle Versuchsreihen verwendet wurde, sind tote Zellen enthalten. Daher müssen in der Zellkultur die Versuchsreihen immer auf eine unbehandelte Kontrollgruppe normiert werden.

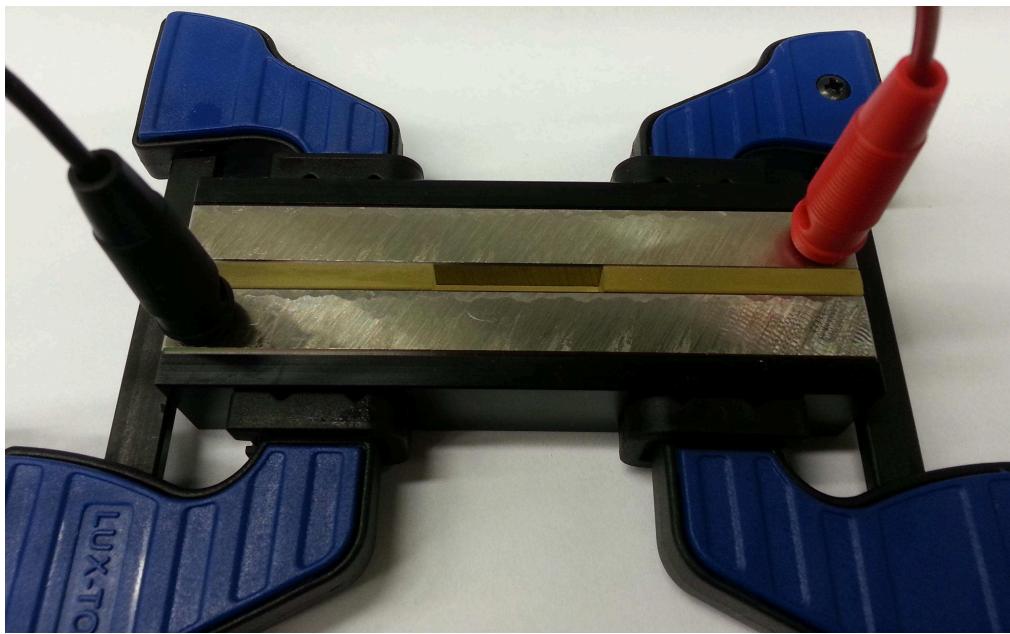


Abbildung 3.6: Aufbau für die EP von Zellsuspensionen. Beschreibung von außen nach innen (symmetrisch): Zwei Schnellspanner (links und rechts, blau), Isolator (PVC, schwarz), Elektroden (1.4571 Edelstahl), Isolator und Elektrodenabstandhalter mit Reservoir für Zellsuspension (Mitte, RGD720,  $d_2 = 4$  mm). Die Elektroden werden mit 6,3 mm Laborsteckern mit dem Elektroporator verbunden. Außenmaß des Gesamtaufbaus ohne Schnellspanner:  $100 \times 18 \text{ mm}^2$ .

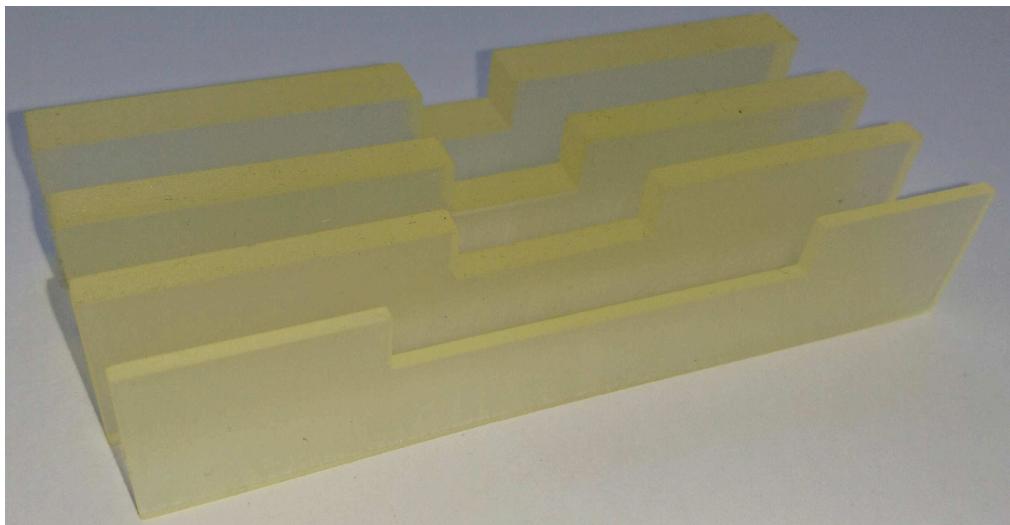


Abbildung 3.7: Verschiedene Abstandhalter für den Versuchsaufbau in Abb. 3.6. Dicke der einzelnen Modelle von vorn nach hinten:  $d_1 = 2$  mm,  $d_2 = 4$  mm,  $d_3 = 6$  mm,  $d_4 = 8$  mm. Das Volumen des Reservoirs beträgt jeweils 0,7 ml

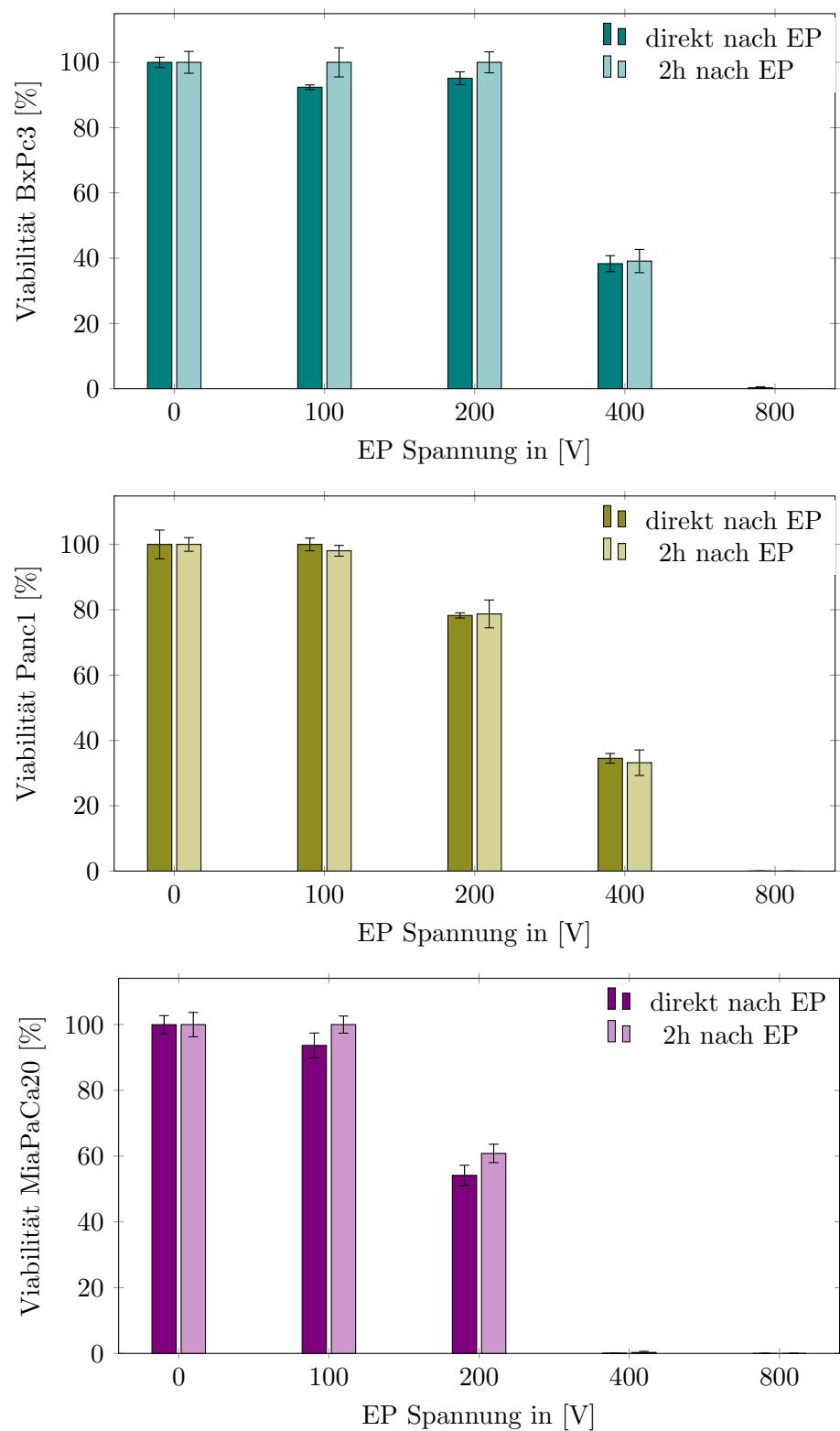


Abbildung 3.8: Ergebnisse der Versuchsreihen mit einem festen Elektrodenabstand von  $d_1 = 2 \text{ mm}$  und drei Pankreas-Tumorzelllinien (BxPc3, Panc1, MiaPaCa20), normiert auf die nicht-elektroporisierte Gruppe (0 V)

### Variation des Abstandes

Bei dieser Versuchsreihe wurde der Elektrodenabstand variiert ( $d_1 = 2 \text{ mm}$  bis  $d_4 = 8 \text{ mm}$ , vgl. Abb. 3.7), aber die Feldstärke bei  $E = 500 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  fixiert. Dafür wurde die Spannung entsprechend dem Abstand angepasst (0, 100, 200, 300, 400 [V]). Das weitere Vorgehen ist mit der vorherigen Versuchsreihe identisch. Die Ergebnisgraphen zeigt Abbildung 3.9, die Zahlenwerte der Einzelversuche sind in Anhang D hinterlegt.

#### 3.3.3 In-vitro-Gel

Aus Agarose können Gele hergestellt werden, die Zellen umschließen und sie wie eine Art Trägermaterial ortsfest positionieren. Nach der Durchführung des Versuchs kann man das Gel in Scheiben schneiden um so einzelne Layer unter dem Mikroskop auszuwerten. Das Prinzip wird auch *3D-Zellcluster* genannt. Im Gegensatz zur Zellsuspension ist bei einem solchen Versuchsaufbau nicht nur eine Aussage über die Zellviabilität aller Zellen möglich, sondern zusätzlich eine Ortsinformation zu jeder Zelle vorhanden, d. h. die Position der Zellen relativ zu den Elektroden. Im Vergleich zu Monolayern schien diese Variante aufgrund des Zellwachstums mehr Erfolg zu versprechen: Das Überleben das Wachstum der Zellen wurde in den Gelen über einen 14-tägigen Beobachtungszeitraum qualitativ für BxPc3-Zellen nachgewiesen.

Für die Herstellung solcher Gele wurden Trägerröhrchen aus Polyetheretherketon (PEEK) gefertigt, einem biokompatiblen Kunststoff, der auch für die Sterilisation im Autoklav bei über 120°C geeignet ist [Kur11]. In diese vorher autoklavierten Röhrchen wurde ein Gemisch aus Agarose (Konzentration von 0,3 %, 0,5 % und 0,7 %) zusammen mit Zellmedium (Verhältnis 50:50) gegossen (komplettes Protokoll vgl. Anhang E).

In Vorversuchen zur Zellwachstumskontrolle hat sich die 0,5 % Agarose-Konzentration bewährt, da sich 0,3 % als zu wenig für den Herstellungsprozess erwiesen hat (Dehydration) und 0,7 % als zu fest, um eine homogene Mischung aus Zellen und Gel zu erhalten.

Diese Tumorgele wurden mit 0,2 mm dicken Nadelelektroden (vgl. Abb. 3.10 links) oder 1 mm dicken NanoKnife-Elektroden bei einer Feldstärke von  $E \approx 1,5 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  (300 V bei  $d = 2 \text{ mm}$ ) elektroporiert. Die NanoKnife-Elektroden wurden aufgrund ihrer Gesamtlänge nicht von Hand gehalten, sondern an einem Gestell fixiert. Der Abstand wurde mit einem Deckel, in den passende Löcher gebohrt worden waren, eingehalten (vgl. Abb. 3.10 rechts).

Mit den dünneren Elektroden konnte eine EP nicht erfolgreich durchgeführt werden. Dies deckt sich zunächst mit der Aussage des IRE-Reviews von Jiang [Jia15]: Bei der Verwendung von dünneren Elektroden werden größere Spannungen benötigt, wenn man den gleichen EP-Effekt erzielen will. Da diese Aussage bei den hier verwendeten Größenordnungen aus dem Blickwinkel der Theorie verwundert und auch Miklavčič et al. mit unterschiedlichen Elektrodendurchmessern grundsätzlich gleiche Ergebnisse in Gewebe erzielten<sup>6</sup> [Mik00a], ist die eigentliche

---

<sup>6</sup> Gleiche EP-Ergebnisse in Bezug auf die Feldstärke; ein Unterschied im Durchmesser der Elektroden hat zwangsläufig Auswirkungen auf die Feldgeometrie: Der Bereich hoher Feldstärken ist zwischen den Elektroden kleiner, je dünner die Elektroden sind. Diese Aussage deckt sich mit [Jia15]. Demnach müsste wie in [Mik00a] die EP grundsätzlich funktionieren, nur der Bereich toter Zellen schmäler sein als bei dickeren Elektroden.

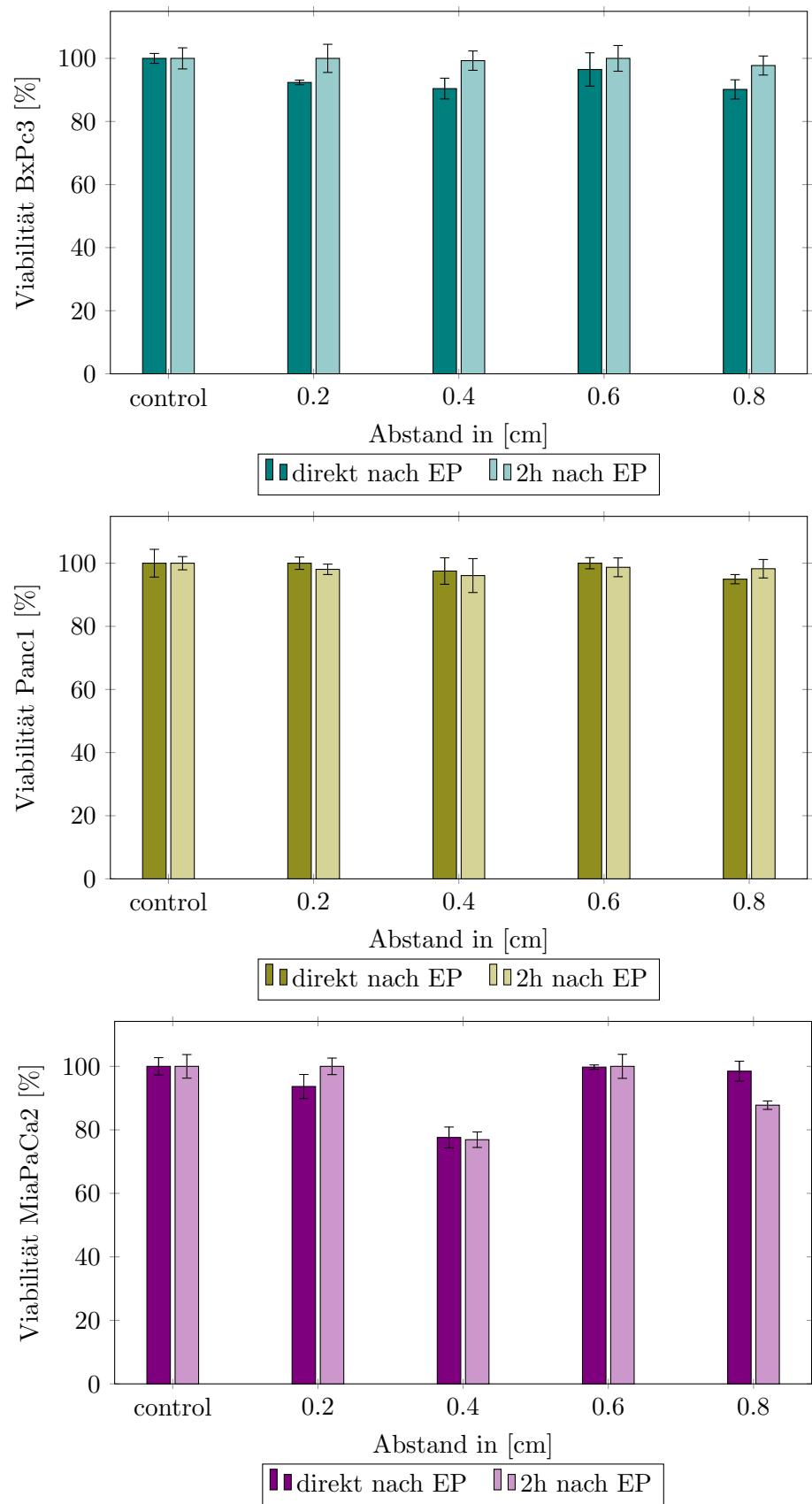


Abbildung 3.9: Ergebnisse der Versuchsreihen mit unterschiedlichem Elektrodenabstand, normiert auf die nicht-elektroporierte Gruppe (control)

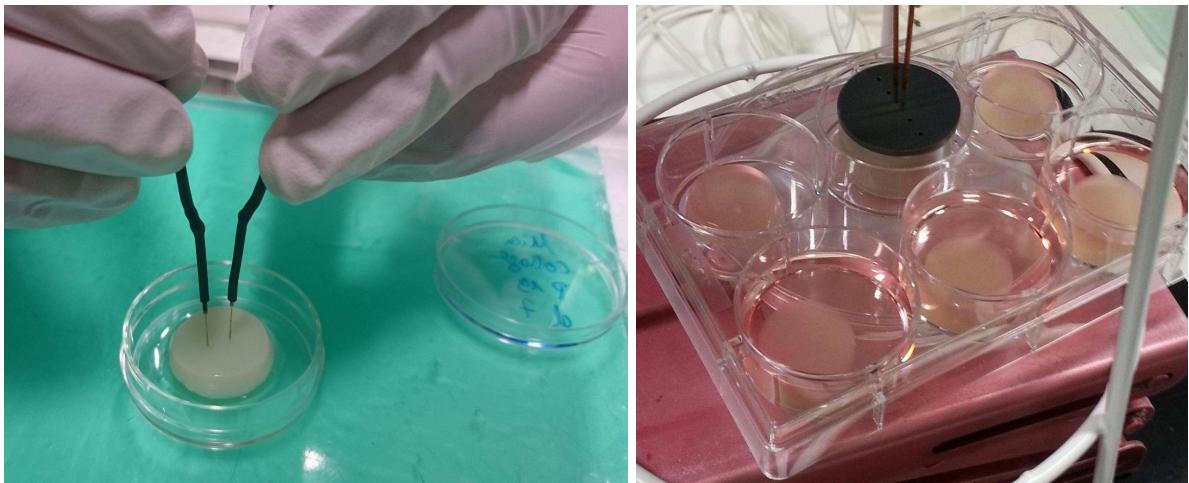


Abbildung 3.10: *Versuchsaufbau mit In-vitro-Gel bei Durchführung im Labor. Links: 0,2 mm dicke Akupunkturnadeln; rechts: 1 mm dicke NanoKnife-Elektroden.*

Ursache wahrscheinlich mechanischer Natur: Die dünnen Nadeln wurden von Hand eingestochen und festgehalten, so dass schon kleinste Bewegungen das Einstichloch vergrößern und so die galvanische Kontaktfläche verringern. Luft als Isolator würde eine Feldverteilung deutlich mehr beeinträchtigen als ein um den Faktor 10 geänderter Elektrodendurchmesser. Bei den für die irreversible EP erforderlichen Spannungen wurden zudem Knistern und teils auch Lichtblitze beobachtet, was diese Theorie untermauert.

Bei den dickeren NanoKnife-Elektroden fällt der Effekt weniger ins Gewicht, da die Kontaktfläche generell größer ist und zudem mehr Volumen (Gel) beim Einstechen verdrängt wird, so dass der Kontakt zur Elektrode zumindest weitestgehend erhalten bleibt. Versuche mit den Elektroden des NanoKnifes funktionierten grundsätzlich, konnten aber aufgrund von Kontaminationen nicht qualitativ ausgewertet werden.

Der Ansatz der In-vitro-Gele wurde wegen der erforderlichen präzisen Positionierung, wofür ein geeigneter mechanischer Aufbau hätte konstruiert werden müssen, im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

### 3.4 Zusammenfassung und Diskussion

Die Fragestellungen dieses Kapitels haben sich bei der Abhandlung des Standes des Wissens ergeben und sind thematisch – etwas abseits der konkreten Zielsetzung (vgl. Kap. 1.4) – der Grundlagenforschung zugeordnet. Daher wird diese Diskussion der Elektrodenentwicklung vorangestellt und innerhalb des Kapitels geführt:

Es wurden drei verschiedene Varianten der Zellkultur (Suspension, Monolayer, In-Vitro-Gel) evaluiert. Für die Fragestellung, ob die Grenzfeldstärke der irreversiblen EP für jede Tumorart gleich ist, lieferten Zellsuspensionen in Glucoselösung die besten Ergebnisse [Rit14b]. Mit einem optimierten Aufbau wurde daraufhin eine umfangreiche Versuchsreihe durchgeführt. Die relevanten Erkenntnisse, die aus allen beschriebenen Versuchen dieses Kapitels gewonnen

werden konnten, lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Grenzfeldstärke, bei der durch irreversible EP alle Zellen vollständig abgetötet wurden, ist kein fester Wert, sondern unterscheidet sich sogar für verschiedene Tumorzelllinien des gleichen Organs: Es ist eine Abhängigkeit der Überlebensrate (Zellviabilität) von der Zelllinie klar erkennbar [Rit15c; Kol15].
2. Diese Grenzfeldstärke liegt unabhängig vom Elektrodenabstand für Zellsuspensionen zwischen  $1 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und  $4 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  [Rit15c; Kol15; Mah16; El 16]. Alle Messwerte liegen über dem Grenzwert aus [Mik00a] für Gewebe (vgl. Kap. 1.1.4).
3. Für die EP ist ein Stromfluss erforderlich: Es konnte nachgewiesen werden, dass bei Feldstärken von bis zu  $E_{max} \approx 900 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  ohne Stromfluss keine EP auftritt, selbst bei untypisch langen Pulsen von bis zu  $300 \mu\text{s}$  [Rit15c; Ald13]. Erst als ein Stromfluss dazugeschaltet wurde, konnte ausschließlich im Einflussbereich beider Effekte eine erfolgreiche EP nachgewiesen werden [Mah16; El 16].

Darüber hinaus haben die konstruierten Aufbauten das Potential, weitere Fakten zu sichern:

1. Vergleich mit „gesunden“ Zellen: Bislang standen nur Tumorzelllinien zur Verfügung, ein Vergleich dieser Typen mit humanen Pankreaszellen ist ein sinnvolle Erweiterung.
2. Schwellwerte eingrenzen: Die Ergebnisse zeigen eine qualitative Tendenz, keine genauen Grenzwerte. Die Spannungsintervalle zwischen  $2 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und  $4 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  müssen verringert werden. Ein undokumentierter Versuch (MiaPaCa20 Zellen, EP mit  $1,5 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$ , wie bei  $2 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  alle Zellen tot) hat angedeutet, dass die Schwellwerte weiter eingegrenzt werden können.
3. Auch Grenzwerte für die reversible EP können mit dem Setup untersucht werden.<sup>7</sup>
4. Variation des Abstandes bei einer höheren Feldstärke: Abgesehen von einem Ausreißer (MiaPaCa2 bei  $d_2 = 0,4 \text{ cm}$ ) entsprechen die Ergebnisse den Erwartungen, der Wert der Aussage ist jedoch begrenzt<sup>8</sup>. Die Versuchsreihe sollte mit einer Feldstärke wiederholt werden, bei der die Zellviabilität reproduzierbar 50 % beträgt.
5. Einfluss der Stromstärke: Die Stromstärke wird erst in neueren Publikationen thematisiert (z. B. [Jou14]) und kann ggf. mit der Variation des Elektrodenabstandes erfasst werden: Der Elektroporator ist eine DC-Konstantspannungsquelle, so dass sich bei Änderung des Abstandes auch der Gesamtwiderstand ändert, demzufolge auch die Stromstärke. Wie groß die Änderung ist und ob dies einen Einfluss auf die Zellviabilität hat, sollte daher zusammen mit Punkt 3 untersucht werden.

Unter Berücksichtigung von Abbildung 2.12 (bei einer Pulsbreite von  $100 \mu\text{s}$  liegt man im Frequenzbereich von  $10^4 \text{ Hz}$ ) sowie der Tatsache, dass bei einer Zellsuspension der Anteil an Zellen deutlich geringer ist als in Gewebe, ändert sich der Gesamtwiderstand

<sup>7</sup> Wobei dann physiologische Medien wie *S-MEM* verwendet werden sollten

<sup>8</sup> Die verringerte Zellviabilität für MiaPaCa2-Zellen bei  $d_2 = 0,4 \text{ cm}$  wird als Durchführungsfehler angesehen. Diese Versuchsreihe hätte wiederholt werden müssen, worauf aber aufgrund des sonst eindeutigen Gesamtbildes und der begrenzten Aussagekraft der Versuchsreihe bei dieser Feldstärke verzichtet werden konnte.

der verschiedenen Suspensionen maximal in Größenordnung der Messgenauigkeit. Bei einer Änderung der Spannung wird damit auch die Stromstärke geändert.

Wird die Spannung soweit erhöht, dass EP eintritt, sinkt die Impedanz der Suspension (vgl. Abb. 2.13). Bei gleichbleibender Spannung würde die EP einiger weniger Zellen zu einer Erhöhung der Stromstärke führen. Dies könnte eine Kettenreaktion in Bezug auf die EP der weiteren Zellen auslösen, wenn die Stromstärke einen Einfluss haben sollte. Im Aufbau des Versuchs gemäß Abbildung 3.5 sind theoretisch Strom und Feldstärke getrennt ansteuerbar. Mit einer steuerbaren Stromquelle könnte man bei gleicher Feldstärke den Einfluss der Stromstärke genauer erfassen.

Durch das Protokollieren des zeitlichen Verlaufs der Stromstärke während des Versuchs (wie es das NanoKnife bei einer IRE-Anwendung anzeigt<sup>9</sup>) können weitere zentrale Grundlagen der Funktionsweise der EP ermittelt werden. Von therapeutischen Interesse ist an dieser Stelle insbesondere, welche minimale Stromstärke notwendig ist und ob es zwischen der minimalen und maximal möglichen Stromstärke<sup>10</sup> ein Optimum gibt.

Neben den weiterführenden Versuchsreihen an Zellsuspensionen sollten auch die weiteren Konzepte für Monolayer und In-vitro-Gele zur Versuchsreife gebracht werden, um ortsbezogene Informationen zu erhalten: Hat die Richtung des Stromflusses oder der Feldstärke einen Einfluss auf die EP? Sind in Feldstärkebereichen, in denen ca. 50 % der Zellen absterben, unterschiedliche Zellviabilitäten nahe der negativen und nahe der positiven Elektrode erkennbar? Die In-vitro Gele haben darüber hinaus das Potential, ein größeres Phantom verschiedener Geometriiformen zu erstellen und damit auch außerhalb von Computersimulationen die Feldverteilung verschiedener Elektrodenanordnungen zu untersuchen.

Abschließend ist die Übertragung auf den klinischen Kontext zu prüfen. Der erforderliche Stromfluss ( $I > 0$ ) ist vorhanden: Gewebe enthält Ionen, die zu einer Leitfähigkeit und damit einem Stromfluss führen. Die Stromstärke muss sogar begrenzt werden, damit keine thermischen Effekte auftreten (vgl. Kap. 1.1.3) [Bal10; Tho11]. Die Obergrenze der Stromstärke ist damit bereits geklärt, unbekannt ist bislang die minimal nötige Stromstärke. Daraus ergibt sich die Frage, ob im Rahmen der Grenzen weiteres Optimierungspotential besteht.

Sobald die Schwellwerte weiter eingegrenzt wurden, sollten IRE Tierversuche angesetzt werden, um die Übertragbarkeit – entweder exakte Zahlenwerte oder Proportionalitäten – auf den jeweiligen Tumortyp zu prüfen. Sollte dies gelingen, sind für sämtliche Tumortypen anderer Organe oder Gewebearten breite Zellversuchsreihen sinnvoll. Der Nachweis, dass für eine solche Datenerhebung ein in-vitro-Modell ausreicht, wäre von großem Wert.

Weitere Versuchsreihen zum Einfluss des Zellmediums und dessen Leitfähigkeit durchzuführen ist vorerst nicht sinnvoll, da andere Forschungsgruppen dieses Thema spezifischer untersuchen [Pav02; Pav05; Gar07; Fai15; Sil16].

<sup>9</sup> Das NanoKnife misst laut Hersteller den Gewebewiderstand und berechnet u. a. daraus die Spannung, mit der gepulst wird. Während der IRE zeigt es die Stromstärke über der Zeit an. Ob es sich dabei um eine berechnete Größe handelt, die sich aus dem vor den einzelnen Impulsen gemessenen Wert ergibt, oder tatsächlich um eine Echtzeitmessung, ist nicht bekannt.

<sup>10</sup>In Gewebe treten über  $I_{max} = 45$  A thermische Effekte ein. [Bal10; Tho11]

# 4 Elektrodenkonzepte und -designs

Kapitel 4 beschreibt Konzepte für die Entwicklung neuartiger Elektroden, die über den derzeitigen Stand der Technik hinaus gehen: Es enthält Modelle zur Nutzung von Endoskopen und Kathetern sowie Simulationsbeispiele möglicher Realisierungen, die von starren Nadel-elektroden abweichen (vgl. Kap. 1.3). Die Konzepte zielen auf die Verwendung als  $\Rightarrow$ IRE Elektroden ab, sind aber auch für die  $\Rightarrow$ ECT geeignet, wenn die Zugabe von Chemotherapeu-tika gewährleistet werden kann.

Weiterhin sind alle hier vorgestellten Geometrien in Umfang und Ausdehnung variabel, d. h. im Vorfeld einer Operation mittels Computersimulationen genau auf den Tumor des einzelnen Patienten anpassbar. Ein solches Vorgehen fällt unter das aktuelle Schlagwort *personalized Medicine* und wird in Kapitel 8 vertieft.

## 4.1 Cholangiokarzinome

Es gehört zu den Standardverfahren einer chirurgischen Klinik, mit Endoskopen den Gallengang zu untersuchen bzw. zu behandeln (*Endoskopische retrograde Cholangiopankreatikografie*, kurz *ERCP* bzw. *endoskopisch retrograde Cholangiographie*, kurz *ERC*). Dies beinhaltet z. B. das Legen eines medizinischen Implantats zum Offenhalten von Gefäßen oder Hohlorganen ( $\Rightarrow$ Stent) [Wit08] beim Klatskin-Tumor. Abbildung 4.1 zeigt das Verfahren am Modell: Ein ERC-Endoskop mit eingebauter Beleuchtung und Kamera fährt einen Katheter in den Gallengang hinein, um dort einen Stent zu platzieren. Abbildung 4.2 zeigt klinisches Bildma-terial eines dort platzierten Stents. Die Abmessungen eines solchen Gefäßes betragen 3 bis 6 mm im Durchmesser bei einer Gefäßwanddicke der Größenordnung 0,5 mm [Kau86].

Ziel dieser Konzepte ist es, die bekannten Verfahren ERCP und IRE zu kombinieren und damit erstmals die Möglichkeit zu schaffen, minimal-invasiv IRE im Gefäßsystem durchführen zu können. Bisher wurden mit dem NanoKnife (vgl. Kap. 1.1.3) nach aktuellem Kenntnisstand keine Cholangiokarzinome (Gallengangstumoren) behandelt, so dass mit einem solchen Kon-zept für Patienten mit dieser Diagnose – insbesondere im fortgeschrittenen Tumorstadium – erstmals eine Heilung in Aussicht gestellt werden könnte.

Die Entwürfe sind in Kooperation mit der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplanta-tionschirurgie in einer Erfindungsmeldung der Uniklinik RWTH Aachen vorgestellt worden.

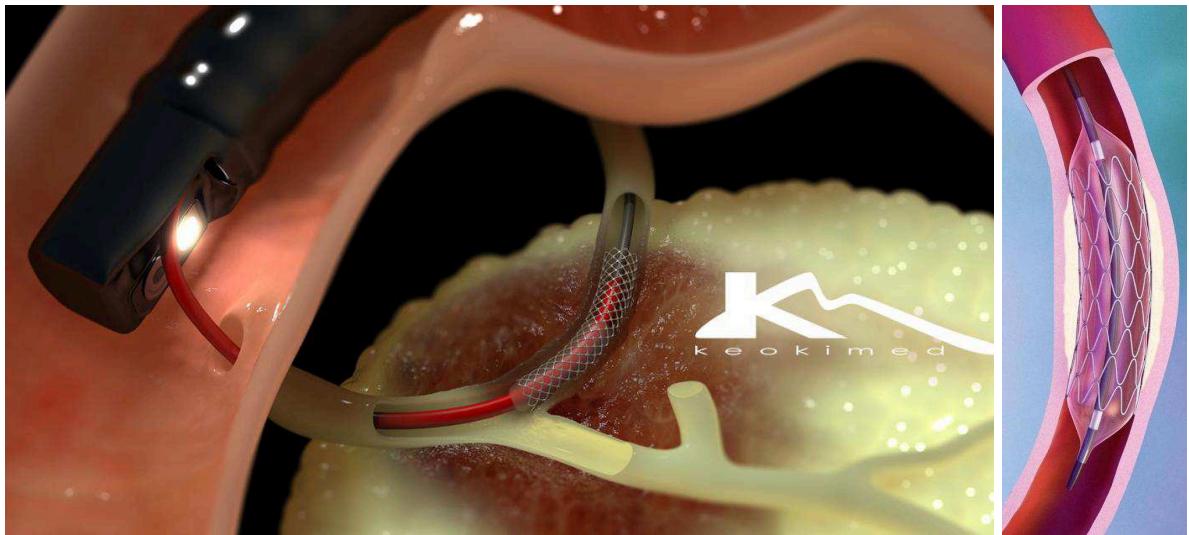


Abbildung 4.1: Links: Modell des Gallengangs (Ductus choledochus) mit nachgestellter Operation [Sla11]: ERCP Sonde/Endoskop (schwarz, an der Austrittsstelle des Katheters sind Kameraobjektiv und Beleuchtung zu sehen) legt einen  $\Rightarrow$  Stent an der Gabelung des Gallengangs ab, wo typischerweise der Klatskin Tumor sitzt. Der mit dieser Technik platzierte Stent wird dann mit einem Ballonkatheter entfaltet (rechts zu sehen) [Doc10].

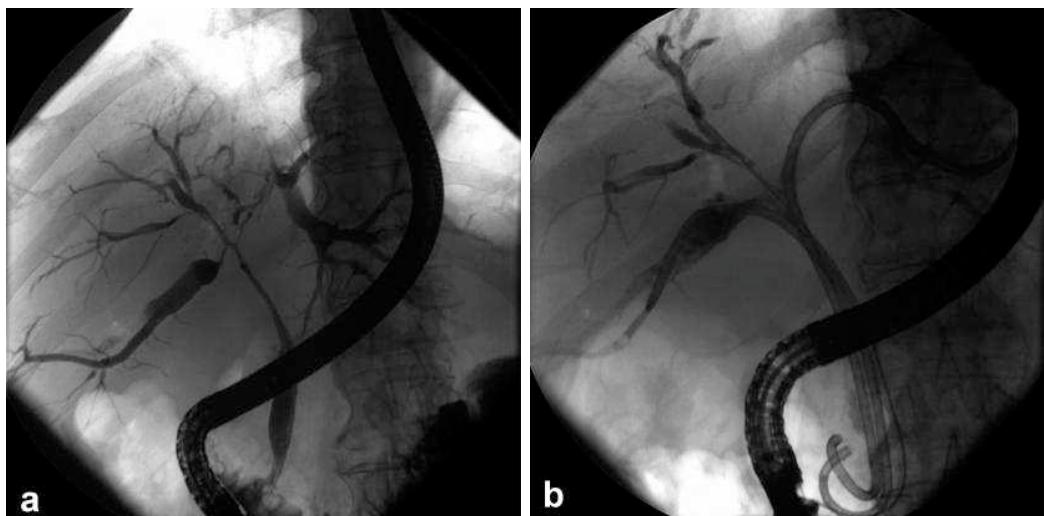


Abbildung 4.2: Bilder eines inoperablen hilären Gallengangskarzinoms. Die Aufnahmen wurden für eine bessere Darstellung im Druck stark aufgehellt.  
a) Darstellung der Tumorausdehnung mit endoskopisch retrograder Cholangiografie (ERC).  
b) Wiedereröffnete Gallengänge drei Monate nach Stentimplantation [Wit08].

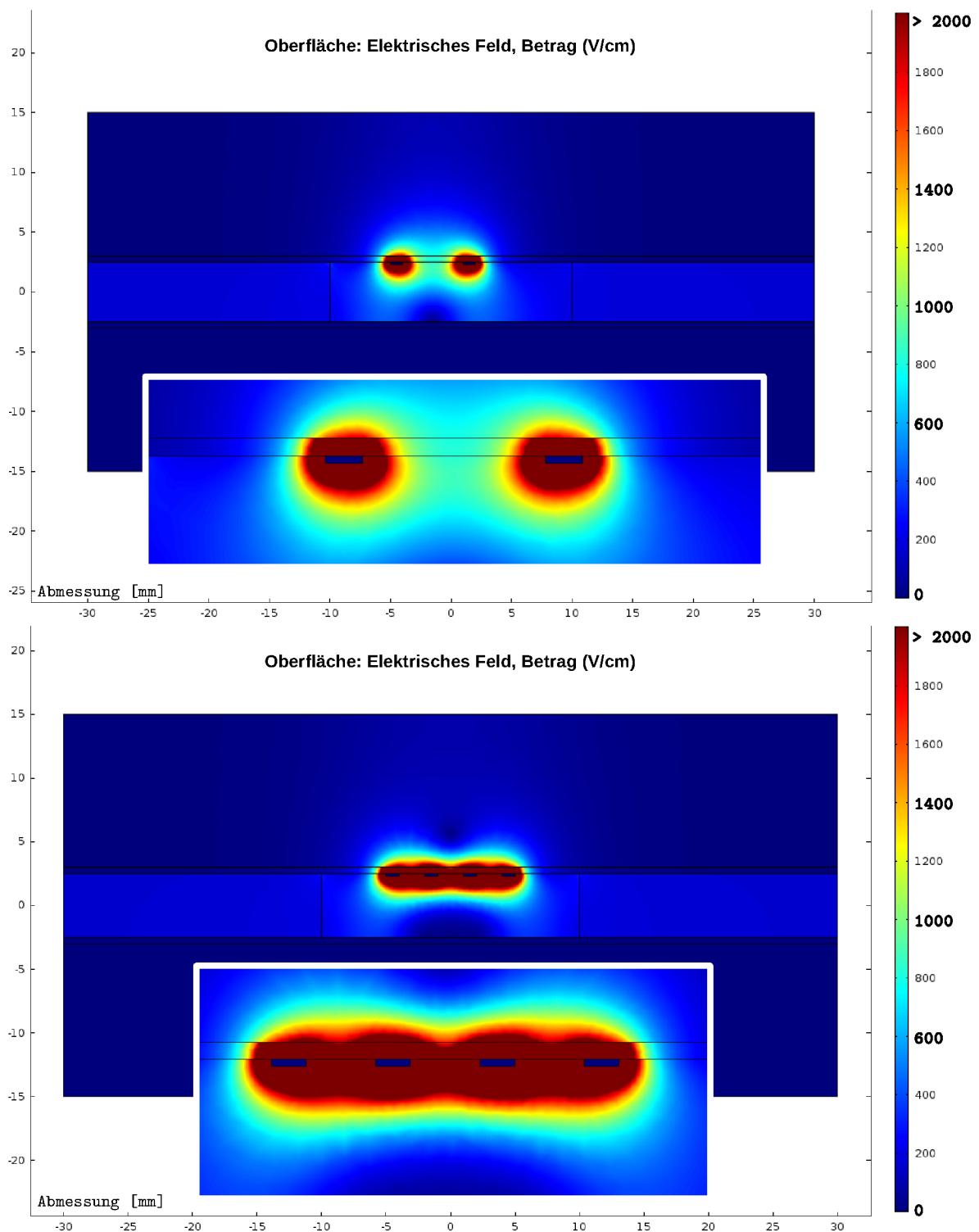


Abbildung 4.3: Simulation einer konzeptionellen ERS-Sonde für die Anwendung der IRE in Gefäßsystemen. Das Gefäß ist als Röhre mit 5 mm Durchmesser und 0,5 mm Wanddicke modelliert. Der Ausschnitt der Elektroden wurde jeweils vergrößert hervorgehoben, oben mit zwei Elektroden, unten mit vier. Simuliert wurde die Feldverteilung bei Anlegen von 3 kV.

### **Ring-, Streifen- oder Punkt-Elektroden auf Katheter**

Um Cholangiokarzinome erfolgreich mit IRE behandeln zu können, sind auf einem ERCP-Katheter integrierte Elektroden in Form von Ringen, Streifen oder Punkten mögliche Konstruktionsvarianten. Um die Elektroden direkt an die Gefäßwand oder die Tumoroberfläche zu pressen und sie auch im Strom von Flüssigkeiten in Position zu halten, ist das Aufbringen der Elektroden auf einen Ballon-Katheter, wie er zum Aufspreizen des Stents benutzt wird (vgl. Abb. 4.1 rechts), denkbar. Die sichere Platzierung der Elektroden kann angiographisch kontrolliert werden. Das Konzept ist auch für Arterien und Venen sowie gutartige Stenosen übertragbar, hier aber zunächst für Cholangiokarzinome spezifiziert.

Der erste konzeptionelle Entwurf ist als Simulation in Abbildung 4.3 zu sehen: Zwei sowie vier Elektroden sind an die Gefäßwand angelegt, d. h. alle Elektroden befinden sich im Gefäß auf einer Ebene. Die Simulation zeigt, dass es mit einer solchen Sonde möglich ist, eine Feldverteilung zu erreichen, die nach dem Prinzip der IRE-Tumoren an dieser Position abtöten kann. Dies würde insbesondere für Tumoren innerhalb des Gallengangs gelten (vgl. Feldverteilung in Abb. 4.3 unter der Gefäßwand), aber auch bei einem dünnen Tumor im direkten Umfeld außerhalb des Gallengangs funktionieren (vgl. Feldverteilung in Abb. 4.3 über der Gefäßwand).

### **Frontal ausfahrbare Nadelelektroden**

Eine zweite Variante adressiert Tumoren, die das Gefäß komplett verschließen (wie Abb. 1.7 veranschaulicht): Aus dem Katheter nach vorne ausfahrbare Nadelelektroden bohren sich in das Tumorgewebe hinein, das an der Spitze des Katheters das Gefäß blockiert. Durch die idealerweise eingeleitete ⇒ Apoptose würden die abgestorbenen Zellen abtransportiert und das Gefäß wäre wieder funktionsfähig.

### **Seitlich ausfahrbare Nadelelektroden**

Ein drittes Konstruktionsbeispiel stellt eine – ähnlich der mechanischen Funktionsweise der LeVeen Elektrode aus Abb. 1.10 – ausfahrbare Elektrode dar, die durch das Gefäß sticht und danach den elektrisch aktiven Teil außerhalb des Gefäßes platziert. Die zweite Elektrode liegt, wie in Variante eins, auf dem Katheter innerhalb des Gefäßes. Wie in Abbildung 4.4 zu sehen, ist durch ein solches Konzept ein im Vergleich zu Variante eins deutlich größerer Bereich außerhalb des Gefäßes mit einer für IRE geeigneten Feldstärke abgedeckt. Auch das Einbringen von mehreren solcher nach außen gerichteten, ausfahrbaren Nadelelektroden – ohne Elektrode innerhalb des Gefäßes – ist eine Bauform, die für sich ringförmig um das Gefäß schließende Tumoren geeignet eignet.

### **Zusammenfassung**

Unter der bislang begründeten Annahme, dass die IRE keine negative Auswirkung auf Gefäße selbst hat, ließen sich nach diesen Konzepten Tumoren inner- oder außerhalb von Gefäßen abtöten, ohne letztere zu beschädigen [Mao07]. Einstichstellen sind beim zuletzt aufgeführten

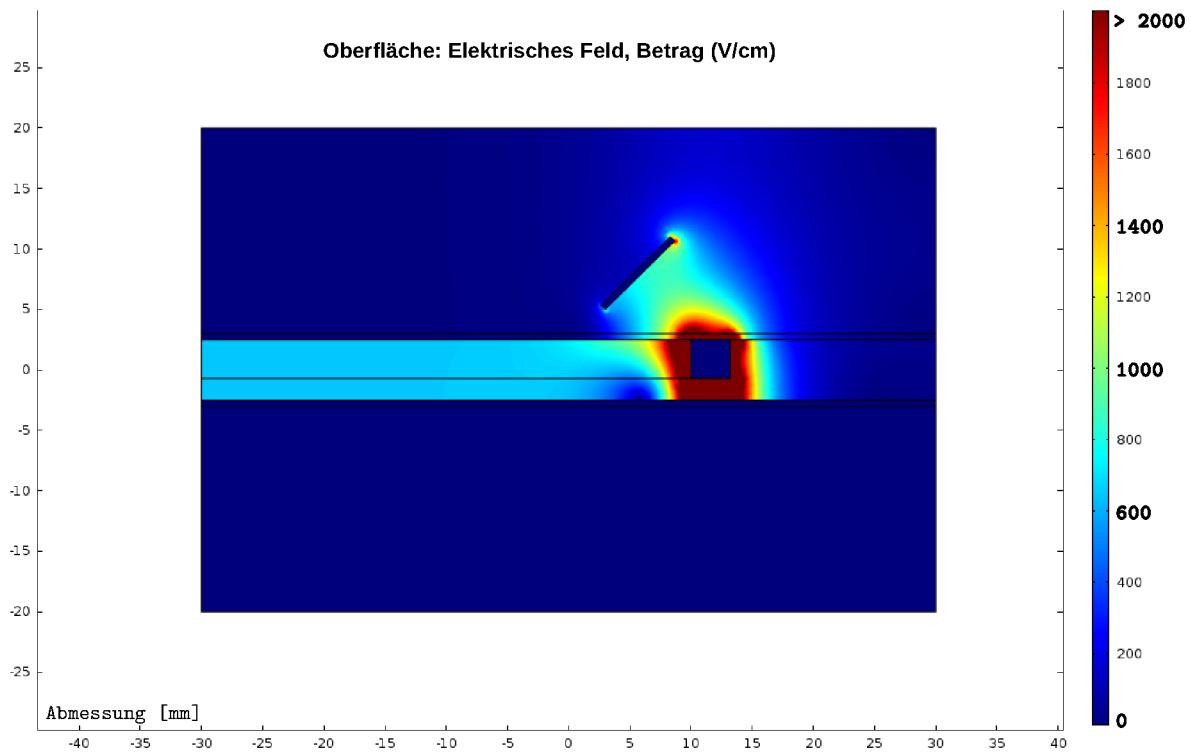


Abbildung 4.4: *Simulation einer konzeptionellen ERS-Sonde analog zu Abb. 4.3, hier jedoch mit Gegenpol-Elektrode außerhalb des Gallengangs.*

Konzept unvermeidbar, aber, wie an Einstichstellen von Spritzen zu sehen, unproblematisch: Die Elektroden sind deutlich dünner als Spritzenadeln konzipiert und eher mit einer Akupunkturnadel vergleichbar, so dass das Gefäß durch seine Elastizität die Einstichstelle sofort wieder verschließt.

## 4.2 Hepatozelluläres Karzinom

Hepatozelluläre Karzinome (Leberkarzinome) befinden sich meist innerhalb des Organs, umhüllt von gesundem Gewebe, und können in erster Näherung als Kugel modelliert werden. Ein solcher Tumor ließe sich per IRE mit einer sphärischen Feldausbreitung abtöten. Nach dem derzeitigen Stand der Technik (NanoKnife, Kap. 1.1.3) werden dazu aber einzeln angesteuerte, starre Nadelelektroden mit anderen Feldgeometrien verwendet (vgl. Kap. 2.1.3).

Zielsetzung der Arbeit war es, ein Elektrodenarray aus verschiedenen angeordneten und gebogenen Nadeln in ein kugelförmiges Modell zu integrieren, so dass die elektrische Feldausbreitung möglichst das gesamte Volumen des Kugelmodells abdeckt. Dafür wurden aus verschiedenen CAD-Modellvariationen Computersimulationen erzeugt. Das im Ergebnis am besten geeignete Modell ist in Abbildung 4.5 zu sehen. Weiterentwicklung, Simulationsergebnisse und Optimierungen sind in Kapitel 5.1.2 beschrieben.

Die beabsichtigte mechanische Funktionsweise soll vergleichbar mit der LeVeen-Elektrode (vgl.

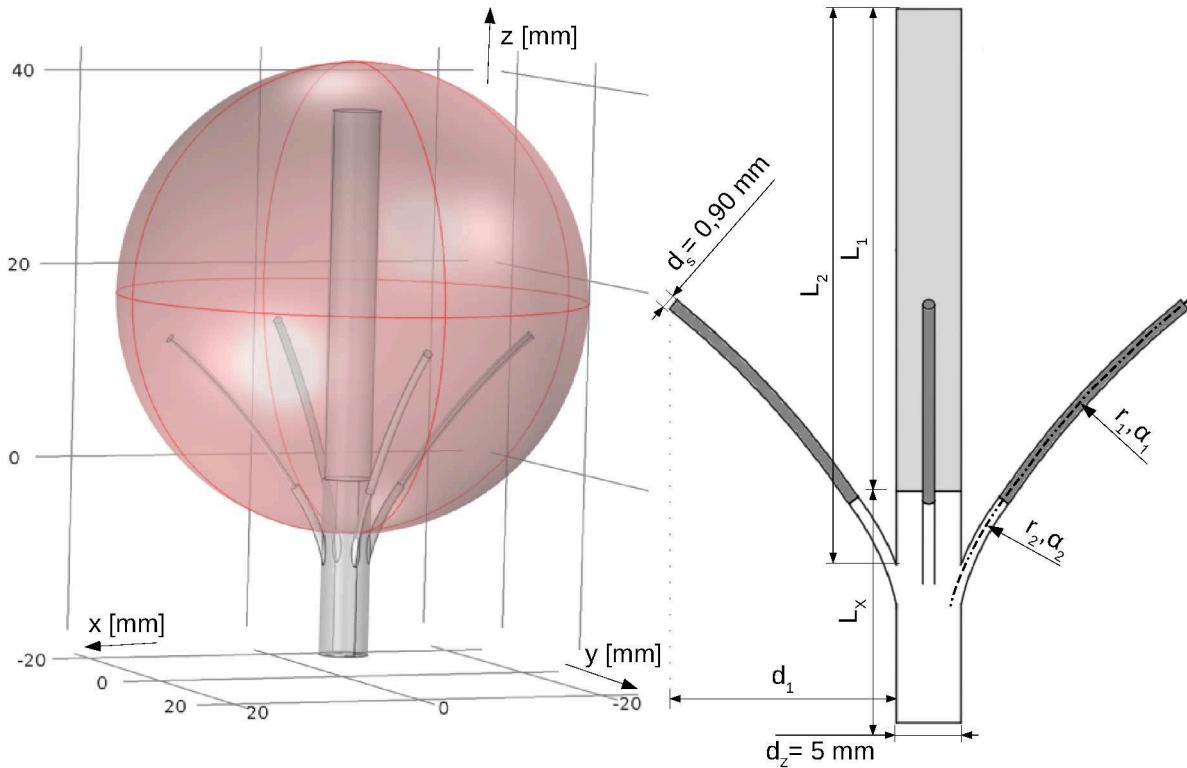


Abbildung 4.5: Links: CAD-Modell der ersten Version einer IRE-Elektrode zur Erzeugung sphärischer Felder in einem Lebertumor (rot), umgeben von gesundem Gewebe (Außenraum). Zu sehen sind eine Zentralelektrode und vier daraus ausfahrbare Satellitenelektroden. Das Modell wurde mit SolidWorks (Dassault Systèmes, Vélizy-Villacoublay, Frankreich) erstellt. Rechts: Konstruktionszeichnung mit variablen Geometrieparametern für die Optimierung. Die eigentliche Elektrode (Metall) ist grau gefärbt, weiß sind isolierte Elektroden bzw. nicht-leitende Teile des Gesamtaufbaus.

Kap. 1.3) sein: Zunächst sticht man eine Sonde in den Tumor (rot) hinein, diese beinhaltet mehrere einzeln ausfahrbare Satellitenelektroden ( $\alpha_1, r_1$ ). Abweichend von der LeVeen-Elektrode ist am Kopf der Sonde zudem eine Zentralelektrode ( $L_1$ ) angebaut (elektrisch aktive Elektroden sind in Abb. 4.5 jeweils grau gekennzeichnet).

Neben der angelegten Spannung wurden Geometrieparameter wie Längen, Krümmungsradien, Abstände (vgl. Abb. 4.5 rechts) und Anzahl der Elektroden auf die Kugelform und den maximal möglichen Ausbreitungsradius des Feldes optimiert. Das Modell ist im Rahmen eines DFG-Projektes (MA-4030/3-1, BR-3912/1-1) in Kooperation mit der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie bis zu einem funktionalen Prototypen weiterentwickelt worden, was Inhalt des folgenden Kapitels ist.

# 5 iECT - Neuartige Sonde und darauf abgestimmte klinische Methode

Dieses Kapitel beschreibt die Entwicklung einer Sonde für die Anwendung der  $\Rightarrow$ ECT an inneren Organen am Beispiel der Leber. Das Projekt erhielt die Bezeichnung  $\Rightarrow$ interstitielle ECT, kurz **iECT**. Nach einer Anforderungsanalyse wird das in Kapitel 4.2 erarbeitete Konzept als Computersimulation vorgestellt und damit die grundsätzliche Machbarkeit nach Datenlage des Literaturstandes belegt. Die Betrachtung möglicher Abweichungen der elektrischen Gewebeeigenschaften von den Literaturwerten wird separat in Kapitel 7 behandelt. Basierend auf dem CAD-Modell wurde ein funktionaler Prototyp aufgebaut, der in Tierversuchen am Schweinemodell erprobt werden wird. Die Entwicklung wurde im Rahmen eines DFG-Projektes (MA-4030/3-1, BR-3912/1-1) in Kooperation mit der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie durchgeführt.

Im weiteren Verlauf wird die klinische Anwendung vorbereitet: Neben der Sonde ist auch der methodische Ansatz, eine kombinierte Anwendung von ECT und IRE, ein Novum. Dabei wird insbesondere die zweite in Kapitel 1.3 genannte Abweichung vom Stand der Technik deutlich, die gleichzeitige bzw. individuelle Ansteuerung von mehreren Elektroden. Aus dieser Anforderung hat sich die Notwendigkeit ergeben, einen neuen Elektroporator zu entwickeln, dessen Beschreibung sich in Kapitel 6 anschließt. Abschließend wurde ein Gütemodell entwickelt, mit dem die Geometrieparameter der Elektrode in Bezug auf ein ideal kugelförmiges Tumorvolumen optimiert werden konnten. Künftig soll damit vor allem der klinische Eingriff selbst vorab am PC geplant, bewertet und patientenindividuell optimiert werden können (*personalized medicine*). Das entwickelte klinische Konzept dazu wird in Kapitel 8 vorgestellt.

## 5.1 Entwicklung der Sonde

### 5.1.1 Anforderungsanalyse und Lösungen

Der Aufbau wurde in Kapitel 4.2 grundlegend vorgestellt, das CAD-Modell in Abbildung 4.5 gezeigt (die im Folgenden angegebenen Maßbezeichnungen beziehen sich auf diese Abbildung). Die Anforderungen an eine Sonde mit diesem Aufbau sehen wie folgt aus:

- Vordefiniert ausfahrbare Elektroden: Die Satellitenelektroden müssen im eingefahrenen Zustand geradlinig in der Sonde liegen und sich beim Ausfahren in einem vordefinierten Krümmungsradius biegen ( $r_1, r_2$ ). Hierfür sind sogenannte Formgedächtnislegierungen

wie Nitinol geeignet. Nitinol wird häufig in der Medizintechnik eingesetzt, vor allem für ⇒Stents [Lac11; Rin13]. Die Biokompatibilität ist damit gewährleistet.

- Applikation von Chemotherapeutika in das Tumorgewebe: Die entwickelte Sonde soll erstmals die ECT am Lebertumor ermöglichen, d. h. nicht nur die elektrische Feldverteilung muss beachtet werden, sondern auch die Zugabe von Chemotherapeutika soll gewährleistet werden. Um dies zu erreichen, sollen die Satellitenelektroden aus einem hohlen Metallrörchen gefertigt werden und fungieren so zusätzlich als Spritzenadeln. Die Sonde vereint damit die Funktion einer Elektrode mit der eines Applikators.
- Elektroden sollen in das Gewebe möglichst leicht einführbar sein: Auf die Zentralelektrode wird eine kegelförmige Spitze aus einem nicht leitenden Kunststoff aufgesetzt, die Satellitenelektroden werden – wie normale Spritzenadeln – angespitzt.
- Der Prototyp ist händisch zu fertigen: Geometrien und Größen müssen ohne Industriestraße, spezialisierte Roboter o. ä. von Hand aufbaubar sein. Zusammen mit den am Projekt beteiligten Oberärzten wurde für den ersten Prototyp daher ein Durchmesser der Zentralelektrode von  $d_Z = 5$  mm gewählt. Der Durchmesser der darin enthaltenen vier Satellitenelektroden soll  $d_S = 0,9$  mm betragen. Dies sind Größenordnungen, die im Tierversuch funktional getestet werden können, obwohl absehbar ist, dass für den später angedachten klinischen Einsatz die Sonde dünner aufgebaut sein muss und ggf. mehr Satellitenelektroden enthalten sollte. Beides stellt bei den Möglichkeiten industrieller Fertigung keine unüberwindbare Hürde dar (vgl. z. B. LeVeen Elektrode [Bos10] oder den ERS-Katheter aus Abb. 4.2).
- Elektrisch einzeln ansteuerbare Elektroden: Um die Feldgeometrien möglichst variabel zu gestalten, sollen alle fünf Elektroden einzeln elektrisch ansteuerbar sein, d. h. auf beliebige Potentiale gelegt werden können.

### 5.1.2 Machbarkeitsanalyse mit Computersimulationen

Das finale CAD-Modell aus Abbildung 4.5 wurde mittels Simulation der elektrischen Feldverteilung entwickelt (vgl. auch Kap. 4.2): Verschiedene Geometriiformen und Anordnungen der Satellitenelektroden (in Relation zur Zentralelektrode) wurden erprobt, um eine Feldverteilung zu erzielen, die einen sphärischen Tumor möglichst ideal abdeckt. Dazu wurde in SolidWorks (Dassault Systèmes, Vélizy-Villacoublay, Frankreich) das jeweilige CAD-Modell erstellt und mit Comsol Multiphysics (COMSOL AB, Stockholm, Schweden) die elektrische Feldstärkeverteilung simuliert. Als Schnittstelle wurde das *LiveLink™ for SolidWorks®* Plugin aus Comsol verwendet, um Änderungen in der Geometrie bidirektional zu synchronisieren.

#### Modellbildung und Parameter

Die Materialzuweisung der einzelnen Domänen erfolgt in Comsol (Lebertumorgewebe entspricht der roten Kugel, gesundes Lebergewebe dem Außenraum) mit den in Kapitel 2.1.6 verwendeten Werten. Die Größenordnung des anvisierten Tumorvolumens ( $50 \text{ cm}^3 \lesssim V_T \lesssim 65 \text{ cm}^3$

bei einem Radius von  $2 \text{ cm} < r_T < 2,5 \text{ cm}$ ) liegt im Bereich von per konventioneller IRE behandelten Tumoren ( $57 \text{ cm}^3 \pm 51$  [Dol14]).

Als Potential wurde  $\Phi_0 = 0 \text{ V}$  (in den Simulationsbildern als – gekennzeichnet) und  $\Phi_+ > 3 \text{ kV}$  (als + gekennzeichnet) vorgegeben: Die Zentralelektrode liegt immer auf  $\Phi_0$ , die Satellitenelektroden liegen wahlweise auf  $\Phi_0$  oder  $\Phi_+$ .

Abschließend wurde der Betrag der elektrischen Feldstärke berechnet und in mehreren Ebenen visualisiert. Dies entspricht grundsätzlich dem Vorgehen in der Literatur (vgl. Kap. 1.1.8), ist aber durch den Einsatz eines vollwertigen CAD-Programms zusammen mit Comsol *LiveLink™ for SolidWorks®* deutlich mächtiger und flexibler.

## Abstraktion

Neben dem als Kugel modellierten Tumor sind in der Simulation weitere Vereinfachungen angenommen worden: Die nicht-leitende Spitze der Zentralelektrode sowie die angespitzten Satellitenelektroden sind in den Simulationen nicht enthalten, da der Einfluss auf die Feldverteilung im äußeren Kugelvolumen und Außenraum als bedeutungslos abgeschätzt werden konnte: Erstens verursachen in der Realität nicht exakt zu treffende Eintrittsstellen im Gewebe sehr viel höhere Abweichungen der Feldverteilung. Zweitens sind in dieser Phase der Forschung kurze Berechnungszeiten wichtiger, als jedes Detail genau nachzubilden. Drittens ist nahe den Elektroden die Feldstärke am größten und damit ohnehin deutlich höher als die Grenzfeldstärke für das Auftreten von irreversibler EP.

## Ergebnisse

Abbildung 5.1 zeigt drei Schnittbilder der Simulationsergebnisse. Auf eine 3D-Darstellung wurde aus Gründen der Komplexität verzichtet. Relevant ist der Abfall der Feldstärke im Außenraum, weniger relevant sind die exakten Werte nahe den Elektroden: Wo sind die Übergänge von irreversibler zu reversibler EP bzw. zum Ausbleiben einer EP? Um das Farbspektrum für die Visualisierung des Abfallens im Fernfeld besser auszunutzen, ist die dargestellte Obergrenze der Feldstärke auf  $2 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  gesetzt. Die Bereiche für irreversible und reversible EP sind in der Legende qualitativ nach [Mik00a] und [Dev00] markiert, exakte Grenzwerte für diese Gewebetypen liegen derzeit nicht vor (vgl. Kap. 1.1.3). Der rote Bereich entspricht Feldstärken von  $2 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  und mehr, in diesem Areal wird daher in jedem Fall irreversibel elektroporiert. Bei Feldstärken unter  $0,4 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$  (blau) kann davon ausgegangen werden, dass keine EP (auch keine irreversible) mehr auftritt. Im Fokus der Darstellung ist der Randbereich, in dem reversible EP angewendet wird (hellblau/türkis bis orange/hellrot): Ein Tumor in der Form einer idealen Kugel und einem Durchmesser von 5 cm wird von dieser Konfiguration bei diesen angelegten Spannungen in der oberen Halbkugel komplett und in der unteren Halbkugel nahezu komplett abgedeckt. Die Sonde hat genug Freiheitsgrade, um auch die nicht abgedeckten Gebiete zu erreichen, z. B. durch weiteres Ausfahren der Satellitenelektroden oder durch erneutes, tiefer angesetztes Elektroporieren: Dazu würden die Satellitenelektroden einfahren, die

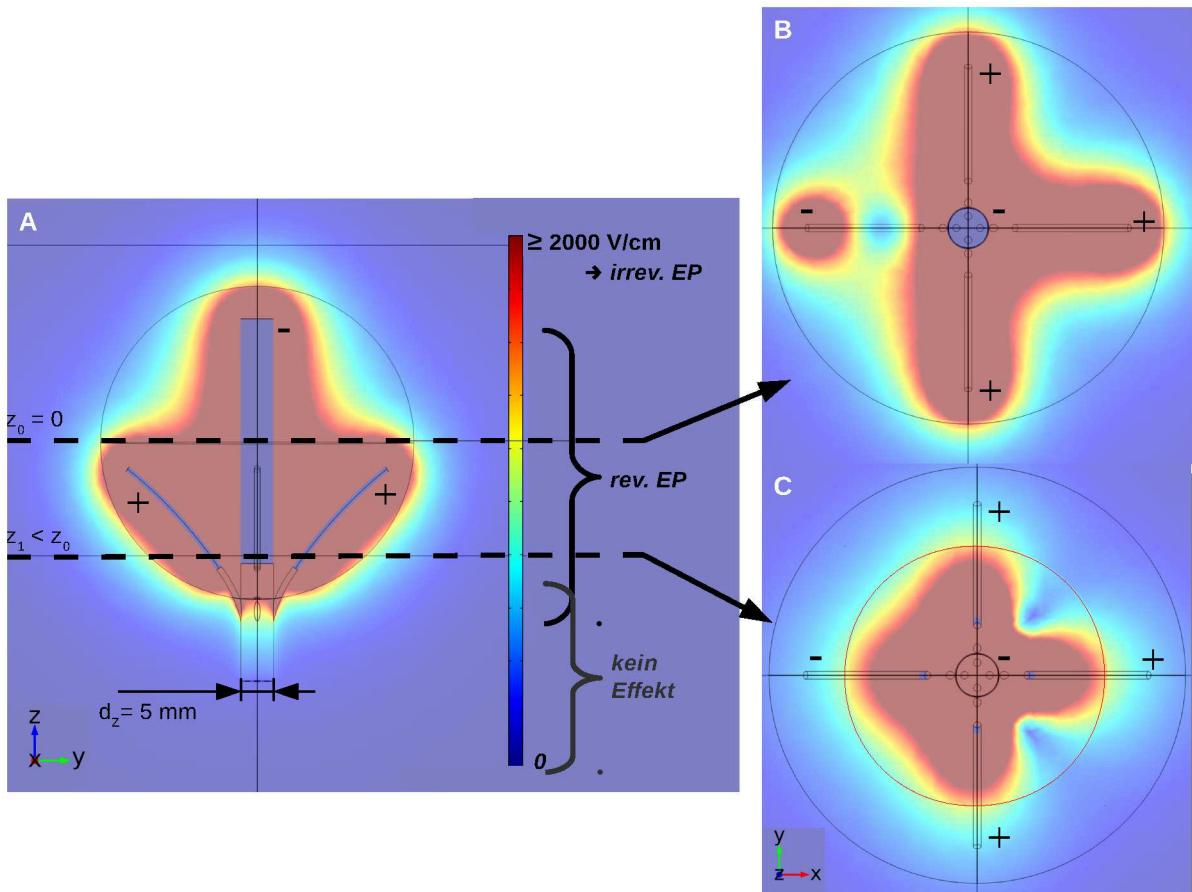


Abbildung 5.1: Simulation der elektrischen Feldverteilung der iECT-Sonde ( $d_z = 5 \text{ mm}$ ) in einem kugelförmigen Lebertumor (CAD-Modell vgl. Abb. 4.5). Die angelegten Potentiale sind  $\Phi_0 = 0 \text{ V}$  (-) und  $\Phi_+ = 3 \text{ kV}$  (+).

- A) Y-Z-Ebene ( $x = 0$ ): Die Bereiche für irreversible und reversible EP sind in der Legende qualitativ markiert. Der Elektrodendurchmesser beträgt  $d_z = 5 \text{ mm}$ , der Tumordurchmesser 5 cm (schwarzer, dünner Kreis).  
 B, C) Schnittbilder der markierten X-Y-Ebenen ( $z_0 = 0 \text{ mm}$ ;  $z_1 = -18 \text{ mm}$ ). Der rote Kreis in C entspricht dem Umfang der angeschnittenen Kugel in der Ebene  $z_1$ .

Sonde einige Millimeter tiefer eingeschoben und dort die Satellitenelektroden wieder ausfahren werden. Denkbar wären auch längere Satellitenelektroden, diese würden dann aber auch mehr gesundes Gewebe im Außenraum beschädigen. Abschließend muss der Arzt beurteilen, welche Prioritäten in welchen Bereichen zu setzen sind. Um den Eingriff bewerten und optimieren zu können, wurde ein Gütemodell entwickelt, das durch gewichtete Berechnungen eine Bewertung und Optimierung ermöglicht (vgl. Kap. 5.2.3). Im Vergleich zur Darstellung der Computersimulation ist eine Bewertung auf Basis einer berechneten Größe nicht nur intuitiver durchzuführen, sondern auch objektiver.

### 5.1.3 Variation der Potentiale

Die hier vorgestellte Elektrodenkonfiguration für die Anwendung an inneren Organen unterscheidet sich in wesentlichen Punkten vom Stand der Technik: Erstens handelt es sich nicht um starre, geradlinige Nadelelektroden. Zweitens sollen mehr als zwei Elektroden gleichzeitig beschaltet werden. Dies führt zu deutlich komplexeren Varianten der Feldgeometrie und damit zu deutlich mehr Variabilität in der erreichbaren Tumorabdeckung.

Darüber hinaus kann die Geometrie auch noch über den Tausch der angelegten Potentiale weiter angepasst werden: Die Ausgangsbelegung ist das Potential  $\Phi_0$  an der Zentralelektrode und das Potential  $\Phi_+$  an allen Satellitenelektroden. Bei diesem Kugelmodell ist eine achsensymmetrische Feldausbreitung in der X-Y-Ebene die Folge. Legt man jedoch an eine der vier Satellitenelektroden das Potential  $\Phi_0$  wie an der Zentralelektrode an, erhält man die unsymmetrische Feldausbreitung in Abbildung 5.1B, C: Das Feld links der Y-Achse (II. und III. Quadrant) deckt die Randbereiche des Kreises besser ab, lässt andererseits aber einen unpolierten Bereich ( $|\vec{E}| \rightarrow 0$ ) zwischen Zentral- und linker Satellitenelektrode. Rechts der Y-Achse (I. und IV. Quadrant) ist das Feld in den Randbereichen des Kreises für eine EP zu schwach, zwischen den Elektroden aber ausreichend stark.

Der kugelförmige Tumor soll möglichst großflächig mit für EP ausreichender Feldstärke abgedeckt werden, ohne die Geometrie der Elektroden zu verändern. Daher ist es beabsichtigt, eine solche Polung rotieren zu lassen, d. h. jeweils einmal das Potential  $\Phi_0$  an jeder Satellitenelektrode anzulegen und insgesamt vier Mal das Pulsprotokoll ablaufen zu lassen.

Zur Verdeutlichung, welche Feldgeometrien alleine durch wechselndes Anlegen zweier Potentiale  $\Phi_0$  und  $\Phi_+$  möglich sind, zeigt Abbildung 5.2 die Feldverteilung bei fünf möglichen Polungsvarianten. Zusätzlich sind unsymmetrische Tumorausbreitungen mit der Einführung weiterer Potentiale realisierbar, z. B.  $\Phi_0 = 0\text{ V}$ ,  $\Phi_1 = 2\text{ kV}$  und  $\Phi_2 = 3\text{ kV}$ . Konkrete Optimierungen an echten Tumormodellen sind mit der Simulationsumgebung Comsol durchführbar (vgl. Kap. 8), ergeben aber erst Sinn, wenn die beabsichtigte Funktionsweise der Sonde auch praktisch nachgewiesen ist (Tierversuch) und offene Fragestellungen bzgl. der EP an Tumorgewebe (genauere Grenzwerte, elektrische Gewebeigenschaften, vgl. Kap. 7) geklärt sind.

### 5.1.4 Prototyp

Aus der CAD-Zeichnung (Abb. 4.5) wurde ein funktionaler Prototyp gefertigt, der die in Kapitel 5.1.1 aufgestellten Anforderungen erfüllt. Abbildungen 5.3 und 5.4 zeigen die Sonde in der Gesamtansicht sowie Detailansichten der Front. Die mechanische Funktionsweise geht aus Abbildung 5.5 hervor: Mit je einer Hand hält man die Sonde und deren Zuleitungskopf, durch leichten Druck bzw. Zug können die Satellitenelektroden aus- bzw. eingefahren werden.

Der Sonden-Katheter besteht aus einem 25 cm langen Rohr aus 1.4301 Edelstahl [Deu15a] (wie auch in anderen Medizinprodukten verwendet [Inf09], z. B. chirurgischer Nadeldraht von Zapp Precision Metals GmbH, Schwerte). Der Durchmesser beträgt  $d_Z = 5\text{ mm}$ . Auf der Front (in den Abbildungen links, braun) ist eine kegelförmige Spitze aus Polyetheretherketon (PEEK,

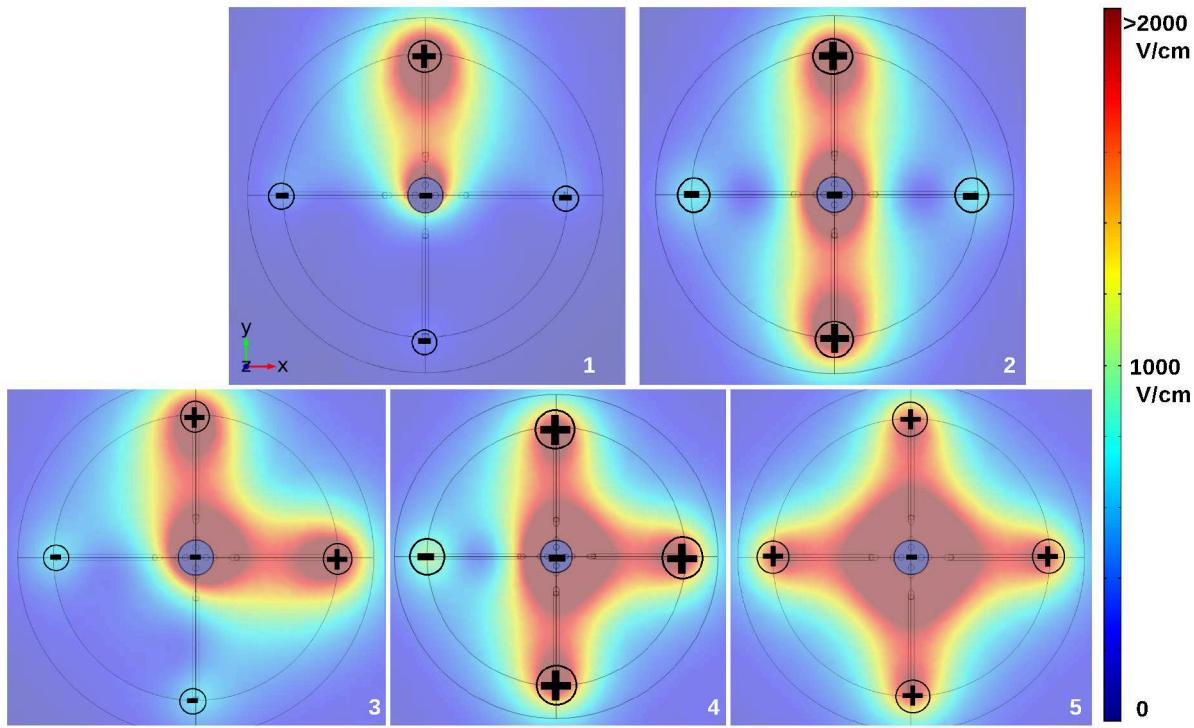


Abbildung 5.2: *Simulation der elektrischen Feldverteilung wie in Abb. 5.1B für  $z_2 = -7 \text{ mm}$  und Variation der Potentiale*

biokompatibel und wiederholt sterilisierbar [Kur11]) angebracht, die das perkutane Einstechen erleichtert, ohne dabei Einfluss auf die Feldverteilung zu nehmen. Die Zentralelektrode ist der vordere, nicht isolierte Teil des innen hohlen Sonden-Katheters (37,5 mm). Im Inneren davon verlaufen Führungsschienen aus Kunststoff für die vier Satellitenelektroden (vgl. Abb. 5.4 weiß).

Die Satellitenelektroden sind aus einem  $d_S = 0,9 \text{ mm}$  dicken Nitinol Rohr (SE 508 C, Formgedächtnislegierung) hergestellt. Durch Wärmebehandlung in einer Glühform wurde der superelastischen Ruheform der Rohre die in Abbildung 5.7 gezeigte Geometrie eingeprägt. Die Front ist analog zu Spritzenadeln angespitzt, so dass sich die Elektroden leicht in das Gewebe hinein ausfahren lassen. Alle vier Satellitenelektroden sind mit handelsüblichem Krankenhausverbrauchsmaterial an Spritzen angeschlossen (gelbe Anschlussstücke in Abb. 5.3), die durch die Elektroden hindurch das Chemotherapeutikum an der Front applizieren.

Der elektrisch nicht aktive Teil der fünf Elektroden ist mit transparentem Teflonschlauch isoliert. Die übrigen Maße werden nach der Optimierung durch das im weiteren Verlauf eingeführte Gütemodell genannt (vgl. Kap. 5.2.3 und Abb. 5.7).

Der Prototyp wurde der Uniklinik RWTH Aachen in einer Erfindungsmeldung vorgestellt.

### 5.1.5 Ex-vivo-Versuchsreihe zur Evaluierung der Sonde

Es wurde eine Versuchsreihe an totem Lebergewebe (explantierte Rinderleber) durchgeführt, um herauszufinden, ob die beabsichtigte Behandlung unerwünschte thermische Schädigungen

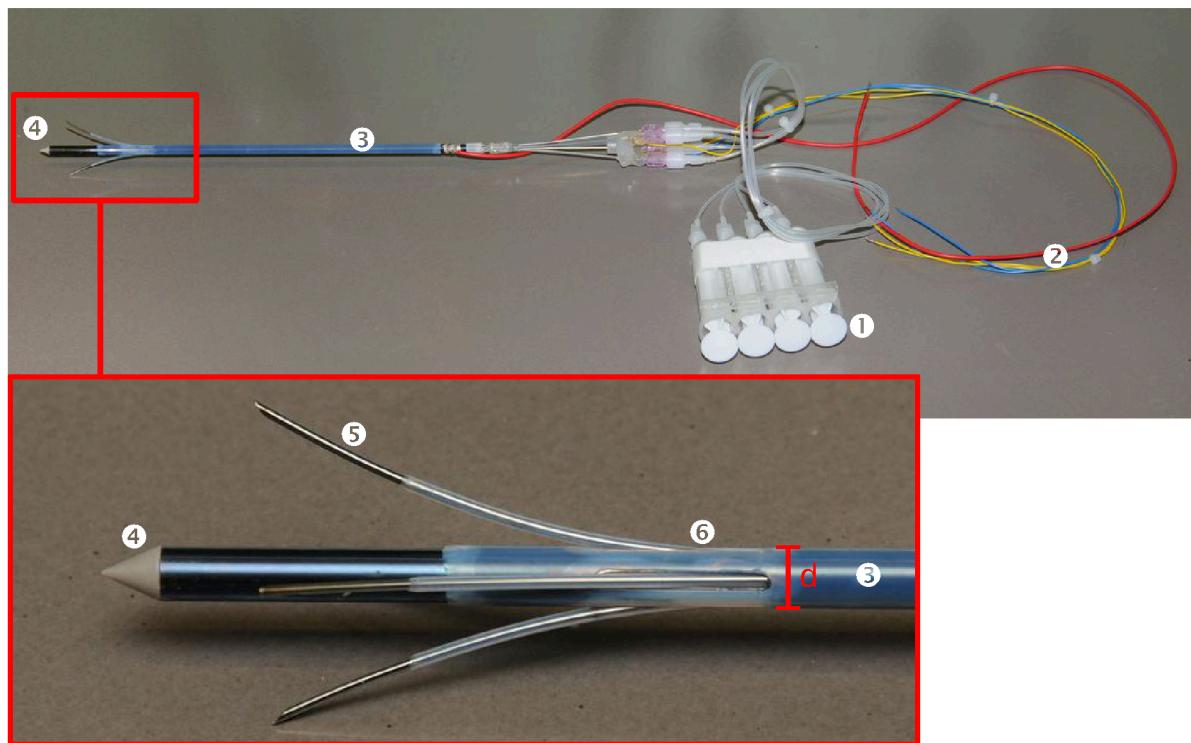


Abbildung 5.3: *Prototyp der entwickelten iECT-Sonde. Oben: Gesamtansicht mit Spritzen und Zuleitungsschläuchen (1) für das Chemotherapeutikum, elektrische Zuleitungen (2), mit Teflon überzogener Sonden-Katheter aus Edelstahl (3) mit integrierten Satellitenelektroden, Zentralelektrode (ca. vordere 4 cm) und aufgesetzter Spitze aus Kunststoff (4). Unten Vergrößerung der Front mit ausgefahrenen Satellitenelektroden aus Nitinol (5) und deren Führungsschienen / Öffnungen (6). Letztere sind in Abb. 5.4 genauer zu sehen.*



Abbildung 5.4: *Ansicht wie in Abbildung 5.3 unten, jedoch mit eingefahrenen Satellitenelektroden. Zu erkennen sind die Führungsschienen (weiß) und die Spitze einer Satellitenelektrode.*

am Gewebe verursacht. Eine EP kann an totem Gewebe prinzipiell nicht nachgewiesen werden, durch Hitze verursachte Beschädigungen sind jedoch optisch klar erkennbar. Weiterhin sollte die Handhabbarkeit des Prototyps an realem Lebergewebe erprobt werden. Die Versuche wurden mit dem Prototyp aus Abbildung 5.3 und dem dafür beschafften Elektroporator ECM 830 (BTX Instrument Division, Harvard Apparatus, Inc., Holliston, USA) durchgeführt.

Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 5.6 zu sehen. Versuche mit Spannungen über  $U = 2250\text{ V}$  wurden – auch bei kürzeren Impulsbreiten – durch einen Spannungsüberschlag während der ersten 20 Impulse abgebrochen; der ECM 830 zeigt dann „arc detected“ an und schaltet ab. Bei  $U = 2250\text{ V}$  wurden 70 Impulse mit je  $t = 100\text{ }\mu\text{s}$  und  $T = 200\text{ }\mu\text{s}$  erfolgreich auf die Elektrode gegeben, während sie an verschiedenen Positionen in der Leber steckte. Anschließend wurde das Gewebe an den Elektroden-Einstichstellen aufgeschnitten und auf thermische Veränderung hin untersucht.

Die Handhabung des Prototyps hat sich in der Versuchsreihe bewährt: Das Einstechen der Sonde in die Leber sowie das Ausfahren der Satellitenelektroden innerhalb des Gewebes waren problemlos möglich, damit ist der Prototyp auch für kommende Tierversuche geeignet.

Auch die Erwartung, keine durch thermische Effekte verursachten Verbrennungen im Gewebe vorzufinden, insbesondere nahe den Elektroden, wurde erfüllt. Qualitativ konnten auch keine Temperaturveränderungen an den Einstichstellen festgestellt werden. Damit kann die Ursache für das Abtöteten von Gewebe in künftigen Tierversuchen – zumindest für Spannungen bis  $U = 2250\text{ V}$  – direkt auf Effekte der EP zurückgeführt werden.

## 5.2 Entwicklung der klinischen Anwendung

Die hier vorgestellte Elektrodenkonfiguration kann sowohl als  $\Rightarrow$ IRE- wie auch als  $\Rightarrow$ ECT-Elektrode eingesetzt werden. Es kann nach aktuellem Stand des Wissens zusammen mit den Ergebnissen der zuvor geschilderten Untersuchungen davon ausgegangen werden, dass das abgetötete Gewebeareal grundsätzlich eine Geometrie aufweist, die der berechneten Feldverteilung der Simulationsbilder entspricht (vgl. Abb. 5.1). Der experimentelle Nachweis dieser These ist der erste Schritt auf dem Weg in die klinische Anwendung.

### 5.2.1 Kombinationstherapie aus IRE und ECT

Wird nur elektroporiert (IRE), müsste das Areal von totem Gewebe im orangen/gelben Bereich der Abbildung 5.1 enden. Wenn in die Randbereiche zusätzlich Chemotherapeutika appliziert werden (ECT), sollte sich das Areal von totem Gewebe bis hin zu den türkisen/blauen Gebieten ausbreiten.

Es ist medizinisch umstritten, ob es sich bei dieser Methode um eine Kombinationstherapie aus IRE und ECT handelt, oder nur um ECT. Nach persönlicher Aussage von Luis M. Mir (BioEM 2015) sterben bei der ECT mit Nadelelektrodenarrays im direkten Umfeld der Nadelelektroden auch Zellen durch irreversible EP (vgl. Abb. 1.9), da in diesen Bereichen das Feld am stärksten ist und IRE-Charakter hat. Entsprechend sieht er die hier vorgestellte Behandlung

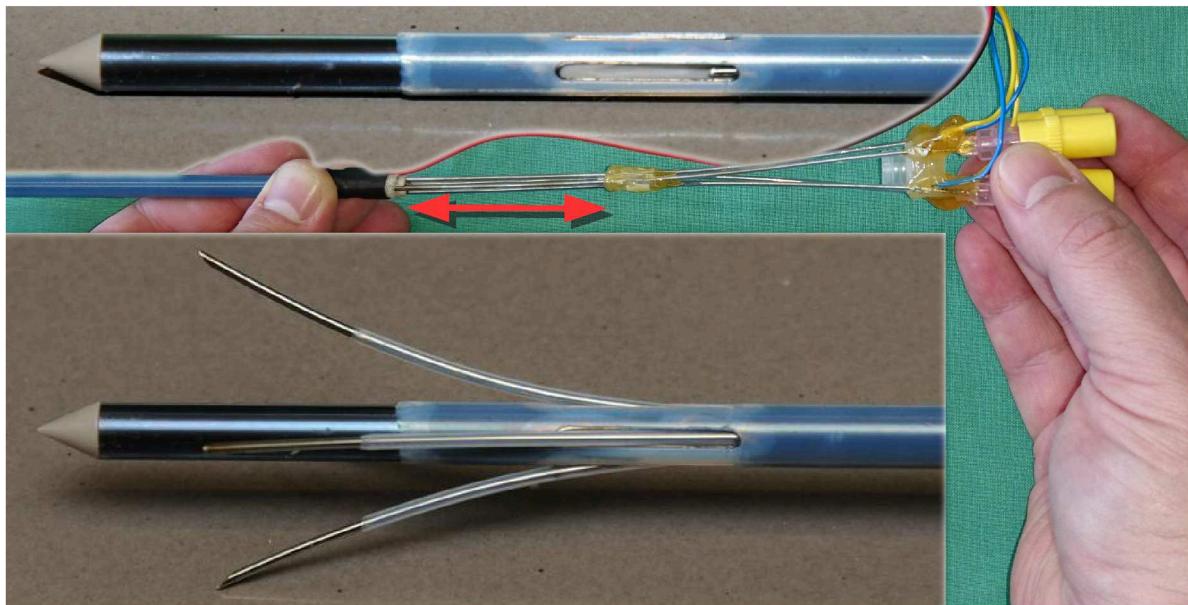


Abbildung 5.5: Schematische Darstellung der Funktionsweise des entwickelten Prototypen: Durch Verschieben des Zuleitungskopfes werden die Satellitenelektroden ein- (oben) bzw. ausgefahren (unten).

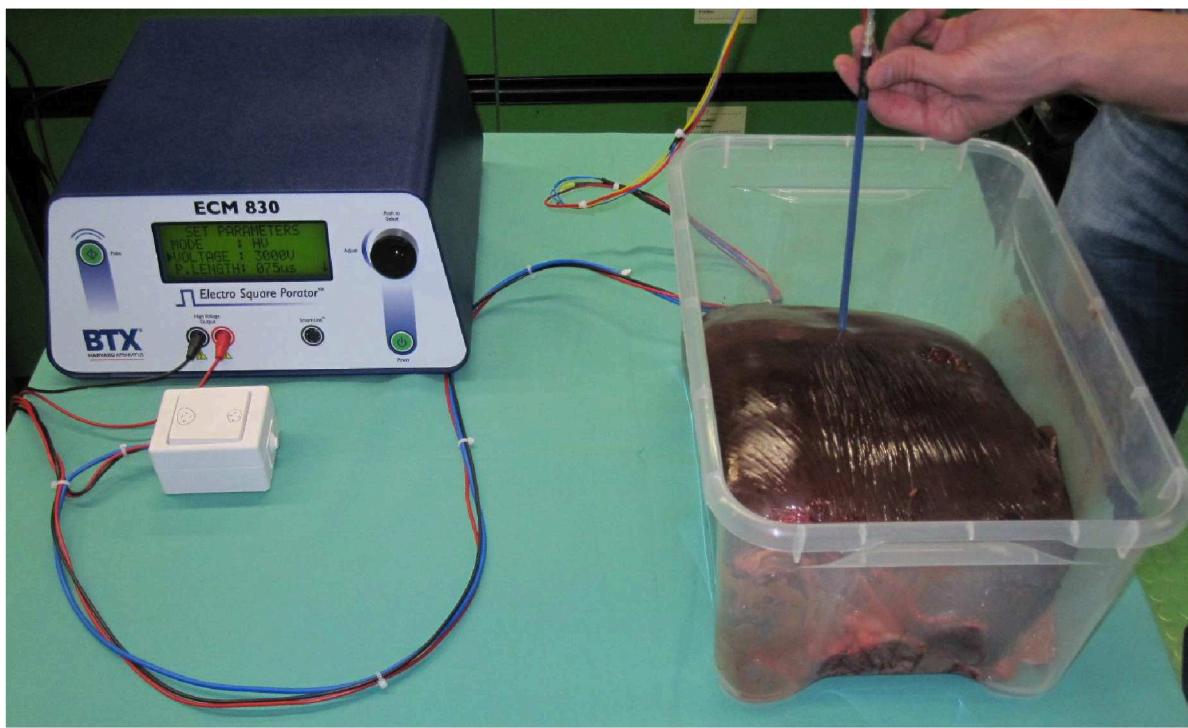


Abbildung 5.6: Versuchsaufbau: Prototyp eingestochen in einer explantierten Rinderleber

ausschließlich als ECT an. Allerdings sind bei der ECT diese IRE-Felder unerwünschte Nebeneffekte und treten in vergleichsweise kleinen Gebieten auf. Ziel ist das möglichst großflächige Abtöten mit reversibler EP und Chemotherapeutika.

Die hier vorgestellte Methode zielt jedoch darauf ab, den inneren Bereich des Tumors (ca. 80 % des Durchmessers) mit IRE abzutöten, und durch die Kombination mit ECT den Wirkradius zu erweitern (Außenbereich), so dass in dieser Arbeit und von den kooperierenden Ärzten die Auffassung vertreten wird, es als Kombinationstherapie aus IRE und ECT anzusehen.

### 5.2.2 Studiendesign zur Evaluierung der Sonde und der Methode

Ziel der Studie ist der experimentelle Nachweis im Tierversuch, ob sich 1. eine mit den Simulationsbildern übereinstimmende Geometrie des abgetöteten Gewebes ergibt, und 2. ob sich durch Zugabe von Chemotherapeutika das Areal wie im vorherigen Absatz geschildert vergrößern lässt. Den Kooperationspartnern liegt dazu ein genehmigter Tierversuchsantrag vor. Am Großtiermodell (Schwein) soll die Sonde in der Leber an verschiedenen Positionen Gewebe abtöten, jeweils mit und ohne Chemotherapeutika. In dieser Evaluierung wird nicht mit einem Tumormodell gearbeitet, um die Versuchsreihe möglichst frei von weiteren Variablen zu halten und sich auf die beiden o.g. Ziele zu konzentrieren. Auch Fragestellungen bzgl. der Permittivität von Tumorgewebe sind damit zunächst ausgeklammert. Ein Tumormodell mit der Fragestellung, ob sich Tumoren gezielter mit 1. der Sonde und 2. der Kombination aus ECT und IRE abtöten lassen, ist mittelfristiges Forschungsziel eines nach Abschluss dieser Versuchsreihe zu planenden Folgeversuches.

Der Aufbau der Studie orientiert sich an [Nie12], die Evaluierung wird primär an CT-Bildern wie in [Dol14] erfolgen. Ein zusätzlicher Vergleich von pathologischen Gefrier- oder Paraffinschnitten mit Schnittbildern der Simulation ist ebenfalls beabsichtigt, aufgrund der nicht trivialen Identifizierung der korrekten Ebene in der Leber des Versuchstieres (1. orthogonal zum Sonden-Katheter; 2. korrekte z-Koordinate) aber nur eine zusätzliche optionale Auswertungsmethode.

### 5.2.3 Entwicklung eines Gütemodells

Die Definition eines Gütebegriffes dient dazu, die Elektrodenanordnung im Hinblick auf eine optimale Elektroporation des Tumorgewebes (und somit eine optimale Behandlung für den Patienten) zu bewerten. Mit Hilfe der Güte können später verschiedene Elektrodenkonfigurationen quantitativ miteinander verglichen und hinsichtlich ihrer Geometrieparameter optimiert werden.

Das Gütemodell soll bewerten, wie viel Prozent eines Tumors mit einem ausreichend großen Feld für irreversible EP (IRE) abgedeckt werden, wie viel Prozent des verbleibenden Tumorareals einem ausreichend großen Feld für die reversible EP (ECT) ausgesetzt ist, und wie groß das Volumen von gesundem Gewebe ist, das zusätzlich abgetötet wird. Der Idealfall

wäre, dass 100 % des gesamten Tumorgewebes zerstört wird und das gesunde Gewebe komplett erhalten bleibt. Selbst wenn dieser Idealfall abgebildet werden kann, wird der Arzt in der Praxis die Parameter so wählen, dass ein Randbereich an gesundem Gewebe unmittelbar um das Tumorgewebe als Sicherheitsabstand ebenfalls mit abgetötet wird. Wichtungsfaktoren sollen daher das Gütemodell an die jeweilige Aufgabenstellung anpassbar machen. Dabei wurde berücksichtigt, dass das Gewebe bei der IRE in jedem Fall zerstört wird, während bei der ECT gezielter das Tumorgewebe abgetötet wird.

## Modellbildung

Für das Gütemodell werden drei Volumenbereiche definiert: **Tumorgewebe**  $V_T$ , **gesundes Gewebe**  $V_G$  und um das Tumorgewebe herum ein **Randbereich**  $V_R$  der Breite  $R_d$ . Im Falle des abstrahierten Kugelmodells (vgl. Abb. 4.5, Radius  $R_K = 25$  mm) wird der Randbereich als innere Kugelschale der Breite  $R_d = 5$  mm definiert. Damit lassen sich die Volumina berechnen zu:

$$V_T = \frac{4}{3}\pi (R_K - R_d)^3 \approx 33\,510 \text{ mm}^3 \quad (5.1)$$

$$V_R = \frac{4}{3}\pi (R_K^3 - (R_K - R_d)^3) \approx 31\,940 \text{ mm}^3 \quad (5.2)$$

Die **Variable**  $p$  definiert den Anteil des Randbereiches in Prozent, der unporiert bleiben darf. Für die folgende Optimierung wurde ein Wert von  $p = 5\%$  angenommen. Zudem soll aus den in Kapitel 1.1.6 genannten Argumenten der Randbereich nicht irreversibel elektroporiert werden, da er per Definition auch gesundes Gewebe enthält. Die Grenzwerte für reversible (1.3) und irreversible (1.4) EP wurden [Mik00a] entnommen (vgl. Kapitel 1.1.3). Um die Auswirkungen des Fehlers der numerischen Berechnung mit COMSOL auf die elektrische Feldstärke zu berücksichtigen, werden entsprechend auf- bzw. abgerundete Ober- und Untergrenzen verwendet. Die **Gütekriterien** sind damit wie folgt definiert:

1. 100 % von  $V_T$  muss mit  $E > E_{rev+} \approx 400 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  abgedeckt sein.
2.  $(100 - p)\%$  von  $V_R$  müssen mit  $E > E_{rev+} \approx 400 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  abgedeckt sein.
3.  $V_R$  soll  $E_{irrev+} \approx 700 \frac{\text{V}}{\text{cm}} > E > E_{rev+} \approx 400 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  ausgesetzt sein.
4. In  $V_G$  sollte nicht mehr als  $E < E_{rev-} \approx 300 \frac{\text{V}}{\text{cm}}$  auftreten.

Die **Güte**  $G$  wird als rationale Zahl zwischen Null und 100 definiert ( $0 \leq G \leq 100$ ). Die maximale Güte  $G = 100$  wird im o.g. Idealfall erreicht, wenn zudem  $(100-p)\%$  des Randbereiches reversibel elektroporiert wurden. Alle Abweichungen werden gewichtet vom Maximum abgezogen. Ergibt sich rechnerisch eine Güte  $G < 0$ , so wird  $G$  zu Null gesetzt.

Die vollständige Zerstörung des Tumors ist das primäre Ziel der Behandlung, daher wird die Güte als Null definiert ( $G = 0$ ), wenn nicht der gesamte Tumor elektroporiert wird (vgl. Kriterium 1). Bleiben mehr als  $p\%$  des Randbereichs unporiert, wird die Güte ebenfalls als Null definiert (vgl. Kriterium 2). Wird der Randbereich irreversibel elektroporiert, soll die Güte

etwas geringer ausfallen (vgl. Kriterium 3), da der Randbereich auch gesundes Gewebe enthält und somit die ECT gegenüber der IRE die geeigneter Methode ist (vgl. Kap. 1.1.6). Zudem sollte die Feldstärke gerade im Randbereich auf das Niveau reversibler EP abgefallen sein, da 1. genau in diesen Bereich das Chemotherapeutikum appliziert wird und 2. hinter dem Randbereich das gesunde Gewebe liegt, d. h. bis zu dieser Grenzfläche ( $V_R|V_G$ ) die Feldstärke im Idealfall weiter auf  $E < E_{rev-}$  abgefallen sein sollte. Eine höhere Güte soll auch mit einer geringeren Schädigung des gesunden Gewebes außerhalb des Randbereiches einhergehen (vgl. Kriterium 4). Die Güte wird ebenfalls als Null definiert, wenn zwar der gesamte Tumor zerstört, dafür aber innerhalb des gesunden Gewebes mindestens das vierfache Tumorvolumen irreversibel oder mindestens das zehnfache Tumorvolumen reversibel elektroporiert wird.

Zur Berechnung der Güte müssen somit **fünf Volumina** bestimmt werden:

1.  $V_{T,unp}$  : unporierter Anteil des Tumorvolumens  $V_T$  (vgl. Kriterium 1)
2.  $V_{R,unp}$  : unporierter Anteil des Randbereichs  $V_R$  (vgl. Kriterium 2)
3.  $V_{R,irrev}$  : irrev. elektroporierter Anteil des Randbereichs  $V_R$  (vgl. Kriterium 3)
4.  $V_{G,irrev}$  : irrev. elektroporierter Anteil des gesunden Gewebes  $V_G$  (vgl. Kriterium 4)
5.  $V_{G,rev}$  : rev. elektroporierter Anteil des gesunden Gewebes  $V_G$  (vgl. Kriterium 4)

Mit diesen Volumina wurde die Güte  $G$  zu folgender Formel definiert, wobei  $N$  die prozentuale Anzahl der Raumpunkte in dem jeweiligen Volumen beschreibt:

$$G = \begin{cases} 0, & \text{falls } N_{T,unp} > 0 \text{ oder } \frac{N_{R,unp}}{N_R} > p\% \\ 100 - \left( 100 \frac{V_{R,unp}}{N_R} + 25 \frac{N_{G,irrev}}{N_T + N_R} + 10 \frac{N_{G,rev}}{N_T + N_R} + 1 \frac{N_{R,irrev}}{N_R} \right), & \text{sonst} \end{cases} \quad (5.3)$$

Die Wichtungsfaktoren (grau) lassen sich je nach Problemstellung und Beschaffenheit von Tumor bzw. umliegendem Gewebe individuell anpassen.

## Umsetzung

Die Umsetzung des Gütemodells erfolgt mit Comsol und einem C++ Programm (Sourcecode ist in Anhang F abgedruckt): Comsol errechnet die elektrische Feldstärke für einzelne Kontrollpunkte mit Abstand 1 mm im dreidimensionalen Raum und schreibt diese in eine Textdatei. Das C++ Programm liest diese Datei aus und ermittelt anhand vorher definierter Geometrieparameter, welcher Punkt in welchem Volumen ( $V_T, V_R, V_G$ ) liegt. Die Raumpunkte werden entsprechend Kapitel 5.2.3 zugeordnet ( $V_{T,unp}, V_{R,unp}, V_{R,irrev}, V_{G,irrev}, V_{G,rev}$ ), anhand der Anzahl an Raumpunkten je Volumen die prozentualen Werte berechnet ( $N_{T,unp}, N_{R,unp}, N_{R,irrev}, N_{G,irrev}, N_{G,rev}$ ).

Der Fehler auf die von Comsol berechneten elektrischen Feldstärken konnte durch den Vergleich von analytischer und numerischer Berechnung auf Schnittlinien eines vereinfachten Modells auf ca. 1,3 % eingegrenzt werden. Weiterhin wurde der Fehler durch Verwendung der

Elementgröße „Extra fein“ mit Hilfe der Standardabweichung der Differenz („Extrem fein“ – „Extra fein“) sowie der Fehler durch das verwendete Punktraster von 1 mm betrachtet. Insgesamt konnte dabei der Fehler auf < 5 % abgeschätzt werden (detaillierte Fehlerrechnung siehe [Men12]).

### Optimierung der Elektrode

Um das Gütemodell zu evaluieren, wurden damit die Geometrieparameter der zuvor entwickelten Sonde auf das Kugelmodell optimiert. Mit der daraus resultierenden Parameterstudie wurde zudem der Einfluss der jeweiligen Geometrieparameter auf die Güte untersucht: Abweichungen, wie sie bei der Fertigung der Elektroden oder der späteren medizinischen Anwendung auftreten, sollten die Güte nicht wesentlich ändern. Wenn z. B. der Einstich oder die Krümmung einer Satellitenelektrode nicht mehr als 0,1 mm abweichen darf, ohne dass die Güte stark abfällt, wäre die Sonde nicht praxistauglich.

Die Optimierung wurde mit dem Programmcode aus Anhang F durchgeführt. Die Geometrieparameter und Volumengrößen sind anpassbar, aber ausschließlich für eine kugelförmige Geometrie ausgelegt. Eine zweite Version für beliebige Geometrien (z. B. reale CAD-Modelle aus medizinischen Bilddaten) existiert bereits und wird aktuell evaluiert.

Mit dem Gütemodell wurden die Geometrieparameter auf das Kugelmodell optimiert, die idealen Maße sind in Abbildung 5.7 dargestellt. Exakte Zahlenwerte der Gütebestimmung je Parameter und Wert sind in Anhang G gelistet. Abweichungen um wenige Millimeter der einzelnen Parameter haben einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Güte ( $\Delta G < 1$ ).

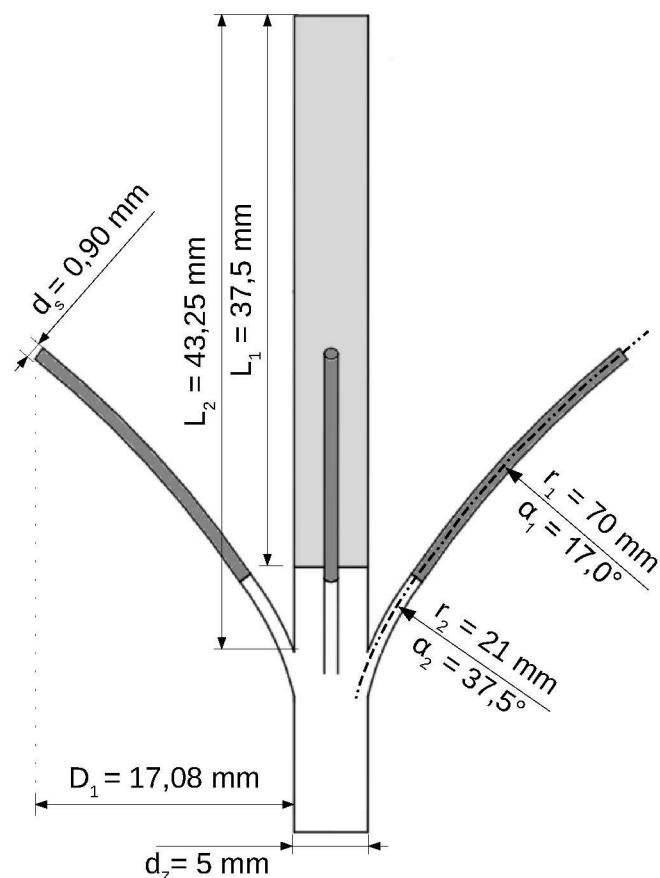


Abbildung 5.7: Maße des mit dem Gütemodell optimierten Prototyps

# 6 Entwicklung eines experimentellen Elektroporators

Die multipolare Ansteuerung der im vorherigen Kapitel gezeigten iECT-Sonde erfordert die Entwicklung eines neuen Elektroporators, der die notwendigen elektrischen, experimentellen und klinischen Ansprüche erfüllt. In diesem Kapitel ist die Entwicklung der einzelnen Komponenten aufgeführt: Ausgehend von der Anforderungsanalyse werden im weiteren Verlauf zunächst die Hochspannungserzeugung und -schaltung beschrieben, die in Kooperation mit dem Institut für Hochspannungstechnik (IFHT) entwickelt wurden. [Kul14; May14] Die zweite Komponente beinhaltet die Ansteuerung der Elektroden, bei der mit dem Institute for Networked Systems (iNets) zusammengearbeitet wurde. [Lüt15]

## 6.1 Anforderungsanalyse

Derzeit erhältliche Elektroporatoren können in zwei Kategorien eingeteilt werden: EKG-geführte Geräte für eine Intervention an inneren Organen und Geräte ohne EKG-Triggerung für Hauttumore und Labornutzung. Stellvertretend sind in der Einleitung zwei Modelle beschrieben worden (vgl. Kap. 1.1.3): Das *AngioDynamics NanoKnife* bietet EKG-Triggerung, ist aber nicht frei konfigurierbar und kann auch nicht mit anderen als den herstellereigenen Nadelelektroden betrieben werden (proprietärer Anschluss mit Chip-Dongle, vgl. Abb. 1.3). Der *Harvard Apparatus ECM 830* ist frei konfigurierbar (Amplitude, Pulsbreite, Pulsabstand, Anzahl Pulse) und ist für die klinische Anwendung der ECT an Hauttumoren sowie Labornutzung geeignet (das Modell wurde auch bei den Versuchen in Kapitel 3 eingesetzt).

Für die im Verlauf der Entwicklungsarbeiten erforderlichen Tierversuche<sup>1</sup> muss ein Elektroporator zwei notwendige Bedingungen erfüllen: 1. Alle Elektroden der Sonde müssen einzeln auf definierte Potentiale gelegt werden und 2. die Pulserzeugung muss durch ein EKG-Signal triggerbar sein. Diese Anforderungen werden von keinem kommerziellen Produkt erfüllt. Die erste Entwicklungsstufe sieht zwei Potentiale vor ( $\Phi_0$  oder  $\Phi_+$ ). Mehr als zwei ist zwar die Zielsetzung, soll aber erst in einem Folgeprojekt nach Fertigstellung umgesetzt werden. Zunächst steht die grundlegende Funktionsweise (Pulserzeugung, Steuerung) im Mittelpunkt.

Bei der Entwicklung wird vorausgesetzt, dass das EKG-Signal als analoges Spannungssignal

<sup>1</sup> Versuche am Tier – und erst recht Versuchsreihen am Menschen – können nur nach vorheriger Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission durchgeführt werden. Basis für dieses Votum ist ein Antrag, in dem dargelegt werden muss, dass außerhalb der zu untersuchenden Parameter jegliche unnötige Gefährdung des Tiers ausgeschlossen wird.

in Echtzeit vorliegt. Das EKG-Signal wird aus bis zu fünf Ableitungen von klinischen Geräten wie dem *Accusync 72 ECG Trigger Monitors* erzeugt. In der Entwicklungsphase wird zunächst ein einfacher EKG-Sensor verwendet (EKG-BTA von Vernier Software & Technology, LLC, Beaverton, OR, USA; das Gerät wird in der medizinischen Ausbildung verwendet, aber ist nicht für die Krankenversorgung zugelassen), der grundsätzlich genau wie medizinisch zugelassene Geräte einen analogen Spannungsverlauf ausgibt, aber im Fehlerfall kostengünstig zu ersetzen ist (ca. 150€ gegenüber ca. 10.000€ für das Accusync 72).

Folgende Anforderungen sind zu erfüllen:

- Mindestens fünf einzelne, variabel (d. h. mit  $\Phi_0$  oder  $\Phi_+$ ) zu beschaltende Anschlüsse
- Mit einer Spannungsquelle bis zu 3 kV nutzbar (wie *ECM 830* und *NanoKnife*)
- Pulsbreite, Pulsabstand und Anzahl Pulse einstellbar (wie *ECM 830*)
- Flankensteilheit nicht schlechter als die des Vergleichmodells (*ECM 830*)
- Analog Eingang mit A/D Wandler zur EKG-Messung
- EKG-Signalanalyse zur Triggerung der Pulse (vgl. Kap. 2.2.5)
- Zusätzlicher Eingang zur Nutzung einer externen Triggerung (z. B. *Accusync 72 ECG Trigger Monitors*, vgl. Kap. 1.1.3) statt der intern berechneten Triggerzeitpunkte
- Aufnahme und Speicherung des Signalverlaufs von EKG, externer und interner Triggerung (d. h. Nutzungsmöglichkeit als reiner Rekorder, ohne Elektroporatorfunktionalität)
- Userinterface zum Einstellen der o. g. Parameter, Anzeige des EKG-Verlaufs mit Triggerung in Echtzeit sowie notwendige Bedienelemente
- Handelsübliche Anschlüsse für Elektroden (hier: 4 mm Büschelstecker)

## 6.2 Hochspannungsimpulserzeugung

Es wurden zwei Prinzipien zur Erzeugung rechteckiger Spannungspulse mit Multisim 13.0 (National Instruments, Austin, Texas, USA) simuliert und evaluiert (vgl. Abb. 6.1): Die erste Variante basiert auf dem Prinzip einer Kondensatorenentladung mit anschließender Spannungstransformation. Ein Kondensator wird aufgeladen und mittels eines als Schalter eingesetzten MOSFETs an die Primärseite eines Übertragers geschaltet. An der Ausgangsseite des Übertragers erscheint das auf die gewünschte Spannung hochtransformierte Signal.

Die zweite Schaltungsviante nutzt Power-MOSFETs, um eine Kondensatorladung auf den Ausgang zu schalten. Um eine höhere Ausgangsspannung zu ermöglichen, werden mehrere MOSFETs in Reihe geschaltet (vgl. Kap. 2.1.7 und Abb. 2.11).

Beide Schaltungen liefern in der Simulation gute Ergebnisse. Die Kondensatorenentladung mit Übertrager erfordert eine Betriebsspannung von wenigen hundert Volt, während die verschalteten MOSFETs eine Betriebsspannung in Höhe der gewünschten Ausgangsspannung benötigen. Dagegen liefert die MOSFET-Schaltung eine bessere Flankensteilheit der Pulse ( $< 1 \mu\text{s}$ ) als die Transformatorschaltung. Leider sind im realen Schaltungsaufbau die Eigenschaften eines Transformators aufgrund von individuellen Bauteileigenschaften in der Simulation nicht

realitätsnah modellierbar, daher muss mit vorab nicht bestimmhbaren Unregelmäßigkeiten im Signalverlauf gerechnet werden.

Da die Notwendigkeit der Entwicklung in der Pulserzeugung begründet ist und für die Hochspannungserzeugung ein handelsübliches Netzteil verwendet werden kann, wurde aufgrund der Vorteile für die Umsetzung der zweite Aufbau gewählt.

### 6.2.1 Bestimmung der Bauteile und Schaltungsaufbau

#### Gewebelast $R_G$ , $C_G$

Der Ersatzwiderstand des Gewebes wurde mit COMSOL Multiphysics 4.4 (COMSOL AB, Stockholm, Schweden) bestimmt: Das aus Kapitel 5 erstellte Modell wurde mit den elektrischen Eigenschaften für Tumorgewebe bei einer Pulsfrequenz von  $f = 5 \text{ kHz}$  (entspricht einer Impulsbreite und -abstand von je  $100 \mu\text{s}$ ) gemäß [Mik06] ergänzt. Bei einer Simulation wurde zwischen den positiven und negativen Elektroden ein Impedanzwert von  $Z = 498 \Omega + j 0,8 \text{ m}\Omega$  ermittelt. Dieser Wert kann als Parallelschaltung eines Widerstandes und einer Kapazität mit den Werten  $R_G = 500 \Omega$  und  $C_G = 100 \text{ fF}$  abstrahiert werden ( $R_G \parallel \frac{1}{j\omega C_G}$ ). Diese Parallelschaltung wird in der Simulation als Ersatzimpedanz des Tumorgewebes verwendet. In der Hardwarerealisierung wurde  $C_G$  vernachlässigt, da dieser kapazitive Anteil in der Simulation keinen Einfluss gezeigt hat, außerdem wurde aufgrund von Bauteilnormierungen (E6-Reihe) ein Widerstand mit  $R_G = 470 \Omega$  eingesetzt.

#### MOSFETs

Durch die Zielvorgabe einer maximalen Spannungsamplitude von  $3 \text{ kV}$  müssen die MOSFETs eine entsprechend hohe gemeinsame Sperrspannung aufweisen. Ein für diesen Fall guther Kompromiss aus Schaltungsaufwand und Bauteilanforderung ist eine vierstufige Variante, somit muss die Sperrspannung eines einzelnen MOSFETs mindestens  $V_{DSS} = 750 \text{ V}$  betragen. Gewählt wurde der 2SK3878 von Toshiba Semiconductor & Storage Products (Tokyo, Japan) mit  $V_{DSS} = 900 \text{ V}$ . Dieser schaltet ab einer minimalen Gate-Source-Spannung von  $V_{GS,min} = 3,5 \text{ V}$ , das Maximum liegt bei  $V_{GS,max} = 30 \text{ V}$ . [Tos13]. Die MOSFETs sind zwischen Drain und Source jeweils mit einem Biaswiderstand  $R = 10 \text{ M}\Omega$  parallel geschaltet, der das Drain-Source-Potenzial im Sperrzustand einstellt. Um eine schnelle Entladung zu ermöglichen, befindet sich zwischen den Gate- und Sourceanschlüssen der oberen drei MOSFETs je eine Zenerdiode mit einer Rückwärtsspannung von  $18 \text{ V}$ . Da der 2SK3878 nicht in der Bauteilbibliothek der verwendeten Simulationssoftware NI Multisim 13.0 vorhanden ist, wurde er, dem üblichen Vorgehen am Institut folgend, in der Simulation der ähnliche Typ 2SK3747 von ON Semiconductors (Phoenix, Arizona, USA) [ON 13] verwendet.

#### MOSFET Treiber-Schaltung

Um die MOSFETs zuverlässig und schnell zu schalten, wurde die Treiberschaltung aus Abbildung 6.2 verwendet, die das Ausgangssignal des Microcontrollers auf  $V_{GS} = 18 \text{ V}$  verstärkt.

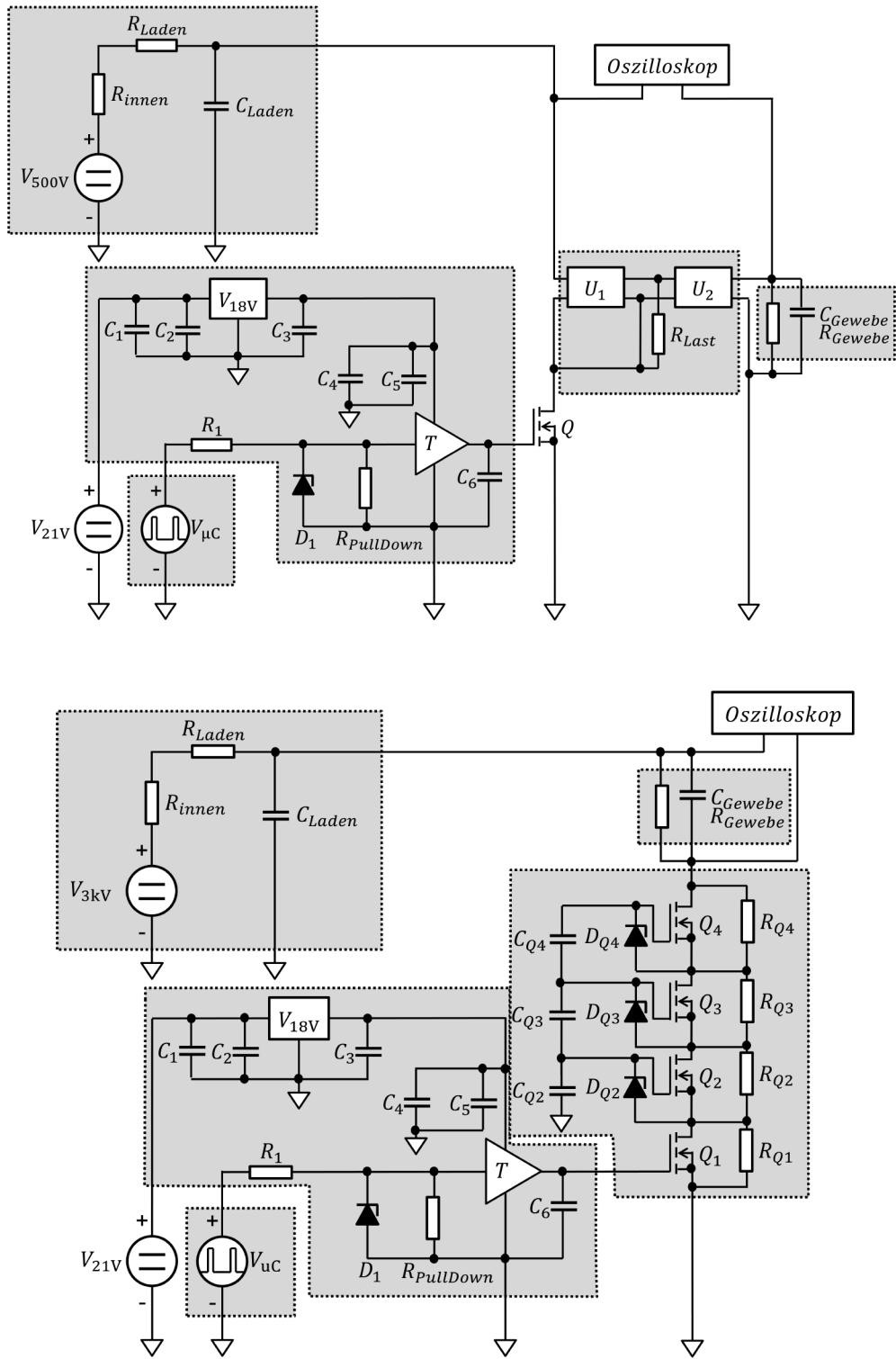


Abbildung 6.1: Vergleich zweier simulierter Schaltungen zur Erzeugung von Spannungspulsen mit bis zu 3 kV. Jeweils gleich ist die Treiberschaltung, die Pulserzeugung  $V_{uC}$  und die Gewebelast.

Oben: Kondensatorentladung mit Spannungstransformation 500 V auf 3 kV.  
Unten: Kondensatorentladung mit 4 in Reihe geschalteten Power-MOSFETs.

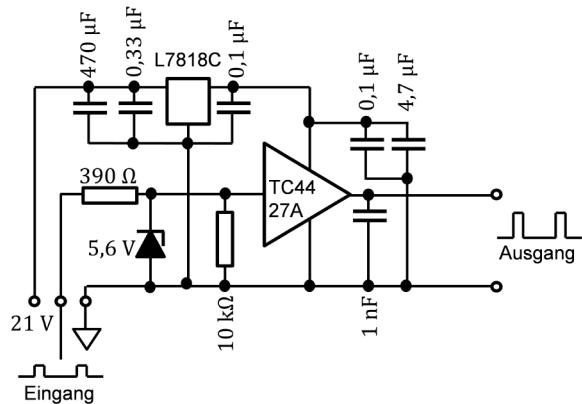


Abbildung 6.2: Schaltplan der Treiberschaltung

Der nicht-invertierende 1.5 A *Dual High-Speed Power MOSFET Driver* TC4427A von *Microchip Technology Inc.* [Mic14] sorgt zusammen mit dem 10 kΩ am Eingang bei nicht anliegendem Signal (z. B. bei Einschalten der Mikrocontroller-Einheit) für ein Sperren der MOSFETs. Sowohl die Spannungsquelle LM7818 [STM14], die die Eingangsspannung von 21 V auf konstant 18 V transformiert, als auch der MOSFET-Treiber sind mit passenden Kapazitäten nach Datenblatt beschaltet.

### Gatekapazitäten $C$ der MOSFETs

Zur Bestimmung der Gatekapazitäten ( $C$  in Abb. 2.11) sind die Eingangskapazitäten der MOSFETs zu berücksichtigen, die als  $C_{ISS} = 2200 \text{ pF}$  und  $C_{RSS} = 45 \text{ pF}$  im Datenblatt angegeben sind [Tos13]. Die Kapazität am oberen MOSFET berechnet sich mit der Schaltspannung der Treiberschaltung  $V_{GS} = 18 \text{ V}$ , der maximalen Sperrspannung pro MOSFET  $V_{DS} = \frac{1}{4} \cdot 3 \text{ kV} = 750 \text{ V}$  und der effektiven Gate-Source-Kapazität  $C_{GS,eff}$  (bei der die Kapazität der Z-Diode vernachlässigt wurde) zu [Bak92]:

$$C = C_{GS,eff} \cdot \frac{V_{GS}}{V_{DS} - V_{GS}} = (C_{ISS} + \frac{V_{DS}}{V_{GS}} C_{RSS}) \cdot \frac{V_{GS}}{V_{DS} - V_{GS}} \approx 100 \text{ pF} \quad (6.1)$$

### Spannungserzeugung

Für die Hochspannungsversorgung wurde das Mittelspannungs-Netzgerät MCN 350-2000 von *FuG Elektronik GmbH, Schechen, Deutschland* verwendet. Es liefert eine Ausgangsspannung von  $U_0 = 2 \text{ kV}$  bei einem maximalen Strom von 150 mA. Die Schaltung wurde zwar auf 3 kV dimensioniert und simuliert, aber im Rahmen dieser Arbeit nur mit den 2 kV dieses Netzgerätes getestet.

### Ladekapazität $C_L$ und -widerstand $R_L$

Die Zeitkonstante der Entladung wird aus dem maximalen Spannungsabfall bestimmt, der nach 100 µs am Lastwiderstand (hier: Gewebelast) vorliegen soll. Bei einem maximalen erlaubten Spannungsabfall von 10 % über dem Lastwiderstand folgt [Har13]:

$$U(t = 100 \mu s) = U_{max} \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} = U_{max} \cdot 0,9 = U_{max} \cdot e^{-\frac{100 \mu s}{R_L \cdot (C_G + C_L)}} \quad (6.2)$$

Der Ladewiderstand wird als Limitierung der Spannungsquelle mit einem Maximalstrom von  $I_{max} = 150 \text{ mA}$  zu  $R_L = 20 \text{ k}\Omega$  bestimmt. Daraus berechnet sich die Ladekapazität unter idealen Bedingungen zu mindestens  $C_L = 2 \mu \text{F}$ . Die Zeitkonstante für den Entladevorgang  $\tau = R_L \cdot C_L = 40 \text{ ms}$  kann damit im Vergleich zu einem 100 µs Impuls als ausreichend lange angesehen werden.

### Kompletter Aufbau und Funktion

Abbildung 6.1 (unten) zeigt den Schaltungsaufbau, wobei  $C = C_{Q4} = C_{Q3} = 2C$  und  $C_{Q2} = 3C$  gilt. MOSFET 1 wird von der Triggerschaltung geschaltet, an den übrigen MOSFETs wird über den kapazitiven Spannungsteiler die notwendige Gate-Source-Spannung eingestellt. Ein Microcontroller (ATMEGA32) erzeugt ein Trigger-Testsignal mit einer Frequenz von  $f = 1 \text{ Hz}$  und einer Pulsbreite von  $t_b = 100 \mu \text{s}$ .

Im Hardwareaufbau ist der variable Austausch von Elementen wie Widerständen oder Zenerdioden zwischen Gate und Source vorgesehen, um die Schaltung unter verschiedenen Konfigurationen zu untersuchen. Zusätzlich ist zu Testzwecken der Einbau eines Kondensators zwischen dem Drainanschluss des obersten MOSFETs und Ground vorgesehen. Damit soll untersucht werden, ob mögliche Spannungsspitzen über den MOSFETs geglättet werden können. Weiterhin kann durch eine Variation der Gatekapazitäten eine Änderung der Gate-Source-Spannung  $V_{GS}$  untersucht werden.

Zur Entladung des Kondensators nach dem Abschaltvorgang wurden zwei Widerstände mit jeweils  $22 \text{ k}\Omega$  bei maximal 50 W Leistung parallel geschaltet und zur besseren Wärmeableitung auf ein Kühlblech montiert.

Zur Messung und Darstellung der Spannungsverläufe wurde das Oszilloskop TDS 1012 B von Tektronix (Beaverton, Oregon, USA) verwendet. Als Tastköpfe kamen für die Messung der niedrigen Spannungspegel der P2220 von Tektronix mit einer Teilung von 1:10 zum Einsatz. Die Messung der hohen Spannungspegel wurde mit dem Tastkopf P6009 von Tektronix mit einem Teilverhältnis von 1:100 durchgeführt. Zur Messung von Differenzspannungen, die nicht zu Ground gemessen werden sollen, wird das Oszilloskop mit einem Trenntransformator des Typs E25818 der Mangoldt Transformatorenfabrik KG (Aachen, Deutschland) betrieben. Der Aufbau wurde mit zwei, drei und vier Power-MOSFETs (entsprechend mit angepassten Bauteilen und Spannungen) getestet.

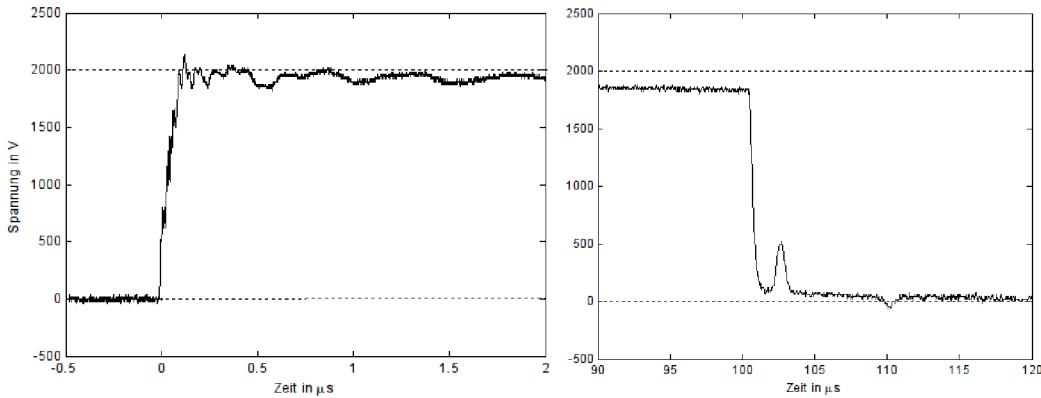


Abbildung 6.3: Oszilloskopgrafen der steigenden (links) und fallenden Flanke (rechts)

### Messwerte

Die Treiberschaltung verzögert das Signal des Mikrocontrollers um ca.  $0,05\ \mu\text{s}$  (gemessen an steigender und fallender Flanke). Die Zeitverzögerung zwischen dem Ausgangssignal der Treiberschaltung und dem tatsächlichen Schalten der MOSFETs beträgt  $< 300\ \text{ns}$ . Beides ist im Vergleich zum Zeitfenster ( $\approx 200\ \text{ms}$ , vgl. Kap. 2.2.5) zu vernachlässigen.

Die avisierte Flankensteilheit von  $< 1\ \mu\text{s}$ , bis 95% der Zielspannung erreicht sind, konnte bestätigt werden (steigende Flanke  $110\ \text{ns}$ , fallende Flanke  $660\ \text{ns}$ , vgl. Abb. 6.3). Während des Verlaufs eines Impulses sinkt dessen Spannung um 9% ab, das Überschwingen liegt bei lediglich  $250\ \text{V}$ . Nach  $25\ \mu\text{s}$  ist die Amplitude des Schwingvorgangs geringer als das Rauschen. Ein Überschwingen nach der fallenden Flanke tritt nicht auf. Allerdings entsteht etwa  $2\ \mu\text{s}$  nach Beginn der fallenden Flanke eine Spannungsspitze von  $\approx 400\ \text{V}$  für etwa  $1\ \mu\text{s}$ , eine weitere Spannungsspitze von  $\approx -50\ \text{V}$  entsteht nach weiteren  $10\ \mu\text{s}$ . Diese Spannungsspitzen sind bei wechselnder Betriebsspannung unregelmäßig und treten nur am Lastwiderstand und nicht am Drainanschluss von MOSFET 4 auf, so dass die Ursache im Aufbau der Spannungsversorgung liegt und für die Evaluation der Schaltung nicht weiter betrachtet wird.

Die Gate-Source- Spannungen  $V_{GS2}$ ,  $V_{GS3}$  und  $V_{GS4}$  betragen  $10\ \text{V}$  und sind somit ausreichend für ein optimales Schaltverhalten ( $> 8\ \text{V}$  [Tos13]), auch die Maximalspannung von  $\pm 30\ \text{V}$  wird nicht überschritten (Überschwingen nach der fallenden Flanke bis max.  $-5\ \text{V}$ ).

Durch die zu den MOSFETs parallel geschalteten Biaswiderstände ( $10\ \text{M}\Omega$ ) wird der Grenzwert der Drain-Source-Spannungen ( $< 900\ \text{V}$  [Tos13]) nicht überschritten: Während des Schaltvorgangs werden alle Drainpotenziale auf  $0\ \text{V}$  gezogen, zu keinem Zeitpunkt während der fallenden Flanke fällt eine höhere Spannung als  $500\ \text{V}$  über einem einzelnen MOSFET ab.

### 6.2.2 Vergleich mit klinischem Elektroporator

Zur besseren Einordnung der Messwerte wurde der Hardwareaufbau mit dem kommerziell erhältlichen und im klinischen Umfeld genutzten ECM 830 verglichen, der ebenfalls auf dem Prinzip der Kondensatorentladung beruht, aber nach der eingangs erwähnten Variante 1 (mit ausgangsseitigem Übertrager) aufgebaut ist (vgl. Anhang A).

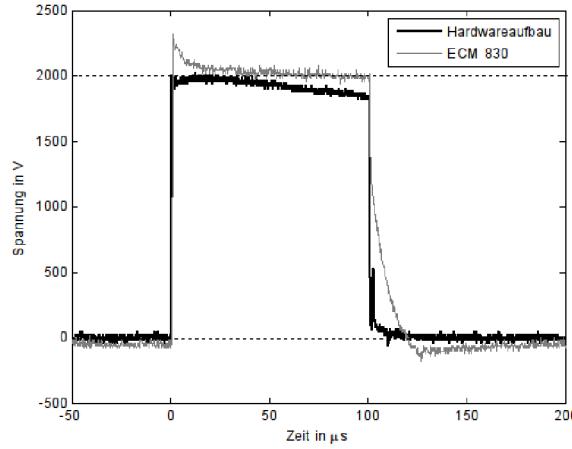


Abbildung 6.4: Kombinierte Darstellung der Oszilloskopgrafen eines Impulses mit 100  $\mu$ s, gemessen am ECM 830 (grau) und an der MOSFET-Schaltung (schwarz).

Abbildung 6.4 zeigt den unmittelbaren Vergleich eines 100  $\mu$ s Impulses mit 2 kV bei angeschlossener Last, erzeugt mit dem ECM 830 und dem eigenen Aufbau: Die steigende Flanke beider Schaltungen ist nahezu gleich steil. Während die Spannung des ECM 830 ein deutliches Überschwingen aufweist, liegt der Impuls des eigenen Aufbaus zu Beginn auf dem gewünschten Wert von 2 kV. Die Amplitude sinkt jedoch im Verlauf des Impulses ab, während der ECM 830 eine annähernd konstante Ausgangsspannung bis zum Ende des Impulses liefert. Bezuglich der fallenden Flanke weist der eigene Aufbau einen deutlich steileren Verlauf auf, jedoch treten danach die zuvor beschriebenen Spannungsspitzen auf.

## 6.3 Steuerung und Benutzerinterface

Die zweite Komponente beinhaltet eine per Mikroprozessor gesteuerte Triggerung für die HV-Pulse, die eine optionale EKG-Synchronisierung beinhaltet. Dafür wurde ein UDOO Quad-Entwicklerboard (SECO USA INC, Burlington, USA) zusammen mit passendem 7" Touch Panel ausgewählt [SEC14], das zwei Prozessoren vereint: Ein Arduino Due gewährleistet eine genaue EKG-Signalaufnahme sowie die Triggerpulsabgabe, auf einem Cortex-A9 ARM-Prozessor läuft ein Linux-System, das die Signalverarbeitung und die grafische Benutzerinteraktivität ermöglicht.

### 6.3.1 Konzeption der Software

Die Struktur der entwickelten Software besteht aus fünf Modulen, die im Folgenden erläutert und in Abbildung 6.5 grafisch dargestellt sind. Die Software auf dem Arduino wurde in der C-ähnlichen Sprache *Processing* implementiert, die Software auf dem Linuxsystem in C++ mit Hilfe der Klassenbibliothek *Qt*.

**Arduino:** Liest die Sensorwerte des EKG-Sensors ein (Analog-Digital-Wandlung) und gibt die Triggerpulse auf bis zu acht Ausgängen ab, so dass jede Elektrode einzeln ansteuerbar ist.

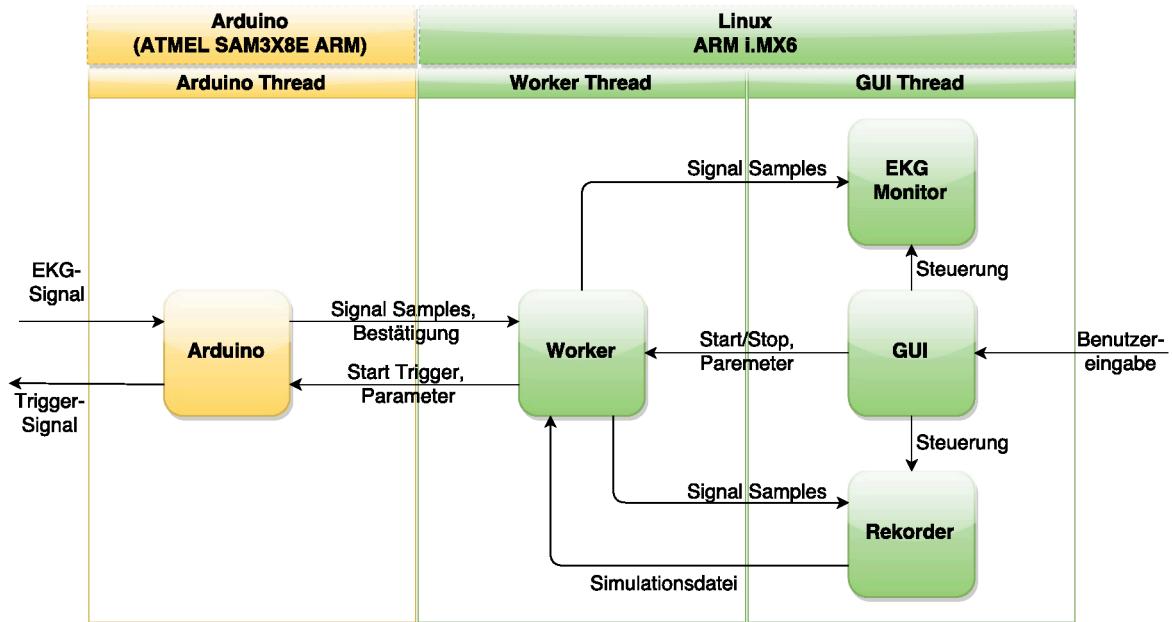


Abbildung 6.5: Struktur und Komponenten der entwickelten Software

**GUI:** Die GUI ist die Benutzerschnittstelle. Sie nimmt Befehle des Benutzers entgegen und leitet sie an die entsprechende Komponente weiter.

**Worker:** Der Worker ist für die Signalverarbeitung zuständig. Er empfängt die Abtastwerte vom Arduino und verarbeitet sie. Ist ein Triggerzeitpunkt erkannt, sendet er eine entsprechende Nachricht an den Arduino. Alternativ zum Empfang des EKG-Signals vom Arduino kann dieses aus einer Datei erzeugt werden, die der Rekorder zur Verfügung stellt. Die Abtastwerte der Signale werden zur Darstellung und zur Aufnahme an den EKG-Monitor bzw. den Rekorder geschickt. Bei einer manuellen oder Timer-gesteuerten Abgabe der Triggerpulse sorgt der Worker für die Benachrichtigung des Arduino.

**EKG-Monitor:** Der EKG-Monitor stellt den EKG-Verlauf, die Ausgabe der Algorithmen und das Ergebnis der Triggerung grafisch dar. Die Werte stellt der Worker bereit. Das Ergebnis der Triggerung kommt von der Trigger-Bestätigung des Arduino. Steuerbefehle, wie Zoom oder Darstellungsbereich, kommen von der GUI.

**Rekorder:** Der Rekorder dient der Aufnahme der Signale und dem Export in eine Datei. Diese kann anschließend als Simulationsdatei dem Worker zur Verfügung gestellt werden oder von externen Programmen ausgewertet werden (z. B. MATLAB). Die möglichen Übergänge sind das Starten/Stoppen der Signalaufnahme durch den Worker und verschiedene Steuerbuttons des Rekorders.

### 6.3.2 EKG-Aufnahme

Für die EKG-Aufnahme wurde im Rahmen dieser Arbeit das Modell *EKG-BTA* (Vernier Software & Technology, Beaverton, OR, USA) [Ver10] verwendet. Dieses misst das EKG nach einer

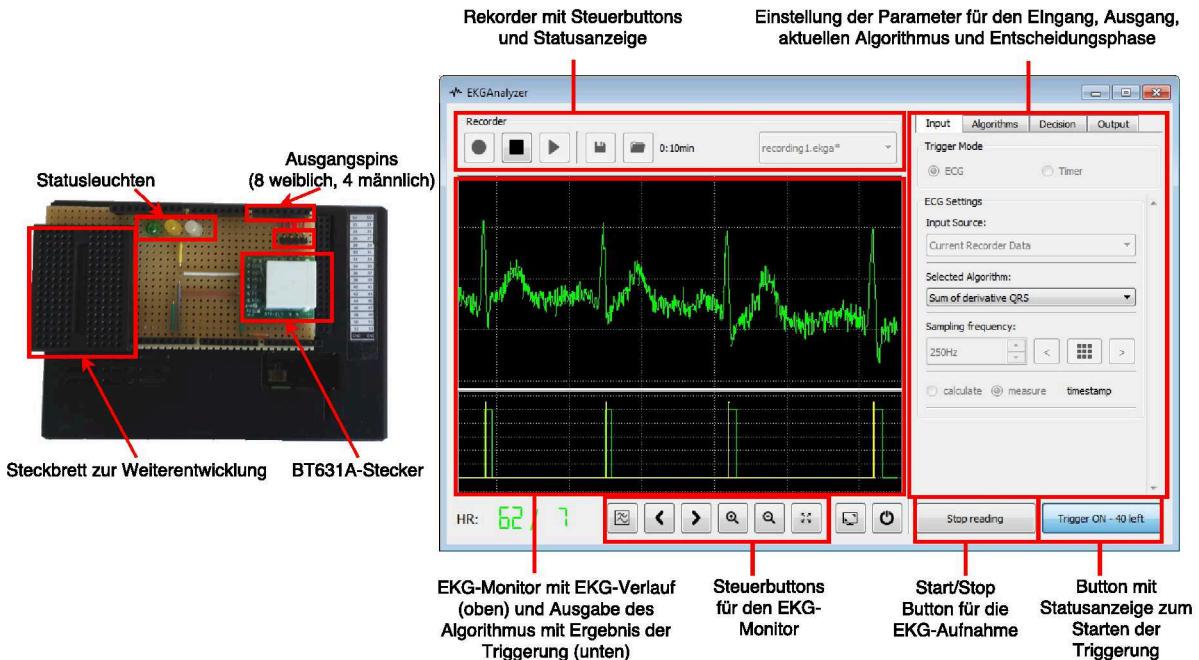


Abbildung 6.6: Links: *UDOO-Quad mit Gehäuse und Aufsteckboard, rechts: GUI*

modifizierten Einthoven-Ableitung [Sil03], bei der zwei Elektroden an den Armbeugen und die Referenzelektrode an ein Handgelenk, nicht am Fußgelenk, angebracht werden. Der Sensor verfügt über einen Verstärker, der das Signal um das 1000-fache auf einen Ausgangsspannungsbereich von 0 bis 5 V verstärkt. Die elektrischen Anschlüsse sind auf einen BT631A-Stecker (British Telecom Analog) geführt und können über eine Adapterbuchse des Herstellers (*BTA-ELV* [Ver16]) abgegriffen werden (vgl. Abb. 6.6). Die Analog-Digital-Wandler des UDOO-Boards haben ebenfalls einen Spannungsbereich von 0 bis 5 V und sind mit 10 bit ( $2^{10} = 1024$  Werte) quantisiert.

Der Vernier-Sensor wurde aufgrund des einfachen Setups bei der Entwicklung genutzt. Ebenfalls vorgesehen sind Anschlüsse für kliniktaugliche EKG-Geräte mit Brustwandableitung (ein Siemens Megacart 965578<sup>2</sup> und der Accusync 72 ECG Trigger Monitor<sup>3</sup> des NanoKnifes stehen zur Verfügung).

### 6.3.3 EKG-Synchronisation

Ziel der EKG-Synchronisation ist die Abgabe der Elektroporationspulse zwischen Beginn der Q-Welle und dem Beginn der T-Welle (vgl. Kap. 2.2.5). Der QRS-Komplex, als charakteristische Komponente am Anfang dieser Phase, eignet sich gut für eine algorithmische Erkennung. Köhler et al. [Köh02] haben Methoden der QRS-Erkennung zusammengestellt. Dabei wird u. a. mit Ableitungen und digitalen Filtern (z. B. [Pan85; Ahl85]), Wavelet-Transfomationen

<sup>2</sup> Das Gerät wurde mit der Schaltung aus Anhang H um einen analogen Ausgang von 0 bis 5 V ergänzt.

<sup>3</sup> Das Gerät hat einen analogen Ausgang, wobei die Nulllinie des EKGs bei 0 V liegt und der Wertebereich bei  $\pm 2,5$  V, entsprechend wurde der Ausgang mit der Schaltung aus Anhang H um 2,5 V angehoben.

([Bah97; Di 95]), neuronalen Netzen ([Hu93; Str92]), Hidden Markov Modellen ([Coa90]), Hilbert Transformation ([Nyg83]) oder Matching Filtern ([Mal05]) gearbeitet.

Nicht alle diese Methoden eignen sich für die QRS-Erkennung zur EKG-Synchronisation bei der IRE, da sie zum Teil auf nachgelagerte Analyse von EKG-Daten ausgelegt sind. Bei der interstitiellen IRE ist jedoch eine instantane Auswertung des EKG-Signals erforderlich. Alle durch digitale Filter erzeugten Verzögerungen müssen so klein sein, dass zwischen der Ausgabe des Triggersignals und dem Beginn der T-Welle noch ausreichend Zeit für die Abgabe der EP-Pulse ist. Die in der Software genutzten instantanen Algorithmen basieren auf Mali et al. [Mal05]: Zur Rauschunterdrückung durchläuft das Signal zunächst eine Vorfilterung. Aus dem gefilterten Signal werden anschließend die QRS-Komplexe extrahiert. Dieser Vorgang lässt sich in eine Erkennungsphase und eine Entscheidungsphase unterteilen. Die Erkennungsphase soll mögliche Kandidaten für QRS-Komplexe detektieren. In der Entscheidungsphase wird geprüft, ob der QRS-Komplex zu diesem Zeitpunkt plausibel ist. Alle benötigten Schwellwerte werden zu Beginn in einer Lernphase initial geschätzt. Das Ergebnis ist schließlich ein binäres Triggersignal, dessen steigende Flanke den Startzeitpunkt zur Pulsabgabe der EP darstellt. Insgesamt sind gemäß der Anforderungen vier geeignete Methoden in der Software implementiert und stehen über die GUI zur Auswahl: 1. Eine Implementierung auf Basis der Methode von Ahlstrom und Tompkins [Ahl85], die mit der Summe von erster und zweiter Ableitung arbeitet, 2. eine Methode von Pan und Tompkins [Pan85], die mit einem gleitenden Integrationsfilter arbeitet, 3. eine Weiterentwicklung von Mali et al. [Mal05] mit einer Kombination aus Mustererkennung und einer Summe der Ableitungen, ähnlich der ersten Methode, 4. die Summe der Ableitungen ersetzt durch das Integrationssignal von Pan und Tompkins [Pan85]. Wie in den angegebenen Literaturquellen wird auch hier mit einer Abtastfrequenz von 250 Hz gearbeitet.

### 6.3.4 Evaluation

Die vier ausgewählten Algorithmen zur QRS-Erkennung wurden mit verschiedenen Methoden evaluiert, zunächst außerhalb des Zielsystems: Für eine zuverlässige Bewertung von EKG-Algorithmen sind ausreichend viele Testdaten erforderlich [Köh02], dazu wurden synthetisch erzeugte EKG-Daten und EKG-Daten einer Standarddatenbank herangezogen (verwendet wurde die Long-Term ST Datenbank [Jag03] wie bei [Mal05]). Die Evaluierung dieser Daten erfolgte in MATLAB.

Die auf dem Zielsystem implementierten Algorithmen wurden stichprobenartig mit einer geringen Anzahl an Probanden (Echtzeitmessung des EKGs mit dem Vernier EKG-Sensor) getestet, wobei sich die mit MATLAB ermittelten Ergebnisse bestätigt haben.

Die systembedingte Zeitverzögerung (Rechenzeit sowie die Kommunikationszeit der beiden Prozessoren über eine serielle Verbindung) wurde ebenfalls gemessen (vgl. Anhang H): Sie beträgt stets  $< 1$  ms und wird damit für die Anforderungen als ausreichend klein beurteilt.



# 7 Elektrische Gewebeeigenschaften

Eingangsparameter für patienten-individuelle Computersimulationen sind neben der Geometrie des zu behandelnden Gewebeareals dessen elektrische Materialparameter (vgl. Kap. 2.1.6). In diesem Kapitel wird der Literaturstand dargestellt und diskutiert, sowie der Einfluss von Parameterschwankungen auf die Simulationsgenauigkeit in Kapitel 5 gezeigt.

## 7.1 Zusammenfassung des Literaturstandes

Standardliteratur für elektrische Gewebeparameter aller Art sind die Veröffentlichungen von Gabriel et al. 1996, der die bis dahin veröffentlichte Literatur zusammengefasst [Gab96a] und mit eigenen Messungen ergänzt hat [Gab96b]. Daraus hervorgegangen sind Datenbanken [Nat07; Has15], die für sämtliche in dieser Arbeit zitierten Quellen genutzt wurden. Enthalten sind jedoch nur Werte für gesunde Gewebetypen. Seit 1926 ist aber bekannt, dass sich die Permittivität von gesundem und tumorösem Gewebe unterscheidet. [Fri26]

### 7.1.1 Zahlenwerte

#### Lebergewebe

In Abbildung 7.1 sind die Verläufe der Leitfähigkeit und der Permittivität von Lebergewebe über der Frequenz dargestellt [Nat07]. Die Permittivität der kleinsten Frequenz ( $f_1 = 10 \text{ Hz}$ ) liegt bei  $\epsilon_{r,Leber,10} \approx 15.100.000$  und wird für den statischen Fall angenommen. In [Has15] steigt die Permittivität bis 0 Hz weiter auf  $\epsilon_r = 30.100.000$ , in [Mik06] wird für den Gleichstromfall ein Wert von  $15.000.000 - 50.000.000$  angegeben. Diese Größenordnungen für  $\epsilon_r$  sind aber generell kritisch zu beurteilen (vgl. Kap. 7.1.3), weshalb hier zunächst auf die von Gabriel bei der kleinsten Frequenz angegebene Permittivität zurückgegriffen wird [Gab96b]. Geht man von einer Frequenz von  $f_5 = 5 \text{ kHz}$  aus ( $t_b = 100 \text{ } \mu\text{s}$ ), liegt die entsprechende Permittivität bei  $\epsilon_{r,Leber,5k} \approx 42.700$  [Has15].

Laufer et al. haben die Permittivität von gesundem und tumorösem Lebergewebe bei einer minimalen Frequenz von  $f_2 = 976,6 \text{ Hz}$  gemessen und mit  $\epsilon_{r,Leber,1k} = 82.000 \pm 20.000$  für gesundes und  $\epsilon_{r,Tumor,1k} = 99.000 \pm 60.000$  für tumoröses Lebergewebe angegeben [Lau10]. Für tumoröses Lebergewebe sind keine Messwerte bei niedrigeren Frequenzen bekannt.

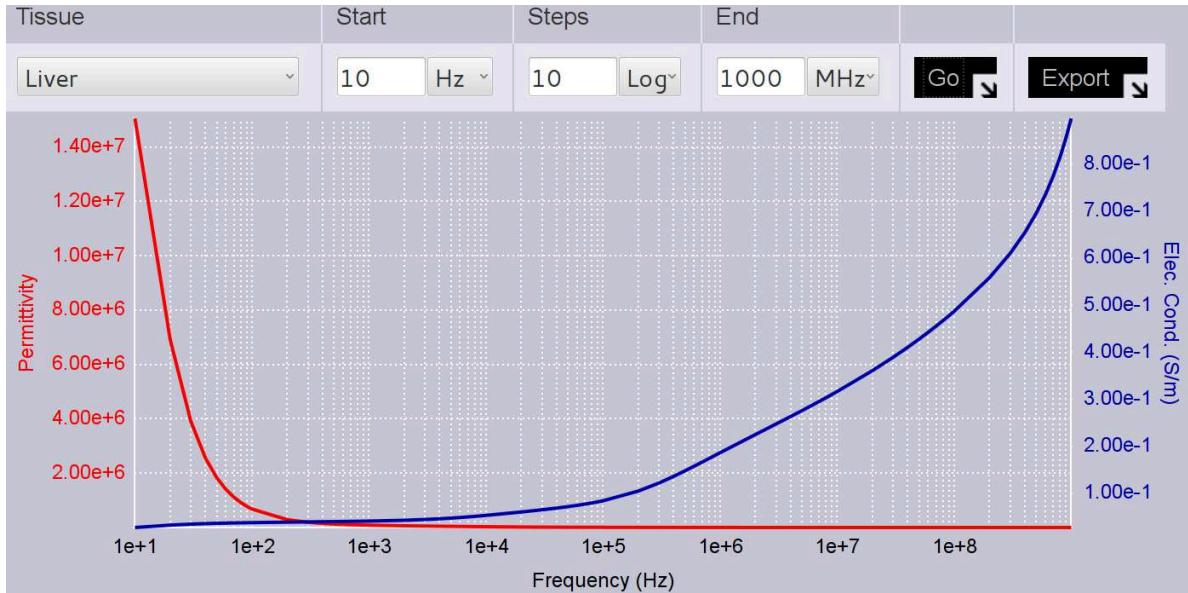


Abbildung 7.1: Leitfähigkeit und relative Permittivität von Lebergewebe logarithmisch aufgetragen über der Frequenz [Has15].

### Abweichungen von gesundem und tumorösem Gewebe

O'Rourke et al. haben die Permittivität von explantiertem Human- und Schweineleber bei 915 MHz und 2,45 GHz vermessen und kommen zu dem Schluss, dass tumoröses Gewebe eine 19 bis 30 % höhere Permittivität besitzt als gesundes Gewebe [ORo07]. Dies deckt sich nach Laufer für niedrige Frequenzen ( $< 2 \text{ kHz}$ ), bei Frequenzen  $> 10 \text{ kHz}$  wird jedoch das Permittivitätsverhältnis von tumorösem zu gesundem Lebergewebe kleiner als eins (bis zu 0,88) angegeben [Lau10].

In der zitierten Literatur zu  $\Rightarrow$ EP,  $\Rightarrow$ IRE und  $\Rightarrow$ ECT werden leider beinahe durchweg keine konkret verwendeten Werte genannt, sondern nur auf Gabriel et al. verwiesen. Eine Ausnahme stellt eine E-Feld-Simulationsstudie zu Brustkrebs dar, in der die Permittivität für gesundes Brustgewebe mit  $\epsilon_r, \text{Brust,lobular} = 200$  bzw.  $\epsilon_r, \text{Brust,duktal} = 52$  und die Permittivität für Brustkrebsgewebe mit  $\epsilon_r, \text{Brustkrebs,lobular} = 1000$  bzw.  $\epsilon_r, \text{Brustkrebs,duktal} = 260$  angegeben ist. Das Verhältnis liegt hier also bei  $\frac{\epsilon_r, \text{gesund}}{\epsilon_r, \text{Tumor}} = 5$  [Sun14b].

#### 7.1.2 Abschätzungen nach Literaturstand

Tabelle 7.1 zeigt die Werte der Permittivität  $\epsilon_r$  von gesundem, tumorösem und zirrhotischem<sup>1</sup> Lebergewebe im direkten Vergleich, einschließlich einer Abschätzung der unbekannten Permittivitätsverhältnisse: Auf Basis der zuvor zitierten Literatur wird eine Abweichung von 20 % als sinnvoller Wert angenommen, entsprechend wurde in Formel 2.24 das Verhältnis der Permittivitäten zu 1,2 gesetzt und in allen Simulationen verwendet.

<sup>1</sup> Beide Literaturquellen haben auch das Krankheitsbild  $\Rightarrow$ Leberzirrhose untersucht, so dass es hier ebenfalls zum Vergleich für spätere Arbeiten mit aufgenommen wurde.

Tabelle 7.1: Permittivität  $\epsilon_r$  von gesundem, tumorösem und zirrhotischem *ex vivo* Lebergewebe im direkten Vergleich (\* angenommene Werte)

$f$ in kHz	$\epsilon_{r,Leber}$ [Has15]	$\epsilon_{r,Leber}$ [Lau10; ORo07]	$\epsilon_{r,Tumor}$ [Lau10; ORo07]	$\frac{\epsilon_{r,Tumor}}{\epsilon_{r,Leber}}$	$\epsilon_{r,zirrhotisch}$ [Lau10; ORo07]
0,01	15.100.000	–	–	1,20*	–
0,976	86.700	82.000 $\pm$ 2.000	99.000 $\pm$ 6.000	1,21	10.000 $\pm$ 1.000
3,9	48.000	52.000 $\pm$ 1.000	58.000 $\pm$ 2.000	1,12	59.000 $\pm$ 300
5	42.700	–	–	1,20*	–
7,8	36.600	38.000 $\pm$ 900	39.000 $\pm$ 1.000	1,03	45.000 $\pm$ 200
195	5.270	6.500 $\pm$ 100	5.100 $\pm$ 100	0,78	6.200 $\pm$ 300
915.000	46,8	48,11 $\pm$ 7,67	57,09 $\pm$ 3,00	1,19	51,60 $\pm$ 2,69
2,4 GHz	43,1	45,79 $\pm$ 7,53	54,88 $\pm$ 3,10	1,20	50,16 $\pm$ 2,36

### 7.1.3 Diskussion des Literaturstandes

Insbesondere die extrem hohen Permittivitäten bei niedrigen Frequenzen ( $\epsilon_r >> 10^6$ ) lassen aus elektrotechnischer Sicht Zweifel an der Validität der Messungen aufkommen, daher erscheint es notwendig, die Messmethodik genauer zu hinterfragen.

Die dargestellten Messreihen sind an explantiertem Gewebe (*ex vivo*) vorgenommen worden. Haemmerich et al. zeigen, dass sich die elektrischen Gewebeigenschaften von Schweineleber nach Explantation verändern: Abbildung 7.2 zeigt den spezifischen Widerstand von Lebergewebe in den ersten 12 Stunden nach Entnahme. Schon in den ersten Minuten nach der Explantation nimmt der Wert stark zu [Hae02].

Wang et al. haben elektrische Gewebeeigenschaften 15 Minuten bis 24 Stunden nach Explantation untersucht und kommen zum Ergebnis, dass die Permittivität bis 10 Stunden nach Entnahme annähernd konstant bleibt. Ein direkter Vergleich zu *in vivo* gemessenen Werten fehlt jedoch. Auffällig ist zudem, dass die größten Schwankungen im Zeitfenster 15 bis 60 Minuten liegen [Wan15]. O'Rouke et al. haben ebenfalls Messungen *in vivo* und *ex vivo* vorgenommen<sup>2</sup>, und kommen auf Abweichungen der Permittivitäten von ca. 25 % für gesundes und ca. 15 % für tumoröses Lebergewebe [ORo07].

Aktuell vertreten die involvierten Forschungsgruppen die Auffassung, dass sich die Permittivität von Lebergewebe (bei korrekt vorgenommenen Messungen nach Gabriel [Gab96a]) *in vivo* und *ex vivo* nicht nennenswert unterscheiden: Dies wurde auf der BioEM 2015 kommuniziert [Pey15] und von Gabriel persönlich ausdrücklich bestätigt. Die Gruppe um Peyman führt derzeit umfangreiche Messungen an gesundem und tumorösem Lebergewebe durch [Pey15].

<sup>2</sup> Angaben zur Größe des Zeitintervalls zwischen Explantation und Messung werden nicht gemacht, es heißt „The protocol for measuring the dielectric properties of *in vivo* and *ex vivo* human liver tissue was approved by the Institutional Review Board after it was reviewed by the University of Wisconsin–Madison (UW) Human Subjects Committee.“ [ORo07]

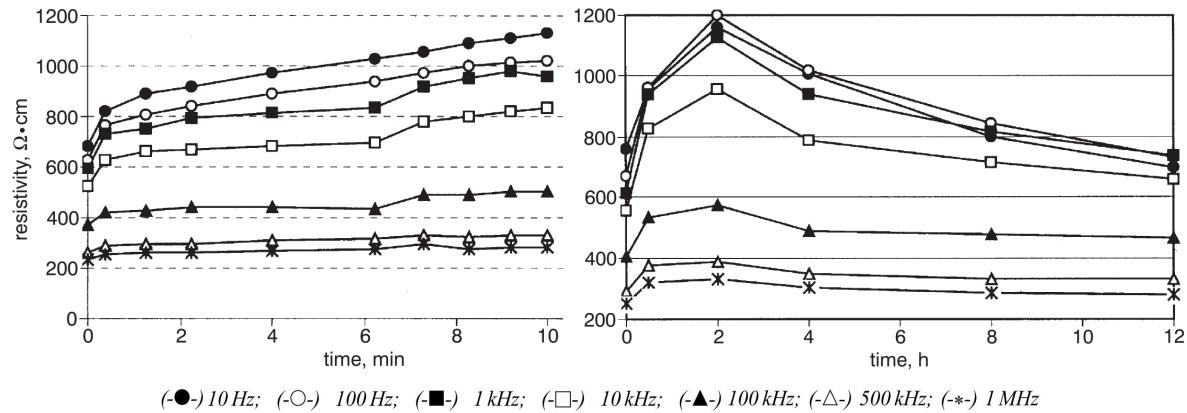


Abbildung 7.2: *Spezifischer Widerstand von Lebergewebe nach Explantation: Dargestellt sind die Kurven für verschiedene Frequenzen, links bis zu 10 Minuten nach Explantation der Proben, rechts bis zu 12 Stunden später [Hae02].*

Alle Literaturwerte basieren auf Messungen mit Sinus-Signalen; ob die Werte für Rechtecksignale – wie bei der EP üblich – übernommen werden können, ist ebenfalls zu klären.

Geplante eigene Messungen, gemeinsam mit Prof. K.P. Koch, Hochschule Trier, Fachbereich Elektrotechnik<sup>3</sup>, wurden vorerst zugunsten der weiteren Fokussierung auf Zellversuche zurückgestellt, u. a. auch wegen der zunächst abzuwartenden Ergebnisse von Payman.

## 7.2 Parameterstudie zum Einfluss der Permittivität auf die Güte

Mit dem in Kapitel 5.2.3 vorgestellten Gütemodell wurde bereits ein objektives Bewertungskriterium eingeführt, anhand dessen der Einfluss der Permittivität auf den Erfolg der Intervention untersucht werden soll. Ausgehend von einer Permittivität für Lebergewebe von  $\epsilon_{r, \text{Leber}, 5k} = 42.700$  [Has15] wurde das Verhältnis  $\frac{\epsilon_{r, \text{gesund}}}{\epsilon_{r, \text{Tumor}}}$  zwischen 1,02 und 1,22 variiert, wobei die Güte zwischen 90,4482 und 90,4628 geschwankt hat (einzelne Werte des Gütemodells siehe Anhang I). Es ist also davon auszugehen, dass der Erfolg der Behandlung mit Simulationsanalysen auch mit dem derzeitigen Literaturstand ausreichend genau vorhergesagt werden kann.

<sup>3</sup> Es wurde eine Testmessung mit dem Messgerät *Interface 1000* von *Gamry Instruments*, Warminster, PA, USA durchgeführt und ein entsprechender BMBF-Antrag für eine Etablierung der Messreihen *in vivo* eingereicht.

## 8 PACET - Patient-customized electroporation therapy

Das übergeordnete Fernziel des Projektes besteht in der Etablierung einer patientenindividualisierten Tumortherapie auf der Basis von Elektroporation. Während in den vorherigen Kapiteln Grundlagenforschung sowie Elektroden- und Geräteentwicklung beschrieben sind, werden diese Elemente abschließend in ein Gesamtkonzept zusammengeführt: Einen integrierten *Workflow* mit dem Titel „Patient-customized electroporation therapy“.

Eine IRE wird bereits heute stets patientenindividuell geplant: Zeitnah zur Intervention werden CT- oder MRT-Bilder des betroffenen Gewebeareals angefertigt, anhand dessen der behandelnde Arzt Zugangswege und Elektrodenpositionierung plant. Diese Bilder stehen üblicherweise im DICOM-Format auf dem PACS-System<sup>1</sup> der jeweiligen Klinik zur Verfügung.

Die grundsätzliche Idee dieses Workflows basiert auf der computergestützten Planung einer Intervention. Dafür ist ein patientenindividuelles CAD-Modell des Tumors samt umliegendem gesunden Gewebe notwendig, das aus den vorab aufgenommenen CT- oder MRT-Bildern (vgl. Abb. 8.1 Schritt A) angefertigt werden kann. Dieser Prozess nennt sich *Segmentierung* (vgl. Abb. 8.1 Schritt C) und ist mit entsprechender Software in kurzer Zeit (< 30 min) machbar. Die Anforderung an die Software betreffen nicht alleine die Segmentierung selbst, denn das ist bereits eine gängige Funktion – teils sogar automatisiert – moderner klinischer Befundungssoftware<sup>2</sup>. Aufwändig ist die Generierung des CAD-Modells der segmentierten Domänen, da derzeit kaum eine Software den direkten CAD-Export unterstützt<sup>3</sup>.

Sofern die individuelle Bestimmung von elektrischen Gewebeparametern messbaren Einfluss auf die Simulationsgenauigkeit hat, ist die Messung der Parameter im aktuellen Workflow vorgesehen (vgl. Abb. 8.1 Schritt B). Sollte die Forschungsgruppe um Peyman aktuelle Literaturwerte verifizieren (vgl. Kap. 7.1.3), geben die Ergebnisse aus Kapitel 7.2 Grund zur Annahme, dass der Schritt entfallen kann.

Das CAD-Modell des Patientengewebes wird in einer Simulationssoftware importiert (beispielhafte Darstellung vgl. Abb. 8.2). Ein entsprechend geschulter Mitarbeiter hat dann die

<sup>1</sup> *Picture Archiving and Communication System*; An der Uniklinik RWTH Aachen wird Intellispace PACS der Philips Medical GmbH (Hamburg, Deutschland) eingesetzt.

<sup>2</sup> Z. B. Intellispace Portal der Philips Medical GmbH (Hamburg, Deutschland), syngo.via der Siemens Health-care GmbH (Erlangen, Deutschland) oder Visage Imaging von Pro Medicus Limited (Richmond, Australia).

<sup>3</sup> Auf eine solche Anwendung spezialisiert ist ScanIP v6.0 von Simpleware Ltd. (Exeter, UK), mit dessen Demoversion der Prozess prototypisch durchgeführt wurde: Anhand von Patientenbildern im DICOM-Format wurde ein Lebertumor segmentiert, als STL-Datei exportiert und in Comsol Multiphysics importiert. Die Machbarkeit konnte damit gezeigt werden. Aufgrund der Lizenzvereinbarung dürfen mit der Demoversion generierte Ergebnisse nicht veröffentlicht werden.

Aufgabe, mit CAD-Modellen verschiedener Elektroden die Feldverteilung auf das Tumorgewebe möglichst optimal anzupassen (vgl. Abb. 8.1 Schritt D,F). Dabei müssen auch Restriktionen in Bezug auf die verwendete Elektrode und deren mögliche Zugangswege (z. B. kann eine starre Nadelelektrode nicht durch Knochen platziert werden) in diese Planung mit einfließen (vgl. Abb. 8.1 Schritt E). Dieser Schritt erfordert Fachkenntnisse aus allen drei Bereichen (Medizin, Biologie, Elektrotechnik) und ist entsprechend aufwändig. Eine spätere Automatisierung ist denkbar (vgl. Ausblick Kapitel 9), aber aufgrund der Komplexität und des Forschungsstandes bewusst hintenangestellt.

Nach den Ergebnissen der Simulation führt der behandelnde Arzt dann die Intervention am Patienten durch. Abschließend werden üblicherweise zur Kontrolle erneut Bilder im CT oder MRT angefertigt (vgl. Abb. 8.1 Schritt G,H).

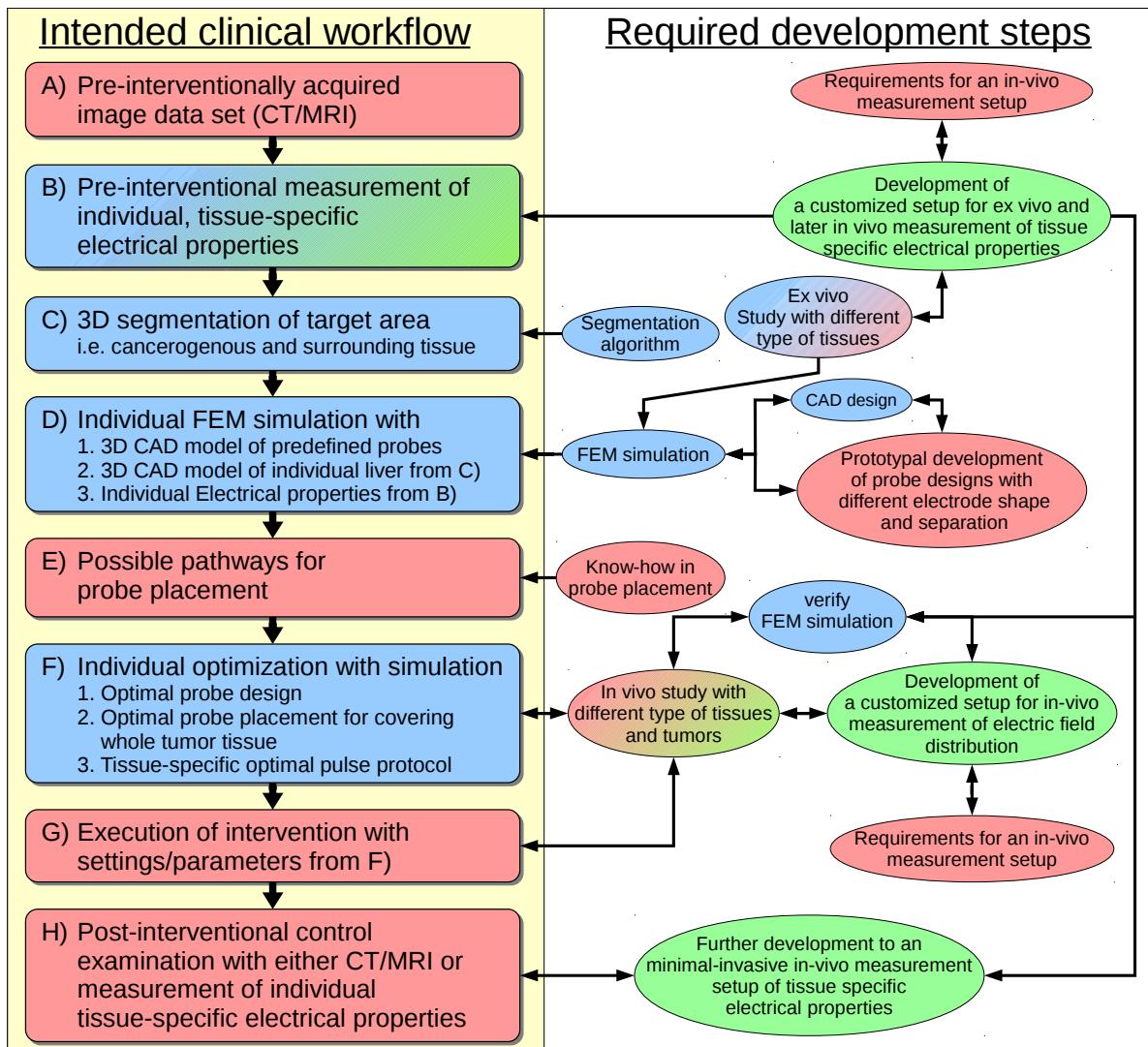


Abbildung 8.1: *PACET-Workflow, erarbeitet von Projektbeteiligten am Institut für Angewandte Medizintechnik (blau), der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie (rot) und der Hochschule Trier, Fachbereich Elektrotechnik (grün). Die Aufgabengebiete der einzelnen Institutionen sind entsprechend farblich codiert.*

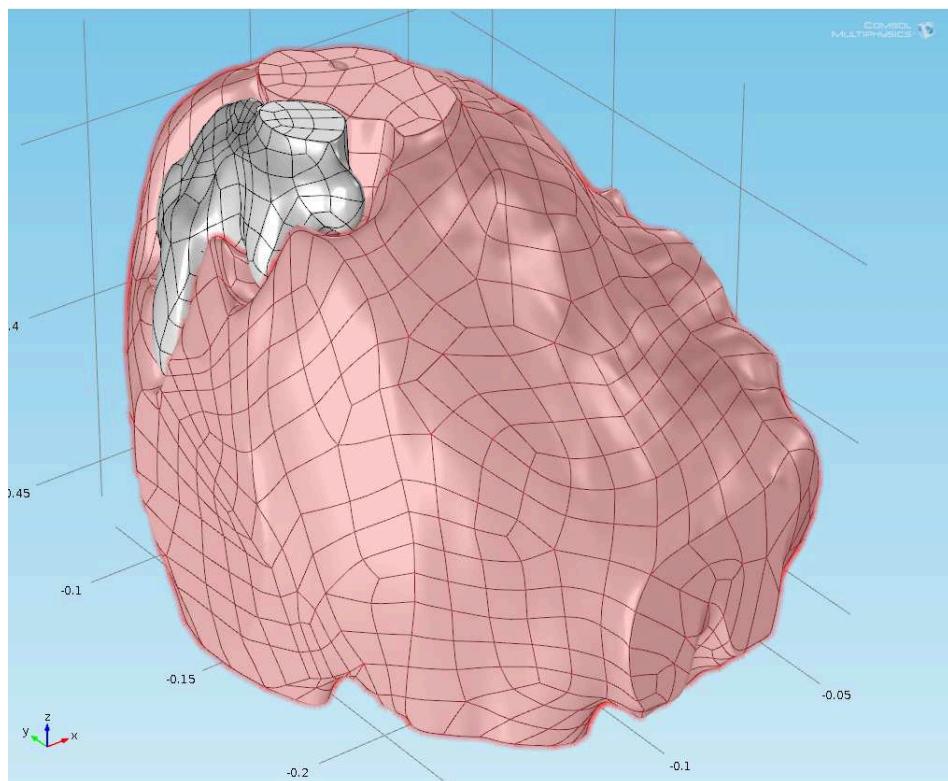


Abbildung 8.2: CAD Modell einer Leber (rot) mit Tumor (grau) in Comsol Multiphysics 4.4. Deutlich sichtbar ist die unregelmäßige Form des Tumors.

## 9 Zusammenfassung und Ausblick

Eine Tumortherapie auf der Basis von Elektroporation (EP) hat in den Augen zahlreicher Kliniker das Potential, zukünftig andere Therapieformen als primäre Methode abzulösen: Die Wirksamkeit ist grundsätzlich nachgewiesene, Elektrochemotherapie (ECT) an Hauttumoren und Irreversible Elektroporation (IRE) an Lebertumoren sind bereits im klinischen Einsatz. Die Vorteile – insbesondere die Kombination aus minimal-invasivem Einsatz und nicht-thermischem Verfahren – lassen ein breites Anwendungsspektrum zu, es können sowohl oft auftretende Tumorarten (z. B. Leberkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs) wie auch seltene Formen (z. B. Klatskin-Tumor) mit einem auf EP basierenden Verfahren behandelt werden. Die Möglichkeiten der Therapieformen reichen von der patientenschonenderen Behandlung bis hin zur erstmals gegebenen Methode, bestimmte Tumorarten bzw. -lokalisierungen überhaupt therapieren zu können.

### **Zusammenfassung der erreichten Ergebnisse**

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine neuartige Elektrodenkonfiguration von der Modellbildung bis hin zum funktionalen Prototypen entworfen und aufgebaut. Die mit Hilfe von Computersimulationen entwickelte Sonde ermöglicht die interstitielle Anwendung der EP für verschiedene Tumorgeometrien auf minimal-invasiven Zugangswegen, wobei fünf wesentliche Neuerungen mit daraus resultierenden Vorteilen kennzeichnend sind:

1. Die Vorteile der klinischen Verfahren ECT und IRE werden erstmals bewusst kombiniert und gezielt in einer einzigen Kombinationstherapie angewandt. Dadurch wird entweder der Ablationsradius vergrößert oder die notwendige Feldstärke für ein definiertes Areal verringert. Zudem steigt der durch Apoptose zerstörte Gewebeanteil, während sich der durch Nekrose zerstörte Anteil verringert.
2. Das Array besteht u. a. aus vier gekrümmten Nadelelektroden. Gegenüber den derzeit bei der IRE eingesetzten starren Nadelelektroden resultieren daraus weitere Freiheitsgrade in der Feldgeometrie. Das Konzept ist auf mehr als vier Satellitenelektroden zur Genauigkeitssteigerung übertragbar.
3. Die einzelnen Elektroden können individuell auf unterschiedliche Potentiale gelegt werden. Zusammen mit Punkt zwei entstehen gegenüber dem aktuellen Vorgehen – ausschließlich zwei gleichzeitig beschaltete Elektroden – gänzlich neue Variationsmöglichkeiten der Feldgeometrie, womit wiederum eine sehr viel genauere patientenindividuelle Tumorabdeckung möglich ist.

4. Die Sonde vereint das felderzeugende Elektrodenarray und die lokale Injektion von Pharmaka in einem Instrument. Es sind weder zusätzliche invasive Techniken (z. B. weitere Platzierungen von Spritzenkanülen an die Stellen der beabsichtigten ECT) noch andere Zugangswege notwendig.
5. Das Elektrodenarray wird mit einem Einstich eingeführt, die Satellitenelektroden werden erst im Tumor ausgefahren. Aus diesem Konzept ergeben sich gleich mehrere Vorteile:
  - Die relative geometrische Lage der einzelnen Elektroden ist mit dieser einen Platzierung festgelegt. Die relative Ortslage zueinander ist bei einzeln einzubringenden Nadeln wegen möglicher Abweichungen auf dem perkutanen Zugangsweg vorab nicht exakt definierbar.
  - Diese Methode hat einen enormen Zeitvorteil für die klinische Anwendung: Pro Elektrode werden derzeit etwa 30 min zum korrekten platzieren benötigt, was sich bei einer IRE zu mehreren Stunden Vorbereitungszeit summieren kann.
  - Die Strahlenbelastung für den Patienten sinkt erheblich, da die Elektroden perkutan im CT gesetzt und pro Positionskontrolle neue CT-Bilder angefertigt werden (mit Korrekturen sind etwa fünf CT-Aufnahmen pro Nadel üblich, in schwierigen Fällen auch deutlich mehr).
  - Das Risiko der Stichkanal-Metastasierung verringert sich deutlich, da es gegenüber dem aktuellen Vorgehen (2-6 Stichkanäle) nur einen einzigen Stichkanal gibt, in dem Metastasen entstehen können. Zudem wird durch den Aufbau und das Behandlungskonzept von Fachärzten das Risiko der Metastasierung dieses einen Stichkanals als geringer bewertet.

Die Simulationsergebnisse belegen, dass die entwickelte Sonde nach aktuellem Stand der Forschung für die beabsichtigte Kombinationstherapie aus IRE und ECT geeignet ist. Der aufgebaute Prototyp hat sich für das Zielgewebe in ex-vivo-Versuchsreihen bewährt und die genannten Vorteile (soweit in diesem Rahmen möglich) untermauert [Rit11; Rit12; Bru13; Rit14a]. Der Einsatz als reine IRE-Elektrode ist ebenfalls möglich, es bleiben die o. g. Vorteile eines einzigen Stichkanals und der variableren Feldgeometrie.

Zusätzlich wurde ein Gütemodell entwickelt, mit dem eine Intervention auf der Basis von Simulationsergebnissen nach objektiven Kriterien beurteilt und optimiert werden kann [Rit13; Rit15a; Rit15b; Rit17a]. Mit diesem Modell wurde der Prototyp exemplarisch auf einen ideal sphärischen Tumor optimiert und damit der Programmcode erprobt.

In einer Tierversuchsstudie konnte an der Schweineleber nachgewiesen werden, dass 1. die simulierte Feldgeometrie dem tatsächlichen IRE-Ablationsareal entspricht und 2. die entwickelte Kombinationstherapie aus IRE und ECT ein fast doppelt so großes Ablationsareal erzeugt [Rit17b; Ped17].

Das Novum der gezielt wechsel- und steuerbaren Potentiale ist mit kommerziell verfügbaren Geräten derzeit nicht durchführbar: Die im Handel erhältlichen Elektroporatoren arbeiten mit zwei Potentialen. Auch die durch Simulationen belegten Vorteile der variablen Potentialwechsel sind mit diesen Geräten nicht möglich. Deshalb wurde mit der Entwicklung eines eigenen

---

Elektroporators für Forschungszwecke begonnen, mit dem eine EKG-getriggerte IRE mit mehr als zwei verschiedenen Potentialen und beliebigen Potentialwechseln als neuer Parameter des Pulsprotokolls möglich wird.

Es wurde ein Schaltungsaufbau realisiert, mit dem ein für die Anwendung üblicher Spannungspuls ( $t_b = 100 \mu\text{s}$ ,  $T = 1 \text{ s}$ ,  $U_0 = 2 \text{ kV}$ ) erzeugt werden kann. Durch die im Vergleich zu einem marktüblichen Gerät steilen Flanken ( $< 0,1 \mu\text{s}$ ) sind auch kürzere Pulse sehr präzise zu erzeugen. Die Zeitverzögerung des gesamten Schaltungsaufbaus beläuft sich auf deutlich unter 500 ns, dieser Wert wird bei der üblichen Impulsdauer von  $100 \mu\text{s}$  als ausreichend klein angesehen. Die Schaltungssimulation stimmt im Rahmen der Bauteilgenauigkeit mit den gemessenen Werten der realen Schaltung überein.

Mit einem UDOO-Entwicklerboard wurde für die Steuereinheit eine geeignete Hardware ausgewählt: Das System aus zwei Prozessoren erlaubt sowohl eine genaue EKG-Signalaufnahme und Triggerpulsabgabe als auch eine komplexe Signalverarbeitung und grafische Benutzerinteraktivität. Die Rechen- und Kommunikationszeit der beiden Prozessoren ist für die Anforderungen ebenfalls ausreichend klein ( $< 1 \text{ ms}$ ).

Die für den Patienten sichere Zeit zur Abgabe der Spannungspulse liegt beim EKG zwischen dem Beginn der Q-Welle und dem Beginn der T-Welle. Der charakteristische QRS-Komplex innerhalb dieser Phase eignet sich zur algorithmischen Erkennung. In der Literatur sind zahlreiche QRS-Erkennungsalgorithmen dokumentiert. Aufgrund der Anforderungen zur instantanen Erkennung mit geringer Rechenkomplexität wurden vier Algorithmen identifiziert, modifiziert und implementiert. Zusätzlich wurde eine Entscheidungsphase entwickelt, welche einen erkannten QRS-Komplex mit der aktuellen Herzfrequenz auf Plausibilität prüft. Eine weitere Entscheidungsphase mit vorhersagender Komponente schätzt zur Eliminierung von Filterverzögerungen den nächsten QRS-Komplex auf der Basis vergangener QRS-Komplexe.

Die Genauigkeit der Simulationsergebnisse hängt von der Genauigkeit der Berechnung selbst sowie von der Genauigkeit der Eingabeparameter ab: Erstere wurde anhand einer Fehlerrechnung auf  $< 5\%$  eingegrenzt. Die in der Literatur genannten Werte der elektrischen Gewebe-eigenschaften sind kritisch zu sehen und Gegenstand laufender Forschungsarbeiten. Mit dem entwickelten Gütemodell wurde eine Parameterstudie durchgeführt, in der das Verhältnis der Permittivität von gesundem und tumorösem Lebergewebe in realistischen Grenzen verändert wurde. Danach ist davon auszugehen, dass die Werte ausreichend verlässlich sind, um bereits heute eine IRE vorab per Computersimulation planen zu können. Da die Grenzfeldstärken für reversible und irreversible EP bislang nicht ausreichend genau definiert sind und zudem im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesen werden konnte, dass die Grenzwerte sich auch nach dem Tumortyp unterscheiden [Rit14b; Rit15c; El 16], ist derzeit eine weitere Genauigkeitssteigerung des Gütemodell oder der Simulationen nicht sinnvoll darstellbar.

Abschließend wurde mit klinischen Anwendern ein Workflow entwickelt, wie eine mit Computersimulationen unterstützte, EP-basierte patientenindividuelle Tumortherapie in eine klinische Routine überführt werden kann.

## Ausblick

Der Prototyp wurde bislang an gesunder Schweineleber erfolgreich evaluiert, der Nachweis aller Vorteile im Tumormodell – insbesondere die erwartete geringere Wahrscheinlichkeit der Stichkanal-Metastasierung – steht noch aus. Eine Tierversuchsstudie mit einem überarbeiteten Prototypen ist von entsprechendem Fachpersonal bereits in Planung.

Um die Simulationsgenauigkeit zu steigern, sind die Eingabeparameter wie z. B. elektrische Gewebeeigenschaften je nach Tumor- und Gewebetyp (vgl. für Lebergewebe [Pey15]) sowie Grenzwerte von reversibler und irreversibler EP deutlich präziser zu bestimmen. Im Idealfall kann der Nachweis erbracht werden, dass Grenzwerte auf Zellebene auf Grenzwerte in humanem Gewebe übertragbar sind, so dass diese Daten durch deutlich einfacher durchzuführende Zellversuche abstrahiert werden können. Anschließend kann das Gütemodell entsprechend angepasst und weiter differenziert werden.

Der entwickelte Prototyp hat – insbesondere bei einer industriellen Fertigung – weiteres Optimierungspotenzial: Miniaturisierung, Integration von mehr Elektroden und Perforierung der Elektroden für eine gleichmäßige Verteilung der Pharmaka sind mittelfristig realistische Optionen.

Obwohl EP-basierte Tumortherapien bereits klinisch etabliert sind, ist ein Abgleich von simulierter Feldgeometrie, tatsächlich im Gewebe auftretende Feldstärken und auftretendes Ablationsareal in dieser Ursache-Wirkungs-Kette bislang nicht durchgeführt bzw. publiziert worden. Eine passende Messmethodik, mit der die tatsächlich im Gewebe auftretenden Feldstärken überprüfen werden können, würde einen lückenlosen Nachweis ermöglichen.

Auch in den Pulsprotokollen liegt weiteres Entwicklungspotenzial: Nanopulse im Bereich von 4 ns mit Feldstärken von mehreren  $\frac{\text{MV}}{\text{m}}$  zeigen ähnliche Wirkungen an Zellmembranen, wie derzeitige IRE-Pulsprotokolle [Koh14]. Die Kombination von Niederspannungs- und Hochspannungspulsen wird auch bereits erprobt [Hoj08; And08; Pav08a].

Weitere Ansätze sind das Elektrodenmaterial (z. B. *phase change materials*, kurz *PCM*) [Are13], *Gene-Transfer* als Abwandlung der ECT [Li14b] oder das Einbringen von anderen therapeutisch wirksamen Substanzen (z. B. [Tur11; Par12; Cre15]).

Langfristiges Ziel ist die Etablierung des skizzierten klinischen Workflows mit automatisierter Feldanpassung: Ist eine passende Elektrode ausgewählt, z. B. mit Hilfe eines vorab etablierten Expertensystems, wird diese in den Tumor platziert. Während der Intervention kann ein MR-Bild mit bereits eingesetzter (MR-tauglicher) Elektrode erzeugt werden, das an den Elektroporator geschickt wird (die Infrastruktur dafür ist bereits jetzt Stand der Technik). Dieser nimmt automatisiert Segmentierung und Feldoptimierung vor. Nach abschließender Kontrolle durch einen Arzt würde das Gerät die IRE selbstständig durchführen, wobei die Feldverteilung im MR gleichzeitig gemessen und mit der vorherigen Simulation abgeglichen wird [Kra15].

# Literatur

- [Ahl85] M. L. Ahlstrom und W. J. Tompkins. „Digital filters for real-time ECG signal processing using microprocessors.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 32(9) (Sep. 1985), S. 708–713. doi: [10.1109/TBME.1985.325589](https://doi.org/10.1109/TBME.1985.325589) (siehe S. 88, 89).
- [Ald13] Pierre Aldag. „Die Wirkung von Hochspannungspulsen auf lebende Zellen für die Anwendung in der medizinischen Elektroporationstherapie“. Bachelorarbeit. RWTH Aachen, II. Physikalisches Institut, März 2013 (siehe S. 57).
- [And08] F. M. André, J. Gehl, G. Sersa, V. Préat, P. Hojman, J. Eriksen, M. Golzio, M. Cemazar, N. Pavselj, M-P. Rols, D. Miklavcic, E. Neumann, J. Teissié und L. M. Mir. „Efficiency of high- and low-voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle, liver, tumor, and skin.“ eng. *Hum Gene Ther*, Bd. 19(11) (Nov. 2008), S. 1261–1271. doi: [10.1089/hgt.2008.060](https://doi.org/10.1089/hgt.2008.060) (siehe S. 102).
- [Ans65] Harry Ansoff. „Checklist for competitive and competence profiles“. *Corporate strategy*, Bd. (1965), S. 98–99 (siehe S. 17).
- [Are13] Christopher B. Arena, Roop L. Mahajan, Marissa N. Rylander und Rafael V. Davalos. „An experimental and numerical investigation of phase change electrodes for therapeutic irreversible electroporation.“ eng. *J Biomech Eng*, Bd. 135(11) (Nov. 2013), S. 111009. doi: [10.1115/1.4025334](https://doi.org/10.1115/1.4025334) (siehe S. 9, 102).
- [Ayr94] Sinerik Ayrapetyan und David O Carpenter. *Biological effects of electric and magnetic fields: Sources and Mechanisms*. Academic Press, 1994. ISBN: 9780121602611 (siehe S. 25).
- [Bah97] M Bahoura, M Hassani und M Hubin. „DSP implementation of wavelet transform for real time ECG wave forms detection and heart rate analysis“. *Computer methods and programs in biomedicine*, Bd. 52(1) (1997), S. 35–44. doi: [10.1016/S0169-2607\(97\)01780-X](https://doi.org/10.1016/S0169-2607(97)01780-X) (siehe S. 89).
- [Bak92] RJ Baker und BP Johnson. „Stacking power MOSFETs for use in high speed instrumentation“. *Review of scientific instruments*, Bd. 63(12) (1992), S. 5799–5801 (siehe S. 31, 32, 83).
- [Bal10] Christine Ball, Kenneth R. Thomson und Helen Kavoudias. „Irreversible electroporation: a new challenge in “out of operating theater” anesthesia.“ eng. *Anesth Analg*, Bd. 110(5) (Mai 2010), S. 1305–1309. doi: [10.1213/ANE.0b013e3181d27b30](https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e3181d27b30) (siehe S. 6, 7, 58).

- [Bar09] Kim E. Barrett, Susan M. Barman, Scott Boitano und Hedwien Brooks. *Ganong's Review of Medical Physiology, 23rd Edition (LANGE Basic Science)*. McGraw-Hill Medical, 2009. ISBN: 978-0-07-160568-7 (siehe S. 42).
- [Bar10] Iskandar Barakat, Jill Gallaher, Hongfeng Chen und Raphael C Lee. „In Vivo Electroporation: An Important Injury Mechanism in Electrical Shock Trauma“. *Advanced Electroporation Techniques in Biology and Medicine*. Taylor und Francis Group, LLC, 2010. Kap. 27, S. 491. URL: [www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/EBK1439819067-c27](http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/EBK1439819067-c27) (siehe S. 2, 3, 13).
- [Bar99] Gustavo V Barbosa-Canovas, Usha R Pothakamury, M Marcela Gongora-Nieto und Barry G Swanson. *Preservation of foods with pulsed electric fields*. Academic Press, 1999 (siehe S. 5).
- [Bau01] Martin Baumann. „Early stage shape change of human erythrocytes after application of electric field pulses.“ eng. *Mol Membr Biol*, Bd. 18(2) (2001), S. 153–160. DOI: [10.1080/09687680110034863](https://doi.org/10.1080/09687680110034863) (siehe S. 40).
- [Bau02] Martin Baumann. „Cell fusion generates an inhomogeneous distribution of elasticity and rigidity in plasma membranes“. *Journal of Membrane Biology*, Bd. 187(1) (2002), S. 27–35. DOI: [10.1007/s00232-001-0148-4](https://doi.org/10.1007/s00232-001-0148-4) (siehe S. 40).
- [Bau13] Hansjürgen Bausch und Horst Steffen. *Elektrotechnik: Grundlagen*. Springer-Verlag, 2013. DOI: [10.1007/978-3-8351-9095-5](https://doi.org/10.1007/978-3-8351-9095-5) (siehe S. 49).
- [Bau98] Martin Baumann und R. Grebe. „Characteristics of the osmotically induced membrane rupture“. *Molecular membrane biology*, Bd. 15(4) (1998), S. 193–201 (siehe S. 33).
- [Ben10] Avigail Ben-Or und Boris Rubinsky. „Experimental Studies on Irreversible Electroporation of Cells“. *Irreversible Electroporation*. Springer, 2010, S. 63–83. DOI: [10.1007/978-3-642-05420-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-05420-4_3) (siehe S. 35).
- [Bos10] Boston Scientific Corporation, Marlborough, MA, USA. *Radiofrequency Ablation Needle Electrodes - Procedural Algorithms and Lesion Geometry*. Abruf: 24.08.2015. März 2010. URL: <http://tecnicasintervencionistas.com/pindustriales/ELECTRODOS%20DE%20RADIOFRECUENCIA.%20ALGORITMOS%20DE%20PROCEDIMIENTO%20Y%20GEOMETRIA%20DE%20LAS%20LESIONES.pdf> (siehe S. 16, 66).
- [Bos13] Boston Scientific Corporation, Marlborough, MA, USA. *Radiofrequency Ablation – Product Guide*. Abruf: 24.08.2015. Apr. 2013. URL: [www.bostonscientific.com/content/dam/bostonscientific/pi/portfolio-group/rfa/RFA-Family-Brochure-ENDO-149636-AA.pdf](http://www.bostonscientific.com/content/dam/bostonscientific/pi/portfolio-group/rfa/RFA-Family-Brochure-ENDO-149636-AA.pdf) (siehe S. 16).
- [Bow11] Matthew Bower, Leslie Sherwood, Yan Li und Robert Martin. „Irreversible electroporation of the pancreas: definitive local therapy without systemic effects.“ eng. *J Surg Oncol*, Bd. 104(1) (Juli 2011), S. 22–28. DOI: [10.1002/jso.21899](https://doi.org/10.1002/jso.21899) (siehe S. 13).

- [Bro10] Harald Brost. *Vom Code zur Rechnung: Kurzer Leitfaden zum DRG-System, 7. Auflage*. Medizinisches Controlling, Uniklinik RWTH Aachen, öffentlich zugänglich via [www.ukaachen.de](http://www.ukaachen.de). Abruf: 24.08.2015. 2010. URL: [www.ukaachen.de/fileadmin/files/global/vorstand/4406330.pdf](http://www.ukaachen.de/fileadmin/files/global/vorstand/4406330.pdf) (siehe S. 17, 130).
- [Bru13] Philipp Bruners, Peter Isfort, Andreas Ritter, Martin Baumann, Tobias Penzkofer, Thomas Schmitz-Rode, Christiane Kuhl und Andreas H Mahnken. „Entwicklung und erste ex-vivo Versuche eines Prototypen zur interstitiellen Elektrochemotherapie“. *RöFo - Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren*, Bd. 185(S 01) (Apr. 2013). ISSN: 1438-9010. DOI: 10.1055/s-0033-1346313 (siehe S. 100).
- [Büc06] Egon Bücheler und Thomas Götsche. *Einführung in die Radiologie: Diagnostik und Intervention, Kap. 8: Gallenblase und Gallenwege*. <http://www.medicococonsult.de/wiki/Klatskin-Tumor>. Thieme, 2006 (siehe S. 12).
- [Bus14] D. Busch, S. Hilschmidt, M. Binnebösel, A. Ritter, U. Neumann und Junge K. „Offene irreversible Elektroporation (IRE) bei irresektabilem Pankreaskarzinom: eine Fallvorstellung“. *23. Tagung der Gesellschaft für Gastroenterologie in Nordrhein-Westfalen e. V. 2014*. März 2014. DOI: 10.1007/s11377-013-0841-8 (siehe S. 13).
- [Cam14] Luca G. Campana, Cristina Falci, Michela Basso, Elisabetta Sieni und Fabrizio Dughiero. „Clinical electrochemotherapy for chest wall recurrence from breast cancer“. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*. Elsevier BV, 2014, S. 3–33. DOI: 10.1533/9781908818294.3 (siehe S. 3–5).
- [Cat11] Daniel V T. Catenacci, Mark Kozloff, Hedy L. Kindler und Blase Polite. „Personalized colon cancer care in 2010.“ eng. *Semin Oncol*, Bd. 38(2) (Apr. 2011), S. 284–308 (siehe S. 2, 12).
- [Cha11] Kevin P. Charpentier, Farrah Wolf, Lelia Noble, Brody Winn, Murray Resnick und Damian E. Dupuy. „Irreversible electroporation of the liver and liver hilum in swine.“ eng. *HPB (Oxford)*, Bd. 13(3) (März 2011), S. 168–173. DOI: 10.1111/j.1477-2574.2010.00261.x (siehe S. 6, 7, 13).
- [Cho09] Youn-Suk Choi, Hong-Bae Kim, Gil-Sik Kwon und Je-Kyun Park. „On-chip testing device for electrochemotherapeutic effects on human breast cells.“ eng. *Biomed Microdevices*, Bd. 11(1) (Feb. 2009), S. 151–159. DOI: 10.1007/s10544-008-9220-5 (siehe S. 8, 39).
- [Cho13] Jeunghwan Choi, Michael Morrissey und John C Bischof. „Thermal processing of biological tissue at high temperatures: impact of protein denaturation and water loss on the thermal properties of human and porcine liver in the range 25–80 °C“. *Journal of Heat Transfer*, Bd. 135(6) (Mai 2013), S. 061302. DOI: 10.1115/1.4023570 (siehe S. 2).

- [Coa90] D. A. Coast, R. M. Stern, G. G. Cano und S. A. Briller. „An approach to cardiac arrhythmia analysis using hidden Markov models.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 37(9) (Sep. 1990), S. 826–836. doi: 10.1109/10.58593 (siehe S. 89).
- [Čor07] Selma Čorović, Mojca Pavlin und Damijan Miklavčič. „Analytical and numerical quantification and comparison of the local electric field in the tissue for different electrode configurations“. *Biomed Eng Online*, Bd. 6 (2007), S. 37–50. doi: 10.1186/1475-925X-6-37 (siehe S. 23).
- [Cor13] Selma Corovic, Igor Lackovic, Primoz Sustaric, Tomaz Sustar, Tomaz Rodic und Damijan Miklavcic. „Modeling of electric field distribution in tissues during electroporation.“ eng. *Biomed Eng Online*, Bd. 12 (2013), S. 16. doi: 10.1186/1475-925X-12-16 (siehe S. 25).
- [Cor98a] N Mariano Correa und ZA Schelly. „Dynamics of Electroporation of Synthetic Liposomes Studied Using a Pore-Mediated Reaction, Ag<sup>++</sup> Br- AgBr“. *The Journal of Physical Chemistry B*, Bd. 102(46) (1998), S. 9319–9322 (siehe S. 33).
- [Cor98b] N Mariano Correa und ZA Schelly. „Electroporation of unilamellar vesicles studied by using a pore-mediated electron-transfer reaction“. *Langmuir*, Bd. 14(20) (1998), S. 5802–5805 (siehe S. 33).
- [Cre15] Christian Cremer, Tim Vierbuchen, Lea Hein, Rainer Fischer, Stefan Barth und Thomas Nachreiner. „Angiogenin mutants as novel effector molecules for the generation of fusion proteins with increased cytotoxic potential.“ eng. *J Immunother*, Bd. 38(3) (Apr. 2015), S. 85–95. doi: 10.1097/CJI.0000000000000053 (siehe S. 102).
- [Cro10] Laura Crocetti, Thierry de Baere und Riccardo Lencioni. „Quality improvement guidelines for radiofrequency ablation of liver tumours.“ eng. *Cardiovasc Intervent Radiol*, Bd. 33(1) (Feb. 2010), S. 11–17. doi: 10.1007/s00270-009-9736-y (siehe S. 2).
- [Dav05] R. V. Davalos, I L M. Mir und B. Rubinsky. „Tissue ablation with irreversible electroporation.“ eng. *Ann Biomed Eng*, Bd. 33(2) (Feb. 2005), S. 223–231 (siehe S. 5, 8).
- [Dav10] Rafael V Davalos, Paulo A Garcia und Jon F Edd. „Thermal Aspects of Irreversible Electroporation“. *Irreversible Electroporation*. Springer, 2010, S. 123–154. doi: 10.1007/978-3-642-05420-4\_5 (siehe S. 3, 37).
- [Deo11] Ajita Deodhar, Timm Dickfeld, Gordon W. Single, William C Hamilton Jr, Raymond H. Thornton, Constantinos T. Sofocleous, Majid Maybody, Mithat Gónen, Boris Rubinsky und Stephen B. Solomon. „Irreversible electroporation near the heart: ventricular arrhythmias can be prevented with ECG synchronization.“ eng. *AJR Am J Roentgenol*, Bd. 196(3) (März 2011), W330–W335. doi: 10.2214/AJR.10.4490 (siehe S. 6, 25, 37, 42).

- [Deu15a] Deutsche Edelstahlwerke GmbH, Witten. *Acidur 4301 – Werkstoffdatenblatt*. Abruf: 02.02.2017. Nov. 2015. URL: [www.dew-stahl.com/fileadmin/files/dew-stahl.com/documents/Publikationen/Werkstoffdatenblaetter/RSH/1.4301\\_de.pdf](http://www.dew-stahl.com/fileadmin/files/dew-stahl.com/documents/Publikationen/Werkstoffdatenblaetter/RSH/1.4301_de.pdf) (siehe S. 69).
- [Deu15b] Deutsche Edelstahlwerke GmbH, Witten. *Acidur 4571 – Werkstoffdatenblatt*. Abruf: 02.02.2017. Dez. 2015. URL: [www.dew-stahl.com/fileadmin/files/dew-stahl.com/documents/Publikationen/Werkstoffdatenblaetter/RSH/1.4571\\_de.pdf](http://www.dew-stahl.com/fileadmin/files/dew-stahl.com/documents/Publikationen/Werkstoffdatenblaetter/RSH/1.4571_de.pdf) (siehe S. 44).
- [Dev00] S. B. Dev, D. P. Rabussay, G. Widera und Gunter A. Hofmann. „Medical applications of electroporation“. *IEEE Transactions on Plasma Science*, Bd. 28(1) (2000), S. 206–223. DOI: [10.1109/27.842905](https://doi.org/10.1109/27.842905) (siehe S. 19, 36–38, 40, 41, 48, 67).
- [Di 95] V. Di Virgilio, C. Francaiancia, S. Lino und S. Cerutti. „ECG fiducial points detection through wavelet transform“. *Engineering in Medicine and Biology Society, 1995., IEEE 17th Annual Conference*. Bd. 2. 1995, S. 1051–1052. DOI: [10.1109/IEMBS.1995.579466](https://doi.org/10.1109/IEMBS.1995.579466) (siehe S. 89).
- [Doc10] DocCheck AG. *Drug Eluting Stent mit aufgeblasenem Ballonkatheter*. Abruf: 01.09.2015. Mai 2010. URL: <http://pictures.doccheck.com/de/photo/4729-drug-eluting-stent-mit-aufgeblasenem-ballonkatheter> (siehe S. 60).
- [Doc15] DocCheck AG. *DocCheck Flexikon*. 2015. URL: [flexikon.doccheck.com](http://flexikon.doccheck.com) (siehe S. 127).
- [Dol14] Marco Dollinger, Ernst-Michael Jung, Lukas Beyer, Christoph Niessen, Fabian Scheer, René Müller-Wille, Christian Stroszczynski und Philipp Wiggemann. „Irreversible electroporation ablation of malignant hepatic tumors: subacute and follow-up CT appearance of ablation zones.“ eng. *J Vasc Interv Radiol*, Bd. 25(10) (Okt. 2014), S. 1589–1594. DOI: [10.1016/j.jvir.2014.06.026](https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.06.026) (siehe S. 7, 67, 74).
- [Dun13] Erik M. Dunki-Jacobs, Prejesh Philips und Robert CG Martin 2nd. „Evaluation of Resistance as a Measure of Successful Tumor Ablation During Irreversible Electroporation of the Pancreas.“ eng. *Journal of the American College of Surgeons*, Bd. 218(2) (Nov. 2013), S. 179–187. DOI: [10.1016/j.jamcollsurg.2013.10.013](https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2013.10.013) (siehe S. 13).
- [Edd06] Jon F. Edd, Liana Horowitz, Rafael V. Davalos, Lluis M. Mir und Boris Rubinsky. „In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 53(7) (Juli 2006), S. 1409–1415. DOI: [10.1109/TBME.2006.873745](https://doi.org/10.1109/TBME.2006.873745) (siehe S. 5, 10).

- [Edh11] I. Edhemovic, E. M. Gadzijev, E. Brecelj, D. Miklavcic, B. Kos, A. Zupanic, B. Mali, T. Jarm, D. Pavliha, M. Marcan, G. Gasljevic, V. Gorjup, M. Music, T Pecnik Vavpotic, M. Cemazar, M. Snoj und G. Sersa. „Electrochemotherapy: a new technological approach in treatment of metastases in the liver.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 10(5) (Okt. 2011), S. 475–485. doi: 10.2011;10(5):475–85 (siehe S. 4, 13).
- [El 12] Regina El Dib, Naji J. Touma und Anil Kapoor. „Cryoablation vs radiofrequency ablation for the treatment of renal cell carcinoma: a meta-analysis of case series studies.“ eng. *BJU Int*, Bd. 110(4) (Aug. 2012), S. 510–516. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10885.x (siehe S. 2).
- [El 16] Ahmed El Mahmoudi, Andreas Ritter, Anne Eßer, Katharina Kolenbach, Ulf Peter Neumann und Martin Baumann. „Influence of current flow and cell line on successful electroporation of cells“. *Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society (BEMS) and the European BioElectromagnetics Association (EBEA), BioEM2016, Ghent*, Bd. (Juli 2016), S. 279–282 (siehe S. 50, 57, 101).
- [Ess07] Axel T. Esser, Kyle C. Smith, Thiruvallur R. Gowrishankar und James C. Weaver. „Towards solid tumor treatment by irreversible electroporation: intrinsic redistribution of fields and currents in tissue.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 6(4) (Aug. 2007), S. 261–274. doi: 10.1177/153303460700600402 (siehe S. 10).
- [Fai15] Andrew Fairbanks, Anand Vadlamani, Tylor Whitmer, Raji Sundararajan und Allen Garner. „Cell suspension electrical measurements in real time“. *Conference Proceedings Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society (BEMS) and the European BioElectromagnetics Association (EBEA), BioEM2015, Monterey*, Bd. (Juni 2015) (siehe S. 58).
- [Fli04] Torsten Fließbach. *Elektrodynamik: Lehrbuch zur Theoretischen Physik II, 4. Auflage*. Bd. 2. Springer-Verlag, 2004 (siehe S. 19).
- [For12] Alejandro Forner, Josep M. Llovet und Jordi Bruix. „Hepatocellular carcinoma.“ eng. *Lancet*, Bd. 379(9822) (März 2012), S. 1245–1255. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0 (siehe S. 12).
- [Fri26] Hugo Fricke und Sterne Morse. „The electric capacity of tumors of the breast“. *The Journal of Cancer Research*, Bd. 10(3) (1926), S. 340–376 (siehe S. 91).
- [Gab96a] C. Gabriel, S. Gabriel und E. Corthout. „The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 41(11) (Nov. 1996), S. 2231–2249 (siehe S. 91, 93).
- [Gab96b] S. Gabriel, R. W. Lau und C. Gabriel. „The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 41(11) (Nov. 1996), S. 2251–2269 (siehe S. 91).

- [Gar07] Allen L. Garner, George Chen, Nianyong Chen, Viswanadham Sridhara, Juergen F. Kolb, R James Swanson, Stephen J. Beebe, Ravindra P. Joshi und Karl H. Schoenbach. „Ultrashort electric pulse induced changes in cellular dielectric properties.“ eng. *Biochem Biophys Res Commun*, Bd. 362(1) (Okt. 2007), S. 139–144. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.07.159 (siehe S. 44, 58).
- [Gia06] Douglas Giancoli. *Physik, 3., aktualisierte Auflage*. Pearson Studium München, 2006 (siehe S. 19, 20).
- [Gis11] Hanne Gissel, Raphael C Lee und Julie Gehl. „Electroporation and cellular physiology“. *Clinical Aspects of Electroporation*. Springer, 2011, S. 9–17 (siehe S. 9).
- [Glo14] GlobeNewswire (Deutschland). „AngioDynamics: NanoKnife-System erhält OPS-Klassifizierungscodes in Deutschland“. *FinanzNachrichten.de*, Bd. (Okt. 2014). MedSo. URL: [www.finanznachrichten.de/nachrichten-2014-10/31816209-angiodynamics-nanoknife-system-erhaelt-ops-klassifizierungscodes-in-deutschland-382.htm](http://www.finanznachrichten.de/nachrichten-2014-10/31816209-angiodynamics-nanoknife-system-erhaelt-ops-klassifizierungscodes-in-deutschland-382.htm) (siehe S. 8, 130).
- [Gol10] Alex Golberg, Judith Fischer und Boris Rubinsky. „The use of irreversible electroporation in food preservation“. *irreversible electroporation*. Springer, 2010, S. 273–312. DOI: 10.1007/978-3-642-05420-4\_13 (siehe S. 35).
- [Got03] Anita Gothelf, Lluis M. Mir und Julie Gehl. „Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation.“ eng. *Cancer Treat Rev*, Bd. 29(5) (Okt. 2003), S. 371–387 (siehe S. 10).
- [Gra09] Yair Granot, Antoni Ivorra, Elad Maor und Boris Rubinsky. „In vivo imaging of irreversible electroporation by means of electrical impedance tomography.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 54(16) (Aug. 2009), S. 4927–4943. DOI: 10.1088/0031-9155/54/16/006 (siehe S. 2).
- [Gra13] Rudolf Gradewald. *Grimsehl Lehrbuch der Physik: Band 2: Elektrizitätslehre*. Springer-Verlag, 2013 (siehe S. 134).
- [Gre06] Great River Medical Center Iowa, West Burlington, IA, USA. *About Minimally Invasive Surgery*. Abruf: 20.04.2009. 2006. URL: [www.greatrivermc.com/minimally\\_invasive.htm](http://www.greatrivermc.com/minimally_invasive.htm) (siehe S. 129).
- [Haa01] K. Haas, W. C. Sin, A. Javaherian, Z. Li und H. T. Cline. „Single-cell electroporation for gene transfer in vivo.“ eng. *Neuron*, Bd. 29(3) (März 2001), S. 583–591 (siehe S. 33).
- [Haa99] CN Haas und D Aturaliye. „Semi-quantitative characterization of electroporation-assisted disinfection processes for inactivation of Giardia and Cryptosporidium“. *Journal of applied microbiology*, Bd. 86(6) (1999), S. 899–905 (siehe S. 40).

- [Hae02] D. Haemmerich, R. Ozkan, S. Tungjitskusolmun, J. Z. Tsai, D. M. Mahvi, S. T. Staelin und J. G. Webster. „Changes in electrical resistivity of swine liver after occlusion and postmortem.“ eng. *Med Biol Eng Comput*, Bd. 40(1) (Jan. 2002), S. 29–33 (siehe S. 93, 94).
- [Hal14] Steve Haltiwanger. „Why electroporation is a useful technique for cancer treatments“. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*. Elsevier BV, 2014, S. 103–125. DOI: 10.1533/9781908818294.103 (siehe S. 3, 5, 9, 10, 35).
- [Har13] Thomas Harriehausen, Dieter Schwarzenau und Franz Moeller. *Moeller Grundlagen der Elektrotechnik, 23. Auflage*. Springer Vieweg, 2013. ISBN: 978-3-8348-1785-3. DOI: 10.1007/978-3-322-93889-3 (siehe S. 29, 30, 84).
- [Has15] PA Hasgall, F Di Gennaro, C Baumgartner, E Neufeld, MC Gosselin, D Payne, A Klingenböck und N Kuster. *IT'IS Database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues Version 3.0*. IT'IS Foundation, Zürich, Schweiz. Sep. 2015. URL: [www.itis.ethz.ch/virtual-population/tissue-properties](http://www.itis.ethz.ch/virtual-population/tissue-properties) (siehe S. 91–94).
- [Hoj08] Pernille Hojman, Hanne Gissel, Franck M. Andre, Christelle Cournil-Henrionnet, Jens Eriksen, Julie Gehl und Lluis M. Mir. „Physiological effects of high- and low-voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle.“ eng. *Hum Gene Ther*, Bd. 19(11) (Nov. 2008), S. 1249–1260. DOI: 10.1089/hgt.2008.059 (siehe S. 102).
- [Hou10] Michael G. House, Hiromichi Ito, Mithat Gönen, Yuman Fong, Peter J. Allen, Ronald P. DeMatteo, Murray F. Brennan, Leslie H. Blumgart, William R. Jarnagin und Michael I. D'Angelica. „Survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: trends in outcomes for 1,600 patients during two decades at a single institution.“ eng. *J Am Coll Surg*, Bd. 210(5) (Mai 2010), S. 744–52, 752–5. DOI: j.jamcollsurg.2009.12.040 (siehe S. 12).
- [Hu93] Y. H. Hu, W. J. Tompkins, J. L. Urrusti und V. X. Afonso. „Applications of artificial neural networks for ECG signal detection and classification.“ eng. *J Electrocardiol*, Bd. 26 Suppl (1993), S. 66–73. URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8189150](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8189150) (siehe S. 89).
- [Inf09] Informationsstelle Edelstahl Rostfrei, Düsseldorf. *Merkblatt 914 Nichtrostender Stahl – wenn die Gesundheit zählt*. Abruf: 02.02.2017. Okt. 2009. URL: [www.edelstahl-rostfrei.de/downloads/iser/MB\\_914.pdf](http://www.edelstahl-rostfrei.de/downloads/iser/MB_914.pdf) (siehe S. 69).
- [Ivo10a] Antoni Ivorra. „Tissue electroporation as a bioelectric phenomenon: Basic concepts“. *Irreversible Electroporation*. Springer, 2010, S. 23–61. DOI: 10.1007/978-3-642-05420-4\_2 (siehe S. 35).

- [Ivo10b] Antoni Ivorra und Boris Rubinsky. „Historical review of irreversible electroporation in medicine“. *Irreversible Electroporation*. Springer, 2010, S. 1–21. DOI: 10.1007/978-3-642-05420-4\_1 (siehe S. 5, 6, 10, 33, 35, 39).
- [Ivo10c] Antoni Ivorra, Julien Villemajane und Lluis M. Mir. „Electrical modeling of the influence of medium conductivity on electroporation.“ eng. *Phys Chem Chem Phys*, Bd. 12(34) (Sep. 2010), S. 10055–10064. DOI: 10.1039/c004419a (siehe S. 28, 32–34).
- [Iwa14] Futoshi Iwata, Koji Yamazaki, Kimihiro Ishizaki und Tatuo Ushiki. „Local electroporation of a single cell using a scanning ion conductance microscope“. *Jpn. J. Appl. Phys.* Bd. 53(3) (Feb. 2014), S. 036701. ISSN: 1347-4065. DOI: 10.7567/jjap.53.036701 (siehe S. 44).
- [Jac06] John David Jackson. *Klassische Elektrodynamik, 4. Auflage*. Walter de Gruyter, 2006 (siehe S. 19, 133).
- [Jag03] F. Jager, A. Taddei, G. B. Moody, M. Emdin, G. Antolic, R. Dorn, A. Smrdel, C. Marchesi und R. G. Mark. „Long-term ST database: a reference for the development and evaluation of automated ischaemia detectors and for the study of the dynamics of myocardial ischaemia.“ eng. *Med Biol Eng Comput*, Bd. 41(2) (März 2003), S. 172–182 (siehe S. 89).
- [Jey99] S Jeyamkondan, DS Jayas und RA Holley. „Pulsed electric field processing of foods: a review“. *Journal of Food Protection®*, Bd. 62(9) (1999), S. 1088–1096 (siehe S. 5).
- [Jia15] Chunlan Jiang, Rafael V. Davalos und John C. Bischof. „A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 62(1) (Jan. 2015), S. 4–20. DOI: 10.1109/TBME.2014.2367543 (siehe S. 5, 8, 11, 13, 19, 36–38, 44, 48, 54).
- [Jou14] Natanel Jourabchi, Kourosh Beroukhim, Bashir A. Tafti, Stephen T. Kee und Edward W. Lee. „Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment“. *Gastrointestinal Intervention*, Bd. 3(1) (Juni 2014), S. 8–18. ISSN: 2213-1795. DOI: 10.1016/j.gii.2014.02.002 (siehe S. 5–7, 9–11, 57).
- [Kar05] Gerald Karp. *Molekulare Zellbiologie, 4. Auflage*. Springer Berlin, 2005 (siehe S. 33).
- [Kau86] G Kauffmann und G Nöldge. „Gallesystem“. *Leber· Gallenwege Pankreas· Milz*. Springer, 1986, S. 95–142. DOI: 10.1007/978-3-642-70924-1\_2 (siehe S. 59).
- [Kee11] Stephen T. Kee, Julie Gehl, Edward W. Lee, Stephen T. Kee, Julie Gehl und Edward W. Lee. *Clinical Aspects of Electroporation*. 1. Aufl. Springer Science + Business Media, 2011. ISBN: 978-1-441-98363-3. DOI: 10.1007/978-1-4419-8363-3 (siehe S. 35).

- [Kew05] S Kewenig und E Fuhrmann. „Radiofrequenzablation von Lebermetastasen: variable Konfiguration der Nekrosen“. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, Bd. 43(01) (2005), S. 125–126 (siehe S. 2).
- [Kli15] Klinikum Stuttgart, Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie. *Lebertumore – Radiofrequenzablation – RFA / Mikrowellenablation – MWA*. Abruf: 02.02.2016. Juli 2015. URL: [www.klinikum-stuttgart.de/kliniken-institute-zentren/klinik-fuer-diagnostische-und-interventionelle-radiologie-kh/klinische-schwerpunkte/lebertumore-radiofrequenzablation-rfa-mikrowellenablation-mwa](http://www.klinikum-stuttgart.de/kliniken-institute-zentren/klinik-fuer-diagnostische-und-interventionelle-radiologie-kh/klinische-schwerpunkte/lebertumore-radiofrequenzablation-rfa-mikrowellenablation-mwa) (siehe S. 2).
- [Köh02] Bert-Uwe Köhler, Carsten Hennig und Reinhold Orglmeister. „The principles of software QRS detection.“ eng. *IEEE Eng Med Biol Mag*, Bd. 21(1) (Aug. 2002), S. 42–57. DOI: [10.1109/51.993193](https://doi.org/10.1109/51.993193) (siehe S. 88, 89).
- [Koh14] S. Kohler, Ming-Chak Ho, Z. A. Levine, P. T. Vernier, P. Leveque und D. Arnaud-Cormos. „Electrical analysis of cell membrane poration induced by an intense nanosecond pulsed electric field, using an atomistic-to-continuum method“. *Microwave Symposium (IMS), 2014 IEEE MTT-S International*. 2014, S. 1–4. DOI: [10.1109/MWSYM.2014.6848464](https://doi.org/10.1109/MWSYM.2014.6848464) (siehe S. 102).
- [Kol15] Katharina Kolvenbach. „The effects of irreversible electroporation to different malignant human pancreatic cancer cells“. Written Project. FH Aachen, Campus Jülich, Department of Biomedical Engineering und Technomathematics, Feb. 2015 (siehe S. 57, 149, 150).
- [Kra15] Matej Kranjc, Boštjan Markelc, Franci Bajd, Maja Čemažar, Igor Serša, Tanja Blagus und Damijan Miklavčič. „In situ monitoring of electric field distribution in mouse tumor during electroporation.“ *Radiology*, Bd. 274 (1 Jan. 2015), S. 115–123. ISSN: 1527-1315. DOI: [10.1148/radiol.14140311](https://doi.org/10.1148/radiol.14140311) (siehe S. 102).
- [Küc09] Andreas Küchler. *Hochspannungstechnik*. 3., neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Springer, 2009. DOI: [10.1007/978-3-540-78413-5](https://doi.org/10.1007/978-3-540-78413-5) (siehe S. 19–21, 27–29).
- [Kul14] Karolina Kulas. „Mikroprozessor gesteuerte Schaltung zur Erzeugung von getriggerten Hochspannungspulsen für medizinische Anwendungen“. Diplomarbeit. RWTH Aachen, Institut für Hochspannungstechnik (IFHT), Juli 2014 (siehe S. 79).
- [Kun12] Christian Kunte und Sonja Gibis. „Elektrochemotherapie bei Hauttumoren (Artikel vom 12.09.2012)“. *Münchener Merkur*, Bd. 221 (Jan. 2012). URL: [www.tz.de/leben/gesundheit/laesst-knoten-verschwinden-elektrochemotherapie-hauttumoren-2516021.html](http://www.tz.de/leben/gesundheit/laesst-knoten-verschwinden-elektrochemotherapie-hauttumoren-2516021.html) (siehe S. 4).
- [Kur11] Steven M Kurtz. *PEEK biomaterials handbook*. William Andrew, 2011. URL: [www.sciencedirect.com/science/book/9781437744637](http://www.sciencedirect.com/science/book/9781437744637) (siehe S. 54, 70).

- [Lac09] Igor Lacković, Ratko Magjarević und Damijan Miklavčič. „Three-dimensional finite-element analysis of joule heating in electrochemotherapy and in vivo gene electro-transfer“. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, Bd. 16(5) (Okt. 2009), S. 1338–1347. DOI: 10.1109/TDEI.2009.5293947 (siehe S. 3, 8).
- [Lac11] Gerd Lache. „Nitinol hat die Medizintechnik revolutioniert“. *Pforzheimer Zeitung*, Bd. (Dez. 2011). Abruf: 22.09.2015 (siehe S. 66).
- [Lar07] John O. Larkin, Christopher G. Collins, Simon Aarons, Mark Tangney, Maria Whelan, Seamus O'Reilly, Oscar Breathnach, Declan M. Soden und Gerald C. O'Sullivan. „Electrochemotherapy: aspects of preclinical development and early clinical experience.“ eng. *Ann Surg*, Bd. 245(3) (März 2007), S. 469–479. DOI: 10.1097/01.sla.0000250419.36053.33 (siehe S. 10, 14, 22, 25, 37).
- [Lau10] Shlomi Laufer, Antoni Ivorra, Victor E. Reuter, Boris Rubinsky und Stephen B. Solomon. „Electrical impedance characterization of normal and cancerous human hepatic tissue.“ eng. *Physiol Meas*, Bd. 31(7) (Juli 2010), S. 995–1009. DOI: 10.1088/0967-3334/31/7/009 (siehe S. 27, 91–93).
- [Lee07] Edward W. Lee, Christopher T. Loh und Stephen T. Kee. „Imaging guided percutaneous irreversible electroporation: ultrasound and immunohistological correlation.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 6(4) (Aug. 2007), S. 287–294. DOI: 10.1177/153303460700600404 (siehe S. 2).
- [Lee10] Edward W. Lee, Christine Chen, Veronica E. Prieto, Sarah M. Dry, Christopher T. Loh und Stephen T. Kee. „Advanced hepatic ablation technique for creating complete cell death: irreversible electroporation.“ eng. *Radiology*, Bd. 255(2) (Mai 2010), S. 426–433. DOI: 10.1148/radiol.10090337 (siehe S. 5, 10).
- [Lee11] Edward W. Lee, Julie Gehl und Stephen T. Kee. „Introduction to Electroporation“. *Clinical Aspects of Electroporation*. Springer Science + Business Media, 2011, S. 3–7. DOI: 10.1007/978-1-4419-8363-3\_1 (siehe S. 2).
- [Leh10] Günther Lehner. *Elektromagnetische Feldtheorie für Ingenieure und Physiker*, 7. Auflage. Hrsg. von 10.1007/978-3-642-13042-7. Springer-Verlag, 2010 (siehe S. 19, 25).
- [Li14a] David Li, Josephine Kang, Benjamin J. Golas, Vincent W. Yeung und David C. Madoff. „Minimally invasive local therapies for liver cancer“. eng. *Cancer Biol Med*, Bd. 11(4) (Dez. 2014), S. 217–236. DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2014.04.001 (siehe S. 2, 9, 13).
- [Li14b] Shulin Li, Jeffry Cutrera, Richard Heller und Justin Teissie. *Electroporation protocols: preclinical and clinical gene medicine*. Humana Press, 2014. DOI: 10.1007/978-1-4614-9632-8 (siehe S. 40, 102).

- [Liu13] Chong Liu, Xing Xie, Wenting Zhao, Nian Liu, Peter A Maraccini, Lauren M Sassoubre, Alexandria B Boehm und Yi Cui. „Conducting nanosponge electroporation for affordable and high-efficiency disinfection of bacteria and viruses in water“. *Nano letters*, Bd. 13(9) (2013), S. 4288–4293 (siehe S. 40).
- [Lut06] Josef Lutz. *Halbleiter-Leistungsbauelemente: Physik, Eigenschaften, Zuverlässigkeit*. Springer Science & Business Media, 2006 (siehe S. 135).
- [Lüt15] Johann Lütticke. „Implementierung und Leistungsbewertung einer integrierten EKG-Signalanalyseeinheit für Elektroporationstherapieformen“. Masterarbeit. RWTH Aachen, Institute for Networked Systems (iNets), Sep. 2015 (siehe S. 79).
- [Mac14] Edoardo Gino Macchi, Mario Gallati, Giovanni Braschi, Alfredo Cigada und Lorenzo Comolli. „Temperature distribution during RF ablation on ex vivo liver tissue: IR measurements and simulations.“ *Heat and Mass Transfer*, Bd. 51(5) (2014), S. 611–620. DOI: 10.1007/s00231-014-1437-7 (siehe S. 9).
- [Mah04] A Mahnken, J Tacke, D Rohde und RW Günther. „Perkutane Radiofrequenzablation von Nierenzellkarzinomen: Erfahrungen mit der LeVeen-Elektrode“. *RöFo-Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren*. Bd. 176. S 1. 2004, VO\_4109 (siehe S. 16).
- [Mah16] Ahmed El Mahmoudi. „Entwicklung eines in vitro Modells für die medizinische Anwendung von irreversibler Elektroporation“. Masterarbeit. 09: RWTH Aachen, Institut für Angewandte Medizintechnik (AME), Feb. 2016 (siehe S. 57).
- [Mal05] B. Mali, T. Jarm, F. Jager und D. Miklavcic. „An algorithm for synchronization of in vivo electroporation with ECG.“ eng. *J Med Eng Technol*, Bd. 29(6) (2005), S. 288–296. DOI: 10.1080/03091900512331332591 (siehe S. 42, 89).
- [Mal06] Tom Mala. „Cryoablation of liver tumours – a review of mechanisms, techniques and clinical outcome.“ eng. *Minim Invasive Ther Allied Technol*, Bd. 15(1) (2006), S. 9–17. DOI: 10.1080/13645700500468268 (siehe S. 2).
- [Mal08] Barbara Mali, Tomaz Jarm, Selma Corovic, Marija Snezna Paulin-Kosir, Maja Cemazar, Gregor Sersa und Damijan Miklavcic. „The effect of electroporation pulses on functioning of the heart.“ eng. *Med Biol Eng Comput*, Bd. 46(8) (Aug. 2008), S. 745–757. DOI: 10.1007/s11517-008-0346-7 (siehe S. 42).
- [Man00] John Mankowski und Magne Kristiansen. „A review of short pulse generator technology“. *Plasma Science, IEEE Transactions on*, Bd. 28(1) (2000), S. 102–108 (siehe S. 30).
- [Mån14] Christopher Måansson, Anders Nilsson und Britt-Marie Karlson. „Severe complications with irreversible electroporation of the pancreas in the presence of a metallic stent: a warning of a procedure that never should be performed.“ eng. *Acta Radiol Short Rep*, Bd. 3(11) (Dez. 2014), S. 2047981614556409. DOI: 10.1177/2047981614556409 (siehe S. 8, 13).

- [Mao07] Elad Maor, Antoni Ivorra, Jonathan Leor und Boris Rubinsky. „The effect of irreversible electroporation on blood vessels.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 6(4) (Aug. 2007), S. 307–312. doi: 10.1177/153303460700600407 (siehe S. 9, 62).
- [Mar06] Michel Marty, Gregor Sersa, Jean Rémi Garbay, Julie Gehl, Christopher G Collins, Marko Snoj, Valérie Billard, Poul F Geertsen, John O Larkin, Damijan Miklavcic und Luis M Mir. „Electrochemotherapy - An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study“. *EJC Supplements*, Bd. 4(11) (Nov. 2006), S. 3–13 (siehe S. 3).
- [May14] Hannah Mayer. „Entwicklung eines Hochspannungs-Impulsgenerators für die medizinische Anwendung der Elektroporation“. Diplomarbeit. RWTH Aachen, Institut für Hochspannungstechnik (IFHT), Okt. 2014 (siehe S. 79).
- [May15] Kurt Martin Mayer. „Die neue Waffe gegen Prostatakrebs (Focus Serie, Teil 3)“. *Focus*, Bd. 5 (Apr. 2015). Focus, S. 77–79. URL: [www.focus.de/gesundheit/focus-titel-neue-waffe-gegen-prostatakrebs\\_id\\_4425682.html](http://www.focus.de/gesundheit/focus-titel-neue-waffe-gegen-prostatakrebs_id_4425682.html) (siehe S. 4).
- [Men12] Miriam Menzel. „Entwicklung eines Gütemodells zur Klassifizierung der Geometrieparameter einer Elektrodenkonfiguration für die interstitielle Elektrochemotherapie mittels FEM-Simulation“. Bachelorarbeit. RWTH Aachen, II. Physikalisches Institut, Aug. 2012 (siehe S. 77).
- [Mic14] Microchip Technology Inc., Chandler, AZ, USA. *Datasheet TC4426A / TC4427A / TC4428A - 1.5 A Dual High-Speed Power MOSFET Drivers*. Aug. 2014. URL: [www.microchip.com/wwwproducts/en/TC4427A](http://www.microchip.com/wwwproducts/en/TC4427A) (siehe S. 83).
- [Mik00a] D. Miklavcic, D. Semrov, H. Mekid und L. M. Mir. „A validated model of in vivo electric field distribution in tissues for electrochemotherapy and for DNA electrotransfer for gene therapy.“ eng. *Biochim Biophys Acta*, Bd. 1523(1) (Sep. 2000), S. 73–83. doi: 10.1016/S0304-4165(00)00101-X (siehe S. 8, 10, 36, 54, 57, 67, 75).
- [Mik00b] D. Miklavcic, D. Semrov, H. Mekid und L. M. Mir. „In vivo electroporation threshold determination“. *Proc. 22nd Annual Int. Conf. of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (Cat. No.00CH37143)*. Bd. 4. 2000, 2815–2818 vol.4. doi: 10.1109/IEMBS.2000.901450 (siehe S. 8).
- [Mik06] Damijan Miklavčič, Nataša Pavšelj und Francis X Hart. „Electric properties of tissues“. *Wiley encyclopedia of biomedical engineering*, Bd. (2006) (siehe S. 81, 91).

- [Mik12] D. Miklavčič, G. Serša, E. Brecelj, J. Gehl, D. Soden, G. Bianchi, P. Ruggieri, C. R. Rossi, L. G. Campana und T. Jarm. „Electrochemotherapy: technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors.“ eng. *Med Biol Eng Comput*, Bd. 50(12) (Dez. 2012), S. 1213–1225. DOI: 10.1007/s11517-012-0991-8 (siehe S. 3–5).
- [Mik14] Damijan Miklavčič, Barbara Mali, Bor Kos, Richard Heller und Gregor Serša. „Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice.“ eng. *Bio-med Eng Online*, Bd. 13(1) (2014), S. 29. DOI: 10.1186/1475-925X-13-29 (siehe S. 4, 8, 10, 13, 19, 25).
- [Mil05] Liron Miller, Jonathan Leor und Boris Rubinsky. „Cancer cells ablation with irreversible electroporation.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 4(6) (Dez. 2005), S. 699–705 (siehe S. 5, 8, 44, 144).
- [Mir03] L. M. Mir, N. Morsli, J. R. Garbay, V. Billard, C. Robert und M. Marty. „Electrochemotherapy: a new treatment of solid tumors.“ eng. *J Exp Clin Cancer Res*, Bd. 22(4 Suppl) (Dez. 2003), S. 145–148 (siehe S. 3).
- [Mir06] Lluis M Mir, Julie Gehl, Gregor Sersa, Christopher G Collins, Jean-Rémi Garbay, Valérie Billard, Poul F Geertsen, Zvonimir Rudolf, Gerald C O’Sullivan und Michel Marty. „Standard operating procedures of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator TM by means of invasive or non-invasive electrodes“. *European Journal of Cancer Supplements*, Bd. 4(11) (2006), S. 14–25 (siehe S. 3, 5, 9).
- [Mir14] Lluis M. Mir. „Electroporation-based gene therapy: recent evolution in the mechanism description and technology developments.“ eng. *Methods Mol Biol*, Bd. 1121 (2014), S. 3–23. DOI: 10.1007/978-1-4614-9632-8\_1 (siehe S. 37).
- [Mir91a] L. M. Mir, M. Belehradek, C. Domènec, S. Orlowski, B. Poddevin, J. Belehradek Jr, G. Schwaab, B. Luboinski und C. Paoletti. „Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial“. fre. *C R Acad Sci III*, Bd. 313(13) (1991), S. 613–618 (siehe S. 3).
- [Mir91b] L. M. Mir, S. Orlowski, J. Belehradek Jr und C. Paoletti. „Electrochemotherapy potentiation of antitumour effect of bleomycin by local electric pulses.“ eng. *Eur J Cancer*, Bd. 27(1) (1991), S. 68–72 (siehe S. 3).
- [Mov11] Saeid Movahed und Dongqing Li. „Microfluidics cell electroporation“. *Microfluidics and Nanofluidics*, Bd. 10(4) (Apr. 2011), S. 703–734. DOI: 10.1007/s10404-010-0716-y (siehe S. 44).
- [Nat07] National Research Council: Institute for Applied Physics (IFAC-CNR), Florence, Italy). *Dielectric properties of body tissues (Database)*. 2007. URL: <http://niremf.ifac.cnr.it/tissprop> (siehe S. 91).

- [Nat15] National Cancer Institute (NCI), Bethesda, MD, USA. *Bile Duct Cancers—for health professionals*. Abruf: 27.08.2015. Juli 2015. URL: [www.cancer.gov/types/liver/hp/bile-duct-treatment-pdq](http://www.cancer.gov/types/liver/hp/bile-duct-treatment-pdq) (siehe S. 12).
- [Nea15] R. E. Neal, P. A. Garcia, H. Kavnoudias, F. Rosenfeldt, C. A. Mclean, V. Earl, J. Bergman, R. V. Davalos und K. R. Thomson. „In Vivo Irreversible Electroporation Kidney Ablation: Experimentally Correlated Numerical Models“. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Bd. 62(2) (2015), S. 561–569. DOI: 10.1109/TBME.2014.2360374 (siehe S. 5).
- [Neu10] Wanda Krassowska Neu und John C Neu. *Mechanism of irreversible electroporation in cells: insight from the models*. Springer, 2010. DOI: 10.1007/978-3-642-05420-4\_4 (siehe S. 10).
- [Neu82] E. Neumann, M. Schaefer-Ridder, Y. Wang und P. H. Hofsneider. „Gene transfer into mouse lyoma cells by electroporation in high electric fields.“ eng. *EMBO J*, Bd. 1(7) (1982), S. 841–845 (siehe S. 30, 39).
- [Nie12] C. Niessen, E. M. Jung, C. Stroszczynski und P. Wiggermann. „Ablation of a liver metastasis with irreversible electroporation (IRE) in liver segment II adjoining the area nuda.“ ger. *Rofo*, Bd. 184(10) (Okt. 2012), S. 937–938. DOI: 10.1055/s-0032-1312961 (siehe S. 2, 9, 74).
- [Nol49] Abbé Jean-Antoine Nollet et al. *Recherches sur les causes particulières des phénomènes électriques*. Chez les Frères Guerin, 1749. URL: [archive.org/details/recherchesurles00noll](http://archive.org/details/recherchesurles00noll) (siehe S. 39).
- [Nyg83] M. E. Nygård und L. Sörnmo. „Delineation of the QRS complex using the envelope of the e.c.g.“ eng. *Med Biol Eng Comput*, Bd. 21(5) (Sep. 1983), S. 538–547. DOI: 10.1007/BF02442378 (siehe S. 89).
- [ON 13] ON Semiconductors, Phoenix, AZ, USA. *Datasheet ON Semiconductors 2SK3747 N-Channel Power MOSFET*. Juli 2013. URL: [www.onsemi.com/PowerSolutions/product.do?id=2SK3747](http://www.onsemi.com/PowerSolutions/product.do?id=2SK3747) (siehe S. 81).
- [ORo07] Ann P. O’Rourke, Mariya Lazebnik, John M. Bertram, Mark C. Converse, Susan C. Hagness, John G. Webster und David M. Mahvi. „Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz using a precision open-ended coaxial probe.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 52(15) (Aug. 2007), S. 4707–4719. DOI: 10.1088/0031-9155/52/15/022 (siehe S. 27, 92, 93).
- [Ort15] Maximilian Orth. „Entwicklung einer dynamischen FEM-Simulation zur Gütebestimmung von elektroporationsbasierten Tumortherapien“. Bachelorarbeit. RWTH Aachen, Software und Tools for Computational Engineering (STCE), Juni 2015 (siehe S. 197).

- [OSu14] Gerald C. O'Sullivan. „Electrochemotherapy – A novel cancer treatment“. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*. Elsevier BV, 2014, S. 1–2. DOI: 10.1533/9781908818294.1 (siehe S. 3, 4, 9).
- [Pak10] Andrei G. Pakhomov, Damijan Miklavcic und Marko S. Markov. *Advanced Electroporation Techniques in Biology and Medicine*. 1. Aufl. Taylor und Francis Group, LLC, 2010. ISBN: 978-1-439-81907-4. URL: <http://1bk.fe.uni-lj.si/bibbook.html> (siehe S. 9, 35).
- [Pan85] J. Pan und W. J. Tompkins. „A real-time QRS detection algorithm.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 32(3) (März 1985), S. 230–236. DOI: 10.1109/TBME.1985.325532 (siehe S. 88, 89).
- [Par12] Alessa Pardo, Michael Stöcker, Florian Kampmeier, Georg Melmer, Rainer Fischer, Theo Thepen und Stefan Barth. „In vivo imaging of immunotoxin treatment using Katushka-transfected A-431 cells in a murine xenograft tumour model.“ eng. *Cancer Immunol Immunother*, Bd. 61(10) (Okt. 2012), S. 1617–1626. DOI: 10.1007/s00262-012-1219-3 (siehe S. 102).
- [Pau10] Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland. *Gebrauchsanweisung Zählkammern*. Abruf: 06.02.2016. 2010 (siehe S. 145, 146).
- [Pav02] Mojca Pavlin, Tomaz Slivnik und Damijan Miklavcic. „Effective conductivity of cell suspensions.“ eng. *IEEE Trans Biomed Eng*, Bd. 49(1) (Jan. 2002), S. 77–80. DOI: 10.1109/10.972843 (siehe S. 58).
- [Pav05] Mojca Pavlin, Masa Kanduser, Matej Rebersek, Gorazd Pucihar, Francis X. Hart, Ratko Magjarevic und Damijan Miklavcic. „Effect of cell electroporation on the conductivity of a cell suspension.“ eng. *Biophys J*, Bd. 88(6) (Juni 2005), S. 4378–4390. DOI: 10.1529/biophysj.104.048975 (siehe S. 44, 58).
- [Pav08a] D. Pavlin, N. Tozon, G. Sersa, A. Pogacnik und M. Cemazar. „Efficient electroporation into canine muscle.“ eng. *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 7(1) (Feb. 2008), S. 45–54. DOI: 10.1177/153303460800700106 (siehe S. 102).
- [Pav08b] Nataša Pavšelj und Damijan Miklavčič. „Numerical modeling in electroporation-based biomedical applications“. *Radiology and Oncology*, Bd. 42(3) (Jan. 2008), S. 159–168. DOI: 10.2478/v10019-008-0008-2 (siehe S. 25).
- [Pav13] Denis Pavliha, Maja M. Mušič, Gregor Serša und Damijan Miklavčič. „Electroporation-based treatment planning for deep-seated tumors based on automatic liver segmentation of MRI images.“ eng. *PLoS One*, Bd. 8(8) (2013), e69068. DOI: 10.1371/journal.pone.0069068 (siehe S. 13, 37).
- [Ped17] Federico Pedersoli, Peter Isfort, Andreas Ritter, Martin Liebl, Markus Zimmermann, Maximilian Schulze-Hagen, Ebba Dethlefsen, Jochen Pfeffer, Martin Baumann, Christine Kuhl und Philipp Bruners. „Electroporation of the liver: In-vivo evaluation of an innovativ 5-electrode design with Irreversible Electroporation

- (IRE) vs. Electrochemotherapy (ECT)“. *2nd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies 2017, Sept. 2017*. 2017 (siehe S. 100).
- [Pey15] Azadeh Peyman, Bor Kos, Mihajlo Djokić, Blaž Trošek, Clara Limbaeck-Stokin, Gregor Serša und Damijan Miklavcic. „Dielectric properties of human liver and liver tumours“. *Conference Proceedings Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society (BEMS) and the European BioElectromagnetics Association (EBEA), BioEM2015, Monterey*, Bd. (2015) (siehe S. 93, 102).
- [Phi14] Mary Phillips. „The effect of small intestine heterogeneity on irreversible electroporation treatment planning.“ eng. *J Biomech Eng*, Bd. 136(9) (Sep. 2014), S. 091009. doi: [10.1115/1.4027815](https://doi.org/10.1115/1.4027815) (siehe S. 3).
- [Puc01] G. Puciha, T. Kotnik, M. Kanduser und D. Miklavcic. „The influence of medium conductivity on electroporation and survival of cells in vitro.“ eng. *Bioelectrochemistry*, Bd. 54(2) (Nov. 2001), S. 107–115 (siehe S. 44).
- [Puc04] Marko Puc, Selma Corović, Karel Flisar, Marko Petkovsek, Janez Nastran und Damijan Miklavcic. „Techniques of signal generation required for electroporation. Survey of electroporation devices.“ eng. *Bioelectrochemistry*, Bd. 64(2) (Sep. 2004), S. 113–124. doi: [10.1016/j.bioelechem.2004.04.001](https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2004.04.001) (siehe S. 30, 31, 39, 40).
- [Ram14] Raja Prabu Ramachandran, S. Madhivanan, Raji Sundararajan, Cindy Wan-Ying Lin und Kavitha Sankaranarayanan. „An in vitro study of electroporation of leukemia and cervical cancer cells“. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*. Elsevier BV, 2014, S. 161–183. doi: [10.1533/9781908818294.161](https://doi.org/10.1533/9781908818294.161) (siehe S. 41).
- [Rei07] Michael Reisch. *Elektronische Bauelemente: Funktion, Grundschaltungen, Modellierung mit SPICE* (2. Auflage). Springer-Verlag, 2007. doi: [10.1007/978-3-540-34015-7](https://doi.org/10.1007/978-3-540-34015-7) (siehe S. 135).
- [Rin13] Max-Philipp Rinno. „Literaturrecherche Nitinol in der Medizintechnik und neue Stentdesigns“. Magisterarb. RWTH Aachen University, 2013 (siehe S. 66).
- [Rit11] Andreas Ritter, Martin Baumann, Philipp Bruners, Thomas Schmitz-Rode und Andreas H Mahnken. „Establishment of electrochemotherapy for interstitial application by developing and optimizing an electrode“. eng. *Biomedical Engineering*, Bd. 56(S1) (Sep. 2011). ISSN: 0013-5585. doi: [10.1515/bmt.2011.844](https://doi.org/10.1515/bmt.2011.844) (siehe S. 100).
- [Rit12] Andreas Ritter, Philipp Baumann Martin Bruners, Jochen Pfeffer, Thomas Schmitz-Rode und Andreas H Mahnken. „A fully functional prototype for establishing electrochemotherapy in interstitial usage.“ eng. *Biomedical Engineering*, Bd. 57(S1-1) (Aug. 2012), S. 433. ISSN: 0013-5585. doi: [10.1515/bmt-2012-4220](https://doi.org/10.1515/bmt-2012-4220) (siehe S. 100).

- [Rit13] Andreas Ritter, Martin Baumann, Miriam Menzel, Philipp Bruners, Jochen Pfeffer, Thomas Schmitz-Rode und Andreas H Mahnken. „FEM-driven Parameter Optimization of an Electrochemotherapy Catheter Prototype.“ eng. *Biomedical Engineering*, Bd. 58(S1-N) (Sep. 2013), S. 285–286. ISSN: 0013-5585. DOI: 10.1515/bmt-2013-4339 (siehe S. 100).
- [Rit14a] Andreas Ritter, Philipp Bruners, Jochen Pfeffer, Thomas Schmitz-Rode und Martin Baumann. „FEM-driven parameter optimization of a fully functional prototype for establishing electrochemotherapy in interstitial usage. Conference Proceedings 8th IWBEEMF, Varna; Sept. 2014“. *8th International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields, IWBEEMF, Varna*, Bd. 7(2) (Sep. 2014), S. 206–210. ISSN: 1313-860X. URL: [www.emf2014.emfbg.com/](http://www.emf2014.emfbg.com/) (siehe S. 100).
- [Rit14b] Andreas Ritter, Daniel Busch, Sarah Hilschmidt, Pierre Aldag, Marcel Binnebösel, Ulf Peter Neumann, Anne Eßer und Martin Baumann. „Electroporation of cells: It's more than field strength (E)“. eng. *Biomedical Engineering*, Bd. 59(S1) (Okt. 2014), S. 315. ISSN: 0013-5585. DOI: [dx.doi.org/10.1515/bmt-2014-5003](https://dx.doi.org/10.1515/bmt-2014-5003) (siehe S. 56, 101).
- [Rit15a] Andreas Ritter, Philipp Bruners, Jochen Pfeffer, Thomas Schmitz-Rode und Martin Baumann. „FEM-driven parameter optimization of a fully functional prototype for establishing electrochemotherapy in interstitial usage.“ *Bulgarian journal of public health*, Bd. 7(2(1)) (Juli 2015), S. 206–210. ISSN: 1313-860X. URL: [ncphp.government.bg/files/spisanie/BG\\_JURNAL\\_2015\\_2\\_1.pdf](http://ncphp.government.bg/files/spisanie/BG_JURNAL_2015_2_1.pdf) (siehe S. 100).
- [Rit15b] Andreas Ritter, Philipp Bruners, Jochen Pfeffer, Thomas Schmitz-Rode und Martin Baumann. „Presentation of a fully functional prototype for establishing electrochemotherapy in interstitial usage with a Q factor optimization model for the physician“. *Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society (BEMS) and the European BioElectromagnetics Association (EBEA), BioEM2015, Monterey*, Bd. (Juni 2015) (siehe S. 100).
- [Rit15c] Andreas Ritter, Katharina Kolvenbach, Daniel Busch, Sarah Hilschmidt, Ulf Peter Neumann, Anne Eßer und Martin Baumann. „Establishment of an in vitro model for the medical application of IRE“. *Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society (BEMS) and the European BioElectromagnetics Association (EBEA), BioEM2015, Monterey*, Bd. (Juni 2015) (siehe S. 57, 101).
- [Rit17a] Andreas Ritter, Federico Pedersoli, Jochen Pfeffer, Peter Isfort, Martin Baumann und Philipp Bruners. „Electroporation of the liver: More than two concurrently active, curved electrodes allow new concepts for Irreversible Electroporation (IRE) and Electrochemotherapy (ECT)“. *2nd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies 2017, Sept. 2017*. 2017 (siehe S. 100).

- [Rit17b] Andreas Ritter, Jochen Pfeffer, Peter Isfort, Martin Baumann und Philipp Bruners. „A fully functional prototype for establishing electrochemotherapy in interstitial usage with drug application and a Q factor optimisation model“. *Annual meeting of the European Society of Radiology (ESR) 2017, Wien, März 2017*. 2017 (siehe S. 100).
- [RKI15] RKI, Peter Kaatsch, Claudia Spix, Stefan Hentschel, Alexander Katalinic, Sabine Luttmann, Christa Stegmaier, Sandra Caspritz, Josef Cernaj, Anke Ernst, Juliane Folkerts, Jutta Hansmann, Kristine Kranzhöfer, Eva Krieghoff-Henning, Beatrice Kunz, Andrea Penzkofer, Kornelia Treml, Kerstin Wittenberg, Nadia Baras, Benjamin Barnes, Joachim Bertz, Nina Buttmann-Schweiger, Stefan Dahm, Manuela Franke, Jörg Haberland, Klaus Kraywinkel, Antje Wienecke, Ute Wolf und Andreas Stang. *Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Krebs in Deutschland 2011/2012, 10. Ausgabe*. Berlin: Robert Koch-Institut, Deutschland, 2015 (siehe S. 1, 11).
- [Rub08] Jonathan Rubinsky, Gary Onik, Paul Mikus und Boris Rubinsky. „Optimal parameters for the destruction of prostate cancer using irreversible electroporation.“ eng. *J Urol*, Bd. 180(6) (Dez. 2008), S. 2668–2674. DOI: [10.1016/j.juro.2008.08.003](https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.08.003) (siehe S. 22).
- [Rub10] Boris Rubinsky. *Irreversible Electroporation*. Springer Science & Business Media, 2010. ISBN: 978-3-642-05420-4. DOI: [10.1007/978-3-642-05420-4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-05420-4) (siehe S. 33).
- [Sac10] Martin Sack, Jürgen Sigler, Christian Eing, Lars Stukenbrock, René Stangle, Andreas Wolf und Georg Muller. „Operation of an electroporation device for grape mash“. *Plasma Science, IEEE Transactions on*, Bd. 38(8) (2010), S. 1928–1934. DOI: [10.1109/TPS.2010.2050073](https://doi.org/10.1109/TPS.2010.2050073) (siehe S. 40).
- [Sad08] Mira Sadadcharan, Declan M. Soden und Gerald C. O’sullivan. „Electrochemotherapy: an emerging cancer treatment.“ eng. *Int J Hyperthermia*, Bd. 24(3) (Mai 2008), S. 263–273. DOI: [10.1080/02656730701832334](https://doi.org/10.1080/02656730701832334) (siehe S. 10).
- [Sal11] Mohammad Salhab und Ruben Canelo. „An overview of evidence-based management of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis“. eng. *J Cancer Res Ther*, Bd. 7(4) (2011), S. 463–475. DOI: [10.4103/0973-1482.92023](https://doi.org/10.4103/0973-1482.92023) (siehe S. 12).
- [San14] Neil K. Sanghvi. „Cardiovascular Disease Intervention - Updates in catheter-based cardiac cryoablation“. *Cryobiology*, Bd. 69(1) (Aug. 2014), S. 193. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2014.06.046](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.06.046) (siehe S. 2).
- [Sau99] Rolf Sauermost und Doris Freudig. *Lexikon der Biologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1999 (siehe S. 33, 127).
- [Sch00] Gerhard Schaub. *Elektrotechnik I - Script FH Ulm*. Dez. 2000 (siehe S. 31).

- [Sch01] P.M. Schlag, B. Rau, A. Schnider und M. Hünerbein. „Minimal-invasive Chirurgie – Aspekte der chirurgischen Onkologie des Gastrointestinaltrakts“. *Der Chirurg*, Bd. 72 (2001), S. 245–251 (siehe S. 129).
- [Sch02] Adolf J Schwab. *Begriffswelt der Feldtheorie: Praxisnahe, anschauliche Einführung, 6. Auflage*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New-York, 2002 (siehe S. 19, 32, 135).
- [Sch07] Karl H Schoenbach, Barbara Hargrave, Ravindra P Joshi, Juergen F Kolb, Richard Nuccitelli, Christopher Osgood, Andrei Pakhomov, Michael Stacey, R James Swanson, Jody White u. a. „Bioelectric effects of intense nanosecond pulses“. *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, Bd. 14(5) (2007). vgl Buch Critical Reviews™ in Biomedical Engineering DOI: 10.1615/CritRevBiomedEng.v38.i3.20 pages 255-304, S. 1088–1109. DOI: 10.1109/TDEI.2007.4339468 (siehe S. 2, 3, 10).
- [SEC14] SECO USA Inc, Burlington, MA, USA. *UDOO QUAD Specifications*. 2014. URL: [www.udoo.org/docs/Introduction/Introduction.html](http://www.udoo.org/docs/Introduction/Introduction.html) (siehe S. 86).
- [Ser00] G. Sersa, B. Stabuc, M. Cemazar, D. Miklavcic und Z. Rudolf. „Electrochemotherapy with cisplatin: the systemic antitumour effectiveness of cisplatin can be potentiated locally by the application of electric pulses in the treatment of malignant melanoma skin metastases.“ eng. *Melanoma Res*, Bd. 10(4) (Aug. 2000), S. 381–385 (siehe S. 3).
- [Ser08] G. Sersa, D. Miklavcic, M. Cemazar, Z. Rudolf, G. Puciha und M. Snoj. „Electrochemotherapy in treatment of tumours.“ eng. *Eur J Surg Oncol*, Bd. 34(2) (Feb. 2008), S. 232–240. DOI: 10.1016/j.ejso.2007.05.016 (siehe S. 4, 5, 15).
- [Ser11] G. Serša, M. Cemazar und M. Snoj. „Electrochemotherapy of solid tumors—pre-clinical and clinical experience.“ eng. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, Bd. 2011 (2011), S. 728–731. DOI: 10.1109/IEMBS.2011.6090165 (siehe S. 4).
- [Sha06] Cheng-wei Shao, Jian-ming Tian, Pei-jun Wang, Chang-jing Zuo und Huo-jun Zhang. „Electrochemotherapy for rat implanted liver tumour.“ eng. *Chin Med J (Engl)*, Bd. 119(8) (Apr. 2006), S. 696–700 (siehe S. 4).
- [Sil03] Stefan Silbernagl und Rainer Klinke. *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme, 2003 (siehe S. 41, 42, 88, 127).
- [Sil16] Aude Silve, Isabelle Leray, Clair Poignard und Lluis M Mir. „Impact of external medium conductivity on cell membrane electroporation by microsecond and nanosecond electric pulses.“ *Scientific reports*, Bd. 6 (Feb. 2016), S. 19957. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/srep19957 (siehe S. 58).
- [Sla11] Georg Slavka. *ERCP – endoscopic retrograde cholangio-pancreatography*. Abruf: 31.08.2015. Keokimed (Wien, Österreich). Aug. 2011. URL: [www.keokimed.com/?p=499](http://www.keokimed.com/?p=499) (siehe S. 60).

- [Sla15] Ioana Slabu. *Synthesis, Characterization and Application of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles in Medical Diagnostics and Therapy: MR-Visible Implants for Hernia Repair and Novel Drug Targeting Models*. Shaker Verlag GmbH, Aug. 2015. ISBN: 384403921X. URL: [www.shaker.de/de/content/catalogue/index.asp?lang=de&ID=8&ISBN=978-3-8440-3921-4](http://www.shaker.de/de/content/catalogue/index.asp?lang=de&ID=8&ISBN=978-3-8440-3921-4) (siehe S. 1).
- [Spu14] Enrico P. Spugnini und Alfonso Baldi. „Electrochemotherapy in veterinary oncology: from rescue to first line therapy.“ eng. *Methods Mol Biol*, Bd. 1121 (2014), S. 247–256. DOI: 10.1007/978-1-4614-9632-8\_22 (siehe S. 5, 13).
- [STM14] STMicroelectronics, Geneva, Switzerland. *Datasheet L78 Positive voltage regulator ICs*. März 2014. URL: [www.st.com/web/catalog/sense\\_power/FM142/CL1015/SC315/PF260264](http://www.st.com/web/catalog/sense_power/FM142/CL1015/SC315/PF260264) (siehe S. 83).
- [Str92] M Strintzis, G Stalidis, X Magnisalis und N Maglaveras. „Use of neural networks for electrocardiogram (ECG) feature extraction, recognition and classification“. *Neural Network World*, Bd. 3(4) (1992), S. 313–328 (siehe S. 89).
- [Sub15] Swetha Subramanian und T Douglas Mast. „Optimization of tissue physical parameters for accurate temperature estimation from finite-element simulation of radiofrequency ablation.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 60(19) (Sep. 2015), N345–N355. DOI: 10.1088/0031-9155/60/19/N345 (siehe S. 9).
- [Sun14a] Raji Sundararajan. *Electroporation-Based Therapies for Cancer: From Basics to Clinical Applications*. Elsevier, 2014, S. 35. DOI: 10.1533/9781908818294.1 (siehe S. 35).
- [Sun14b] Raji Sundararajan, Poornima Agoramurthy, Gowri Sree Varadarajan und Luca G. Campana. „Electric field distribution study of breast tumors“. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*. Elsevier BV, 2014, S. 259–291. DOI: 10.1533/9781908818294.259 (siehe S. 4, 92).
- [Tho11] Kenneth R. Thomson, Wa Cheung, Samantha J. Ellis, Dean Federman, Helen Kavoudias, Deirdre Loader-Oliver, Stuart Roberts, Peter Evans, Christine Ball und Andrew Haydon. „Investigation of the safety of irreversible electroporation in humans.“ eng. *J Vasc Interv Radiol*, Bd. 22(5) (Mai 2011), S. 611–621. DOI: 10.1016/j.jvir.2010.12.014 (siehe S. 6, 7, 42, 58).
- [Tim10] S. Timmermans und M. Berg. *The Gold Standard: The Challenge of Evidence-based Medicine and Standardization in Health Care*. Hrsg. von Arnold J Rosof. Temple University Press, 2010. ISBN: 9781439902813. DOI: 10.1109/TPS.2010.2050073 (siehe S. 127).
- [Tip06] Paul A Tipler und Gene Mosca. *Physik für Wissenschaftler und Ingenieure, 7. Auflage*. Bd. 1. Spektrum Akademischer Verlag, München, 2006 (siehe S. 19).

- [Toe07] S Toepfl, V Heinz und D Knorr. „High intensity pulsed electric fields applied for food preservation“. *Chemical engineering and processing: Process intensification*, Bd. 46(6) (2007), S. 537–546 (siehe S. 5).
- [Tos13] Toshiba Semiconductor & Storage Products, Tokyo, Japan. *Datasheet TOSHIBA Field Effect Transistor Silicon N-Channel MOS Type 2SK3878*. Nov. 2013. URL: <http://toshiba.semicon-storage.com/info/lookup.jsp?pid=2SK3878&lang=en> (siehe S. 81, 83, 85).
- [Tur11] Mehmet Kemal Tur, Michael Huhn, Edgar Jost, Theo Thepen, Tim H. Brümmendorf und Stefan Barth. „In vivo efficacy of the recombinant anti-CD64 immunotoxin H22(scFv)-ETA‘ in a human acute myeloid leukemia xenograft tumor model.“ eng. *Int J Cancer*, Bd. 129(5) (Sep. 2011), S. 1277–1282. DOI: 10.1002/ijc.25766 (siehe S. 102).
- [Ver10] Vernier Software & Technology, Beaverton, OR, USA. *Manual EKG Sensor*. Feb. 2010. URL: [www.vernier.com/files/manuals/ekg-bta.pdf](http://www.vernier.com/files/manuals/ekg-bta.pdf) (siehe S. 87).
- [Ver16] Vernier Software & Technology, Beaverton, OR, USA. *Sensor Pinouts - British Telecom Analog (BTA) – Right Hand*. Abruf: 16.02.2016. Feb. 2016. URL: [www.vernier.com/support/sensor-pinouts/](http://www.vernier.com/support/sensor-pinouts/) (siehe S. 88).
- [Vog14] Arndt Vogel, Henning Wege, Karel Caca, Björn Nashan und Ulf Neumann. „The diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma.“ eng. *Dtsch Arztebl Int*, Bd. 111(44) (Okt. 2014), S. 748–754. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0748 (siehe S. 13).
- [Wan15] Hang Wang, Yong He, Qingguo Yan, Fusheng You, Feng Fu, Xiuzhen Dong, Xuetao Shi und Min Yang. „Correlation between the dielectric properties and biological activities of human ex vivo hepatic tissue.“ eng. *Phys Med Biol*, Bd. 60(6) (März 2015), S. 2603–2617. DOI: 10.1088/0031-9155/60/6/2603 (siehe S. 93).
- [WAZ14] Der Westen (WAZ). *Mit Elektrochemotherapie gegen den Krebs*. Abruf: 22.07.2015. Jan. 2014. URL: <http://www.derwesten.de/staedte/oberhausen/mit-elektrochemotherapie-gegen-den-krebs-id8850275.html> (siehe S. 4).
- [Wea00] James C. Weaver. „Electroporation of cells and tissues“. *IEEE Transactions on Plasma Science*, Bd. 28(1) (2000), S. 24–33. DOI: 10.1109/27.842820 (siehe S. 35, 36).
- [Wei13] Wilfried Weigerber und Wilfried Weißgerber. *Elektrotechnik für Ingenieure 2, 8. Auflage*. Bd. 2. Springer-Verlag, 2013 (siehe S. 29, 30).
- [Wei14] Matthew J. Weiss und Christopher L. Wolfgang. „Irreversible electroporation: a novel therapy for stage III pancreatic cancer.“ eng. *Adv Surg*, Bd. 48 (2014), S. 253–258. DOI: 10.1016/j.yasu.2014.05.002 (siehe S. 5).
- [WHO14] WHO, BW Steward und CP Wild. „World Cancer Report 2014“. *Lyon: International Agency for Research on Cancer*, Bd. (2014) (siehe S. 12).

- [Wig12a] P. Wiggermann, E. M. Jung und C. Stroszczynski. „Radiofrequency ablation - is a technique finished?“ ger. *Radiologe*, Bd. 52(1) (Jan. 2012), S. 9–14. DOI: 10.1007/s00117-011-2206-y (siehe S. 2).
- [Wig12b] P. Wiggermann, F. Zeman, C. Niessen, A. Agha, B. Trabold, C. Stroszczynski und E. M. Jung. „Percutaneous irreversible electroporation (IRE) of hepatic malignant tumours: contrast-enhanced ultrasound (CEUS) findings.“ eng. *Clin Hemorheol Microcirc*, Bd. 52(2-4) (2012), S. 417–427. DOI: 10.3233/CH-2012-1615 (siehe S. 2).
- [Wit08] Helmut Witzigmann, Marcus Wiedmann, Christian Wittekind, Joachim Mössner und Johann Hauss. „Therapeutical concepts and results for Klatskin tumors“. *Deutsches Ärzteblatt International*, Bd. 105(9) (2008), S. 156. DOI: 10.3238/ärztebl.2008.0156 (siehe S. 59, 60).
- [Yar14] Martin L. Yarmush, Alexander Golberg, Gregor Serša, Tadej Kotnik und Damijan Miklavčič. „Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges“. *Annual Review of Biomedical Engineering*, Bd. 16(1) (Juli 2014), S. 295–320. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071813-104622 (siehe S. 19, 35).
- [Yoo11] Gilwon Yoon. „Dielectric properties of glucose in bulk aqueous solutions: Influence of electrode polarization and modeling.“ eng. *Biosens Bioelectron*, Bd. 26(5) (Jan. 2011), S. 2347–2353. DOI: 10.1016/j.bios.2010.10.009 (siehe S. 49).



# Glossar

Sofern nicht anders angegeben, basieren die Erläuterungen auf [Sau99; Sil03; Doc15].

**Apoptose** Auch *programmierter*  $\Rightarrow$  *Zelltod* (*programmed cell death*, kurz: PCD) genannt. Durch Genexpression kontrolliert gesteuert, kann durch innere oder äußere Auslöser in Gang gesetzt werden, d. h. die Zelle kann die Apoptose selbst einleiten. Somit ist die Apoptose Teil des Stoffwechsels der Zelle. Der energieverbrauchende Prozess (ATP) führt zur Bildung von Apoptosekörpern. Die Zellreste werden ohne Entzündung durch phagozytierende Zellen konsumiert, d. h. es ist gewährleistet, dass die betreffende Zelle ohne Schädigung des Nachbargewebes zugrunde geht (vgl.  $\Rightarrow$  Nekrose). 3, 5, 9–11, 33, 62, 128, 129

**ECT** Elektrochemotherapie, medizinische Anwendung der reversiblen  $\Rightarrow$  EP in der Tumortherapie, Erklärung siehe Kap. 1.1.3. 3, 30, 41, 59, 65, 72, 92

**Endoskop** Ein in Medizin und Technik verwendetes Gerät zum Betrachten und ggf. auch Verändern von schwer zugänglichen Hohlräumen, von altgriechisch *éndon* „innen“ und *skopein* „beobachten“. 59

**EP** Elektroporation, biologischer Effekt, der durch Anlegen eines elektrischen Feldes sog. Nanoporen in der Zellmembran erzeugt, vgl. Kap. 2.2.2 und 2.2.4. 3, 19, 21, 27, 33, 92, 125, 126

**FEM** Finite-Elemente-Methode, verbreitete numerische Lösungsmethode im Bereich wissenschaftlich-technischer Aufgabenstellungen. Mit der FEM können physikalische Vorgänge simuliert werden (beispielsweise elektrische Feldverteilung), deren Verlauf sich nicht oder nur sehr aufwändig mit anderen Mitteln bestimmen lässt. Die Methode ist die Basis vieler Computersimulationsprogramme wie Comsol Multiphysics (COMSOL AB, Stockholm, Schweden). 13, 18

**Goldstandard** Bislang unübertroffenes Verfahren und damit Zielvorgabe, speziell in der Medizin das jeweils beste therapeutische Handeln bezüglich einer Krankheit. [Tim10] 14

**interstitiell** Interstitiell bedeutet „dazwischenliegend“, im Kontext dieser Arbeit ist meist der Raum zwischen Körperzellen („interstitieller Raum“) im Körperinneren gemeint. Der Begriff wird auch verwendet, wenn der Raum zwischen den funktionstragenden Geweben (dem Parenchym) liegen („interstitielles Bindegewebe“). 42, 65

**intraabdominal** Innerhalb des Bauchraums (Abdomen) gelegen, d. h. im Bereich des Rumpfes zwischen Brustkorb und Becken, von lateinisch: abdomen - Wanst, Bauch. 42

**invasiv** Der Begriff invasiv wird in der Medizin verwendet, um diagnostische oder therapeutische Maßnahmen zu charakterisieren, die in den Körper eindringen, d. h. seine Integrität verletzen (z. B. Spritze). Analog nicht-invasiv: dringt nicht in den Körper bzw. durch die Haut ein (z. B. Ultraschall-Untersuchung). Von lateinisch: invadere - einbrechen, eindringen. 4, 15, 128

**Inzidenz** Die Inzidenz (lat. incidere „vorfallen“) ist eine epidemiologische Maßzahl und damit Fachausdruck aus der medizinischen Statistik. Es ist die Anzahl der Neuerkrankungen unter bestimmten Kriterien, d. h. einer bestimmten Krankheit bei einer Bevölkerungsgruppe definierter Größe (üblicherweise 100.000 Einwohner) während eines bestimmten Zeitraums (üblicherweise ein Jahr). 12

**IRE** Irreversible Elektroporation, medizinische Anwendung der irreversiblen ⇒EP in der Tumortherapie, Erklärung siehe Kap. 1.1.3. 3, 11, 23, 30, 41, 59, 72, 92

**kausale Therapie** Ursächliche Behandlung, d. h. Beseitigung der Krankheitsursache. Im Vergleich dazu werden bei der symptomatischen Therapie die Symptome behandelt, nicht aber die Ursache. 1, 127

**Leberzirrhose** Eine Leberzirrhose ist eine chronische Erkrankung der Leber, die mit einer Zerstörung der Läppchen- und Gefäßarchitektur durch eine entzündliche Fibrose einhergeht. Funktionell ist die Leberzirrhose durch Leberversagen (Leberinsuffizienz) und portale Hypertension (Erhöhung des Druckes in der Portalvene (Eingangsgefäß zur Leber) auf über 12 mmHg, normal: 3-6 mmHg) bei reduzierter Durchblutung der Leber gekennzeichnet. Von griechisch kírosis - gelb-orange. 92

**Lipiddoppelschicht** Eine Lipiddoppelschicht besteht aus amphiphilen Lipiden, die einen hydrophilen und hydrophoben Anteil (meistens Kohlenwasserstoffketten) besitzen. Im polaren Lösungsmittel bildet sich eine Doppelschicht, bei der der hydrophobe Anteil nach innen und der hydrophile Anteil nach außen zeigt. Im apolaren Lösungsmittel kehrt sich die Lage entsprechend um (sogenannte inverse Lipiddoppelschicht). 25, 33, 35

**Läsion** „Schädigung“, „Verletzung“, „pathologische Veränderung“ oder „Störung“, von lateinisch: laesio - Verletzung. 9

**maligne** bösartig, z. B. malignes Tumorgewebe. 1

**Metastase** Synonyme: Tochtergeschwulst, Tumorabsiedelung, Filia/Filiae. Metastasen sind von einem Primärtumor räumlich getrennte, gleichartige Tochtergeschwülste, die durch

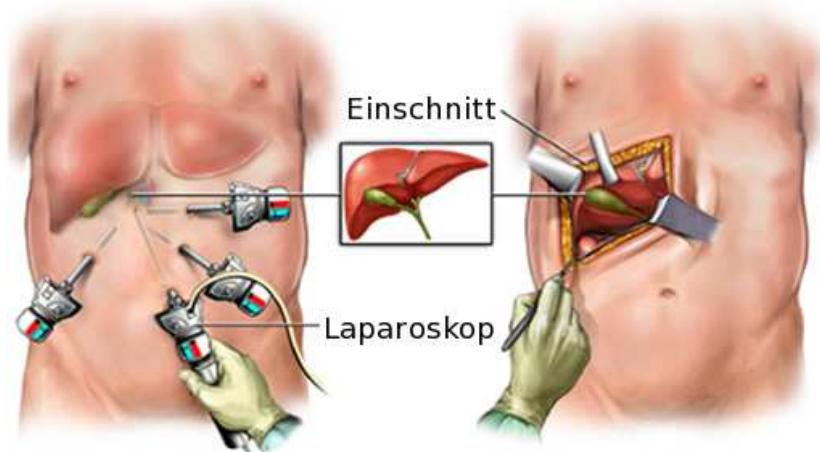


Abbildung 9.1: *Vergleich von minimal-invasiver und konventioneller Chirurgie am Beispiel einer Gallenblasenresektion: Links mithilfe eines Laparoskops, rechts offene Operation mit sehr viel größerem Hautschnitt. [Gre06]*

Verschleppung von lebensfähigen Tumorzellen entstehen. Den Prozess der Metastasenbildung bezeichnet man als Metastasierung. Von griechisch *metástasis* „Wanderung“. 1, 12, 128, 129

**MIC** Minimal-invasive Chirurgie, umgangssprachlich „Schlüssellochchirurgie“, bezeichnet als Oberbegriff operative Eingriffe mit kleinstmöglichem Trauma, d. h. kleinstmöglicher Verletzung von Haut und Weichteilen. Im Vergleich zur konventionellen offenen Operation (vgl. Abb. 9.1) ist das Ziel dieser Intervention, postoperative Schmerzen, Narbengrößen und die Dauer des Krankenhausaufenthaltes zu reduzieren. Die Länge der Hautschnitte liegt in der Größenordnung von 5 – 10 mm, über diese Zugänge wird mit speziellen Instrumenten (z. B. Endoskope, Sonden, Elektroden) die Operation durchgeführt. Speziell in der ⇒Onkologie hat sich die minimal-invasive Chirurgie als Alternative zur klassischen Operation für die Stadienerkennung von Tumoren bereits durchgesetzt. Bei der ⇒kausalen Therapie hingegen spielt die MIC derzeit keine große Rolle: Das Primärziel ist nicht die Verbesserung des Patientenkomforts, sondern größtmögliche Radikalität, d. h. größtmögliche Prognoseverbesserung bzw. vollständige Heilung. Minimal-invasive ⇒Resektion, d. h. die komplette Entfernung des betroffenen Gewebes, ist daher in der Onkologie auch heute noch die absolute Ausnahme. [Sch01] 2, 7, 16

**MPG** Medizinproduktegesetz, § 1 Zweck des Gesetzes: „Zweck dieses Gesetzes ist es, den Verkehr mit Medizinprodukten zu regeln und dadurch für die Sicherheit, Eignung und Leistung der Medizinprodukte sowie die Gesundheit und den erforderlichen Schutz der Patienten, Anwender und Dritter zu sorgen.“ Das MPG bezeichnet in Deutschland und Österreich die nationale Umsetzung der europäischen Richtlinien 90/385/EWG für aktive implantierbare medizinische Geräte, 93/42/EWG für Medizinprodukte und 98/79/EG

für In-vitro-Diagnostika. Ein medizinisches Gerät muss zunächst ein (einem Zulassungsverfahren ähnelndes) Konformitätsbewertungsverfahren durchlaufen, bevor es klinisch eingesetzt werden darf. Der Begriff Medizinprodukte umfasst nicht die Arzneimittel (§ 2 Abs. 5 Nr. 1 MPG). 5

**Nekrose** Auch *akzidenteller* ⇒ *Zelltod* (*accidental cell death*, kurz: ACD). Ergebnis einer Zellschädigung, z. B. durch mechanische Verletzung, Toxine, Hypoxie, Hypothermie oder Krankheitserreger. Bei der Nekrose tritt der Zellinhalt unkontrolliert in die Umgebung der Zelle aus. Es kommt – im Gegensatz zur ⇒ Apoptose – zu einer Entzündungsreaktion. 2, 5, 9–11, 33, 125, 129

**nicht-invasiv** Siehe ⇒ *invasiv*. 4, 15

**Onkologie** Wissenschaft, die sich mit der Erkennung und Therapie von Krebs befasst. Von altgriechisch *onkos* „Anschwellung“ und *logos* „Lehre“. 11, 127, 128

**OPS** Das Bundesministerium für Gesundheit stellt sog. OPS (Operationen- und Prozedurenverschlüssel) für Medizinprodukte aus. „Diagnosen und Operationen/Prozeduren werden mit Hilfe von Codes erfasst, die in Katalogen (ICD-10 und OPS) zusammengestellt sind. Die Verschlüsselung ist die Arbeit, die der behandelnde Arzt auf der Station oder im Op. (nach den Vorgaben des Gesetzgebers) zu erledigen hat.“ [Bro10]

Der Prozess der OPS-Klassifizierung „ist der erste Schritt zur Sicherstellung der Kostenrückerstattung für neue Medizintechnologien in Deutschland. Die Gewährung eines OPS ist daher ein wichtiger Schritt zur universellen Akzeptanz einer Medizintechnik.“ [Glo14] 8, 17

**Primärtumor** Der Begriff Primärtumor beschreibt bei einem bösartigen Tumor den Ursprungsort, d. h. den Ort, in dem die Neubildung dieses Gewebes zuerst aufgetreten ist, bevor sie ihre Metastasen gestreut hat. Dieser ursächliche Primärtumor kann nicht in allen Krankheitsfällen diagnostiziert werden. Die Unterscheidung zwischen Primär- und Sekundärtumor kann bei Metastasen auf Grundlage des histopathologischen Befundes getroffen werden. 1, 12

**Resektion** In der ⇒ Onkologie gebräuchlicher Begriff für die komplette Entfernung des befallenen und ggf. des gefährdeten Gewebes. 1, 127

**RFA** Bei der Radiofrequenzablation bzw. Hochfrequenzablation handelt es sich um ein Verfahren, bei dem in einem vorher definierten Bereich des Körpers Gewebe durch die Zufuhr von großer Hitze zerstört werden soll. Klassisches Beispiel ist die lokale Zerstörung einer bösartigen Raumforderung. Die erwünschten Zerstörungsgebiete nennen sich Hitzenekrosen. Antrieb für die starke Hitzeentwicklung ist eine Form von Hochfrequenzstrom, in etwa ähnlich dem Verfahren beim Veröden von Gefäßen im Rahmen einer Operation. 2, 11, 16

**Ruhepotential** Das Ruhepotential bzw. Ruhemembranpotential (RMP) ist eine Spannungsdifferenz, die durch eine ungleiche Verteilung von Kalium- und Natrium-Ionen zwischen Intra- und Extrazellulärraum infolge einer ionenspezifischen Permeabilität der Zellmembran entsteht. Die Aufrechterhaltung des Ruhepotentials ist ein aktiv physiologischer Prozess. Je nach Zelltyp beträgt die als Ruhemembranpotential bezeichnete Spannungsdifferenz zwischen  $-100$  und  $-50\text{ mV}$ , bei den meisten Nervenzellen rund  $-70\text{ mV}$  (Zellinneres ist negativ geladen). 33

**Sekundärtumor** Als Sekundärtumor bezeichnet man sowohl ein wiederauftretendes Krebsgeschwür (Tumor) nach vermeintlich geheilter Krebserkrankung als auch eine Metastase. 12

**Stent** Als *Stent* bezeichnet man ein feines, dehnbares Röhrchen aus Metall- oder Kunststoffgeflecht, das zum Offenhalten von Gefäßen oder Hohlorganen eingesetzt wird. Solche Gefäßstützen werden verwendet, um in Arterien den Blutfluss zu gewährleisten. In der Onkologie und Palliativmedizin werden Stents zudem eingesetzt, um Hohlorgane offen zu halten und z.B. Verengungen der Atemwege (Luftröhre), Gallenwege oder der Speiseröhre durch Tumoren zu behandeln. 8, 59, 60, 66

**vulnerabel** Lateinisch: vulnerare - verletzen. Der Begriff kann sich zwar auch auf die Störfähigkeit von physiologischen Abläufen beziehen, im Kontext dieser Arbeit ist aber nur die leichte mechanische Verletzlichkeit von Gewebestrukturen gemeint. 2

**Zelltod** Ereignis, das zum Erlöschen des Stoffwechsels und der morphologischen Integrität einer Zelle führt. Er beendet irreversibel alle Lebensprozesse der Zelle. Man unterscheidet zwei Formen des Zelltods:  $\Rightarrow$  Apoptose und  $\Rightarrow$  Nekrose. 2, 9, 10, 33, 36, 125, 128



# A Ergänzungen zu den Grundlagen in Kap. 2

## Coulombgesetz

Das Coulombgesetz bildet die Grundlage der Elektrostatik. Es beschreibt die Kraft  $\vec{F}_{12}$ , die eine Punktladung  $q_1$  am Ort  $\vec{r}_1$  auf eine Punktladung  $q_2$  am Ort  $\vec{r}_2$  im Vakuum ausübt:

$$\vec{F}_{12} = \frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_0} \frac{\vec{r}_2 - \vec{r}_1}{|\vec{r}_2 - \vec{r}_1|^3} \quad (\text{A.1})$$

Das Coulombgesetz gilt in dieser Form nur für Punktladungen, die relativ zueinander ruhen und deren Abstand groß im Vergleich zu ihrer räumlichen Ausdehnung ist [Jac06, S. 29]. Die Konstante  $\epsilon_0$  wird **Dielektrizitätskonstante oder Permittivität des Vakuums** genannt und beträgt:

$$\epsilon_0 \approx 8,854 \cdot 10^{-12} \frac{\text{As}}{\text{Vm}} \quad (\text{A.2})$$

Für mehr als zwei Ladungen gilt das Superpositionsprinzip: Die resultierende Kraft auf eine Ladung  $q_1$  am Ort  $\vec{r}_1$  lässt sich als Summe der Coulombkräfte zwischen dieser Ladung und allen anderen Ladungen  $q_i$  an den Orten  $\vec{r}_i$  schreiben:

$$\vec{F}(\vec{r}_i) = \frac{q_1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i=2}^N q_i \frac{\vec{r}_1 - \vec{r}_i}{|\vec{r}_1 - \vec{r}_i|^3} \quad (\text{A.3})$$

## Maxwell Gleichungen

In der Elektrostatik bieten die vier Maxwellschen Gleichungen eine vollständige Beschreibung des Aufbaus elektrischer sowie magnetischer Felder und deren Wechselwirkung untereinander. Sie deckt die Erkenntnisse der zuvor aufgeführten Gleichungen ab und darüber hinaus noch weitere Zusammenhänge zur Beschreibung von elektromagnetischen Wellen. Die Maxwellschen Gleichungen können sowohl in integraler als auch in differentieller Form dargestellt werden.

### Maxwellsche Gleichungen in differentieller Form

Für diese Arbeit relevant sind nur die zwei Maxwellschen Gleichungen für rein elektrische, statische Felder. Wie einleitend beschrieben werden zwecks Vergleichbarkeit mit den Literaturquellen statische Berechnungen verwendet, analog auch Wechselwirkungen mit magnetischen

Feldern vernachlässigt. Diese lauten in der für die Berechnung einfacheren differentiellen Form:

$$\operatorname{rot} \vec{E} = \vec{\nabla} \times \vec{E} = 0 \quad (\text{A.4})$$

$$\operatorname{div} \vec{D} = \vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho \quad (\text{A.5})$$

Gleichung (A.4) folgt aus der Tatsache, dass das elektrische Feld ein konservatives Kraftfeld ist und sich als Gradientenfeld darstellen lässt (vgl. Gleichung 2.7). Sie sagt aus, dass elektrostatische Felder **wirbelfrei** sind, d. h. reine Quellenfelder sind: Es entstehen keine in sich geschlossenen Feldlinien, sogenannte Wirbel. [Gra13]

Gleichung (A.5) besagt, dass die Raumladungsdichte  $\rho$ , d. h. die Ladung pro Volumeneinheit, Quelle des elektrischen Feldes ist: Die Quellendichte  $\operatorname{div} \vec{D}$  ist in jedem Punkt gleich der lokalen Ladungsdichte  $\rho$ .<sup>1</sup> Im Fall einer raumladungsfreien Anordnung (z. B. im Inneren eines Leiters, bei dem sich an der Oberfläche die Flächenladung ausbreitet, dadurch das Innere ladungsfrei ist) gilt  $\rho = 0$ , somit reduziert sich Gleichung A.5 zu:

$$\operatorname{div} \vec{D} = 0 \quad (\text{A.6})$$

Da ein Vektorfeld vollständig bestimmt ist, wenn seine Divergenz und seine Rotation in jedem Raumpunkt bekannt sind, wird das elektrische Feld durch diese Maxwellgleichungen eindeutig festgelegt.

### Maxwellsche Gleichungen in integraler Form

Mit Hilfe des **Integralsatz von Stokes**<sup>2</sup> lässt sich die Differentialgleichung A.4 in die Integraldarstellung überführen:

$$\oint_{\partial A} \vec{E} \cdot d\vec{s} = 0 \quad (\text{A.7})$$

Dies entspricht der Aussage der Gleichung (2.4), dass die Arbeit im elektrostatischen Feld entlang eines geschlossenen Weges verschwindet.

Mit dem **Gaußschen Integralsatz**<sup>3</sup> lässt sich auch Gleichung A.5 als Integral schreiben:

$$\oint_{\partial V} \vec{D} \cdot d\vec{A} = Q_{\text{ein}} \quad (\text{A.8})$$

Dies entspricht dem **Gaußschen Gesetz**: Der elektrische Fluss durch eine geschlossene Oberfläche  $\partial V$  entspricht der darin eingeschlossenen elektrischen Ladung  $Q_{\text{ein}}$ .

<sup>1</sup> In  $\vec{D}$  sind die Oberflächenladungen, die bei einem Dielektrikum durch die Polarisation erzeugt werden, bereits berücksichtigt;  $\rho$  beschreibt somit nur freie Ladungen.

<sup>2</sup> Sei  $\vec{V}$  ein Vektorfeld, das auf der Fläche  $A$  überall stetig differenzierbar ist, und  $\partial A$  der Rand der Fläche. Dann gilt:  $\int_A (\operatorname{rot} \vec{V}) d\vec{A} = \oint_{\partial A} \vec{V} d\vec{s}$ .

<sup>3</sup> Sei  $V$  ein Volumen mit geschlossener Oberfläche  $\partial V$  und  $\vec{V}$  ein differenzierbares Vektorfeld in  $V$ . Dann gilt:  $\int_V (\operatorname{div} \vec{V}) dV = \oint_{\partial V} \vec{V} d\vec{A}$ .

---

## Laplace-Gleichung

Aus den Gleichungen 2.7, 2.18 und A.6 folgt

$$\begin{aligned}\operatorname{div} D = \operatorname{div} \epsilon \vec{E} = 0 &\Leftrightarrow \\ -\operatorname{div} \vec{\nabla} \Phi = -\operatorname{div} \operatorname{grad} \Phi = 0 &\Leftrightarrow \\ \operatorname{div} \operatorname{grad} \phi = \nabla \nabla \phi = 0\end{aligned}$$

Mithilfe des Laplace-Operators  $\Delta$  verkürzt sich diese Gleichung zur *Laplace-Gleichung*:

$$\Delta \phi = 0 \tag{A.9}$$

Der Laplace-Operator  $\Delta$ , und damit auch die Laplace-Gleichung selbst, kann in kartesischen Koordinaten notiert werden:

$$\Delta \phi = \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} = 0 \tag{A.10}$$

Die auch *Potentialgleichung* genannte Gleichung dient in der Elektrostatik zur Darstellung der Potentialverteilung von raumladungsfreien Feldern. Sie eignet sich besonders zur Lösung von Randwertproblemen 1. Art (Dirichletsches Problem) und 2. Art (Neumannsches Problem) [Sch02]. Bei Problemen 1. Art sind z. B. Potentiale an den Elektrodenrändern vorgegeben. Bei Problemen 2. Art ist die Normalableitung  $\frac{\partial \phi}{\partial n}$  an Grenzflächen zwischen Gebieten verschiedener Leitfähigkeit gegeben.

## Einordnung von Transistortypen und Relais für die Anwendung

In dieser Arbeit werden Power-MOSFETS eingesetzt. Diese erreichen Sperrspannungen bis hin zu einigen Kilovolt und können im Bereich von Mikrosekunden schalten. Dem gegenüber weisen Relais vergleichsweise lange Schaltzeiten bei ebenfalls großen Sperrspannungen auf. Bipolartransistoren (BJT) können je nach Bauart ebenfalls im Bereich von Mikrosekunden schalten und hohe Sperrspannungen bieten, schalten jedoch stromgesteuert anstatt spannungsgesteuert, was bei einer Ansteuerung mittels Mikrocontroller nur kompliziert zu realisieren ist. [Lut06]

Für diese Anwendung positive Eigenschaften von MOSFETs sind zusammengefasst: Eine einfache und leistungsarme Ansteuerung, kein Tailstrom<sup>4</sup> beim Abschaltvorgang (im Vergleich zum Bipolartransistor mit isolierter Gate-Elektrode (IGBT)), geringe Schaltverluste, hohe Schaltfrequenzen möglich, Schaltflanken über den Gatewiderstand steuerbar, Kurzschlussfestigkeit, ein sicherer rechteckiger Arbeitsbereich. [Rei07]

---

<sup>4</sup> Auch Stromschwanz oder Schweifstrom genannt, d. h. der Strom fällt zunächst auf  $I_{tail}$  auf, um dann langsam während der Zeit  $t_{tail}$  abzuklingen. [Lut06]

## Aufbau des klinischen Elektroporators ECM 830

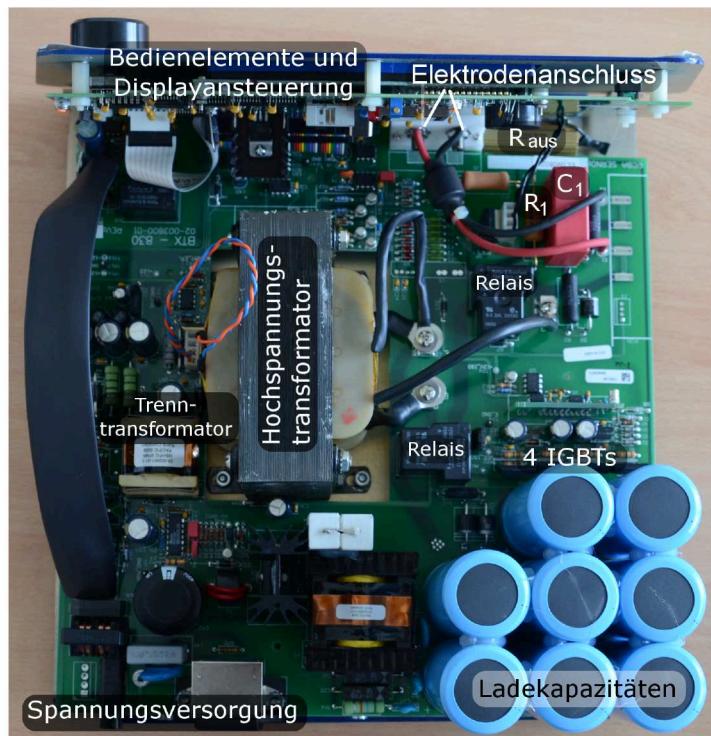


Abbildung A.1: Foto der Hauptplatine aus dem klinischen Elektroporator ECM 830 von BTX Instrument Division, Harvard Apparatus, Inc., Holliston, USA

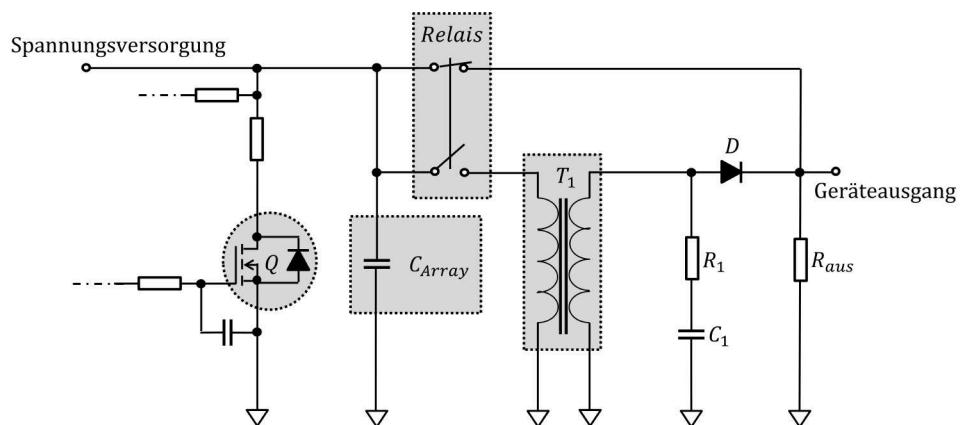


Abbildung A.2: Aus Abbildung A.1 erstellter Schaltplan des Geräteausgangs.

## B Vorversuche zu den Zellmonolayern in Kap. 3.3.1

Qualitative Evaluation verschiedener Materialien und Methoden.

### Aufbau und Materialien

- Zwei kreissegmentförmige Elektroden im Abstand von 5 mm.
- Die Elektroden liegen auf dem Zellmonolayer auf.
- Petrischale: Polystyrol
- Elektroden: Aluminium

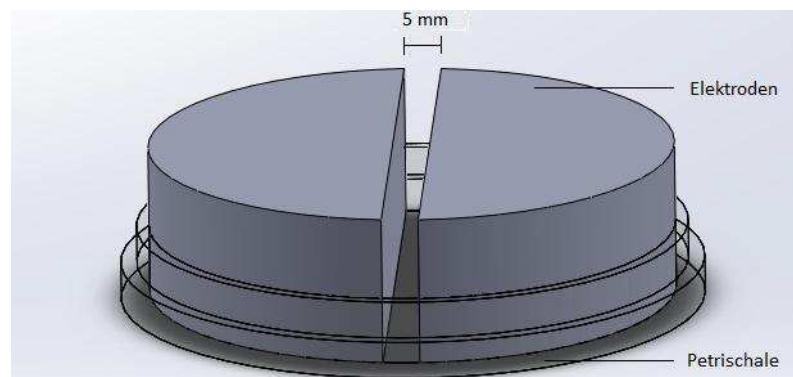


Abbildung B.1: Aufbau der Versuchsreihe: linke und rechte Elektrode sowie der als Mitte oder Zwischenraum bezeichnete Spalt dazwischen; Foto vgl. Abb.3.1a).

### Durchführung

- **Ziel:** Die Zellen zwischen den Elektroden sollen durch EP absterben. Klare Abgrenzung sollte erkennbar sein, variiert wird nur die Spannung / elektrische Feldstärke.
- **Verwendete Zellen:** Zellkultur Monolayer 4x L929, 2x FG, 2x Panc1
- **Spannung:**
  - L929: 200, 400, 600, 900 V
  - FG und Panc1: 400, 600 V
- **Abstand:** 5 mm
- **Auswertung:** Färbung mit Trypan Blau, qualitative Auswertung
- **Anzahl der Impulse:** 70
- **Impulsdauer:** 100  $\mu$ s
- **Pulsfrequenz:** 10 Hz

## Ergebnisse und Fazit

### L929, 200 V

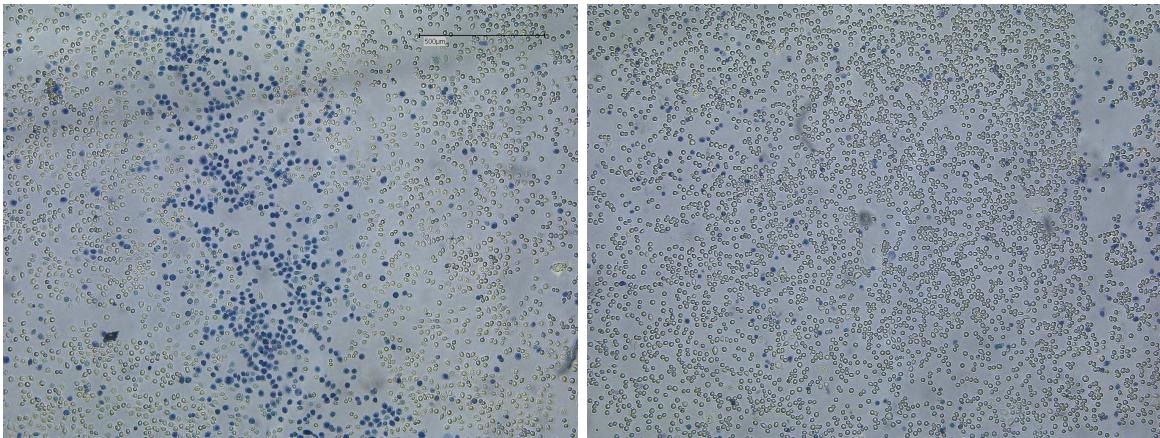


Abbildung B.2: L929, 200 V: Linkes Bild zeigt die Grenze an der linken Elektrode (Skala rechts oben: 500  $\mu$ m), rechtes Bild die Grenze an der rechten Elektrode.

- Nur vereinzelt tote Zellen zu sehen.
- Nur an der linken Elektrode – nicht an rechten – Streifen mit toten Zellen erkennbar.

### L929, 400 V

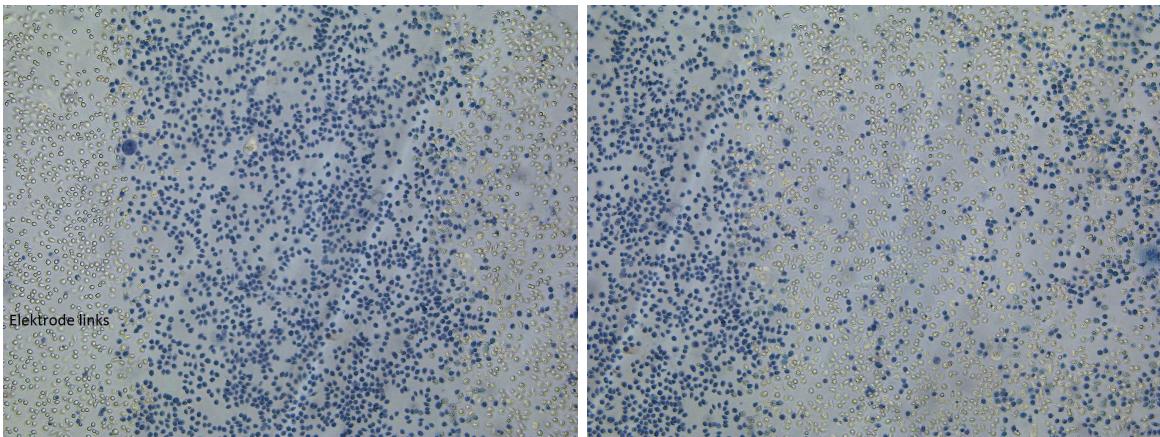


Abbildung B.3: L929, 400 V: Linkes Bild zeigt die Grenze an der linken Elektrode, rechtes Bild den Bereich mittig zwischen den Elektroden.

- An der Grenze von Elektrode und Mitte klarer Übergang zwischen lebenden und toten Zellen erkennbar. Dazwischen (Mitte) befinden sich vorwiegend lebende Zellen. Der Bereich zwischen den Elektroden teilt sich also in drei Teile: tot, lebend, tot.
- Möglicher Grund: Inhomogenitäten im Feld in der Ebene der Zellen, dadurch stärkeres Feld an den Rändern als in der Mitte (vgl. Abbildung B.4).
- Folgerung: In dem Feldstärkenbereich dieser Ebene muss die Grenzfeldstärke der irreversiblen Elektroporation liegen.

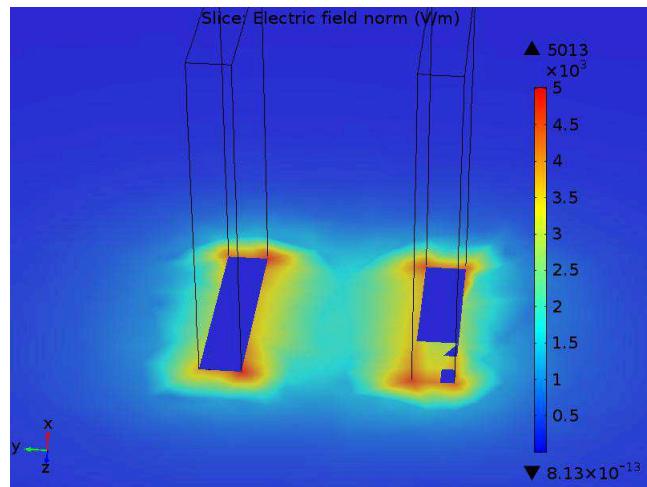


Abbildung B.4: Verteilung des elektrischen Feldes in der Ebene des Monolayers.

**L929, 600 V**

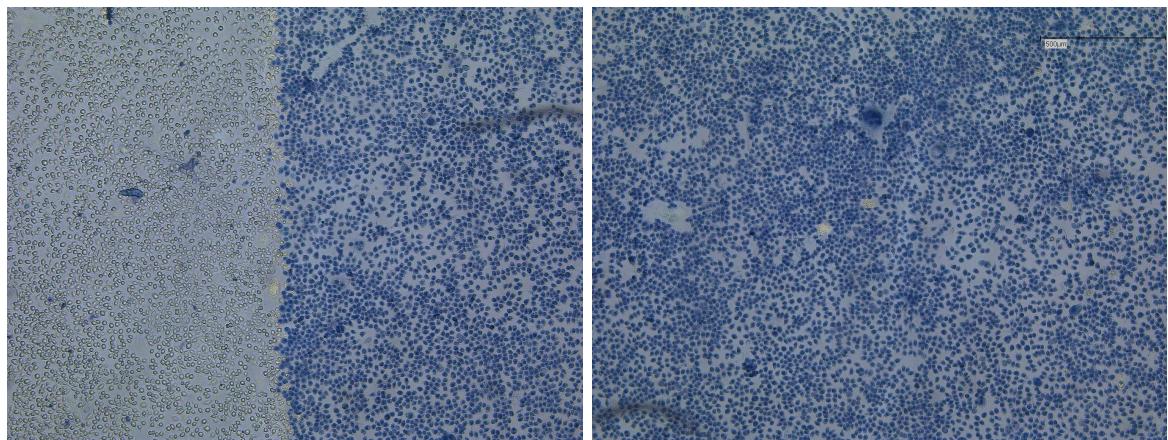


Abbildung B.5: L929, 600 V: Linkes Bild zeigt Grenze an linker Elektrode, rechtes Bild den Bereich mittig zwischen den Elektroden. (Skala rechts oben: 500  $\mu$ m).

- Klare Grenze an der Kante der Elektroden erkennbar: Unter der Elektrode leben die Zellen noch, zwischen den Elektroden (Mitte) sind sie tot.

**L929, 900 V**

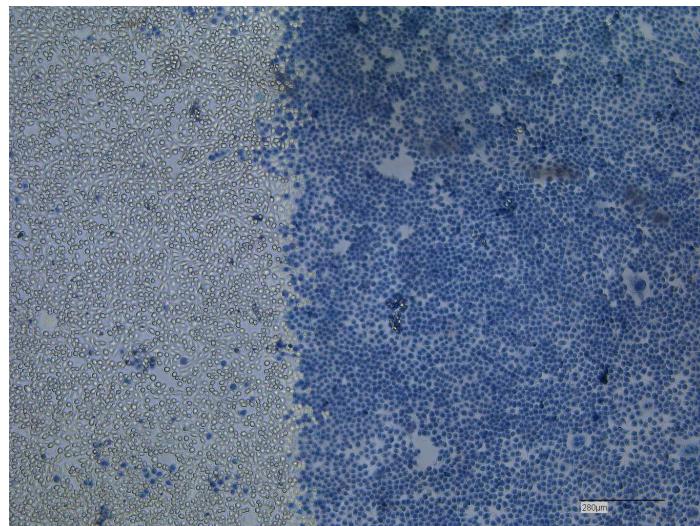


Abbildung B.6: *L929, 900 V, Grenze an der linken Elektrode (Skala rechts unten: 280 μm)*.

- Klare Grenze an der Kante der Elektroden erkennbar: Unter der Elektrode leben die Zellen noch, zwischen den Elektroden (Mitte) sind sie tot.
- Unterhalb der Elektroden teilweise ganze Areale ohne Zellen zu sehen.

**Panc1, 400 V**

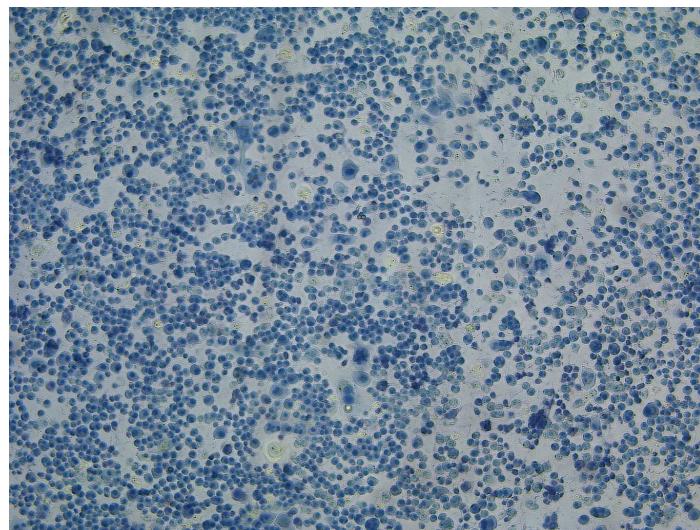


Abbildung B.7: *Panc1, 400 V, Mitte*

- Anders als bei L929 sind hier schon bei 400 V fast alle Zellen tot, auch in der Mitte (keine Streifenbildung). Deutung: Die Panc1-Zellen könnten eine geringere Grenzfeldstärke besitzen als die L929-Zellen.

---

### **Panc1, 600 V**

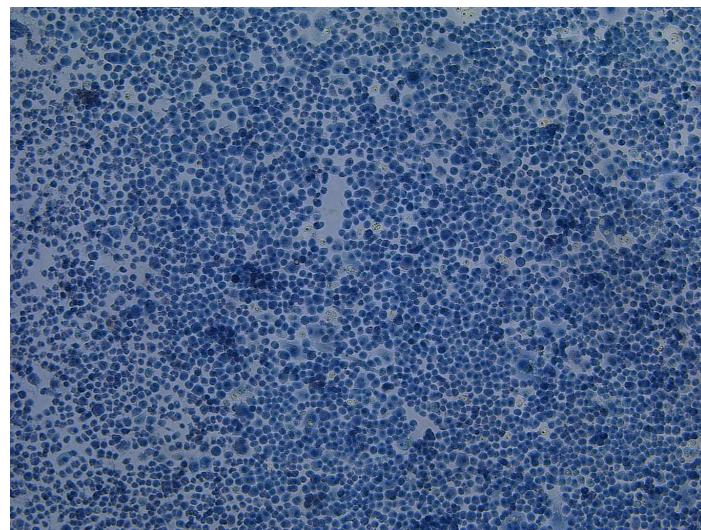


Abbildung B.8: *Panc1, 600 V, Zwischenraum*

- Im Zwischenraum sind so gut wie alle Zellen tot, vereinzelt sind dennoch lebende Zellen vorhanden.
- An den Elektrodenkanten ist eine klare Abgrenzung sichtbar.

### **FG, 400 V**

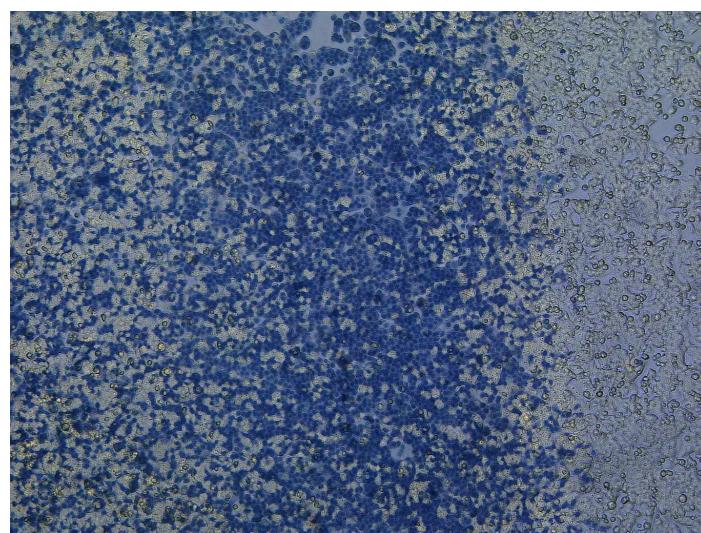


Abbildung B.9: *FG, 400 V, Grenze an der rechten Elektrode*

- Überwiegend lebende Zellen zu sehen, insbesondere in der Mitte zwischen den Elektroden.

## FG, 600 V

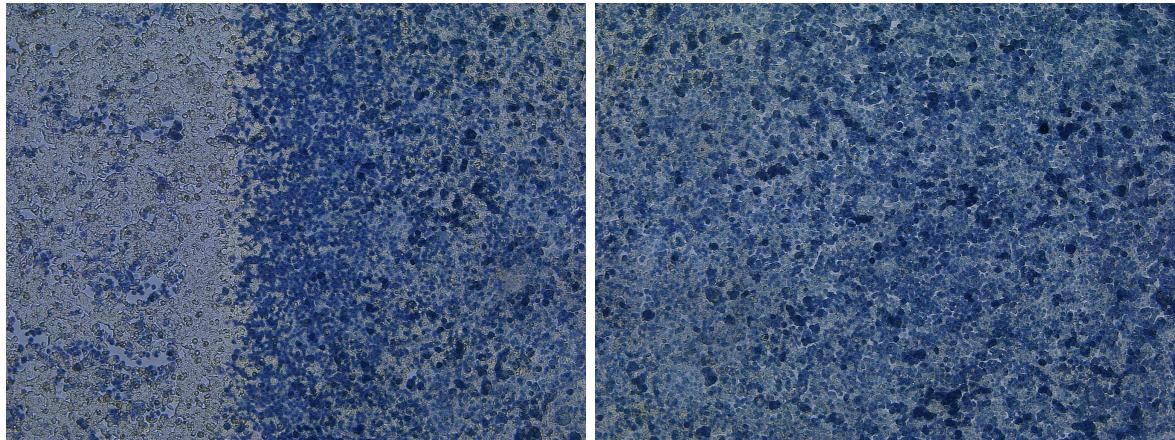


Abbildung B.10: *FG, 600 V: Linkes Bild zeigt die Grenze an der linken Elektrode, rechtes Bild den Bereich mittig zwischen den Elektroden.*

- In der Mitte zwischen den Elektroden sind noch ca. 30% lebende Zellen zu sehen.
- Am Rand (Elektrodennähe) deutlich weniger lebende Zellen erkennbar.

## Fazit

- Bei allen Zellen scheint die Grenzspannung im Bereich 400 V – 600 V zu liegen.
- Die Streifenbildung (tot, lebend, tot) stammt vermutlich von Inhomogenitäten im Feld (s. Abbildung B.4).
- Die Streifenbildung bei L929- und FG-Zellen bei 400 V würde dafür sprechen, dass bei diesen Zellen die Grenzspannung etwas höher liegt, als bei den Panc1-Zellen (vgl. Abb. B.3 und Abb. B.9 im Vergleich zu Abb. B.7).
- Auch zwischen L929 und FG ist ein Unterschied erkennbar: L929 scheint die höchste Grenzspannung zu besitzen, da die Streifenbildung bei 400 V hier am stärksten ist. Allerdings sind bei 600 V deutlich mehr L929-Zellen als FG-Zellen tot, dies würde wiederum für eine höhere Grenzspannung der FG-Zellen sprechen.
- Die Versuchsreihen belegen, dass eine ausführlichere Versuchsreihe in diesem Kontext sinnvoll ist.

## C Vorversuche zu den Zellsuspensionen in Kap. 3.3.2

Qualitative Evaluation verschiedener Materialien und Methoden.

### Aufbau und Materialien

- Elektroden aus Edelstahl 1.451 im Abstand von 2 mm in einer Petrischale
- Abschirmung der Ränder und Einhaltung des Abstandes durch einen Isolator aus Kunstharz (RGD720 von Polyjet)
- Volumen des Zwischenraums:  $V \approx 700 \mu\text{l}$

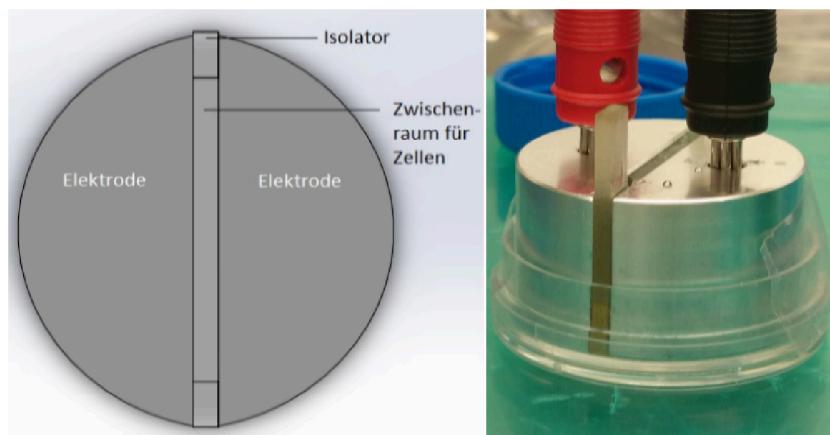


Abbildung C.1: Erster Aufbau für Zellsuspensionsversuche: Links: CAD-Modell (Ansicht von oben). Rechts: Foto des Aufbaus im Labor bei Versuchsdurchführung, nach erfolgreicher Evaluierung weiterentwickelt, vgl. Abb. 3.6.

### Durchführung

- **Ziel:** EP von Zellsuspensionen verschiedener Linien zwischen zwei Elektroden
- **Verwendete Zellsuspensionen:** L929 Mäusefibroblasten, Panc1-Zellen, in Zuckerlösung
- **Spannung:** 0 V, 600 V, 900 V, 1200 V bei Elektrodenabstand von 2 mm
- **Durchführung:** Zellsuspension von 10ml anfertigen, davon 100  $\mu\text{l}$  in den Versuchsaufbau geben, auszählen nach EP
- **Anzahl der Impulse:** 70
- **Impulsdauer:** 100  $\mu\text{s}$
- **Pulsfrequenz:** 10 Hz
- **Auswertung:** Zellzählung mit CASY1 (Roche Innovatis AG) und Neubauer-Kammer

## Untersuchung verschiedener extrazellulärer Medien

### RPMI

RPMI ist das übliche Medium für das Kultivieren von Zellen. Es enthält viele Salze und somit eine relativ hohe Leitfähigkeit. Dies führt ab einer bestimmten Spannung zu Durchschlägen und Funken, woraufhin die Erzeugung der elektrischen Impulse abgebrochen wird.

### Kochsalzlösung

In einigen Versuchen (z.B. [Mil05]) wird für die Versuche eine 0,9% ige NaCl-Lösung verwendet. Die Kochsalzlösung wurde auch hier im Rahmen der Versuche getestet, wobei bisher nicht zu erklärende Erscheinungen aufgetreten sind, wie in den Abbildungen C.2 zu sehen ist.

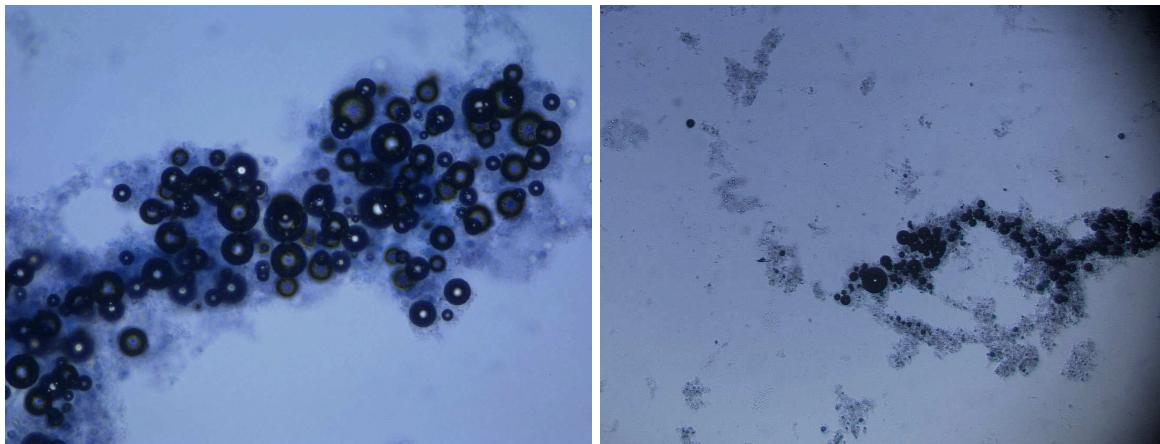


Abbildung C.2: Versuch mit NaCl-Lösung. Links 10fach vergrößert, rechts 2,5fach.

### Zuckerlösung

Um die vorher beschriebenen Probleme zu umgehen, wurde daraufhin eine Zuckerlösung verwendet, die im Vergleich zu den anderen Medien eine sehr geringe elektrische Leitfähigkeit besitzt. Die weiteren Versuche wurden nur noch in Zuckerlösung durchgeführt.

## Ergebnisse und Fazit

**Zellzählung mit CASY1:** Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen nicht möglich.

**Zählkammer Auswertung Panc1 in Zuckerlösung:**

Spannung	0 V	600 V	900 V
lebend	$1,8 \cdot 10^6$	$1,17 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^5$
tot	$1,3 \cdot 10^5$	$2,47 \cdot 10^6$	$2,99 \cdot 10^6$

**Fazit:** Die Tendenz stimmt, aber die Auswertung muss deutlich genauer werden. Nur in Zuckerlösung sind entsprechende Ergebnisse zu generieren.

---

## Zählkammer und Auszählung

Die folgenden Informationen sind der Gebrauchsanweisung der *Neubauer improved Systems* Zählkammer (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Deutschland) entnommen. [Pau10]

### Was ist eine Zählkammer und wo wird sie eingesetzt?

Die Zählkammer ist ein Präzisionsmessgerät aus optischem Spezialglas. Sie wird verwendet, um Zellen oder andere Partikel in Suspensionen unter dem Mikroskop zu zählen. Hauptsächlich werden Zählkammern zur Zählung von Zellen im Blut (z.B. Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, etc.) und zur Zellzählung im Liquor verwendet. Außerdem dienen Zählkammern auch der Zählung von Bakterien, Sperma und Pilzsporen.

### Bauprinzip

Alle Zählkammern weisen das gleiche Bauprinzip auf (vgl. Abb. C.3). In einer rechteckigen Grundplatte aus optischem Spezialglas in der Größe eines Objektträgers, befinden sich im mittleren Drittel vier Längsnuten, die parallel zu den kurzen Seiten verlaufen. Die beiden größeren Außenflächen sind unbearbeitet und dienen der Beschriftung. Der Mittelsteg und die beiden Außenstege sind plangeschliffen und poliert. Die Oberfläche des Mittelsteges ist etwas tiefer gegenüber den beiden Außenstegen. In den Mittelsteg (Kammerboden) sind die Zählnetze eingraviert.

Wird ein Deckglas auf die Außenstege aufgelegt, so entsteht zwischen der Unterseite dieses Deckglases und dem Mittelsteg der Zählkammer ein Kapillarspalt.

### Auszählen der Teilchen

Das Auszählen setzt genaue Kenntnis über die Grenzlinien der verwendeten Zählkammern voraus. Die Abbildung zeigt die 3-fach Linien des *Neubauer improved Systems*. Damit Zellen, die auf oder an Begrenzungslinien liegen, nicht doppelt gezählt oder bei der Zählung übergangen werden, halte man sich an bestimmte Regeln (vgl. Abb. C.4).

Gezählt werden alle Zellen innerhalb des definierten Messbereiches. Mitgezählt werden die an zwei (!) Seiten, z.B. an der linken und oberen Maßlinie, an- oder aufliegenden Zellen (schwarz markiert). Dies gilt auch für die Art des eigentlichen Zählvorganges, der mäanderförmig erfolgen soll. Die Auszählung erfolgt in der linken oberen Ecke beginnend in Pfeilrichtung.

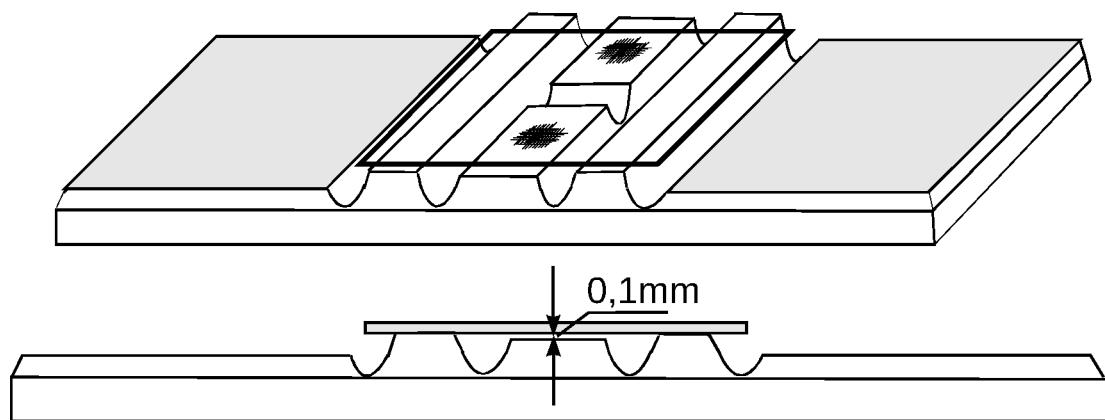


Abbildung C.3: Aufbau einer Zählkammer. [Pau10]

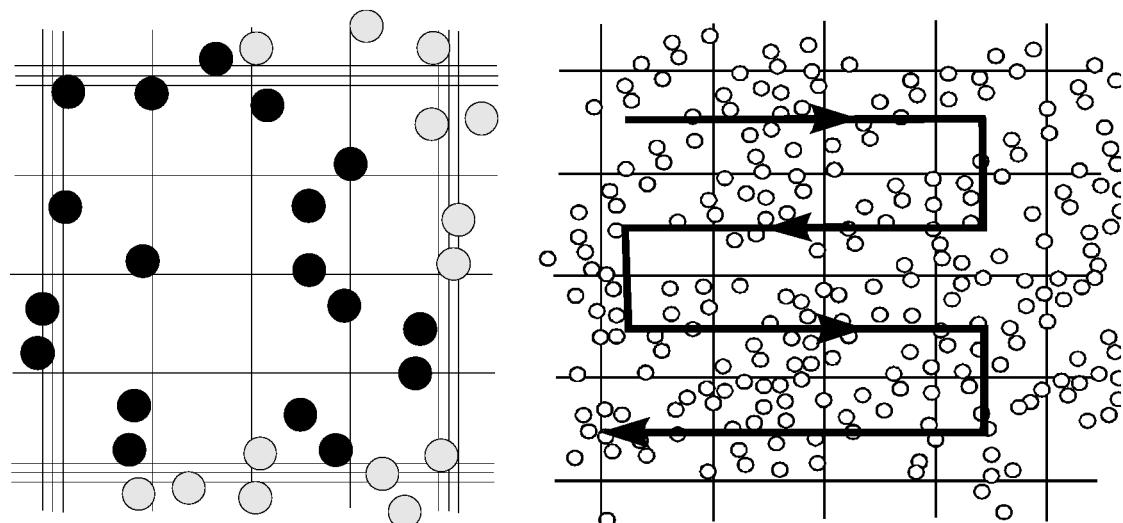


Abbildung C.4: Auszählungsmethode mit einer Zählkammer. [Pau10]

## D Zahlenwerte zu den Zellsuspensionsversuchen in Kap. 3.3.2

### Variation der elektrischen Feldstärke bei $d = 2 \text{ mm}$

U [V]	E [ $\frac{V}{cm}$ ]	Zellviabilität direkt			Zellviabilität 2h		
		BxPc3	Panc1	MiaPaCa2	BxPc3	Panc1	MiaPaCa2
0	0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
100	500	92,37%	100,0%	93,66%	100,0%	98,06%	100,0%
200	1000	95,13%	78,26%	54,14%	100,0%	78,73%	60,83%
400	2000	38,33%	34,52%	0,0025%	39,12%	33,18%	00,29%
800	4000	00,32%	0,011%	00,00%	00,00%	00,01%	00,00%

Die Überlebensrate ist auf 100% normiert, d. h. dieser Wert entspricht der Zellviabilität von nicht elektroporierten Zellen, die aber sonst die gleiche Behandlung (in Reservoir pipettiert, wieder entnommen, gefärbt) erfahren haben.

Die nicht-normierten, ausgezählten Werte sind:

U [V]	E [ $\frac{V}{cm}$ ]	Zellviabilität direkt			Zellviabilität 2h		
		BxPc3	Panc1	MiaPaCa2	BxPc3	Panc1	MiaPaCa2
0	0	73,54%	87,29%	59,32%	71,69%	90,59%	58,35%
100	500	67,93%	88,20%	55,56%	72,83%	88,84%	60,92%
200	1000	69,96%	68,32%	32,12%	72,16%	71,33%	35,50%
300	2000	28,19%	30,14%	0,0%	28,05%	30,06%	0,170%
400	4000	0,235%	0,010%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

## Variation des Abstandes bei $E = 500 \text{ kV/cm}$

U [V]	d [cm]	Zellviabilität direkt			Zellviabilität 2h		
		BxPc3	Panc1	MiaPaCa2	BxPc3	Panc1	MiaPaCa2
0	0,2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
100	0,2	92,37%	100,0%	93,66%	100,0%	98,06%	100,0%
200	0,4	90,42%	97,52%	77,60%	99,28%	96,08%	76,90%
300	0,6	96,48%	100,0%	99,76%	100,0%	98,70%	100,0%
400	0,8	90,16%	94,94%	98,48%	97,73%	98,25%	87,77%

Die Überlebensrate ist auf 100% normiert, d. h. dieser Wert entspricht der Zellviabilität von nicht elektroporierten Zellen, die aber sonst die gleiche Behandlung (in Reservoir pipettiert, wieder entnommen, gefärbt) erfahren haben. Als Referenz wurde die reale Zellviabilität bei  $U = 0 \text{ V}$  aus Anhang E.1 verwendet, die Werte bei  $U = 100 \text{ V}$  ( $d = 2 \text{ cm}$ ) wurden ebenfalls aus dieser Messreihe übernommen.

Die weiteren nicht-normierten, ausgezählten Werte sind:

U [V]	d [cm]	Zellviabilität direkt			Zellviabilität 2h		
		BxPc3	Panc1	MiaPaCa2	BxPc3	Panc1	MiaPaCa2
0	0,2	73,54%	87,29%	59,32%	71,69%	90,59%	58,35%
100	0,2	67,93%	88,20%	55,56%	72,83%	88,84%	60,92%
200	0,4	70,07%	83,91%	76,72%	64,15%	85,76%	77,25%
300	0,6	67,90%	84,18%	54,26%	64,26%	85,69%	57,92%
400	0,8	65,26%	84,70%	53,46%	60,02%	82,96%	65,09%

## **E Protokoll zur Produktion von Agarose Gel in Kap. 3.3.3**

Protokoll und Abbildungen entnommen aus [Kol15].

1. Put the medium bottle in a water bath and heat up to 40 °C.
2. Weigh the agarose powder (A8963, AppliChem GmbH, Darmstadt) and fill up the volume with ultrapure water that is needed for the gels and heat this mixture in a microwave until the powder is completely solved in the water. Put this mixture under the hood and check the temperature until the mixture reaches 40 °C.
3. The agarose mixture is cooling down and when it reaches approximately 45 °C start to mix the medium (also heated up to 40 °C with the required volume of cells).
4. When the agarose mixture reaches 40 °C (higher temperatures would kill the cells) mix it with the cell-medium mixture by transferring the agarose in the cell mixture. Be careful while doing this to avoid bubbles in the gel. Mix thoroughly until the gel starts to become thicker, then transfer the mixture quickly into the molds which are placed in a petri dish or a 6-well plate (Figure E.1).
5. Cover the petri dish or 6-well plate and give the gel 10 min. to solidify in the mold. Subsequently the mold can be removed carefully and the gel is ready to use.
6. Add Medium to the 3D gel until it is covered and floats in the petri dish or 6-well plate and then incubate until you need it.

The molds that were used are Polyetheretherketone (PEEK) rings, with a radius of 10 cm and a height of 2 cm (see E.1).

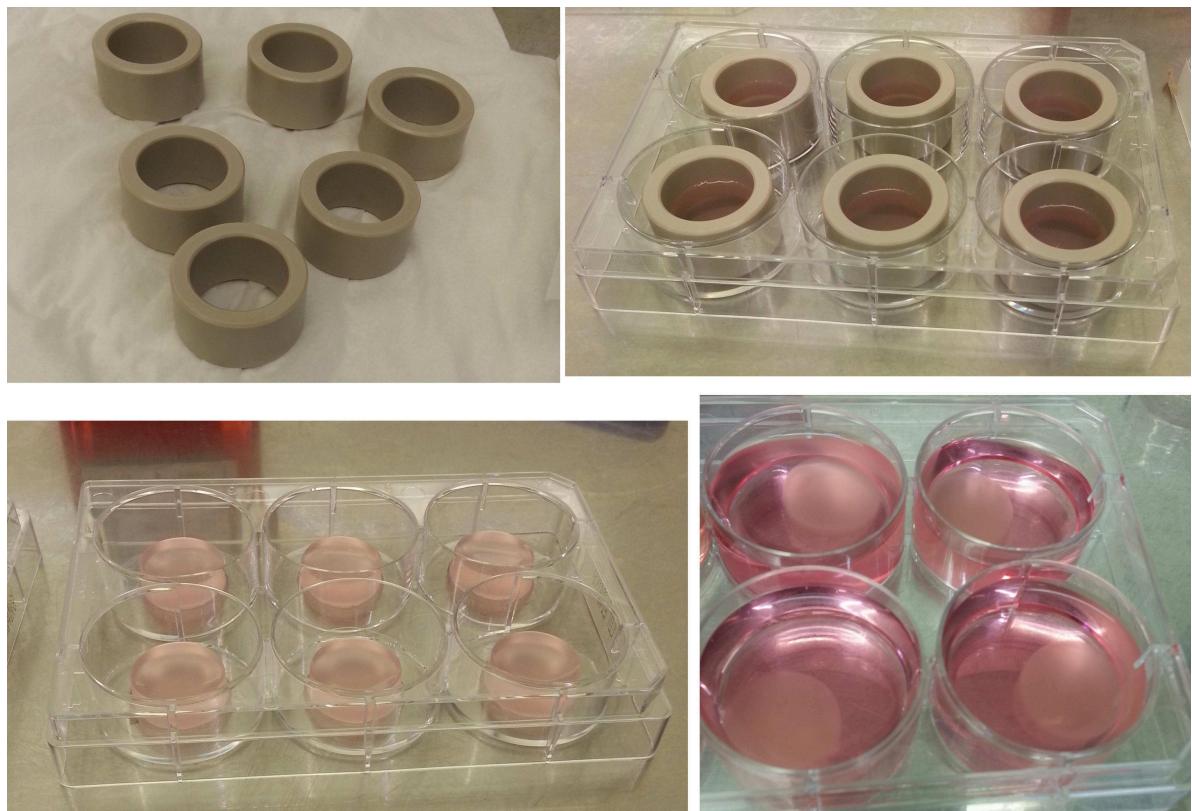


Figure E.1: *In vitro tumor production.* [Kol15]

## F Programmcode des Gütemodells in Kap. 5.2.3

Im Folgenden ist der vollständige C++ Programmcode gelistet, der verwendet wurde um mit dem entwickelten Gütemodell die Optimierung der iECT-Sonde durchzuführen (vgl. Kap. 5.2.3). Neben der Güte (Zahlenwert  $0 \leq G \leq 100$ ) wird die Anzahl der Datenpunkte in den fünf Volumina bestimmt, die für die Berechnung der Güte relevant sind. Dabei wird die Güte sowohl ohne als auch mit Variation der Potentiale berechnet (vgl. Kap. 5.1.3).

Um nur den halben Bereich zu betrachten (d.h. die Halbkugel, auf der der Einstich der Elektroden in den Tumor erfolgt), dürfen die Daten aus COMSOL nur bis zur Hälfte des Tumors (d.h. bis zur z-Position `zpos` des Tumormittelpunkts) exportiert werden oder der Programmcode muss so modifiziert werden, dass in den `if`-Abfragen die Zusatzbedingung  $z \leq zpos$  eingebaut wird.

```
1  #include <time.h>
2  #include <fstream>
3  #include <iostream>
4  #include <string>
5  #include <cstdlib>
6  using namespace std;
7  /*********************************************************************
8  int main(void)
9  {
10 // DEFINITION DER PARAMETER
11     double r1 = 20;      // Radius des massiven Tumors [mm]
12     double r2 = 25;      // Radius des Tumors inklusive Randbereich [mm]
13     double r_el = 2.5;   // Radius der Zentralelektrode [mm]
14     double L = 37.5;    // LÄNGE DER ZENTRALELEKTRODE ANGEBEN [mm]
15     double zpos = 18;    // Z-POSITION DES TUMORMITTELPUNKTS ANGEBEN [mm]
16
17     double toleranz = 0.05;      /* Anteil des Randbereichs,
18                                * der unpoliert bleiben darf
19                                * (vgl. Variable p in Abschnitt 4.1:
20                                * "Einführung von Gütekriterien") */
21     double E0 = 50;             /* Innerhalb der leitfähigen Elektroden
22                                * ergibt sich ein E-Feld von
23                                *  $E < E0$  [V/m]
24                                * (s. Abschnitt 4.3 "Berechnung der Güte
25                                * aus den Simulationsergebnissen") */
26     double Erev = 36200;        /* Schwellenwert für reversible
27                                * Elektroporation [V/m] */
28     double Eirrev = 63700;      /* Schwellenwert für irreversible
29                                * Elektroporation [V/m] */
```

```

30     double Efehler_rev = 1810;
31     double Efehler_irrev = 3185; /* Fehler von 5 % auf die
32     * Schwellenwerte [V/m]
33     * (s. Kap. 6 "Fehlerrechnung") */
34     double Erev_speicher = Erev;
35     double Eirrev_speicher = Eirrev;
36 /*****
37 ****
38 // EINLESEN DER AUS COMSOL EXPORTIERTEN DATEN
39 /* Die Daten liegen als Tabelle mit 4 Spalten vor,
40 * in der die x,y,z-Koordinaten [mm] sowie die
41 * zugehörigen elektrischen Felstärken [V/m]
42 * gespeichert sind */
43
44     const int zeilenAnzahl = 145119; // ZEILENANZAHL ANGEBEN
45     const int spaltenAnzahl = 4;
46
47     string dateiname ("Datei.txt"); // DATEINAME ANGEBEN
48     cout << "Datei: " << dateiname << endl;
49
50     ifstream in;
51     in.open(dateiname.c_str(), ifstream::in);
52     if (!in)
53     {   cerr << "Datei konnte nicht geoeffnet werden";
54         std::exit(1);
55     }
56 /*****
57 // SPEICHERPLATZ SCHAFFEN
58     double **daten;
59     daten = new double *[zeilenAnzahl];
60
61     // Fehlermeldung, falls es nicht klappt
62     if (daten == NULL)
63     {   cout << endl << "kein Speicherplatz geschaffen" << endl;
64         return 1;
65     }
66     for (int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
67     {   daten[i] = new double[spaltenAnzahl];
68
69         // Fehlermeldung, falls es nicht klappt
70         if (daten[i] == NULL)
71         {   cout << endl << "kein Speicherplatz geschaffen" << endl;
72             cout << "Aufraeumen...";
73             for (int x=0; x<i; x++)
74             {
75                 delete [] daten[x];
76             }
77             delete [] daten;
78             cout << "fertig." << endl;
79             return 1;
80         }
81     }
82
83     // Erfolgsmeldung (array ist angelegt)
84     cout << "Speicherplatz geschaffen" << endl;
85
86 ****

```

---

```

87         // Werte in 2-dimensionales Array packen
88
89         cout << "Einlesen gestartet..." << endl;
90
91         double zahl=0;
92
93         for(int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
94         {   for(int j=0; j<spaltenAnzahl; j++)
95             {
96                 in >> zahl;
97                 daten[i][j] = zahl;
98             }
99         }
100
101         in.close();
102         cout << "Einlesen (erfolgreich) beendet." << endl;
103         // EINLESEN ABGESCHLOSSEN
104
105         // Alle Daten befinden sich jetzt im 2-dimensionalen Array "daten"
106         // Aufruf der Daten durch daten[Zeilennummer][Spaltennummer].
107         // (Achtung: Index beginnt jeweils bei 0)
108         double* x = new double[zeilenAnzahl];
109         double* y = new double[zeilenAnzahl];
110         double* z = new double[zeilenAnzahl];
111         double* E = new double[zeilenAnzahl];
112
113         for(int j=0;j<zeilenAnzahl;j++)
114         {   x[j]=daten[j][0];
115             y[j]=daten[j][1];
116             z[j]=daten[j][2]-zpos; // z-Werte um Tumorposition verschieben
117             E[j]=daten[j][3];
118         }
119         /*************************************************************************/
120         /************************************************************************
121         // BERECHNUNG VON N_T UND N_R
122         /* N_T: Anzahl der Datenpunkte innerhalb des massiven Tumors (r <= r1)
123         * N_R: Anzahl der Datenpunkte innerhalb des Randbereichs (r1 < r <= r2) */
124
125         double massiverTumor = 0; // N_T
126         double Randbereich = 0; // N_R
127
128         for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
129         {
130             if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j] <= r1*r1) // r <= r1
131             {   massiverTumor++;
132             }
133         }
134
135         for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
136         {
137             if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j] <= r2*r2
138                 && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j] > r1*r1) // r1 < r <= r2
139             {   Randbereich++;
140             }
141         }
142
143         cout << " Datenpunkte im massiven Tumor: " << massiverTumor << endl;

```

```

144     cout << " Datenpunkte im Randbereich: " << Randbereich << endl;
145
146
147 //***** ****
148
149 // BERECHNUNG DER GUETE - OHNE UMPOLUNG DER ELEKTRODEN
150 cout << "OHNE UMPOLUNG" << endl;
151
152 /* Berechnung der Anzahl Datenpunkte, die innerhalb der fünf
153 * Bereiche liegen, die für die Berechnung der Güte relevant sind
154 * (vgl. Abschnitt 4.2: "Berechnung der Güte"):
155 * (1) N_T,unp:      massiver Tumor, unporiert
156 * (2) N_R,unp:      Randbereich, unporiert
157 * (3) N_R,irrev:   Randbereich, irreversibel elektroporiert
158 * (4) N_G,irrev:   gesundes Gewebe, irreversibel elektroporiert
159 * (5) N_G,rev:    gesundes Gewebe, reversibel elektroporiert */
160
161 double unporiertMassiv;      // Bereich (1)
162 double unporiertRand;        // Bereich (2)
163 double irreversibelRand;    // Bereich (3)
164 double irreversibelGesund;  // Bereich (4)
165 double reversibelGesund;    // Bereich (5)
166 double guete;
167
168
169 /* Bei Bereich (1) und (2) wird das Volumen der Zentralelektrode
170 * (r = r_el) und das der leitfähigen Satellitenelektroden
171 * nicht berücksichtigt (E > E0), da das Gewebe von den
172 * Elektroden verdrängt wird:
173 * (z[j]<(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]>r_el*r_el) */
174
175 for(int i=0; i<3; i++)
176 {
177 // Fallunterscheidung zur Fehlerrechnung:
178 /* Um den Fehler auf die Feldstärken zu berücksichtigen,
179 * der durch die numerische Berechnung mit COMSOL entsteht,
180 * werden die Schwellenwerte Erev und Eirrev um +/- 5 %
181 * nach oben (+ FEHLER) und nach unten (- FEHLER) verschoben
182 * und die Güte jeweils mit und ohne Fehler berechnet
183 * (s. Abschnitt 5.5: "Bestimmung des Fehlers auf die Güte") */
184 if(i==0)
185 {
186     Erev = Erev_speicher; Eirrev = Eirrev_speicher;
187     cout << "(OHNE FEHLER)" << endl;
188 }
189 if(i==1)
190 {
191     Erev = Erev_speicher + Efehler_rev; Eirrev = Eirrev_speicher +
192     Efehler_irrev;
193     cout << "(+ FEHLER)" << endl;
194 }
195 if(i==2)
196 {
197     Erev = Erev_speicher - Efehler_rev; Eirrev = Eirrev_speicher -
198     Efehler_irrev;
199     cout << "(- FEHLER)" << endl;
200 }
201
202 unporiertMassiv = 0;
203 unporiertRand = 0;

```

---

```

199     irreversibelRand = 0;
200     irreversibelGesund = 0;
201     reversibelGesund = 0;
202
203     // Bereich (1):  $r \leq r_1$ ,  $E < E_{rev}$  (ohne Berücksichtigung der Elektroden)
204     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
205     {
206         if(z[j]<(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r1*r1
207             && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]>r_el*r_el
208             && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
209         {
210             unporiertMassiv++;
211         }
212         if(z[j]>(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r1*r1
213             && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
214         {
215             unporiertMassiv++;
216         }
217     }
218
219     // Bereich (2):  $r_1 < r \leq r_2$ ,  $E < E_{rev}$  (ohne Berücksichtigung der Elektroden)
220     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
221     {
222         if(z[j]<(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
223             && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
224             && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]>r_el*r_el && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
225         {
226             unporiertRand++;
227         }
228         if(z[j]>(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
229             && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
230             && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
231         {
232             unporiertRand++;
233         }
234     }
235     // Bereich (3):  $r_1 < r \leq r_2$ ,  $E \geq E_{irrev}$ 
236     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
237     {
238         if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
239             && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
240             && E[j]>=Eirrev)
241         {
242             irreversibelRand++;
243         }
244     }
245     // Bereich (4):  $r > r_2$ ,  $E \geq E_{irrev}$ 
246     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
247     {
248         if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r2*r2
249             && E[j]>=Eirrev)
250         {
251             irreversibelGesund++;
252         }
253     }
254
255     // Bereich (5):  $r > r_2$ ,  $E_{rev} \leq E < E_{irrev}$ 

```

```

256     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
257     {
258         if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r2*r2
259             && Erev<=E[j] && E[j]<Eirrev)
260         {
261             reversibelGesund++;
262         }
263     }
264
265 // BERECHNUNG DER GÜTE
266 /* unter Verwendung von Gleichung (4.1)
267 /* (s. Abschnitt 4.2: "Definition der Güte") */
268
269 if(unporiertMassiv != 0 || (unporiertRand/Randbereich) > toleranz)
270 /* Falls der massive Tumor nicht vollständig elektroporiert wird
271 * bzw. mehr als der vorgegebene Anteil des Randbereichs unporiert
272 * bleibt, setze Güte auf null */
273 {
274     guete = 0;
275 }
276 else
277 {
278     guete = 100 - (1/Randbereich)*(100*unporiertRand + irreversibelRand)
279         - (1/(Randbereich+massiverTumor))
280             *(25*irreversibelGesund + 10*reversibelGesund);
281 }
282
283 // Ausgabe der Ergebnisse (absolute und relative Werte)
284 cout << " (1) (massiver Tumor, unporiert): " << unporiertMassiv
285 << " (" << (unporiertMassiv/massiverTumor)*100 << " %)"
286 << "\n (2) (Randbereich, unporiert): " << unporiertRand
287 << " (" << (unporiertRand/Randbereich)*100 << " %)"
288 << "\n (3) (Randbereich, irreversibel): " << irreversibelRand
289 << " (" << (irreversibelRand/Randbereich)*100 << " %)"
290 << "\n (4) (gesundes Gewebe, irreversibel): " << irreversibelGesund
291 << " (" << (irreversibelGesund/(Randbereich+massiverTumor))*100 << " %)"
292 << "\n (5) (gesundes Gewebe, reversibel): " << reversibelGesund
293 << " (" << (reversibelGesund/(Randbereich+massiverTumor))*100 << " %)"
294 << endl;
295
296 cout << "Die Güte beträgt: " << guete << endl;
297
298 }
299
300
301 //*****
302
303 // MIT UMPOLUNG DER ELEKTRODEN
304 cout << "MIT UMPOLUNG" << endl;
305
306 // BESTIMMUNG DER MAXIMALEN FELDSTÄRKE aus vierfach gedrehtem Datensatz:
307 /* Um die Umpolung der Elektroden bei der Berechnung der Güte zu
308 * berücksichtigen, wird für jeden Datenpunkt (x,y,z,E) die maximale
309 * Feldstärke ermittelt, welche sich bei Umpolung der Elektroden
310 * (viermalige Drehung des Datensatzes um 90°) ergibt
311 * (s. Abschnitt 4.3: "Berechnung der Güte aus den
312 * Simulationsergebnissen") */

```

---

```

313
314     double X;
315     double Y;
316     double Z;
317     double Emax;
318
319     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
320     {
321         X = -y[j];           // 1 x Drehung der Koordinaten um 90
322         Y = x[j];
323         Z = z[j];
324         Emax = E[j];
325
326         for(int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
327         {
328             if(x[i]==X && y[i]==Y && z[i]==Z && E[i]>Emax)
329             {
330                 Emax = E[i];
331                 break;
332             }
333         }
334         E[j] = Emax;
335     }
336
337     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
338     {
339         X = -x[j];           // 2 x Drehung der Koordinaten um 90
340         Y = -y[j];
341         Z = z[j];
342         Emax = E[j];
343
344         for(int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
345         {
346             if(x[i]==X && y[i]==Y && z[i]==Z && E[i]>Emax)
347             {
348                 Emax = E[i];
349                 break;
350             }
351         }
352
353         E[j] = Emax;
354     }
355
356     for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
357     {
358         X = y[j];           // 3 x Drehung der Koordinaten um 90
359         Y = -x[j];
360         Z = z[j];
361         Emax = E[j];
362
363         for(int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
364         {
365             if(x[i]==X && y[i]==Y && z[i]==Z && E[i]>Emax)
366             {
367                 Emax = E[i];
368                 break;
369             }

```

```

370     }
371
372     E[j] = Emax;
373 }
374
375
376 cout << "Maximale E-Feldstaerke am Punkt E[0]: " << E[0] << endl;
377 cout << "Maximale E-Feldstaerke am Punkt E[1]: " << E[1] << endl;
378
379 //*****//
380 // BERECHNUNG DER GÜTE - MIT UMPOLUNG DER ELEKTRODEN
381 /* Die Berechnung erfolgt wie im Abschnitt "OHNE UMPOLUNG" beschrieben,
382 * wobei alle Variablen mit dem Zusatz "Umgepolt" gekennzeichnet werden */
383
384 double unporiertMassivUmgepolt;
385 double unporiertRandUmgepolt;
386 double irreversibelRandUmgepolt;
387 double irreversibelGesundUmgepolt;
388 double reversibelGesundUmgepolt;
389
390 for(int i=0; i<3; i++)
391 {
392
393 // Fallunterscheidung zur Fehlerrechnung
394 if(i==0)
395 {
396     Erev = Erev_speicher; Eirrev = Eirrev_speicher;
397     cout << "(OHNE FEHLER)" << endl;
398 }
399 if(i==1)
400 {
401     Erev = Erev_speicher + Efehler_rev; Eirrev = Eirrev_speicher +
402         Efehler_irrev;
403     cout << "(+ FEHLER)" << endl;
404 }
405 if(i==2)
406 {
407     Erev = Erev_speicher - Efehler_rev; Eirrev = Eirrev_speicher -
408         Efehler_irrev;
409     cout << "(- FEHLER)" << endl;
410 }
411
412 unporiertMassivUmgepolt = 0;
413 unporiertRandUmgepolt = 0;
414 irreversibelRandUmgepolt = 0;
415 irreversibelGesundUmgepolt = 0;
416 reversibelGesundUmgepolt = 0;
417
418 for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
419 {
420     if(z[j]<(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r1*r1
421         && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]>r_el*r_el
422         && E[j]>EO && E[j]<Erev)
423     {
424         unporiertMassivUmgepolt++;
425     }
426     if(z[j]>(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r1*r1

```

---

```

425         && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
426     {
427         unporiertMassivUmgepolt++;
428     }
429 }
430
431 for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
432 {
433     if(z[j]<(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
434         && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
435         && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]>r_el*r_el
436         && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
437     {
438         unporiertRandUmgepolt++;
439     }
440     if(z[j]>(L-zpos) && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
441         && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
442         && E[j]>E0 && E[j]<Erev)
443     {
444         unporiertRandUmgepolt++;
445     }
446 }
447
448 for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
449 {
450     if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]<=r2*r2
451         && x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r1*r1
452         && E[j]>=Eirrev)
453     {
454         irreversibelRandUmgepolt++;
455     }
456 }
457
458 for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
459 {
460     if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r2*r2
461         && E[j]>=Eirrev)
462     {
463         irreversibelGesundUmgepolt++;
464     }
465 }
466
467 for(int j=0; j<zeilenAnzahl; j++)
468 {
469     if(x[j]*x[j]+y[j]*y[j]+z[j]*z[j]>r2*r2
470         && Erev<=E[j] && E[j]<Eirrev)
471     {
472         reversibelGesundUmgepolt++;
473     }
474 }
475
476 // Berechnung der Güte
477 double gueteUmgepolt;
478 if(unporiertMassivUmgepolt!=0
479     || (unporiertRandUmgepolt/Randbereich)>toleranz)
480 {
481     gueteUmgepolt = 0;

```

```

482     }
483     else
484     {
485         gueteUmgepolt = 100 - (1/Randbereich)
486         *(100*unporiertRandUmgepolt + irreversibelRandUmgepolt)
487         - (1/(Randbereich+massiverTumor))
488         *(25*irreversibelGesundUmgepolt + 10*reversibelGesundUmgepolt);
489     }
490
491     // Ausgabe der Ergebnisse
492     cout << " (1) (massiver Tumor, unporiert): " << unporiertMassivUmgepolt
493     << " ("<<(unporiertMassivUmgepolt/massiverTumor)*100<< " %)"
494     << "\n (2) (Randbereich, unporiert): " <<unporiertRandUmgepolt
495     << " ("<<(unporiertRandUmgepolt/Randbereich)*100<< " %)"
496     << "\n (3) (Randbereich, irreversibel): " <<irreversibelRandUmgepolt
497     << " ("<<(irreversibelRandUmgepolt/Randbereich)*100<< " %)"
498     << "\n (4) (gesundes Gewebe, irreversibel): "
499     <<irreversibelGesundUmgepolt
500     << " ("<<(irreversibelGesundUmgepolt/(Randbereich+massiverTumor))*100<< " %)"
501     << "\n (5) (gesundes Gewebe, reversibel): " <<reversibelGesundUmgepolt
502     << " ("<<(reversibelGesundUmgepolt/(Randbereich+massiverTumor))*100<< " %)"
503     << endl;
504
505     cout << "Die Guete betraegt: " << gueteUmgepolt << endl;
506 }
507
508 //*****SPEICHERPLATZ WIEDER LÖSCHEN*****
509
510
511 cout << "Aufräumen... ";
512 for (int i=0; i<zeilenAnzahl; i++)
513 {
514     delete [] daten[i];
515 }
516 delete [] daten;
517 cout << "fertig." << endl;
518
519 //*****SPEICHERPLATZ WIEDER LÖSCHEN*****
520
521 return 0;
}

```

## G Zahlenwerte und Zwischenergebnisse der Sondenoptimierung in Kap. 5.2.3

Im Folgenden sind Zahlenwerte und Graphen, die bei der Variation der Modellparameter erstellt wurden (vgl. Kap. 5.2.3), zusammengefasst. Dabei sind sowohl Güte wie die für deren Berechnung relevante Anzahl an Datenpunkten in den fünf Volumina aufgelistet (mit/ohne Variation der Potentiale jeweils für die Halbkugel [= halb] und die ganze Kugel [= ganz]).

Neben den absoluten Zahlenwerten  $N$  werden in Klammern auch die relativen Werte  $N_{rel}$  in Prozent angegeben (Bezeichnungen vgl. Kap. 5.2.3 Modellbildung und Umsetzung). Dabei beträgt die Anzahl Datenpunkte innerhalb des Tumors  $V_T$  bzw. des innerhalb Randbereichs  $V_R$  für die Halbkugel  $N_T = 17.329$  und  $N_R = 16.285$  bzw. für die ganze Kugel  $N_T = 33.401$  und  $N_R = 31.866$ . Bei der Variation der Eindringtiefe ergeben sich bei halbzahligen  $\Delta z$  andere Werte (halber Bereich:  $N_T = 16.700$ ,  $N_R = 15.965$ ; ganzer Bereich:  $N_T = 33.400$ ,  $N_R = 31.930$ ). Mit Ausnahme der Variation der Spannung gilt für alle Simulationen  $\Phi_+ = 3.000 \text{ V}$ .

Die Bezeichnung der verschiedenen Polungen ist in Abbildung 5.2 gezeigt; die Geometrieparameter der Elektrodenkonfiguration werden in Abbildung 4.5 definiert.

### Verschiedene Polungstypen

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	5 614 (32,4 %)	6 779 (41,6 %)	5 392 (33,1 %)	2 637 (7,8 %)	6 411 (19,1 %)	0
	mit	0 0	60 (0,4 %)	14 445 (88,7 %)	10 071 (30,0 %)	20 101 (59,8 %)	85,27
ganz	ohne	13 938 (41,7 %)	20 073 (63,0 %)	6 001 (18,8 %)	2 691 (4,1 %)	7 025 (10,8 %)	0
	mit	584 (1,7 %)	8 900 (27,9 %)	16 268 (51,0 %)	10 207 (15,8 %)	22 549 (34,5 %)	0

Polung 1 (- - - +)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	164 (0,9 %)	1 047 (6,4 %)	10 132 (62,2 %)	2 513 (7,5 %)	9 147 (27,2 %)	0
	mit	0 0	192 (1,2 %)	13 244 (81,3 %)	5 136 (15,3 %)	14 296 (42,5 %)	89,93
ganz	ohne	2 637 (7,9 %)	10 543 (33,1 %)	11 779 (37,0 %)	2 601 (4,0 %)	10 752 (16,5 %)	0
	mit	64 (0,2 %)	6 676 (21,0 %)	15 521 (48,7 %)	5 272 (8,1 %)	16 755 (25,7 %)	0

Polung 2 (- + - + -)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	1 145 (6,6 %)	1 326 (8,1 %)	10 106 (62,1 %)	3 898 (11,6 %)	14 175 (42,2 %)	0
	mit	0 0	16 (0,1 %)	14 289 (87,7 %)	7 930 (23,6 %)	20 535 (61,1 %)	87,02
ganz	ohne	3 791 (11,4 %)	9 119 (28,6 %)	11 889 (37,3 %)	3 997 (6,1 %)	16 330 (25,0 %)	0
	mit	0 0	2 788 (8,7 %)	17 090 (53,6 %)	8 098 (12,4 %)	24 318 (37,3 %)	0

Polung 3 (- + + - -)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	82 (0,5 %)	786 (4,8 %)	10 929 (67,1 %)	2 400 (7,1 %)	12 900 (38,4 %)	0
	mit	0 0	72 (0,4 %)	13 377 (82,1 %)	3 715 (11,1 %)	15 493 (46,1 %)	91,36
ganz	ohne	302 (0,9 %)	3 850 (12,1 %)	14 163 (44,4 %)	2 900 (4,4 %)	17 382 (26,6 %)	0
	mit	0 0	1 056 (3,3 %)	17 278 (54,2 %)	4 293 (6,6 %)	21 277 (32,6 %)	91,24

Polung 4 (- + + + -)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	107 (0,6 %)	3 686 (22,6 %)	7 022 (43,1 %)	400 (1,2 %)	4 926 (14,7 %)	0
	mit	92 (0,5 %)	3 572 (21,9 %)	7 158 (44,0 %)	448 (1,3 %)	5 073 (15,1 %)	0
ganz	ohne	107 (0,3 %)	4 188 (13,1 %)	12 121 (38,0 %)	1 809 (2,8 %)	13 270 (20,3 %)	0
	mit	92 (0,3 %)	4 032 (12,7 %)	12 339 (38,7 %)	1 928 (3,0 %)	13 569 (20,8 %)	0

Polung 5 (- + + + +)

## Variation der Spannung

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	9 671 (55,8 %)	15 093 (92,7 %)	228 (1,4 %)	0	0	0
	mit	7 440 (42,9 %)	14 628 (89,8 %)	336 (2,1 %)	0	0	0
ganz	ohne	23 975 (71,8 %)	30 515 (95,8 %)	264 (0,8 %)	0	0	0
	mit	21 412 (64,1 %)	30 031 (94,2 %)	372 (1,2 %)	0	0	0

$\Phi_+ = 500 \text{ V}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	4 099 (23,7 %)	11 009 (67,6 %)	1 469 (9,0 %)	0	20 (0,1 %)	0
	mit	1 788 (10,3 %)	9 116 (56,0 %)	2 156 (13,2 %)	0	36 (0,1 %)	0
ganz	ohne	13 767 (41,2 %)	25 700 (80,7 %)	1 672 (5,2 %)	0	22 (0,0 %)	0
	mit	10 192 (30,5 %)	23 688 (74,3 %)	2 371 (7,4 %)	0	40 (0,1 %)	0

$\Phi_+ = 1\,000 \text{ V}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	1 714 (9,8 %)	6 612 (40,6 %)	3 781 (23,2 %)	7 (0,0 %)	1 157 (3,4 %)	0
	mit	296 (1,7 %)	4 124 (25,3 %)	5 329 (32,7 %)	12 (0,0 %)	1 978 (5,9 %)	0
ganz	ohne	6 795 (20,3 %)	19 830 (62,3 %)	4 383 (13,8 %)	7 (0,0 %)	1 432 (2,2 %)	0
	mit	3 480 (10,4 %)	16 900 (53,0 %)	6 001 (18,8 %)	12 (0,0 %)	2 308 (3,5 %)	0

$\Phi_+ = 1\,500 \text{ V}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	603 (3,5 %)	3 928 (24,1 %)	6 554 (40,2 %)	112 (0,3 %)	4 560 (13,6 %)	0
	mit	16 (0,1 %)	1 616 (9,9 %)	8 728 (53,6 %)	192 (0,6 %)	6 476 (19,3 %)	0
ganz	ohne	2 565 (7,7 %)	14 519 (45,6 %)	7 769 (24,4 %)	159 (0,2 %)	5 533 (8,5 %)	0
	mit	304 (0,9 %)	10 932 (34,3 %)	10 101 (31,7 %)	248 (0,4 %)	7 627 (11,7 %)	0

$\Phi_+ = 2\,000 \text{ V}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	191 (1,1 %)	2 076 (12,7 %)	9 068 (55,7 %)	749 (2,2 %)	8 720 (25,9 %)	0
	mit	0 0	452 (2,8 %)	11 517 (70,7 %)	1 273 (3,8 %)	11 277 (33,5 %)	92,22
ganz	ohne	948 (2,8 %)	8 685 (27,3 %)	11 135 (34,9 %)	932 (1,4 %)	10 978 (16,8 %)	0
	mit	0 0	4 876 (15,3 %)	13 954 (43,8 %)	1 479 (2,3 %)	14 028 (21,5 %)	0

$\Phi_+ = 2500 \text{ V}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	82 (0,5 %)	786 (4,8 %)	10 929 (67,1 %)	2 400 (7,1 %)	12 900 (38,4 %)	0
	mit	0 0	72 (0,4 %)	13 377 (82,1 %)	3 715 (11,1 %)	15 493 (46,1 %)	91,36
ganz	ohne	302 (0,9 %)	3 850 (12,1 %)	14 163 (44,4 %)	2 900 (4,4 %)	17 382 (26,6 %)	0
	mit	0 0	1 056 (3,3 %)	17 278 (54,2 %)	4 293 (6,6 %)	21 277 (32,6 %)	91,24

$\Phi_+ = 3000 \text{ V}$

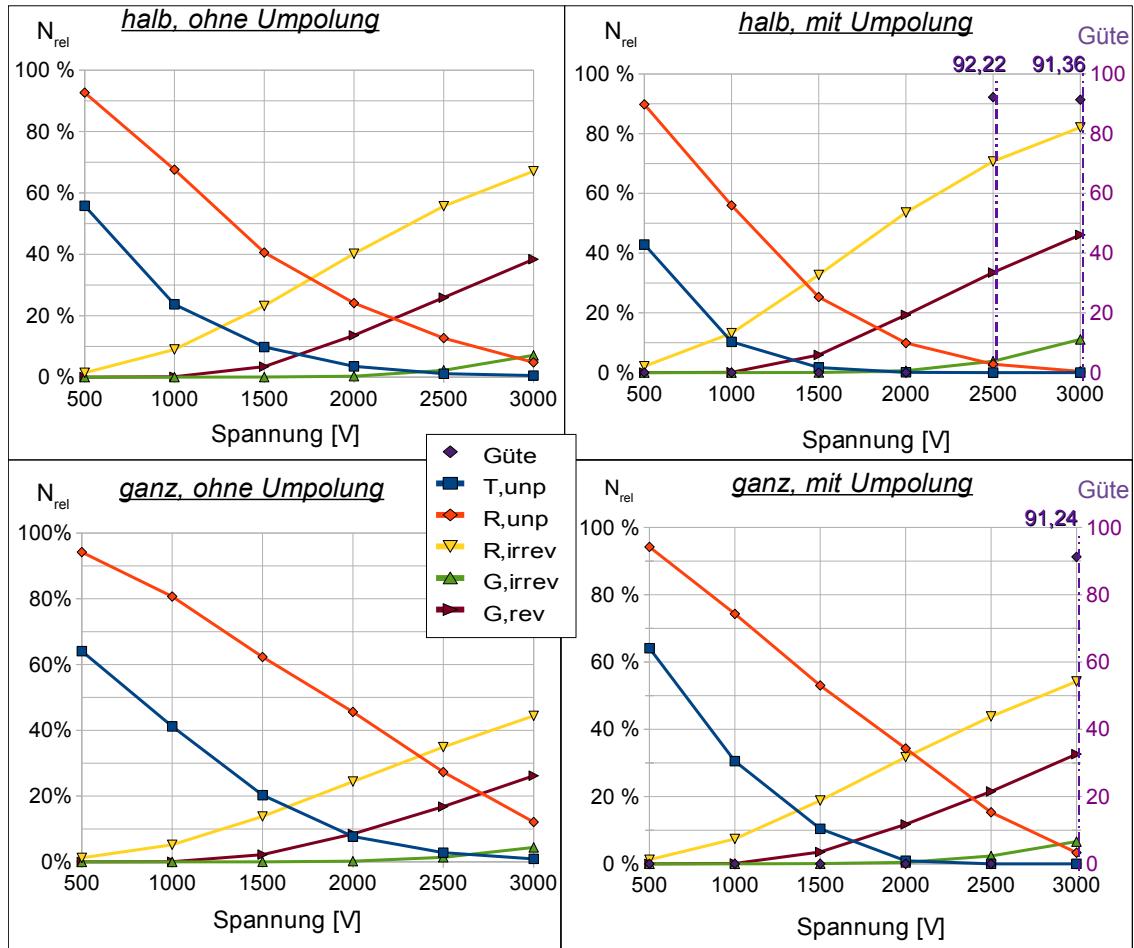


Abbildung G.1: Variation der Spannung; Güten ungleich null sind in lila angegeben.

## Variation der Eindringtiefe der ges. Elektrodenkonfiguration

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	644 (3,7 %)	5 264 (32,3 %)	2 544 (15,6 %)	87 (0,3 %)	2 311 (6,9 %)	0
	mit	0	3 056	3 553	140	3 092	0
ganz	ohne	646 (1,9 %)	5 720 (18,0 %)	11 152 (35,0 %)	4 944 (7,6 %)	16 950 (26,0 %)	0
	mit	0	3 056	14 297 (44,9 %)	5 884 (9,0 %)	21 156 (32,4 %)	0

Eindringtiefe:  $\Delta z = +8 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	522 (3,0 %)	3 814 (23,4 %)	3 506 (21,5 %)	155 (0,5 %)	2 997 (8,9 %)	0
	mit	0 0	1 608 (9,9 %)	4 870 (29,9 %)	240 (0,7 %)	3 949 (11,7 %)	0
ganz	ohne	526 (1,6 %)	4 378 (13,8 %)	11 480 (36,0 %)	4 286 (6,6 %)	16 407 (25,1 %)	0
	mit	0 0	1 612 (5,1 %)	14 846 (46,6 %)	5 096 (7,8 %)	20 629 (31,6 %)	0

Eindringtiefe:  $\Delta z = +7 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	441 (2,5 %)	2 513 (15,4 %)	4 743 (29,1 %)	229 (0,7 %)	3 885 (11,6 %)	0
	mit	0 0	456 (2,8 %)	6 535 (40,1 %)	360 (1,1 %)	5 134 (15,3 %)	95,00
ganz	ohne	447 (1,3 %)	3 263 (10,2 %)	12 052 (37,8 %)	3 690 (5,7 %)	16 029 (24,5 %)	0
	mit	0 0	488 (1,5 %)	15 707 (49,3 %)	4 428 (6,8 %)	20 382 (31,2 %)	93,16

Eindringtiefe:  $\Delta z = +6 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	365 (2,1 %)	1 653 (10,1 %)	6 021 (37,0 %)	330 (1,0 %)	5 232 (15,6 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 196 (50,3 %)	520 (1,5 %)	7 035 (20,9 %)	96,99
ganz	ohne	382 (1,1 %)	2 615 (8,2 %)	12 630 (39,6 %)	3 178 (4,9 %)	16 071 (24,6 %)	0
	mit	0 0	76 (0,2 %)	16 473 (51,7 %)	3 831 (5,9 %)	20 751 (31,8 %)	94,60

Eindringtiefe:  $\Delta z = +5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	325 (1,9 %)	1 380 (8,6 %)	6 477 (40,6 %)	348 (1,1 %)	5 890 (18,0 %)	0
	mit	0 0	0 (55,2 %)	8 805 (1,7 %)	544 (24,5 %)	8 004 (24,5 %)	96,58
ganz	ohne	354 (1,1 %)	2 474 (7,7 %)	12 941 (40,5 %)	2 905 (4,4 %)	16 217 (24,8 %)	0
	mit	0 0	120 (0,4 %)	1 6898 (52,9 %)	3 547 (5,4 %)	21 132 (32,3 %)	94,50

Eindringtiefe:  $\Delta z = +4,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	262 (1,6 %)	1 058 (6,6 %)	7 788 (48,8 %)	494 (1,5 %)	7 680 (23,5 %)	0
	mit	0 0	0 (65,0 %)	10 377 (2,3 %)	757 (31,2 %)	10 184 (33,2 %)	95,65
ganz	ohne	306 (0,9 %)	2 452 (7,7 %)	13 515 (42,3 %)	2 480 (3,8 %)	16 612 (25,4 %)	0
	mit	0 0	208 (0,7 %)	17 575 (55,0 %)	3 059 (4,7 %)	21 688 (33,2 %)	94,26

Eindringtiefe:  $\Delta z = +3,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	237 (1,4 %)	991 (6,0 %)	8 565 (52,6 %)	640 (1,9 %)	8 778 (26,1 %)	0
	mit	0 0	8 (0,0 %)	11 301 (69,4 %)	961 (2,9 %)	11 496 (34,2 %)	95,12
ganz	ohne	294 (0,9 %)	2 521 (7,9 %)	13 728 (43,0 %)	2 356 (3,6 %)	16 897 (25,9 %)	0
	mit	0 0	244 (0,8 %)	17 748 (55,7 %)	2 930 (4,5 %)	22 020 (33,7 %)	94,15

Eindringtiefe:  $\Delta z = +3 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	170 (1,0 %)	860 (5,3 %)	9 731 (59,8 %)	857 (2,5 %)	10 599 (31,5 %)	0
	mit	0 0	20 (0,1 %)	12 541 (77,0 %)	1 358 (4,0 %)	13 412 (39,9 %)	94,11
ganz	ohne	262 (0,8 %)	2 780 (8,7 %)	14 176 (44,5 %)	2 086 (3,2 %)	17 409 (26,7 %)	0
	mit	0 0	412 (1,3 %)	18 081 (56,8 %)	2 758 (4,2 %)	22 276 (34,1 %)	93,67

Eindringtiefe:  $\Delta z = +2 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	82 (0,5 %)	786 (4,8 %)	10 929 (67,1 %)	2 400 (7,1 %)	12 900 (38,4 %)	0
	mit	0 0	72 (0,4 %)	13 377 (82,1 %)	3 715 (11,1 %)	15 493 (46,1 %)	91,36
ganz	ohne	302 (0,9 %)	3 850 (12,1 %)	14 163 (44,4 %)	2 900 (4,4 %)	17 382 (26,6 %)	0
	mit	0 0	1 056 (3,3 %)	17 278 (54,2 %)	4 293 (6,6 %)	21 277 (32,6 %)	91,24

Eindringtiefe:  $\Delta z = 0 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	43 (0,2 %)	817 (5,0 %)	1 0993 (67,5 %)	3 471 (10,3 %)	13 712 (40,8 %)	0
	mit	0 0	96 (0,6 %)	13 377 (82,1 %)	5196 (15,5 %)	16 117 (47,9 %)	89,93
ganz	ohne	357 (1,1 %)	4 670 (14,7 %)	13 667 (42,9 %)	3 705 (5,7 %)	17 189 (26,3 %)	0
	mit	0 0	1 632 (5,1 %)	16 562 (52,0 %)	5 473 (8,4 %)	20 561 (31,5 %)	0

Eindringtiefe:  $\Delta z = -1 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	11 (0,1 %)	984 (6,0 %)	10 753 (66,0 %)	5 760 (17,1 %)	14 712 (43,8 %)	0
	mit	0 0	216 (1,3 %)	12 937 (79,4 %)	8 122 (24,2 %)	16 837 (50,1 %)	86,85
ganz	ohne	564 (1,7 %)	6 867 (21,6 %)	12 286 (38,6 %)	5 760 (8,8 %)	16 357 (25,1 %)	0
	mit	0 0	3 648 (11,5 %)	14 717 (46,2 %)	8 122 (12,4 %)	18 936 (29,0 %)	0

Eindringtiefe:  $\Delta z = -2 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	55 (0,3 %)	1 125 (6,9 %)	10 456 (64,2 %)	6 910 (20,6 %)	15 016 (44,7 %)	0
	mit	0 0	304 (1,9 %)	12 475 (76,6 %)	9 463 (28,2 %)	17 141 (51,0 %)	85,23
ganz	ohne	704 (2,1 %)	8 233 (25,9 %)	11 453 (35,9 %)	6 910 (10,6 %)	15 921 (24,4 %)	0
	mit	0 0	5 052 (15,9 %)	13 610 (42,7 %)	9 463 (14,5 %)	18 283 (28,0 %)	0

Eindringtiefe:  $\Delta z = -3 \text{ mm}$

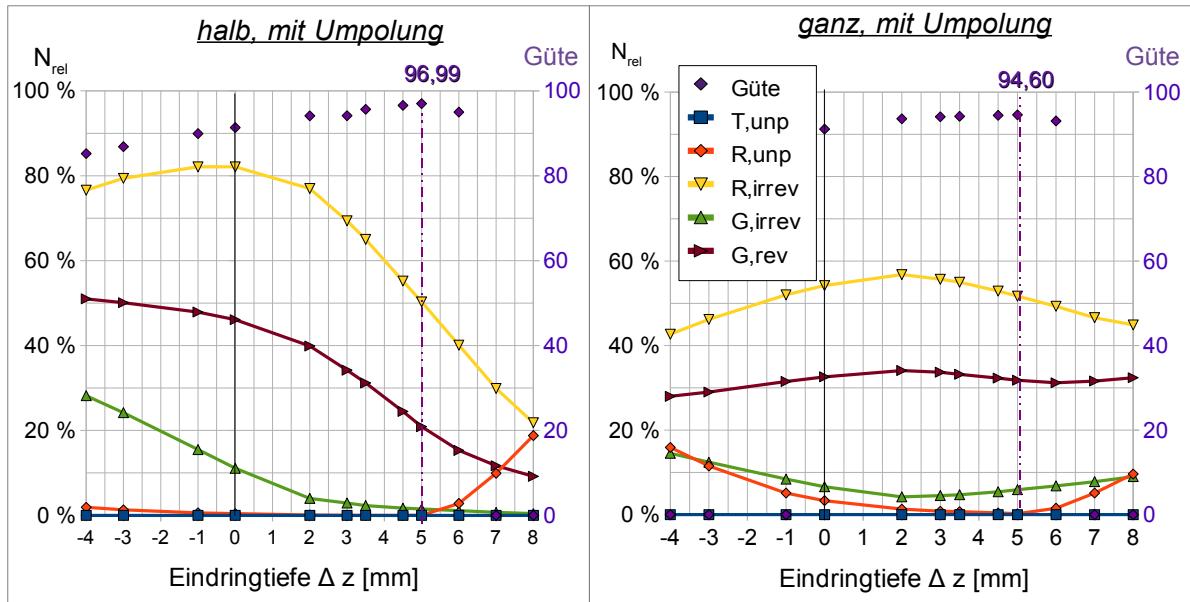


Abbildung G.2: Variation der Eindringtiefe  $\Delta z$ ; maximale Güte jeweils in lila angegeben.

## Variation der Elektrodengeometrie

### Variation von $L_1$ (Länge der leitfähigen Zentralelektrode)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	600 (3,5 %)	2 739 (16,8 %)	5 695 (35,0 %)	226 (0,7 %)	4 553 (13,5 %)	0
	mit	0	8	8 028 (49,3 %)	300 (0,9 %)	7 271 (21,6 %)	97,07
ganz	ohne	600 (1,8 %)	4 603 (14,4 %)	10 091 (31,7 %)	427 (0,7 %)	8 691 (13,3 %)	0
	mit	0	776 (2,4 %)	13 393 (42,0 %)	564 (0,9 %)	12 394 (19,0 %)	95,03

$L_1 = 28,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	561 (3,2 %)	2 624 (16,1 %)	5 712 (35,1 %)	236 (0,7 %)	4 594 (13,7 %)	0
	mit	0	8	7 972 (49,0 %)	324 (1,0 %)	7 091 (21,1 %)	97,11
ganz	ohne	561 (1,7 %)	4 216 (13,2 %)	10 617 (33,3 %)	515 (0,8 %)	9 555 (14,6 %)	0
	mit	0	600 (1,9 %)	13 933 (43,7 %)	696 (1,1 %)	13 243 (20,3 %)	95,38

$L_1 = 29,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	544 (3,1 %)	2495 (15,3 %)	5751 (35,3 %)	238 (0,7 %)	4662 (13,9 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	7964 (48,9 %)	332 (1,0 %)	7007 (20,8 %)	97,25
ganz	ohne	544 (1,6 %)	3913 (12,3 %)	11054 (34,7 %)	722 (1,1 %)	10436 (16,0 %)	0
	mit	0 0	440 (1,4 %)	14421 (45,3 %)	969 (1,5 %)	14231 (21,8 %)	95,62

$L_1 = 30,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	507 (2,9 %)	2356 (14,5 %)	5800 (35,6 %)	254 (0,8 %)	4761 (14,2 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	7940 (48,8 %)	372 (1,1 %)	6947 (20,7 %)	97,14
ganz	ohne	507 (1,5 %)	3633 (11,4 %)	11444 (35,9 %)	998 (1,5 %)	11341 (17,4 %)	0
	mit	0 0	332 (1,0 %)	14845 (46,6 %)	1322 (2,0 %)	15103 (23,1 %)	95,67

$L_1 = 31,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	480 (2,8 %)	2247 (13,8 %)	5838 (35,8 %)	265 (0,8 %)	4819 (14,3 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	7992 (49,1 %)	376 (1,1 %)	6931 (20,6 %)	97,14
ganz	ohne	480 (1,4 %)	3421 (10,7 %)	11734 (36,8 %)	1291 (2,0 %)	12070 (18,5 %)	0
	mit	0 0	280 (0,9 %)	15165 (47,6 %)	1627 (2,5 %)	16027 (24,6 %)	95,57

$L_1 = 32,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	470 (2,7 %)	2143 (13,2 %)	5883 (36,1 %)	281 (0,8 %)	4861 (14,5 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8048 (49,4 %)	412 (1,2 %)	6831 (20,3 %)	97,14
ganz	ohne	470 (1,4 %)	3237 (10,2 %)	11968 (37,6 %)	1576 (2,4 %)	12765 (19,6 %)	0
	mit	0 0	220 (0,7 %)	15509 (48,7 %)	1988 (3,0 %)	16790 (25,7 %)	95,49

$L_1 = 33,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	425 (2,5 %)	1 996 (12,3 %)	5 921 (36,4 %)	286 (0,9 %)	4 986 (14,8 %)	0
	mit	0 0	0 (49,5 %)	8 060 (1,3 %)	428 (20,6 %)	6 911	97,13
ganz	ohne	425 (1,3 %)	3047 (9,6 %)	12 179 (38,2 %)	1 937 (3,0 %)	13 668 (20,9 %)	0
	mit	0 0	172 (0,5 %)	15 740 (49,4 %)	2 381 (3,6 %)	17 834 (27,3 %)	95,32

$L_1 = 34,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	411 (2,4 %)	1 890 (11,6 %)	5 939 (36,5 %)	303 (0,9 %)	5 040 (14,9 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 076 (49,6 %)	464 (1,4 %)	6 875 (20,5 %)	97,09
ganz	ohne	416 (1,2 %)	2 904 (9,1 %)	12 336 (38,7 %)	2 332 (3,6 %)	14 419 (22,1 %)	0
	mit	0 0	136 (0,4 %)	16 079 (50,5 %)	2 849 (4,4 %)	18 679 (28,6 %)	95,12

$L_1 = 35,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	380 (2,2 %)	1 712 (10,5 %)	5 984 (36,7 %)	319 (0,9 %)	5 193 (15,4 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 184 (50,3 %)	508 (1,5 %)	6 995 (20,8 %)	97,01
ganz	ohne	396 (1,2 %)	2 675 (8,4 %)	12 560 (39,4 %)	2 974 (4,6 %)	15 612 (23,9 %)	0
	mit	0 0	76 (0,2 %)	16 410 (51,5 %)	3 623 (5,6 %)	20 170 (30,9 %)	94,77

$L_1 = 36,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	365 (2,1 %)	1 653 (10,1 %)	6 021 (37,0 %)	330 (1,0 %)	5 232 (15,6 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 196 (50,3 %)	520 (1,5 %)	7 035 (20,9 %)	96,99
ganz	ohne	382 (1,1 %)	2 615 (8,2 %)	12 630 (39,6 %)	3 178 (4,9 %)	16 071 (24,6 %)	0
	mit	0 0	76 (0,2 %)	16 473 (51,7 %)	3 831 (5,9 %)	20 751 (31,8 %)	94,60

$L_1 = 37,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	350 (2,0 %)	1 540 (9,5 %)	6 067 (37,3 %)	340 (18,0 %)	5 346 (15,9 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 232 (50,5 %)	540 (1,6 %)	7 219 (21,5 %)	96,92
ganz	ohne	381 (1,1 %)	2 491 (7,8 %)	12 777 (40,1 %)	3 601 (5,5 %)	16 825 (25,8 %)	0
	mit	0 0	68 (0,2 %)	16 676 (52,3 %)	4 296 (6,6 %)	21 806 (33,4 %)	94,28

$L_1 = 38,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	313 (1,8 %)	1 423 (8,7 %)	6 097 (37,4 %)	364 (1,1 %)	5 435 (16,2 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 308 (51,0 %)	568 (1,7 %)	7 331 (21,8 %)	96,86
ganz	ohne	358 (1,1 %)	2 374 (7,4 %)	12 873 (40,4 %)	4 037 (6,2 %)	17 700 (27,1 %)	0
	mit	0 0	48 (0,2 %)	16 880 (53,0 %)	4 792 (7,3 %)	22 911 (35,1 %)	93,97

$L_1 = 39,5 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	295 (1,7 %)	1 308 (8 %)	6 117 (37,6 %)	371 (1,1 %)	5 552 (16,5 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	8 336 (51,2 %)	572 (1,7 %)	7 451 (22,2 %)	96,82
ganz	ohne	360 (1,1 %)	2 264 (7,1 %)	12 993 (40,8 %)	4 446 (6,8 %)	18 532 (28,4 %)	0
	mit	0 0	32 (0,1 %)	17 064 (53,5 %)	5 312 (8,1 %)	23 910 (36,6 %)	93,67

$L_1 = 40,5 \text{ mm}$

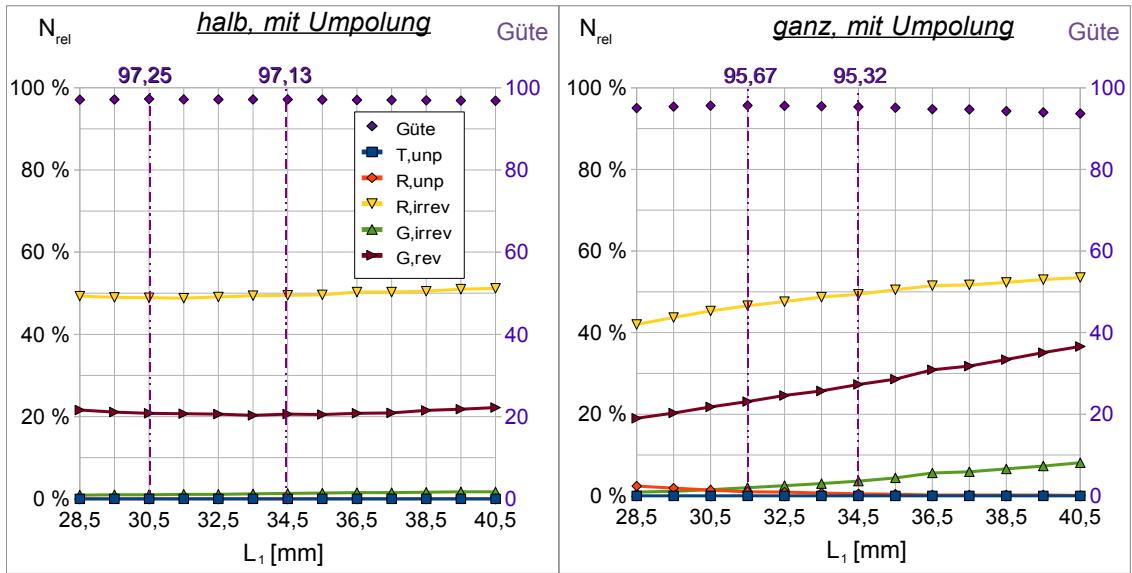


Abbildung G.3: Variation der Länge der Zentralelektrode  $L_1$ ; quantitativ angegeben sind jeweils die maximale Güte und Güte bei  $L_1 = 34,5$  mm (lila). Mit  $L_1 = 34,5$  mm sind alle weiteren Untersuchungen erfolgt, vgl. Geometrie Abb. 5.7).

### Variation von $L_2 - L_1$

Sonderfall: Zur Bestimmung des Abstandes zwischen den Austrittsöffnungen der Satellitenelektroden und der Zentralelektrode (unisolierter Teil des Sondenkatheters)  $L_2 - L_1$  wurde aus Gründen der CAD-Umsetzung das Hilfsmaß  $L_X$  eingeführt (vgl. Abb. Abb. 4.5).  $L_X$  ist kein reales Maß, sondern nur an diesem speziellen „abgeschnittenen“ CAD-Modell gültig. Über eine Änderung von  $L_X$  wurde in der CAD-Software der Abstand  $L_2 - L_1$  variiert.

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	377 (2,2 %)	1 486 (9,1 %)	7 028 (43,2 %)	394 (1,2 %)	5 594 (16,6 %)	0
	mit	0	48	9 241 (56,7 %)	616 (1,8 %)	7 988 (23,8 %)	96,30
ganz	ohne	402 (1,2 %)	3 119 (9,8 %)	12 866 (40,4 %)	1 857 (2,8 %)	13 179 (20,2 %)	0
	mit	0	412 (1,3 %)	16 525 (51,9 %)	2 380 (3,6 %)	17 724 (27,2 %)	94,56

$L_X = 13$  mm

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	397 (2,3 %)	1 640 (10,1 %)	6 672 (41,0 %)	363 (1,1 %)	5 194 (15,5 %)	0
	mit	0 0	32 (0,2 %)	8 901 (54,7 %)	584 (1,7 %)	7 515 (22,4 %)	96,59
ganz	ohne	413 (1,2 %)	3 171 (10,0 %)	12 581 (39,5 %)	1 849 (2,8 %)	12 979 (19,9 %)	0
	mit	0 0	380 (1,2 %)	16 253 (51,0 %)	2 364 (3,6 %)	17 535 (26,9 %)	94,71

$L_X = 14 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	415 (2,4 %)	1 905 (11,7 %)	6 322 (38,8 %)	328 (1,0 %)	5 013 (14,9 %)	0
	mit	0 0	28 (0,2 %)	8 580 (52,7 %)	516 (1,5 %)	7 207 (21,4 %)	96,77
ganz	ohne	428 (1,3 %)	3 292 (10,3 %)	12 300 (38,6 %)	1 862 (2,9 %)	12 970 (19,9 %)	0
	mit	0 0	312 (1,0 %)	16 048 (50,4 %)	2 372 (3,6 %)	17 327 (26,5 %)	94,95

$L_X = 15 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	429 (2,5 %)	2 075 (12,7 %)	6 060 (37,2 %)	317 (0,9 %)	4 909 (14,6 %)	0
	mit	0 0	12 (0,1 %)	8 328 (51,1 %)	508 (1,5 %)	6 911 (20,6 %)	96,98
ganz	ohne	433 (1,3 %)	3 348 (10,5 %)	12 128 (38,1 %)	1 893 (2,9 %)	13 072 (20,0 %)	0
	mit	0 0	260 (0,8 %)	15 856 (49,8 %)	2 412 (3,7 %)	17 227 (26,4 %)	95,12

$L_X = 16 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	439 (2,5 %)	2 138 (13,1 %)	5 930 (36,4 %)	301 (0,9 %)	4 910 (14,6 %)	0
	mit	0 0	0 (50,1 %)	8 160 (1,4 %)	460 (20,6 %)	6 923 (26,9 %)	97,10
ganz	ohne	440 (1,3 %)	3 290 (10,3 %)	12 086 (37,9 %)	1 915 (2,9 %)	13 321 (20,4 %)	0
	mit	0 0	224 (0,7 %)	15 788 (49,5 %)	2 381 (3,6 %)	17 550 (26,9 %)	95,20

$L_X = 17 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	425 (2,5 %)	1 996 (12,3 %)	5 921 (36,4 %)	286 (0,9 %)	4 986 (14,8 %)	0
	mit	0 0	0 (49,5 %)	8 060 (1,3 %)	428 (20,6 %)	6 911	97,13
ganz	ohne	425 (1,3 %)	3047 (9,6 %)	12 179 (38,2 %)	1 937 (3,0 %)	13 668 (20,9 %)	0
	mit	0 0	172 (0,5 %)	15 740 (49,4 %)	2 381 (3,6 %)	17 834 (27,3 %)	95,32

$L_X = 18 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	398 (2,3 %)	1 768 (10,9 %)	5 926 (36,4 %)	284 (0,8 %)	5 128 (15,3 %)	0
	mit	0 0	4 (0,0 %)	7 964 (48,9 %)	432 (1,3 %)	7 075 (21,0 %)	97,06
ganz	ohne	398 (1,2 %)	2 705 (8,5 %)	12 290 (38,6 %)	1 995 (3,1 %)	13 989 (21,4 %)	0
	mit	0 0	148 (0,5 %)	15 816 (49,6 %)	2 457 (3,8 %)	18 170 (27,8 %)	95,31

$L_X = 19 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	325 (1,9 %)	1 526 (9,4 %)	6 004 (36,9 %)	276 (0,8 %)	5 323 (15,8 %)	0
	mit	0 0	0 (49,0 %)	7 984 (1,3 %)	424 (21,7 %)	7 307	97,02
ganz	ohne	325 (1,0 %)	2 375 (7,5 %)	12 449 (39,1 %)	2 013 (3,1 %)	14 413 (22,1 %)	0
	mit	0 0	108 (0,3 %)	15 912 (49,9 %)	2 449 (3,8 %)	18 654 (28,6 %)	95,37

$L_X = 20 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	225 (1,3 %)	1 328 (8,2 %)	6 113 (37,5 %)	276 (0,8 %)	5 605 (16,7 %)	0
	mit	0 0	0 (49,2 %)	8 008 (1,2 %)	416 (22,6 %)	7 604	96,94
ganz	ohne	225 (0,7 %)	2 092 (6,6 %)	12 629 (39,6 %)	2 064 (3,2 %)	14 882 (22,8 %)	0
	mit	0 0	100 (0,3 %)	16 004 (50,2 %)	2 481 (3,8 %)	19 155 (29,3 %)	95,3

$L_X = 21 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	123 (0,7 %)	1 182 (7,3 %)	6 253 (38,4 %)	272 (0,8 %)	5 849 (17,4 %)	0
	mit	0 0	0 (49,9 %)	8 125 (1,1 %)	384 (23,5 %)	7 896 (30,2 %)	96,87
ganz	ohne	123 (0,4 %)	1 867 (5,9 %)	12 861 (40,4 %)	2 088 (3,2 %)	15 328 (23,5 %)	0
	mit	0 0	76 (0,2 %)	16 201 (50,8 %)	2 485 (3,8 %)	19 723 (30,2 %)	95,28

$L_X = 22 \text{ mm}$

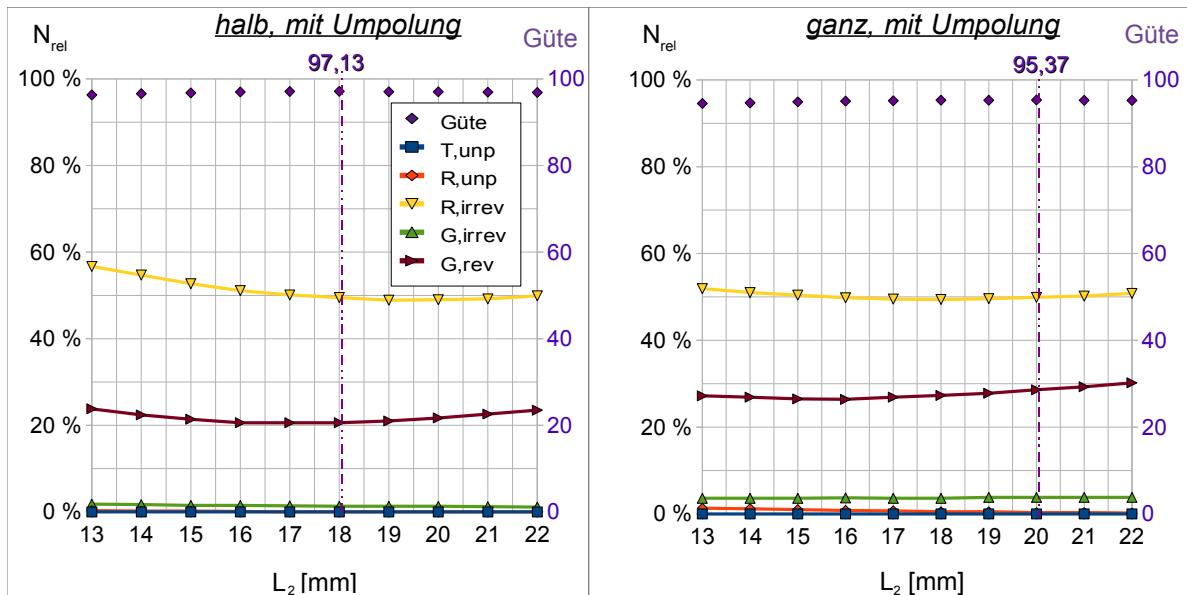


Abbildung G.4: Variation des Abstandes der Austrittsöffnungen der Satellitenelektroden von der Zentralelektrode über das Hilfsmaß  $L_x$ ; die maximale Güte ist jeweils angegeben (lila), Elektrodengeometrie vgl. Abb. 5.7 bzw. für  $L_X$  Abb. 4.5)

### Variation von $\alpha_1$ (Länge der Satellitenelektroden)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	2 526 (14,6 %)	10 180 (62,5 %)	1 435 (8,8 %)	0	459 (1,4 %)	0
	mit	840 (4,8 %)	7 680 (47,2 %)	2 226 (13,7 %)	0	1 133 (3,4 %)	0
ganz	ohne	8 336 (25,0 %)	23 439 (73,6 %)	2 258 (7,1 %)	103 (0,2 %)	1 180 (1,8 %)	0
	mit	5 404 (16,2 %)	20 788 (65,2 %)	3 086 (9,7 %)	109 (0,2 %)	1 904 (2,9 %)	0

$\alpha_1 = 5^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	1 055 (6,1 %)	8 010 (49,2 %)	1 860 (11,4 %)	0 0	748 (2,2 %)	0
	mit	68 (0,4 %)	5 176 (31,8 %)	2 810 (17,3 %)	0 0	1 694 (5 %)	0
ganz	ohne	4 036 (12,1 %)	20 233 (63,5 %)	3 055 (9,6 %)	228 (0,3 %)	2 034 (3,1 %)	0
	mit	1 420 (4,3 %)	17 040 (53,5 %)	4 066 (12,8 %)	258 (0,4 %)	3 065 (4,7 %)	0

$\alpha_1 = 7^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	348 (2,0 %)	5 654 (34,7 %)	2 382 (14,6 %)	0 0	984 (2,9 %)	0
	mit	4 (0,0 %)	2 884 (17,7 %)	3 423 (21,0 %)	0 0	2 114 (6,3 %)	0
ganz	ohne	1 594 (4,8 %)	16 014 (50,3 %)	3 935 (12,3 %)	413 (0,6 %)	2 867 (4,4 %)	0
	mit	4 (0,0 %)	12 032 (37,8 %)	5 079 (15,9 %)	455 (0,7 %)	4 153 (6,4 %)	0

$\alpha_1 = 9^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	43 (0,2 %)	3 614 (22,2 %)	3 209 (19,7 %)	0 0	1 429 (4,3 %)	0
	mit	0 0	1 844 (11,3 %)	4 515 (27,7 %)	0 0	2 682 (8,0 %)	0
ganz	ohne	698 (2,1 %)	11 208 (35,2 %)	5 218 (16,4 %)	609 (0,9 %)	4 029 (6,2 %)	0
	mit	0 0	7 364 (23,1 %)	6 739 (21,1 %)	663 (1,0 %)	5 537 (8,5 %)	0

$\alpha_1 = 11^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	49 (0,3 %)	2 173 (13,3 %)	4 257 (26,1 %)	0 0	2 272 (6,8 %)	0
	mit	0 0	1 200 (7,4 %)	5 863 (36 %)	0 0	3 639 (10,8 %)	0
ganz	ohne	249 (0,7 %)	6 880 (21,6 %)	7 050 (22,1 %)	853 (1,3 %)	5 848 (9,0 %)	0
	mit	0 0	3 716 (11,7 %)	9 103 (28,6 %)	936 (1,4 %)	7 850 (12,0 %)	0

$\alpha_1 = 13^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	86 (0,5 %)	1 841 (11,3 %)	4 771 (29,3 %)	0	2 875 (8,6 %)	0
	mit	0 0	712 (4,4 %)	6 476 (39,8 %)	0	4 115 (12,2 %)	94,01
ganz	ohne	176 (0,5 %)	5 192 (16,3 %)	8 201 (25,7 %)	986 (1,5 %)	7 280 (11,2 %)	0
	mit	0 0	2 220 (7,0 %)	10 592 (33,2 %)	1 108 (1,7 %)	9 510 (14,6 %)	0

$\alpha_1 = 14^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	222 (1,3 %)	1 733 (10,6 %)	5 222 (32,1 %)	35 (0,1 %)	3 554 (10,6 %)	0
	mit	0 0	340 (2,1 %)	7 100 (43,6 %)	64 (0,2 %)	4 795 (14,3 %)	96,00
ganz	ohne	251 (0,8 %)	4 060 (12,7 %)	9 498 (29,8 %)	1 148 (1,8 %)	9 198 (14,1 %)	0
	mit	0 0	1 236 (3,9 %)	1 2356 (38,8 %)	1 284 (2,0 %)	11 923 (18,3 %)	93,41

$\alpha_1 = 15^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	342 (2,0 %)	1 803 (11,1 %)	5 620 (34,5 %)	143 (0,4 %)	4 268 (12,7 %)	0
	mit	0 0	80 (0,5 %)	7 636 (46,9 %)	228 (0,7 %)	5 731 (17,0 %)	97,17
ganz	ohne	350 (1,0 %)	3 358 (10,5 %)	10 940 (34,3 %)	1 463 (2,2 %)	11 412 (17,5 %)	0
	mit	0 0	508 (1,6 %)	14 188 (44,5 %)	1 752 (2,7 %)	14 767 (22,6 %)	95,03

$\alpha_1 = 16^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	425 (2,5 %)	1 996 (12,3 %)	5 921 (36,4 %)	286 (0,9 %)	4 986 (14,8 %)	0
	mit	0 0	0 (49,5 %)	8 060 (1,3 %)	428 (20,6 %)	6 911 (27,3 %)	97,13
ganz	ohne	425 (1,3 %)	3 047 (9,6 %)	12 179 (38,2 %)	1 937 (3,0 %)	13 668 (20,9 %)	0
	mit	0 0	172 (0,5 %)	15 740 (49,4 %)	2 381 (3,6 %)	17 834 (27,3 %)	95,32

$\alpha_1 = 17^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	505 (2,9 %)	2 230 (13,7 %)	6 106 (37,5 %)	450 (1,3 %)	5 647 (16,8 %)	0
	mit	0 0	0 (52,0 %)	8 472 (2,0 %)	680 (24,3 %)	8 179	96,54
ganz	ohne	505 (1,5 %)	2 923 (9,2 %)	13 192 (41,4 %)	2 571 (3,9 %)	15 789 (24,2 %)	0
	mit	0 0	28 (0,1 %)	17 256 (54,2 %)	3 233 (5,0 %)	20 878 (32,0 %)	94,93

$\alpha_1 = 18^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	574 (3,3 %)	2 453 (15,1 %)	6 300 (38,7 %)	613 (1,8 %)	6 283 (18,7 %)	0
	mit	0 0	0 (54,9 %)	8 940 (2,6 %)	864 (28,3 %)	9 503	95,98
ganz	ohne	574 (1,7 %)	2 949 (9,3 %)	14 182 (44,5 %)	3 412 (5,2 %)	18 009 (27,6 %)	0
	mit	0 0	0 (58,6 %)	18 680 (6,6 %)	4 289 (36,8 %)	24 002	94,09

$\alpha_1 = 19^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	676 (3,9 %)	2 838 (17,4 %)	6 553 (40,2 %)	944 (2,8 %)	7 316 (21,8 %)	0
	mit	0 0	0 (60,2 %)	9 800 (3,8 %)	1 280 (36,4 %)	12 240	94,80
ganz	ohne	676 (2 %)	3 204 (10,1 %)	15 855 (49,8 %)	5 612 (8,6 %)	21 863 (33,5 %)	0
	mit	0 0	0 (66,9 %)	21 328 (10,7 %)	7 001 (45,9 %)	29 928	92,06

$\alpha_1 = 21^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	746 (4,3 %)	3 205 (19,7 %)	6 757 (41,5 %)	1 226 (3,6 %)	8 190 (24,4 %)	0
	mit	0 0	0 (65,8 %)	10 720 (5,1 %)	1 724 (43,8 %)	14 712	93,68
ganz	ohne	750 (2,2 %)	3 584 (11,2 %)	17 148 (53,8 %)	8 121 (12,4 %)	25 236 (38,7 %)	0
	mit	0 0	0 (74,2 %)	23 660 (15,7 %)	10 221 (54,0 %)	35 256	89,94

$\alpha_1 = 23^\circ$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	788 (4,5 %)	3 478 (21,4 %)	6 906 (42,4 %)	1 436 (4,3 %)	8 989 (26,7 %)	0
	mit	0 0	0 (70,4 %)	11 469 (6,5 %)	2 200 (50,5 %)	16 984 (20,7 %)	92,61
ganz	ohne	792 (2,4 %)	3 880 (12,2 %)	18 122 (56,9 %)	10 465 (16,0 %)	28 284 (43,3 %)	0
	mit	0 0	0 (79,6 %)	25 381 (20,7 %)	13 498 (61,3 %)	40 024 (87,90)	

$$\alpha_1 = 25^\circ$$

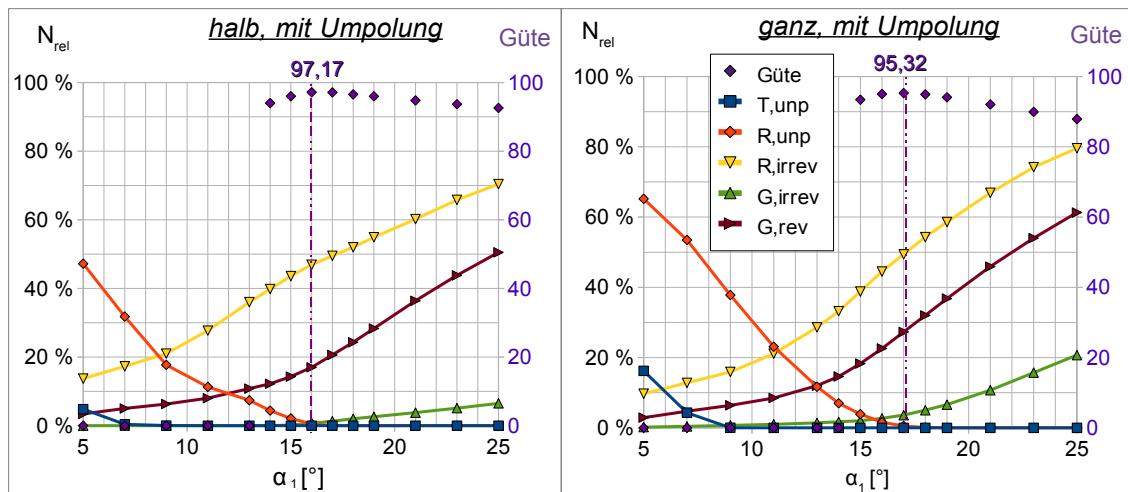


Abbildung G.5: Variation der Länge der Satellitenelektroden  $\alpha_1$ ; die maximale Güte ist jeweils angegeben (lila), Elektrodengeometrie vgl. Abb. 5.7)

### Variation von $r_1$ (Krümmungsradius der Satellitenelektroden)

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	139 (0,8 %)	928 (5,7 %)	9 739 (59,8 %)	7 601 (22,6 %)	16 433 (48,9 %)	0
	mit	0 0	0 (80,2 %)	13 057 (29,5 %)	9 917 (63,0 %)	21 192 (44,3 %)	85,52
ganz	ohne	515 (1,5 %)	3 681 (11,6 %)	12 650 (39,7 %)	8 698 (13,3 %)	22 262 (34,1 %)	0
	mit	0 0	120 (0,4 %)	16 429 (51,6 %)	11 113 (17,0 %)	28 932 (44,3 %)	90,42

$$r_1 = 10 \text{ mm}$$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	189 (1,1 %)	1 133 (7,0 %)	9 223 (56,6 %)	5 071 (15,1 %)	12 282 (36,5 %)	0
	mit	0 0	0 (76,1 %)	12 397 (19,5 %)	6 552 (48,6 %)	16 332 (89,51)	
ganz	ohne	443 (1,3 %)	3 273 (10,3 %)	12 979 (40,7 %)	6 322 (9,7 %)	19 903 (30,5 %)	0
	mit	0 0	116 (0,4 %)	17 013 (53,4 %)	7 968 (12,2 %)	26 464 (40,5 %)	92,00

$r_1 = 15 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	238 (1,4 %)	1 388 (8,5 %)	8 612 (52,9 %)	3 399 (10,1 %)	10 241 (30,5 %)	0
	mit	0 0	0 (70,6 %)	11 492 (13,3 %)	4 456 (40,8 %)	13 704 (91,90)	
ganz	ohne	416 (1,2 %)	3 140 (9,9 %)	13 078 (41,0 %)	4 902 (7,5 %)	18 589 (28,5 %)	0
	mit	0 0	128 (0,4 %)	17 160 (53,9 %)	6 236 (9,6 %)	24 640 (37,8 %)	92,90

$r_1 = 20 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	313 (1,8 %)	1 671 (10,3 %)	7 632 (46,9 %)	1 620 (4,8 %)	8 090 (24,1 %)	0
	mit	0 0	0 (62,5 %)	10 184 (6,4 %)	2 160 (32,6 %)	10 943 (94,51)	
ganz	ohne	382 (1,1 %)	3 043 (9,5 %)	13 015 (40,8 %)	3 349 (5,1 %)	16 858 (25,8 %)	0
	mit	0 0	136 (0,4 %)	16 944 (53,2 %)	4 253 (6,5 %)	22 150 (34,02)	

$r_1 = 30 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	384 (2,2 %)	1 891 (11,6 %)	6 528 (40,1 %)	582 (1,7 %)	6 020 (17,9 %)	0
	mit	0 0	0 (54,1 %)	8 804 (2,5 %)	824 (24,7 %)	8 287 (96,38)	
ganz	ohne	393 (1,2 %)	3 015 (9,5 %)	12 545 (39,4 %)	2 314 (3,5 %)	14 749 (22,6 %)	0
	mit	0 0	168 (0,5 %)	16 240 (51,0 %)	2 909 (4,5 %)	19 298 (94,89)	

$r_1 = 50 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	425 (2,5 %)	1 996 (12,3 %)	5 921 (36,4 %)	286 (0,9 %)	4 986 (14,8 %)	0
	mit	0 0	0 (49,5 %)	8 060 (1,3 %)	428 (20,6 %)	6 911 (27,3 %)	97,13
ganz	ohne	425 (1,3 %)	3 047 (9,6 %)	12 179 (38,2 %)	1 937 (3,0 %)	13 668 (20,9 %)	0
	mit	0 0	172 (0,5 %)	15 740 (49,4 %)	2 381 (3,6 %)	17 834 (27,3 %)	95,32

$r_1 = 70 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	436 (2,5 %)	2 020 (12,4 %)	5 804 (35,6 %)	259 (0,8 %)	4 795 (14,3 %)	0
	mit	0 0	0 (48,7 %)	7 932 (1,1 %)	384 (19,9 %)	6 683 (26,8 %)	97,24
ganz	ohne	436 (1,3 %)	3 067 (9,6 %)	12 116 (38,0 %)	1 912 (2,9 %)	13 404 (20,5 %)	0
	mit	0 0	196 (0,6 %)	15 708 (49,3 %)	2 353 (3,6 %)	17 470 (26,8 %)	95,31

$r_1 = 75 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	447 (2,6 %)	2 065 (12,7 %)	5 711 (35,1 %)	218 (0,6 %)	4 675 (13,9 %)	0
	mit	0 0	8 (0,0 %)	7 780 (47,8 %)	332 (1,0 %)	6 491 (19,3 %)	97,30
ganz	ohne	447 (1,3 %)	3 097 (9,7 %)	12 040 (37,8 %)	1 856 (2,8 %)	13 281 (20,3 %)	0
	mit	0 0	180 (0,6 %)	15 548 (48,8 %)	2 265 (3,5 %)	17 326 (26,5 %)	95,42

$r_1 = 80 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	448 (2,6 %)	2 077 (12,8 %)	5 631 (34,6 %)	193 (0,6 %)	4 546 (13,5 %)	0
	mit	0 0	8 (0,0 %)	7 716 (47,4 %)	300 (0,9 %)	6 303 (18,8 %)	97,38
ganz	ohne	448 (1,3 %)	3 104 (9,7 %)	11 969 (37,6 %)	1 837 (2,8 %)	13 114 (20,1 %)	0
	mit	0 0	192 (0,6 %)	15 500 (48,6 %)	2 261 (3,5 %)	17 046 (26,1 %)	95,43

$r_1 = 85 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	458 (2,6 %)	2 094 (12,9 %)	5 559 (34,1 %)	178 (0,5 %)	4 392 (13,1 %)	0
	mit	0 0 (0,1 %)	24 7 608 (46,7 %)	272 (0,8 %)	6 147 (18,3 %)	97,35	
ganz	ohne	458 (1,4 %)	3 116 (9,8 %)	11 899 (37,3 %)	1 788 (2,7 %)	12 917 (19,8 %)	0
	mit	0 0 (0,7 %)	216 15 384 (48,3 %)	2 172 (3,3 %)	16 787 (25,7 %)	95,44	

$r_1 = 90 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	464 (2,7 %)	2 095 (12,9 %)	5 470 (33,6 %)	158 (0,5 %)	4 272 (12,7 %)	0
	mit	0 0 (0,1 %)	12 7 540 (46,3 %)	256 (0,8 %)	5 955 (17,7 %)	97,50	
ganz	ohne	464 (1,4 %)	3 122 (9,8 %)	11 827 (37,1 %)	1 768 (2,7 %)	12 793 (19,6 %)	0
	mit	0 0 (0,7 %)	216 15 364 (48,2 %)	2 168 (3,3 %)	16 551 (25,4 %)	95,47	

$r_1 = 95 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	456 (2,6 %)	2 118 (13,0 %)	5 419 (33,3 %)	144 (0,4 %)	4 195 (12,5 %)	0
	mit	0 0 (0,2 %)	28 (45,9 %)	7 480 (0,7 %)	224 (17,5 %)	5 867	97,46
ganz	ohne	456 (1,4 %)	3 142 (9,9 %)	11 776 (37,0 %)	1 729 (2,6 %)	12 685 (19,4 %)	0
	mit	0 0 (0,7 %)	228 (48,0 %)	15 308 (3,2 %)	2 096 (25,2 %)	16 431	95,48

$r_1 = 100 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	495 (2,9 %)	2 363 (14,5 %)	4 408 (27,1 %)	3 (0,0 %)	2 752 (8,2 %)	0
	mit	0 0 (1,4 %)	232 (38,0 %)	6 184 (0,0 %)	8 (11,4 %)	3 839	97,05
ganz	ohne	497 (1,5 %)	3 488 (10,9 %)	10 654 (33,4 %)	1 415 (2,2 %)	10 615 (16,3 %)	0
	mit	0 0 (1,7 %)	536 (43,4 %)	1 3836 (2,5 %)	1 612 (20,7 %)	13 527	95,19

$r_1 = 500 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	536 (3,1 %)	2 473 (15,2 %)	4 193 (25,7 %)	1 (0,0 %)	2 483 (7,4 %)	0
	mit	0 0	284 (1,7 %)	5 912 (36,3 %)	4 (0,0 %)	3 519 (10,5 %)	96,84
ganz	ohne	537 (1,6 %)	3 554 (11,2 %)	10 507 (33,0 %)	1 410 (2,2 %)	10 359 (15,9 %)	0
	mit	0 0	580 (1,8 %)	13 628 (42,8 %)	1 605 (2,5 %)	13 214 (20,2 %)	95,11

$r_1 = 5\,000\text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	529 (3,1 %)	2 475 (15,2 %)	4 177 (25,6 %)	0 0	2 472 (7,4 %)	0
	mit	0 0	284 (1,7 %)	5 876 (36,1 %)	0 0	3 535 (10,5 %)	96,84
ganz	ohne	530 (1,6 %)	3 563 (11,2 %)	10 497 (32,9 %)	1 413 (2,2 %)	10 314 (15,8 %)	0
	mit	0 0	580 (1,8 %)	13 620 (42,7 %)	1 600 (2,5 %)	13 167 (20,2 %)	95,12

$r_1 = 10\,000\text{ mm}$

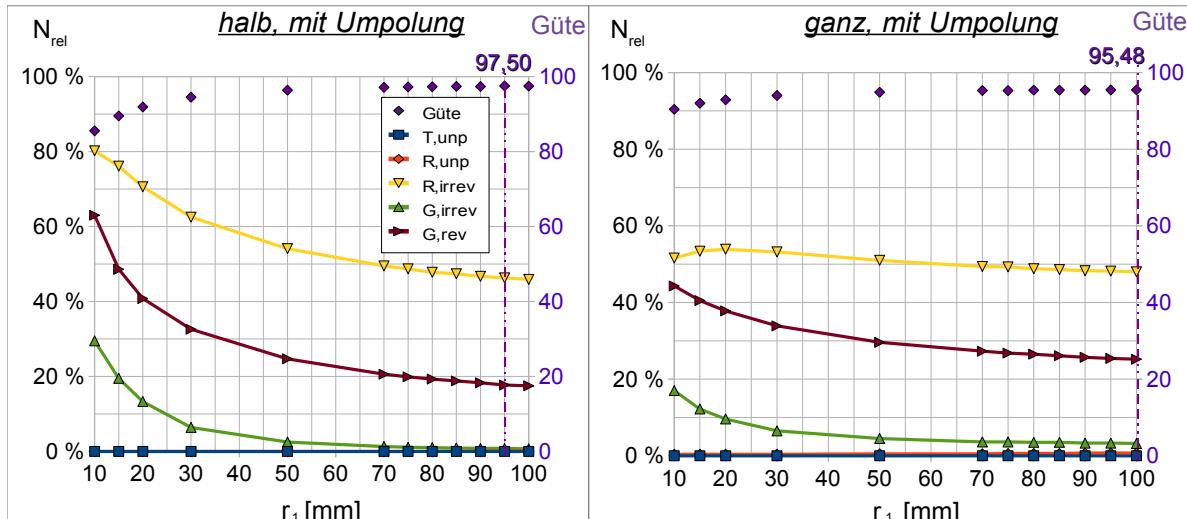


Abbildung G.6: Variation des Krümmungsradius  $r_1$  der Satellitenelektroden; die maximale Güte ist jeweils angegeben (lila), Elektrodengeometrie vgl. Abb. 5.7).

---

### Variation von $r_2$ (Ausfahrwinkel der Satellitenelektroden)

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	522 (3,0 %)	1 080 (6,6 %)	10 616 (65,2 %)	15 863 (47,2 %)	21 490 (63,9 %)	0
	mit	0 0	0 (82,8 %)	13 477 (64,1 %)	21 539 (84,4 %)	28 374 (84,4 %)	74,71
ganz	ohne	996 (3,0 %)	3 673 (11,5 %)	13 344 (41,9 %)	16 901 (25,9 %)	29 070 (44,5 %)	0
	mit	0 0	0 (52,2 %)	16 641 (34,8 %)	22 703 (59,9 %)	39 074 (59,9 %)	84,79

$r_2 = 10 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	221 (1,3 %)	943 (5,8 %)	11 117 (68,3 %)	10 893 (32,4 %)	17 006 (50,6 %)	0
	mit	0 0	0 (88,9 %)	14 473 (43,2 %)	14 526 (68,3 %)	22 963 (88,9 %)	81,48
ganz	ohne	692 (2,1 %)	3 182 (10,0 %)	14 739 (46,3 %)	12 188 (18,7 %)	26 193 (40,1 %)	0
	mit	0 0	0 (59,4 %)	18 929 (24,6 %)	16 034 (54,4 %)	35 527 (54,4 %)	87,82

$r_2 = 12 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	174 (1,0 %)	1 412 (8,7 %)	10 529 (64,7 %)	4 679 (13,9 %)	12 977 (38,6 %)	0
	mit	0 0	0 (85,0 %)	13 845 (18,3 %)	6 164 (52,4 %)	17 624 (85,0 %)	89,32
ganz	ohne	442 (1,3 %)	2 887 (9,1 %)	15 554 (48,8 %)	6 608 (10,1 %)	22 723 (34,8 %)	0
	mit	0 0	20 (0,1 %)	20 277 (63,6 %)	8 556 (13,1 %)	30 396 (46,6 %)	91,37

$r_2 = 15 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	332 (1,9 %)	1 710 (10,5 %)	8 247 (50,6 %)	1 251 (3,7 %)	8 823 (26,2 %)	0
	mit	0 0	0 (67,6 %)	11 013 (5,2 %)	1 744 (35,9 %)	12 068 (67,6 %)	94,44
ganz	ohne	376 (1,1 %)	2 781 (8,7 %)	14 260 (44,7 %)	3 156 (4,8 %)	18 223 (27,9 %)	0
	mit	0 0	88 (0,3 %)	18 497 (58,0 %)	4 041 (6,2 %)	24 047 (36,8 %)	93,91

$r_2 = 18 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	379 (2,2 %)	1 786 (11,0 %)	7 356 (45,2 %)	700 (2,1 %)	7 269 (21,6 %)	0
	mit	0 0	0 (60,8 %)	9 908 (3,0 %)	1 020 (3,0 %)	10 083 (30,0 %)	95,63
ganz	ohne	390 (1,2 %)	2 812 (8,8 %)	13 553 (42,5 %)	2 501 (3,8 %)	16 410 (25,1 %)	0
	mit	0 0	120 (0,4 %)	17 556 (55,1 %)	3 173 (4,9 %)	21 694 (33,2 %)	94,91

$r_2 = 19 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	428 (2,5 %)	1 927 (11,8 %)	6 441 (39,6 %)	355 (1,1 %)	5 714 (17,0 %)	0
	mit	0 0	0 (53,8 %)	8 768 (1,7 %)	564 (23,7 %)	7 951	96,68
ganz	ohne	429 (1,3 %)	2 922 (9,2 %)	12 758 (40,0 %)	2 044 (3,1 %)	14 553 (22,3 %)	0
	mit	0 0	128 (0,4 %)	16 560 (52,0 %)	2 605 (4,0 %)	19 014 (29,1 %)	95,17

$r_2 = 20 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	464 (2,7 %)	2 095 (12,9 %)	5 470 (33,6 %)	158 (0,5 %)	4 272 (12,7 %)	0
	mit	0 0	12 (0,1 %)	7 540 (46,3 %)	256 (0,8 %)	5 955 (17,7 %)	97,50
ganz	ohne	464 (1,4 %)	3 122 (9,8 %)	11 827 (37,1 %)	1 768 (2,7 %)	12 793 (19,6 %)	0
	mit	0 0	216 (0,7 %)	15 364 (48,2 %)	2 168 (3,3 %)	16 551 (25,4 %)	95,47

$r_2 = 21 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	465 (2,7 %)	2 371 (14,6 %)	4 551 (27,9 %)	61 (0,2 %)	3 059 (9,1 %)	0
	mit	0 0	248 (1,5 %)	6 336 (38,9 %)	104 (0,3 %)	4 179 (12,4 %)	96,77
ganz	ohne	465 (1,4 %)	3 477 (10,9 %)	10 827 (34,0 %)	1 535 (2,4 %)	11 146 (17,1 %)	0
	mit	0 0	512 (1,6 %)	14 032 (44,0 %)	1 817 (2,8 %)	14 206 (21,8 %)	95,08

$r_2 = 22 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	475 (2,7 %)	2 880 (17,7 %)	3 710 (22,8 %)	3 (0,0 %)	2 127 (6,3 %)	0
	mit	0 0 (4,2 %)	692 (32,2 %)	5 239 (0,0 %)	12 (8,4 %)	2 839 (14,9 %)	94,58
ganz	ohne	475 (1,4 %)	4 100 (12,9 %)	9 839 (30,9 %)	1 384 (2,1 %)	9 729 (14,9 %)	0
	mit	0 0 (3,4 %)	1 068 (39,9 %)	12 715 (2,5 %)	1 609 (18,7 %)	12 218 (14,4 %)	93,76

$r_2 = 23 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	444 (2,6 %)	4 120 (25,3 %)	2 281 (14,0 %)	0 0	898 (2,7 %)	0
	mit	0 0 (13,7 %)	2 228 (20,7 %)	3 363 (20,7 %)	0 0	1 254 (3,7 %)	0
ganz	ohne	445 (1,3 %)	5 621 (17,6 %)	7 946 (24,9 %)	1 342 (2,1 %)	7 505 (11,5 %)	0
	mit	0 0 (9,0 %)	2 880 (32,2 %)	10 267 (2,3 %)	1 501 (14,4 %)	9 381 (14,4 %)	0

$r_2 = 25 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	238 (1,4 %)	7 769 (47,7 %)	430 (2,6 %)	0 0	68 (0,2 %)	0
	mit	0 0 (39,3 %)	6 400 (4,3 %)	706 (0,4 %)	0 0	129 (0,4 %)	0
ganz	ohne	247 (0,7 %)	10 374 (32,6 %)	4 829 (15,2 %)	1 248 (1,9 %)	4 721 (7,2 %)	0
	mit	0 0 (25,5 %)	8 124 (18,7 %)	5 958 (2,1 %)	1 381 (8,7 %)	5 676 (8,7 %)	0

$r_2 = 30 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,unp}$	$N_{R,unp}$	$N_{R,irrev}$	$N_{G,irrev}$	$N_{G,rev}$	Güte
halb	ohne	2 279 (13,2 %)	15 284 (93,9 %)	23 (0,1 %)	0 0	0 0	0
	mit	1 388 (8,0 %)	14 184 (87,1 %)	32 (0,2 %)	0 0	0 0	0
ganz	ohne	2 672 (8,0 %)	23 595 (74,0 %)	2 510 (7,9 %)	989 (1,5 %)	2 953 (4,5 %)	0
	mit	1 556 (4,7 %)	21 156 (66,4 %)	2 744 (8,6 %)	1 064 (1,6 %)	3 155 (4,8 %)	0

$r_2 = 50 \text{ mm}$

Bereich	Umpolung	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
halb	ohne	8 195 (47,3 %)	16 178 (99,3 %)	0	0	0	0
	mit	6 536 (37,7 %)	16 176 (99,3 %)	0	0	0	0
ganz	ohne	11 686 (35,0 %)	27 950 (87,7 %)	1 714 (5,4 %)	533 (0,8 %)	1 710 (2,6 %)	0
	mit	8 708 (26,1 %)	27 536 (86,4 %)	1 836 (5,8 %)	559 (0,9 %)	1 795 (2,8 %)	0

$r_2 = 100 \text{ mm}$

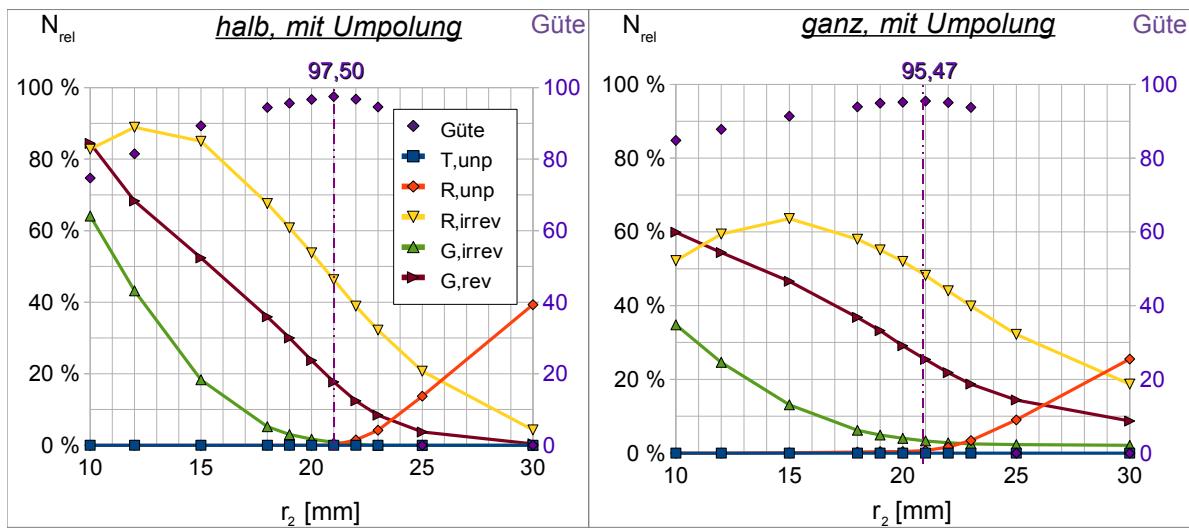


Abbildung G.7: Variation des Ausfahrtwinkels  $r_2$  der Satellitenelektroden; die maximale Güte ist jeweils angegeben (lila), Elektrodengeometrie s. Abb. 5.7)

# H Vertiefende Informationen zur Elektroporatorenentwicklung in Kap. 6

## Funktionsweise der EKG-Synchronisation

Bei einem entsprechenden Signal beginnt der Arduino mit der Messung der Spannung am Sensor in regelmäßigen Abständen. Dazu wird das Interruptsystem des Mikrocontrollers verwendet. Die Zeitabstände ergeben sich aus der Abtastfrequenz, welche über das Benutzerinterface der GUI eingestellt wird. Die Messungen des EKG-Sensors werden mit einem Zeitstempel (timestamp) versehen, der aus der Clock des Mikrocontrollers gebildet wird und eine Auflösung von  $4\ \mu\text{s}$  hat. Der Vergleich der Zeitstempel einer Messreihe zeigt, dass die Abweichung von beabsichtigter und tatsächlicher Messzeit im Bereich von Mikrosekunden liegt, vgl. Tabelle H.1. Bei der üblichen Abtastfrequenz von  $f_s = 250\ \text{Hz}$  mit Zeitabständen von  $t_t = \frac{1}{250\ \text{Hz}} = 4\ \text{ms}$  kann die Abtastung als konstant betrachtet werden.

Nach Digitalisierung wird der Spannungswert mit Zeitstempel in einen FIFO (first in - first out) geschrieben. Der Arduino prüft fortlaufend, ob ein Wert im FIFO vorhanden ist und sendet diesen ggf. an das Linux-System. Dort wird ein Algorithmus ausgeführt der ermittelt, ob getriggert werden soll (positiv: Startbenachrichtigung wird an den Arduino gesendet; negativ: warten). Empfängt der Arduino eine Startbenachrichtigung zum Triggern, wird der Interrupttimer deaktiviert und die Pulse nacheinander auf die verschiedenen Ausgabepins abgegeben. Die Pulsparameter wird durch die Benutzerschnittstelle festgelegt und vor Beginn der Signalaufnahme an den Arduino gesendet. Abbildung H.2 zeigt eine Messung der Ausgabesignale: Es wurden neun Pulse auf drei Ausgangspins mit einer Impulsbreite und -abstand von  $100\ \mu\text{s}$  ausgegeben. Es ist zu sehen, dass die Länge der abgegebenen Pulse mit einer Genauigkeit von  $0.1\ \mu\text{s}$  der geforderten Länge entspricht. Die Anforderung einer Pulsabgabe im Mikrosekundenbereich ist damit erfüllt. Zu beachten ist, dass etwa  $2-4\ \mu\text{s}$  für einen Zusatzauswechsel des digitalen Ausgangs benötigt werden, vgl. Abbildung H.3.

Dauert die Abgabe der Pulse länger als  $1/f_s$ , gehen auf Grund der Deaktivierung des Interrupttimers Werte verloren. Der Verlust einzelner Abtastwerte durch diese vorübergehende Deaktivierung kann akzeptiert werden, da alle Filter und Algorithmen mit Abtastwerten arbeiten, deren Anzahl unter der von einem RR-Intervall liegt. Zudem werden alle RR-Intervalle mit dem Zeitstempel errechnet.

Der Startzeitpunkt und die Dauer der Triggerabgabe (Beginn des ersten bis Ende des letzten Pulses) wird gemessen und als Bestätigung (acknowledge) an das Linux-System gesendet. So kann der genaue Zeitpunkt der Triggerungen im EKG-Verlauf angezeigt und evaluiert werden.

Abtastwert	1	2	3	4	5	6
Zeitstempel/ms	7900,010	7904,010	7908,010	7912,014	7916,010	7920,010

Tabelle H.1: Zeitstempel einer Reihe von Abtastwerten. Abtastfrequenz  $f_s = 250$  Hz.

## Prozessorkommunikation

Die beiden Prozessoren des UDOO-Boards kommunizieren über eine serielle Schnittstelle. Der Arduino sendet mit einem Zeitstempel versehene, quantifizierte Messwerte der Analog-Digital-Wandlung an das Linux-System auf dem Cortex-A9. Für die Messwerte, die mit 10 bit quantisiert sind, werden zwei Byte verwendet. Für den Zeitstempel, der im Mikrosekundenbereich aufgenommen wird, werden vier Byte verwendet. Damit ist die Dauer einer Messung, bis es zu einer Wiederholung der Zeitstempel kommt, auf  $2^{32} \mu\text{s} \approx 71$  min beschränkt.

Nach der Durchführung einer Triggerung wird eine Bestätigung (acknowledge) an das Linux-System gesendet. Diese besteht aus einem Zeitstempel des Startzeitpunkts (vier Byte) und der Dauer der Triggerung (zwei Byte). Beide Nachrichten, die vom Arduino zum Linux-System gesendet werden, bestehen jeweils aus sechs Byte. Das Linux-System wartet nach dem Senden des Startsignals auf die Bestätigung. Sie wird also zu einem fest definierten Zeitpunkt erwartet. Ein Header für die Nachrichten ist somit nicht notwendig.

Das Linux-System hingegen sendet verschiedene Daten zu beliebigen Zeitpunkten an den Arduino. Die Daten werden dabei immer in zwei Byte geschrieben. Zudem wird ein Header-Byte hinzugefügt. Eine Nachricht vom Linux-System an den Arduino ist somit immer drei Byte groß. Tabelle H.2 zeigt die verschiedenen Nachrichten mit ihren Bedeutungen.

Header	Daten 1	Daten 2	Bedeutung
0x01	Abtastfrequenz $f_s$		Startet das Abgreifen der Spannungen mit der gegebenen Abtastfrequenz.
0x02	Dauer der Pulse in s		Setzt die Dauer des Pulses auf den gegebenen Wert.
0x03	Zeit zwischen den Pulsen in s		Setzt die Zeit zwischen den Pulsen auf den gegebenen Wert.
0x04	Anzahl Pulse	Anzahl Ausgangspins	Startet die Ausgabe der Triggerpulse mit der gegebenen Anzahl von Pulsen auf der gegebenen Anzahl von Ausgangspins

Tabelle H.2: Verschiedene Nachrichten vom Linux-System auf dem Cortex-A9 an den Arduino mit ihrer Belegung und Bedeutung.

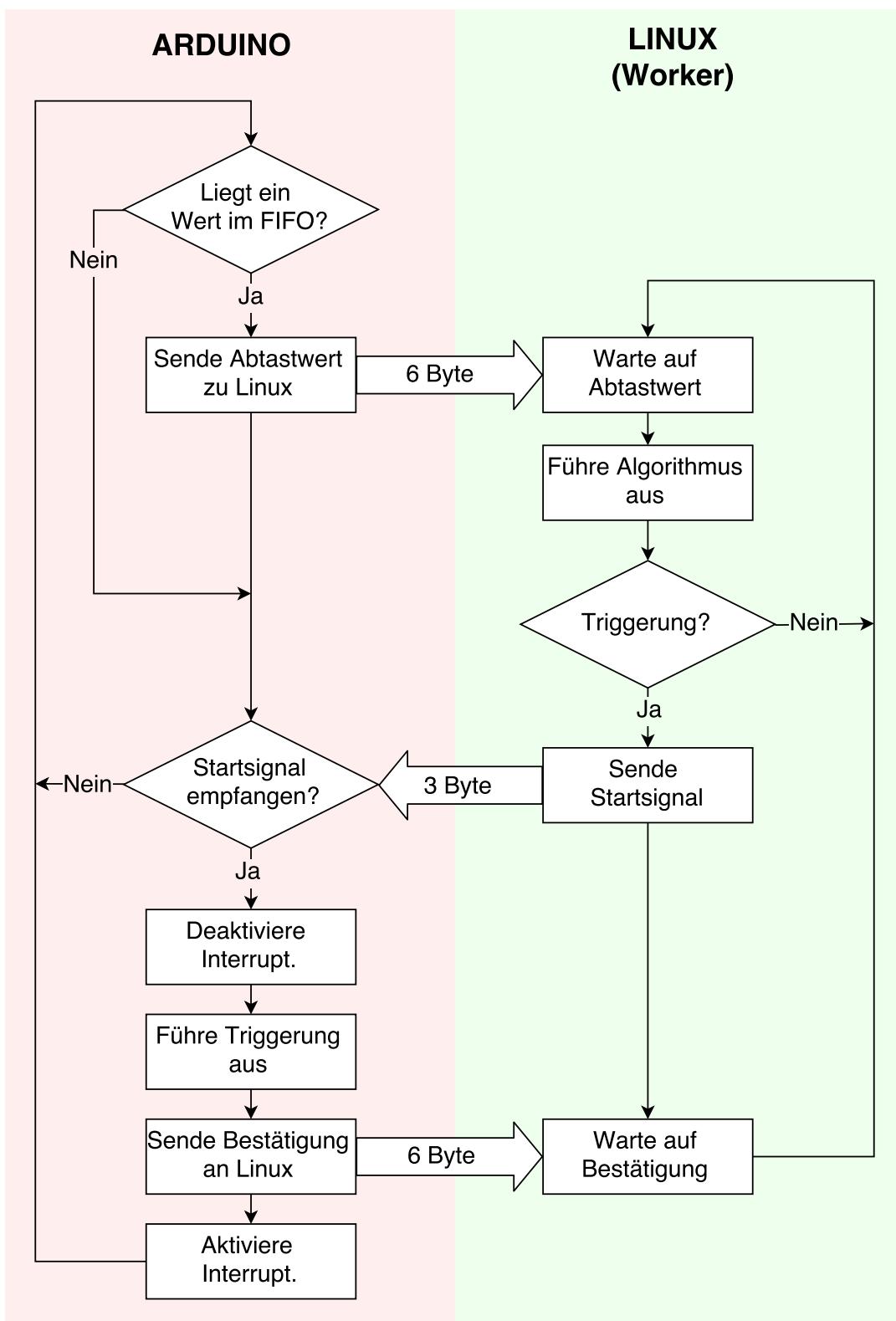


Abbildung H.1: Ablaufdiagramm der EKG Aufnahme auf dem Arduino und Verarbeitung durch den Worker auf dem Linux-System.

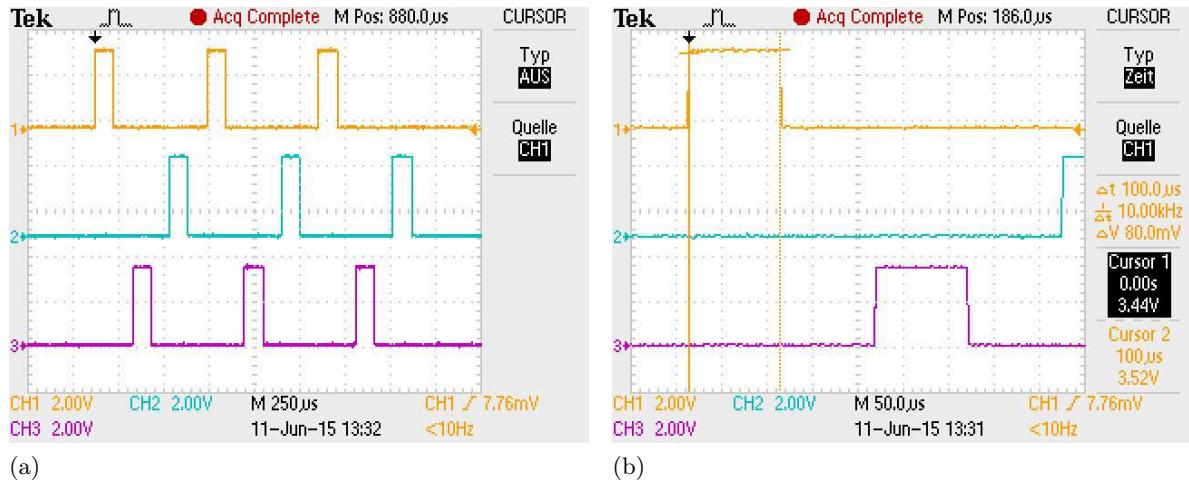


Abbildung H.2: Screenshots des Tektronix TDS 2014B Oszilloskops: (a) Abgabe von neun Pulsen auf drei Ausgangsleitungen mit einer Länge und einem Abstand von  $100\text{ }\mu\text{s}$ ; (b) Messung der Pulslänge mit der Cursor-Funktion des Oszilloskops.

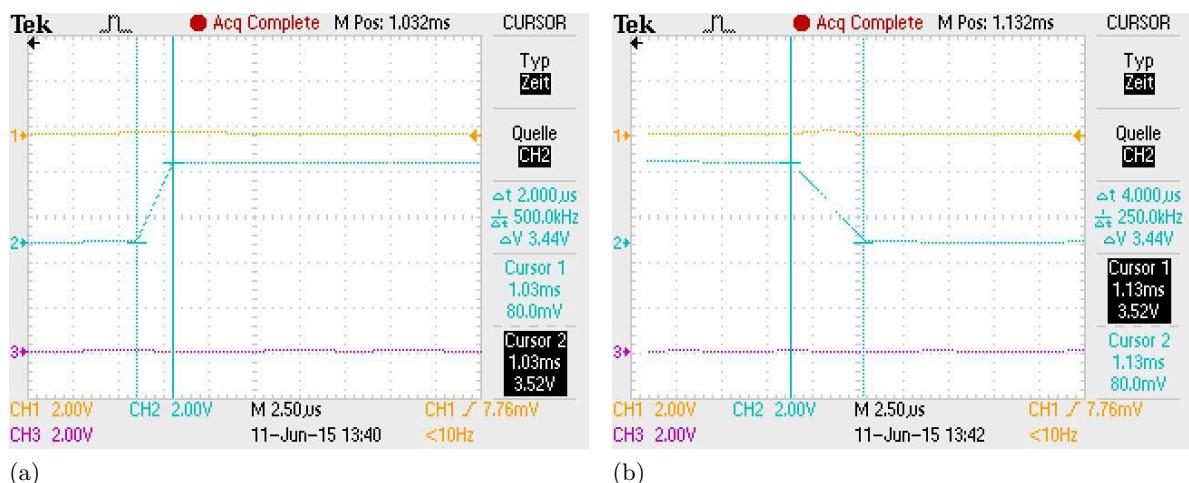


Abbildung H.3: Screenshots des Tektronix TDS 2014B Oszilloskops: Messung der Dauer der steigenden (a) und fallenden (b) Flanken des Ausgangssignals.

## Experiment zur Übertragungszeit

Die Signalverarbeitung soll in Echtzeit erfolgen. Die benötigte Zeit der Analog-Digital-Wandlung und der Prozessorkommunikation über die serielle Verbindung muss daher berücksichtigt werden. Zur Messung dieser Zeiten wurde folgendes Experiment durchgeführt:

1. Setze Ausgangspin 1 des Arduino auf HIGH.
2. Lese Spannungswert auf dem Arduino (Analog-Digital-Wandlung).
3. Sende eine sechs Byte große Nachricht an den Cortex-A9.
4. Setze Ausgangspin 2 vom Cortex-A9 auf HIGH, sobald die Nachricht angekommen ist.
5. Lese die Nachricht und sende eine drei Byte große Nachricht an den Arduino.
6. Setze unmittelbar danach den Ausgangspin 2 vom Linux-System auf LOW.
7. Setze Ausgangspin 1 vom Arduino auf LOW, wenn die Nachricht angekommen und verarbeitet ist.

Durch dieses Experiment kann die Kommunikation und die Signalaufnahme simuliert werden. Es findet keine Signalverarbeitung statt, sondern nur die Prozessorkommunikation. Abbildung H.4 zeigt die Messung an den beiden Ausgangspins mit einem Oszilloskop. In (a) ist die Einordnung der Messung in das Experiment zu sehen. Da die serielle Verbindung eine Pufferung besitzt, ist die gemessene Zeit nicht konstant. Es wurde daher mit der Nachwischfunktion des Oszilloskops gearbeitet (b). Zu sehen ist, dass die maximale Zeit der Analog-Digital-Wandlung und der Prozessorkommunikation bei 656,0  $\mu$ s liegt. Auf Grund der Unsicherheiten der Pufferung sollte mit einer Toleranz gearbeitet werden. Zur Evaluierung wird daher für die Prozessorkommunikation mit  $t_{PK} < 1$  ms gerechnet.

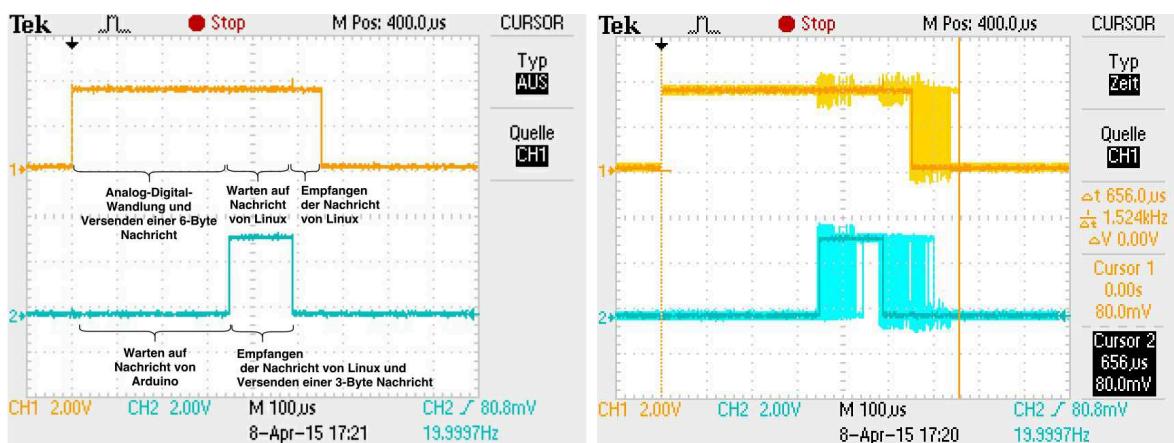
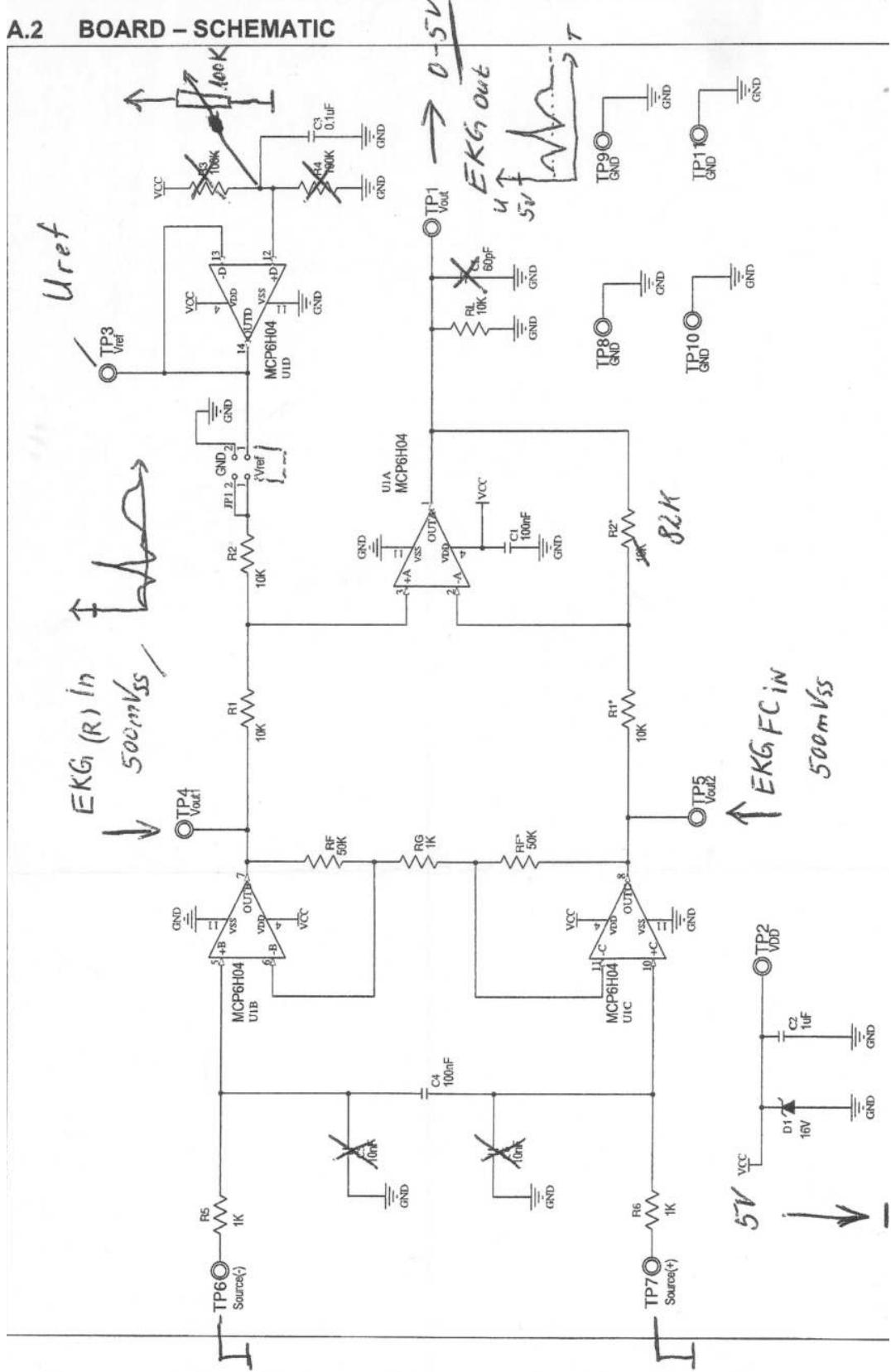


Abbildung H.4: Screenshots des Tektronix TDS 2014B Oszilloskops. Links: Messung der Ausgangspins des Arduino (oben) und Cortex-A9 (unten), vgl. Kap. H; Rechts: Messung der maximalen Dauer im Cursor-Modus mit Nachwischen.

## **Schaltplan Erweiterung Siemens Megacart**

Mit der Schaltung aus Abbildung H.5 wurde in einem Siemens Megacart 9657578 (Schaltplan und Signalabgriff vgl. Abb H.6) ein analoger Anschluss ergänzt, der ein für den AD-Konverter des UDOO Boards optimiertes Signal von 0 bis 5 V ausgibt. Gleiche Schaltung wird auch verwendet, um den vorhandenen analogen Ausgang des Accusync 72 ECG Trigger Monitors von  $\pm 2,5$  V um 2,5 V auf ebenfalls 0 bis 5 V anzuheben.

## A.2 BOARD - SCHEMATIC



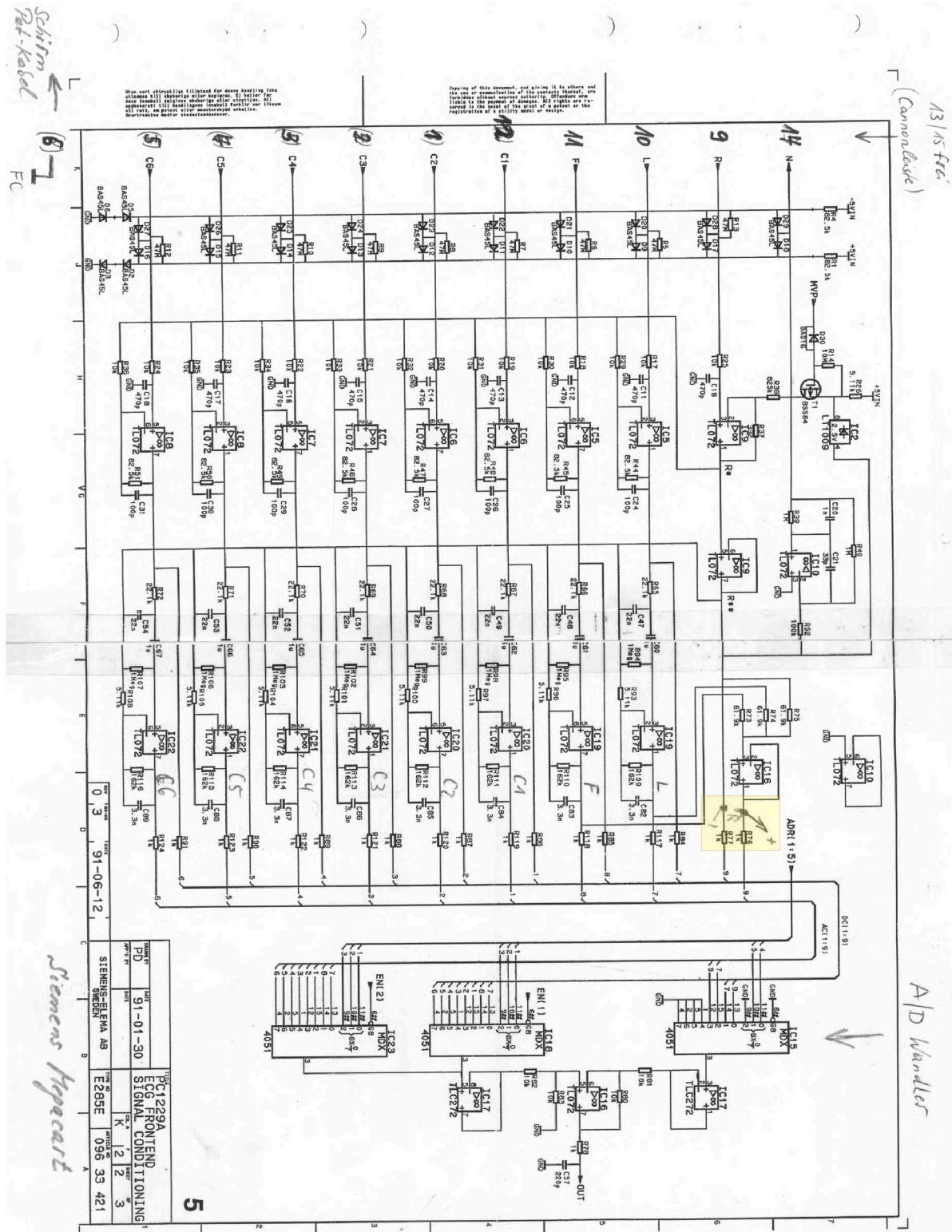


Abbildung H.6: Schaltplan Siemens Megacart, der Abgriff des EKG-Signals ist gelb hinterlegt.

# I Zahlenwerte zur Variation des Permittivitätsverhältnisses in Kap. 7.2

Permittivität	$N_{T,\text{unp}}$	$N_{R,\text{unp}}$	$N_{R,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{irrev}}$	$N_{G,\text{rev}}$	Güte
$\epsilon_{r,\text{Leber},5k} = 42672$	0	0	22588	7373	38132	90.4507
$\epsilon_{r,\text{Tumor}1} = 43525$	(0 %)	(0 %)	(71.5535 %)	(23.3559 %)	(120.793 %)	
$\epsilon_{r,\text{Leber},5k} = 42672$	0	0	22592	7373	38132	90.4506
$\epsilon_{r,\text{Tumor}2} = 45659$	(0 %)	(0 %)	(71.5661 %)	(23.3559 %)	(120.793 %)	
$\epsilon_{r,\text{Leber},5k} = 42672$	0	0	22532	7361	38096	90.4628
$\epsilon_{r,\text{Tumor}3} = 47792$	(0 %)	(0 %)	(71.3761 %)	(23.3179 %)	(120.679 %)	
$\epsilon_{r,\text{Leber},5k} = 42672$	0	0	22588	7381	38128	90.4482
$\epsilon_{r,\text{Tumor}4} = 49926$	(0 %)	(0 %)	(71.5535 %)	(23.3813 %)	(120.781 %)	
$\epsilon_{r,\text{Leber},5k} = 42672$	0	0	22540	7361	38096	90.4625
$\epsilon_{r,\text{Tumor}5} = 52059$	(0 %)	(0 %)	(71.4014 %)	(23.3179 %)	(120.679 %)	

Tabelle I.1: Variation des Verhältnisses der Permittivitäten von gesundem und tumorösem Lebergewebe  $\frac{\epsilon_{r,\text{Leber},5k}}{\epsilon_{r,\text{Tumor}X}}$  mit den Werten 1,02; 1,07; 1,12; 1,16; 1,22 [Ort15]



---

## Persönliche Daten

Andreas Ritter  
Geboren am 05.09.1979 in Rheinbach

## Beruflicher Werdegang

seit 10/2016	Healthcare IT Projektmanagement sowie Forschung in der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Uniklinik RWTH Aachen
11/09 - 10/16	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Angewandte Medizintechnik (AME), Uniklinik RWTH Aachen, Arbeitsgruppe Biophysical & Education Engineering (BEE)
05/08 - 09/09	Studentische Hilfskraft am Fraunhofer IPA, Stuttgart
05/06 - 07/07	Studentische Hilfskraft am Philips Lehrstuhl für Medizinische Informationstechnik (MedIT), RWTH Aachen
11/05 - 04/06	Studentische Hilfskraft am Institut für Zellbiologie, Uniklinik Aachen

## Hochschulausbildung

04/10 - 05/17	Dissertation am Institut für Hochspannungstechnik (IFHT) in Kooperation mit dem Institut für Angewandte Medizintechnik (AME), RWTH Aachen
01 - 07/09	Diplomarbeit „Entwicklung einer Lichtquelle für die intraoperative, endoskopische Tumordiagnostik“ am Fraunhofer IPA, Stuttgart
05 - 12/05	Studienarbeit „Aufbau und experimenteller Einsatz eines neuen Elektrodenstems zur induzierten Eiskeimbildung bei der Kryokonservierung“ am Institut für Zellbiologie der Uniklinik RWTH Aachen
03/05 - 07/09	Fachstudium der Elektrotechnik mit Schwerpunkt Medizintechnik an der RWTH Aachen
10/00 - 03/05	Grundstudium der Elektrotechnik an der RWTH Aachen

## Schulbildung

1990-1999	Städtisches Gymnasium, Rheinbach (LK Mathematik, Physik)
1986-1990	Grundschule Sürster Weg, Rheinbach

Aachen, August 2017