

Aus dem Charité Centrum 6 für Diagnostische
und Interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Renale Sympathikolyse durch CT-gesteuerte periarterielle Applikation
von Vincristin und Guanethidin im Schwein zur Evaluation innovativer
Therapieoptionen bei therapierefraktärer arterieller Hypertonie

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ricardo Donners

aus Berlin

Datum der Promotion: 26.02.2016

Danksagung

Herrn PD Dr. Florian Streitparth danke ich für die Überlassung des Promotionsthemas und die Möglichkeit, diese Arbeit am Charité Centrum 6 für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin der Medizinischen Fakultät Charité durchführen zu können. Ferner bedanke ich mich für die fortwährende Beratung und Korrekturen.

Herrn Dr. Patrick Freyhardt danke ich für die Betreuung und gute Zusammenarbeit im Rahmen der Versuchsdurchführung.

Herrn Prof. Ulrich Speck und Herrn Dr. Ulrich Bernhardt danke ich für die Bestimmung des Noradrenalins im Nierenparenchym im Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH sowie für die stets freundliche und sehr zügige Beantwortung meiner zahlreichen Fragen

Frau Janni Breinl, Frau Dr. Nicola Stolzenburg und Frau Dr. Akville Häckel danke ich für die Einweisung und stets kollegiale Zusammenarbeit im Labor der experimentellen Radiologie der Charité.

Herrn Dr. Jan Leo Rinnenthal und Frau Vera Wolf vom Institut für Neuropathologie der Charité danke ich für die immer freundliche Zusammenarbeit im Rahmen der Färbung und Auswertung der histopathologischen Präparate sowie Beantwortung von darüberhinausgehenden Fragen.

Frau PD Dr. Juliane Unger, Frau Martina Zimmermann und Frau Cora Entes danke ich für die Einarbeitung im Tierhaus der tierexperimentellen Einrichtung der Charité und Hilfestellung im Umgang mit den Versuchstieren. Mein Dank gilt auch den Tierpflegern, welche die Versuchsschweine betreut haben.

Besonderer Dank gilt Frau Alexandra Riemert für die über alle Maßen freundliche Zusammenarbeit im Rahmen der Versuchsdurchführung und darüber hinaus.

Schließlich bedanke ich mich bei meinen Eltern für ihre fortwährende Unterstützung und großem Interesse an meiner Arbeit.

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	6
1 Abstrakt	8
1.1 Deutsch	8
1.2 Englisch	10
2 Einleitung	11
2.1 Arterielle Hypertonie	11
2.1.1 Therapieresistente arterielle Hypertonie	12
2.1.2 Blutdruckregulation - Einfluss des renalen Sympathikus	13
2.2 Therapie der arteriellen Hypertonie	18
2.2.1 Konventionelle Therapie	18
2.2.2 Minimalinvasive Therapieoptionen.....	19
2.3 Renale Denervation	21
2.3.1 Katheter-basierte renale Denervation.....	21
2.3.2 Nicht-Katheter-basierte renale Denervation.....	27
2.4 Arbeitshypothese und Zielstellung	28
3 Methodik	29
3.1 Studiendesign.....	29
3.2 Material.....	29
3.2.1 Versuchstiere und Haltung	29
3.2.2 Substanzen zur renalen Denervation	30
3.3 Methoden.....	32
3.3.1 Interventionsvorbereitung, Narkose und präinterventionelle Bildgebung	32
3.3.2 Intervention – CT-gesteuerte periarterielle Injektion und postinterventionelle Bildgebung	35
3.3.3 Verlaufskontrollen.....	38

Inhaltsverzeichnis

3.3.4	Euthanasie und Organentnahme.....	39
3.3.5	Bestimmung des Noradrenaliningehaltes im Nierengewebe.....	41
3.3.6	Histopathologische Aufarbeitung.....	42
3.3.7	Blutdruckmessung.....	45
3.3.8	Statistik.....	45
4	Ergebnisse.....	46
4.1	Allgemeine Daten.....	46
4.2	Technische Durchführbarkeit.....	46
4.3	Sicherheit und Komplikationen.....	52
4.4	Effektivität - Noradrenalinwerte.....	54
4.4.1	Vincristin-Gruppe.....	54
4.4.2	Guanethidin-Gruppe.....	57
4.5	Histopathologische Auswertung.....	59
4.5.1	Vincristin-Gruppe.....	64
4.5.2	Guanethidin-Gruppe.....	69
4.6	Blutdruck.....	70
4.6.1	Vincristin-Gruppe.....	70
4.6.2	Guanethidin-Gruppe.....	72
4.7	Ergebnisübersicht.....	74
5	Diskussion.....	76
5.1	Grundsätzliche Überlegungen.....	76
5.2	Bewertung der Materialien und Methoden.....	76
5.2.1	Das Schweinemodell.....	76
5.2.2	Noradrenalin Bestimmung.....	77
5.2.3	Histopathologische Aufarbeitung.....	78
5.2.4	Blutdruckmessung.....	78

Inhaltsverzeichnis

5.3	Bewertung der Ergebnisse	78
5.3.1	Technische Machbarkeit CT-gesteuerter perkutaner renaler Denervation	78
5.3.2	Sicherheit.....	79
5.3.3	Effektivität von Vincristin.....	80
5.3.4	Effektivität von Guanethidin	84
5.3.5	Vor- und Nachteile der CT-gesteuerten perkutanen renalen Denervation	89
5.4	Limitationen der Arbeit	92
5.5	Schlussfolgerung	95
5.6	Ausblick.....	96
6	Literaturverzeichnis.....	97
7	Tabellenverzeichnis.....	107
8	Abbildungsverzeichnis	108
	Eidesstattliche Versicherung	113
	Lebenslauf	115

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
aHTN	arterielle Hypertonie
ASA	American Society of Anesthesiology
AT	Angiotensin
CCM	Charité Campus Mitte
CT, das	Computertomogramm
CT, die	Computertomografie
CVK	Charité Virchow Klinikum
ENaC	epithelialer Natriumkanal
EvG	Elastica van Gieson
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie
HE	Hämalaum Eosin
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MIP	Maximumintensitätsprojektion
MRT	Magnetresonanztomografie
MwSt.	Mehrwertsteuer
NA	Noradrenalin

Abkürzungsverzeichnis

NO	Stickstoffmonoxid
NSE	Neuronenspezifische Enolase
OCT	Optical Coherence Tomography
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RBF	Renaler Blutfluss
RFA	Radiofrequenzablation
SV	Schlagvolumen
TPR	Totaler peripherer Widerstand
V.	Vena
VNS	vegetatives Nervensystem

1 Abstrakt

1.1 Deutsch

Einleitung: 30 – 40 % der Erwachsenen in Industrieländern weisen eine arterielle Hypertonie auf. Von einem weiteren Anstieg der Prävalenz ist auszugehen. Trotz gravierender Langzeitfolgen und einer Verdopplung der Mortalität bei einem Blutdruckanstieg um 20/10 mmHg ist nur ein geringer Anteil der Patienten suffizient eingestellt. 12 – 50 % aller Patienten gelten als therapierefraktär. Die renale Denervation mittels Katheter-basierter Radiofrequenzablation stellt ein innovatives und vielversprechendes Therapieverfahren für diese Patientengruppe dar. Die Wirksamkeit wurde jedoch in aktuellen Studien kontrovers diskutiert. Dies bereitet Wege für alternative Methoden der renalen Denervation.

Ziel dieser Arbeit ist die Evaluation der Machbarkeit, Sicherheit und Effektivität der renalen Denervation durch perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin.

Methoden: An jeweils sechs Schweinen erfolgte unter Vollnarkose eine CT-gesteuerte perkutane Injektion von 0,1 mg Vincristin oder 90 mg Guanethidin unilateral um eine Nierenarterie. Die Gegenseite diente als Kontrolle. Blutdruckmessungen und abdominale CT-Scans wurden prä- und postinterventionell und nach zwei Wochen vor Euthanasie durchgeführt. Der Noradrenalinegehalt der Nieren wurde als funktioneller Parameter der Sympathikolyse bestimmt. Die Nierenarterien und umgebende Strukturen wurden mikroskopisch auf histomorphologische Korrelate renaler Denervation und Nebenwirkungen untersucht.

Ergebnisse: Mit einer Ausnahme in der Guanethidin-Gruppe konnte bei allen Schweinen eine technisch erfolgreiche Substanzapplikation um die Nierenarterie durchgeführt werden. Für die mit Vincristin behandelten Nieren wurde ein mittlerer Noradrenalinabfall von 53 % ($p < 0,01$) gegenüber den Kontrollen nachgewiesen. Alle mit Vincristin behandelten Nierenarterien zeigten histomorphologisch eine nervale Degeneration. In der Guanethidin-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede des Noradrenalinegehaltes oder der Histomorphologie zwischen behandelter und unbehauelter Seite nachgewiesen werden. Insgesamt gab es keine postinterventionellen Komplikationen. Weder makroskopisch noch mikroskopisch ließen sich interventionsbedingte unerwünschte Nebenwirkungen nachweisen.

Schlussfolgerung: Die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Substanzapplikation ist ein technisch praktikables und sicheres Verfahren. Die Applikation von Vincristin war effektiv

Abstrakt

im Sinne der renalen Denervation. Die vorgestellte Technik kann eine vielversprechende Alternative zu Katheter-basierten Methoden darstellen. Weitere Untersuchungen in Tierversuchen und am Menschen mit Evaluation der Langzeitverläufe sind notwendig.

1.2 Englisch

Introduction: 30 – 40 % of the adult-population in industrialized countries suffer from arterial hypertension. This number will increase in the near future. Despite severe consequences and a doubling in mortality through an increase in blood pressure by 20/10 mmHg a large group of patients lack sufficient therapy. 12 – 50 % suffer from resistant hypertension. Renal denervation through catheter-based radio frequency ablation is an innovative and promising option for those patients. However, its efficacy has been questioned in the latest findings of current studies. Hence, alternative techniques are of great interest.

The purpose of this study was to evaluate the feasibility, safety and efficacy of renal denervation through percutaneous periarterial delivery of vincristine and guanethidine.

Methods: 12 pigs underwent the CT-guided needle placement and consecutive unilateral application of either 0,1 mg vincristine or 90 mg guanethidine to one renal artery under general anesthesia. Measurement of blood pressure and abdominal CT-scans were done pre- and post-intervention as well as two weeks later prior to euthanasia. The levels of noradrenalin within the renal tissue was determined as an indicator for successful sympathicolyses. Furthermore the renal artery was examined histologically to identify evidence of renal denervation and damage to the artery itself and its surrounding tissue.

Results: In all but one pig of the guanethidine group, successful substance delivery to the renal artery was performed. In vincristine-treated pigs there was a mean drop of 53 % ($p < 0,01$) of noradrenalin levels, in comparison between the treated and untreated sides. Histological evidence of renal denervation could be found in all vincristine-treated pigs accordingly. There was no significant reduction in noradrenalin levels in guanethidine-treated pigs, neither was there any evidence of histological renal denervation. There were no serious adverse events nor was there any sign of damage to the renal artery or surrounding tissue under histopathological assessment.

Conclusion: Percutaneous periarterial CT-guided substance application is safe, feasible and in the case of vincristine, effective. It could be a promising alternative to catheter-based approaches on renal denervation. However, further research in animal and human studies is necessary to evaluate long-time effects.

2 Einleitung

2.1 Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie (aHTN) stellt eine der größten Herausforderungen der modernen Medizin dar: sie gilt als führender Risikofaktor für Morbidität und Mortalität weltweit.¹ 30 – 40 % der Erwachsenen in Industrieländern sind betroffen.²⁻⁴ Circa 7,5 Millionen Tode pro Jahr weltweit sind ursächlich auf die aHTN zurückzuführen.^{5,6} Aufgrund des demografischen Wandels der Bevölkerung und der Zunahme der allgemeinen Lebenserwartung wird die Prävalenz und Relevanz der Therapie der aHTN in den kommenden Jahren weiter zunehmen.⁷ Eine Hochrechnung aus dem Jahr 2000 schätzt, dass im Jahr 2025 1,56 Milliarden Patienten an aHTN leiden werden.⁸

Die Ursachen für die Entstehung von aHTN sind vielfältig. In 5 - 10 % der Fälle kann ein pathogenetisches Korrelat gefunden werden.⁹ Hier spricht man von sekundärer Hypertonie. Diese lässt sich oft durch direkte Behandlung der Ursache kurativ therapieren. Aufgrund dessen ist eine gründliche Diagnostik vor allem bei jungen Patienten zwingend erforderlich.³ Ursachen sekundärer Hypertonie lassen sich grob in renale, endokrine, neurologische, vaskuläre und exogene Auslöser unterteilen. Weitere Ursachen sind beispielsweise Schwangerschaft, Stress und das obstruktive Schlaf-Apnoe-Syndrom.⁹

Im Gegensatz dazu steht die primäre oder auch essentielle Hypertonie. Diese macht mit 90 - 95 % die deutliche Mehrheit an Hypertonikern aus.⁹ Anders als bei der sekundären Form lässt sich in der Diagnostik kein Auslöser finden. Risikofaktoren für die Entstehung einer essentiellen Hypertonie sind hohes Alter, Fettleibigkeit, hoher Salzkonsum, chronische Nierenerkrankungen, Diabetes mellitus, linksventrikuläre Hypertrophie und weibliches Geschlecht.¹⁰ Zusätzlich wird von einer genetischen, erblichen Komponente ausgegangen.¹¹ Die Patienten zeigen zumeist keine akute Symptomatik und bleiben lange Zeit beschwerdefrei. Dies macht die aHTN potenziell gefährlich, da sie lange unerkannt bleibt.

Zu den Langzeitfolgen von aHTN zählen Endorganschäden, verursacht durch die erhöhte hämodynamische Belastung. Diese führt unter anderem zur hypertensiven Vaskulopathie – einer im Zuge der erhöhten Gefäßbelastung entstehenden endothelialen Dysfunktion.¹² Chronische Einwirkung erhöhter Scherkräfte führt zu einem Umbau der großen und kleinen arteriellen Gefäße. Erhöhte Wandsteife ist die Folge. Ferner werden die antithrombotischen Eigenschaften des Endothels gemindert.¹³ Das Risiko für Aneurysma- und Plaquebildung

Einleitung

wird erhöht. Die Koronarreserve sinkt.¹⁴ Als weitere Folge der Hypertonie gilt die hypertensive Herzkrankheit. Hierbei kommt es zu strukturellen sowie funktionellen Veränderungen am Organ: durch die erhöhte Nachlast hypertrophiert der linke Ventrikel. Langfristige Folge dieser zunächst asymptomatischen Veränderung ist die dilatative Kardiomyopathie. Ferner ist das Risiko für das Entstehen von Kammerflimmern und Thrombusbildung erhöht.¹⁴ Zerebrovaskuläre Folgen der aHTN stellen lakunäre Infarkte und diffuse Läsionen im Marklager als Ausdruck der Mikroangiopathie dar.¹² AHTN ist der häufigste mit Schlaganfall assoziierte Risikofaktor. In diversen Studien konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion des Blutdruckes das Schlaganfallrisiko signifikant reduziert.^{15,16} Weitere durch die Mikroangiopathie verursachte Folgen der aHTN sind die hypertensive Nephropathie und Retinopathie.¹⁴ Abbildung 1 fasst die Folgen der aHTN zusammen. Bei initialer Manifestation sind die Patienten zumeist beschwerdefrei.

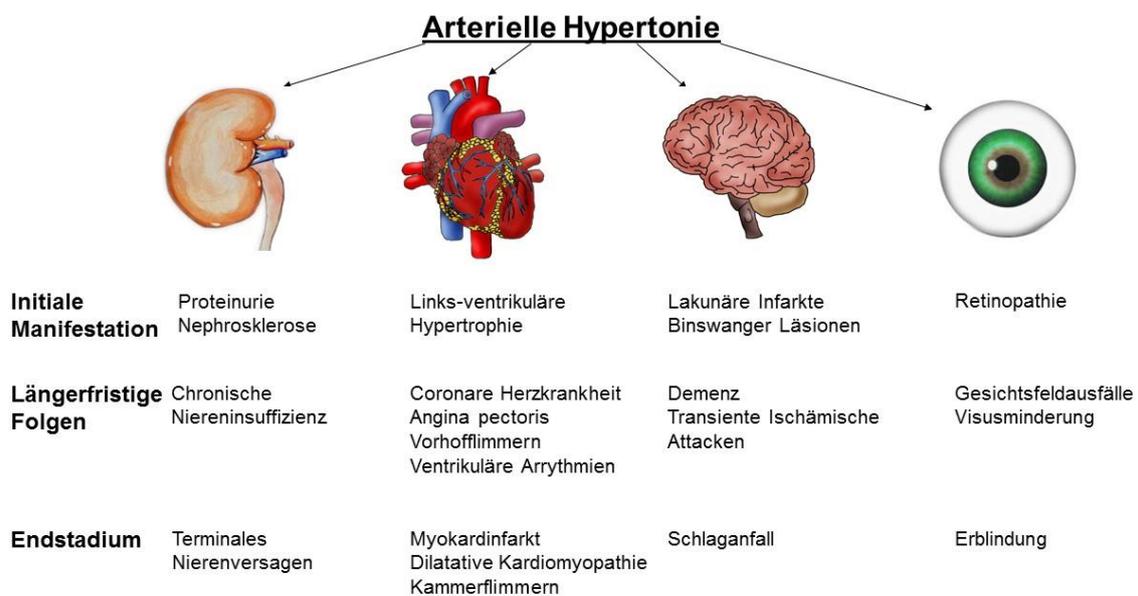


Abbildung 1: Folgen arterieller Hypertonie an Niere, Herz, Gehirn und Auge¹², die Abbildung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit in der Darstellung der Folgen arterieller Hypertonie auf den menschlichen Organismus

Studien zufolge verdoppelt sich bei einem Anstieg des arteriellen Blutdruckes um 20/10 mmHg die Mortalität durch Apoplex, ischämische Herzerkrankungen und andere vaskuläre Ursachen.¹⁵

2.1.1 Therapieresistente arterielle Hypertonie

Trotz einer Vielzahl an Behandlungsmöglichkeiten und dem Wissen über die Langzeitfolgen einer bestehenden aHTN ist ein Großteil der Hypertoniker unzureichend eingestellt. Studien

Einleitung

zufolge befinden sich lediglich 5 – 30 % der aHTN-Patienten in ihrem den Leitlinien entsprechendem Zielwertebereich von <140/90 mmHg, bzw. <130-139/80-89 mmHg bei Diabetikern oder <130/80 mmHg bei chronischer Nierenerkrankung.^{2,17,18}

Bei diesen Patienten mit unkontrollierter aHTN lässt sich zwischen echter therapierefraktärer aHTN und sogenannter Pseudoresistenz unterscheiden.¹⁹ Letztere besteht bei mangelnder Compliance in der Medikamenteneinnahme, schlechtem oder unpassendem Therapieregime oder situativem Bluthochdruck wie bei der Weißkittelhypertonie.³ Vor allem Patienten unter polypharmakologischer Therapie neigen zu mangelnder Compliance.²⁰ Die Therapieeinhaltung ist aufgrund der Abwesenheit von Symptomen in den meisten Fällen erschwert. Ferner ist nicht bei allen Patienten das Bewusstsein gegeben, dass nach Erreichen des Zielblutdruckes eine weitere Therapie zur Aufrechterhaltung der erreichten Blutdrucksenkung unabdinglich ist.

Echte therapierefraktäre aHTN definiert sich durch erhöhte, nicht den Leitlinien entsprechenden Blutdruckwerte, trotz der Einnahme von drei Antihypertensiva in maximaler Dosis oder der maximalen vom Patienten tolerierten Dosis inklusive eines Diuretikums.^{3,21} Patienten, welche mit vier oder mehr Antihypertensiva gut eingestellt sind, fallen also auch unter diese Definition.

Die genaue Prävalenz der therapierefraktären aHTN ist nicht bekannt.^{3,19} Eine Übersichtsarbeit kam durch Auswertung der National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), Framingham Heart Study und Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) zu dem Schluss, dass therapierefraktäre Hypertonie nicht selten sei.^{3,22-25} Die in der Literatur angegebenen Prozentzahlen für den Anteil von therapierefraktären unter allen Bluthochdruck-Patienten liegen zwischen 12 % und 50 %.²⁶ In Studien konnte ein prozentualer Anstieg von unkontrollierten Hypertonikern gezeigt werden, je mehr Risikofaktoren die Patienten aufwiesen. So befanden sich 53 % der Patienten der NHANES Studie im Zielbereich von unter 140/90 mmHg, aber lediglich 25 % der Diabetiker in ihrem angepassten Zielbereich.³ Die Prävalenz von durch aHTN verursachten Folgeschäden ist bei Patienten mit therapierefraktärer aHTN signifikant höher als bei suffizient eingestellten Patienten.²⁷

2.1.2 Blutdruckregulation - Einfluss des renalen Sympathikus

Der arterielle Blutdruck ist eine sensible Regelgröße im menschlichen Organismus. Die Regulation erfolgt über mehrere Stellglieder und ist in ihrer Gesamtheit nur schwer

Einleitung

darstellbar. Der Druck selbst ergibt sich aus dem Produkt von Herzzeitvolumen (HZV) und dem Totalperipherem Widerstand (TPR) im Gefäßsystem. Ersteres wiederum ist das Produkt aus Herzfrequenz (HF) und Schlagvolumen (SV). Die HF selbst unterliegt vor allem parasymphatischen und sympathischen Einflüssen aus dem vegetativen Nervensystem (VNS). Dies ermöglicht eine unmittelbare Anpassung an den jeweiligen Perfusionsbedarf des Organismus. Das SV ist abhängig von der Kontraktilität des Herzens und dem venösen Rückstrom. Analog zur HF wird die Kontraktilität vor allem durch das VNS moduliert. Ein erhöhter Sympathikotonus bewirkt eine Zunahme und erhöhter Parasympathikotonus eine Abnahme von Kontraktilität und HF. Bei isolierter Betrachtung dieser Parameter und konstantem TPR, resultiert aus deren Anstieg auch ein Anstieg des Blutdruckes. Der venöse Rückstrom ist in erster Linie abhängig vom zur Verfügung stehenden Blutvolumen. Das Blutvolumen wird vor allem über die renale Retention oder Exkretion von Wasser und Natrium sowie Flüssigkeitsaufnahme und -verlust beeinflusst. Der TPR wird im Wesentlichen von der Blutviskosität und der Gefäßweite bestimmt.²⁸ Nach Hagen-Poiseuille ist der Volumenstrom in einem Rohr direkt proportional zur vierten Potenz des Radius. Daraus folgt eine umgekehrte Proportionalität des Widerstands zur vierten Potenz des Radius. Vereinfachend davon ausgehend, dass im Gefäß die gleichen Bedingungen wie in einem Rohr gelten, führt also schon geringe Verminderung des Gefäßdurchmessers zu signifikanter Erhöhung des TPR und letztlich des Blutdruckes. Die Regulation der Gefäßweite erfolgt unter anderem durch direkte Innervation mittels α_1 - und β_2 -Rezeptoren. Ferner wirken eine Reihe von lokal zirkulierenden Faktoren wie Stickstoffmonoxid (NO), Adenosin, Endothelin und Angiotensin (AT) II dilatierend oder konstriktorisch auf die Gefäßmuskulatur.²⁹

Die Niere ist ein wichtiges Stellorgan der kurzfristigen als auch langfristigen Blutdruckregulation. HZV und TPR werden durch die Niere beeinflusst. Die kurzfristige Blutdruckanpassung erfolgt vor allem durch das Peptidhormon „Renin“, welches aus den Zellen des juxtaglomerulären Apparates freigesetzt wird. Dabei handelt es sich um eine Protease, welche den Start einer Reaktionskaskade darstellt und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) aktiviert. Endprodukt dieser Kaskade ist das effektiv wirksame ATII. ATII wirkt direkt vasokonstriktorisch und führt außerdem zur Freisetzung von Aldosteron.³⁰ Die langfristige Regulation erfolgt über die Beeinflussung von Wasser- und Salzretention und -exkretion. Eine erhöhte Retention von beidem führt zu einer Zunahme des Blutvolumens und in der Folge steigen langfristig der venöse Rückstrom sowie HZV und Blutdruck. Einen wichtigen Beitrag hierzu leistet Aldosteron. Über den vermehrten Einbau von epithelialen Natriumkanälen (ENaC) im Sammelrohr führt es zu einer vermehrten

Einleitung

Rückresorption von Natrium und Wasser und letztlich einem erhöhtem Blutvolumen. Die regulatorischen Prozesse der Niere werden durch sympathische Nerven beeinflusst.²⁸

Die unten stehende Abbildung 2 stellt die beschriebenen Mechanismen und Einflüsse der Niere auf die Blutdruckhomöostase grafisch dar.

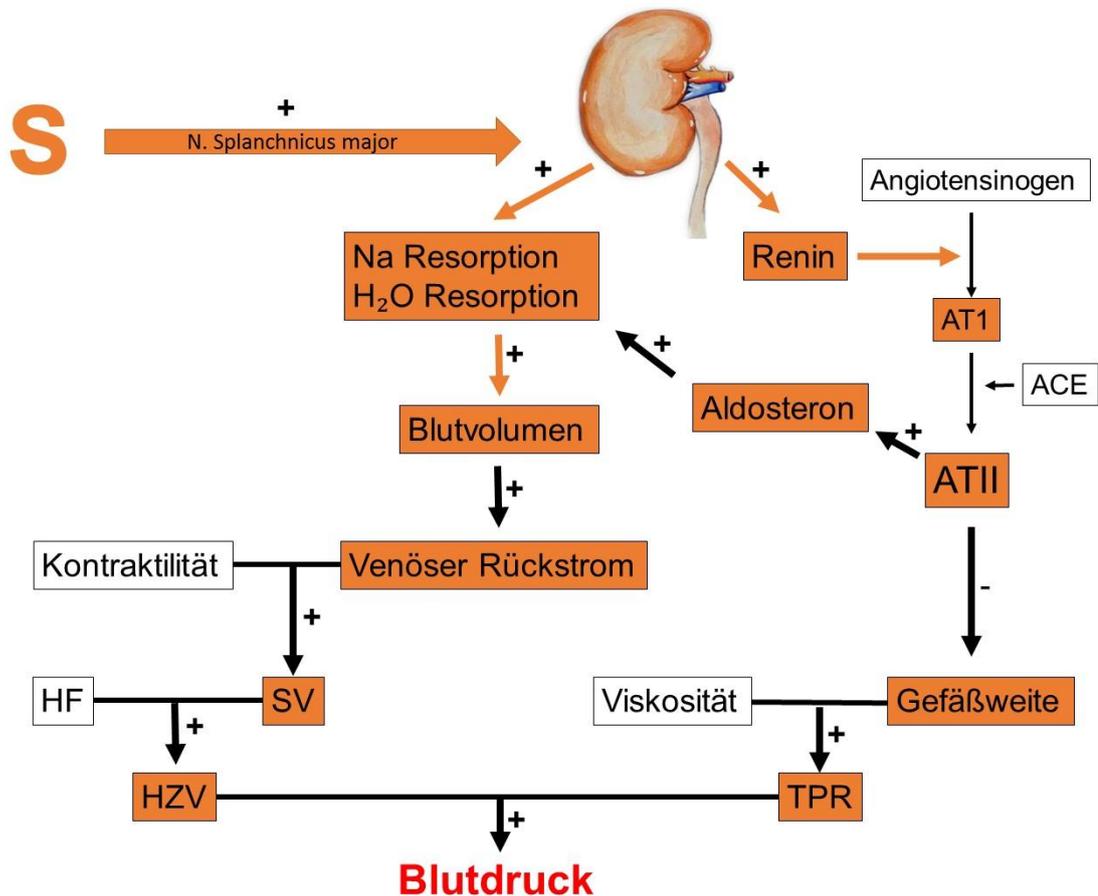


Abbildung 2: Blutdruckregulation - Einfluss renaler sympathischer Efferenzen, orange Pfeile zeigen direkt durch sympathische Efferenzen beeinflusste Schenkel der Blutdruckregulation, orange gefüllte Kästchen zeigen in der Folge durch sympathische Efferenzen beeinflusste Größen, unten stehende Größen ergeben sich aus den darüber stehenden Größen, „+“ bedeutet eine Zunahme, „-“ eine Abnahme im Zuge sympathischer Aktivität, S – Sympathikus, N. – Nervus, ACE – Angiotensin converting enzyme, AT – Angiotensin, Na – Natrium, H₂O – Wasser, SV – Schlagvolumen, HZV – Herzzeitvolumen, HF – Herzfrequenz, TPR – Total peripherer Widerstand

Die Abbildung 2 zeigt auch den Einfluss von über den Nervus splanchnicus major verlaufenden sympathischen Efferenzen auf die Nierenfunktion und in der Folge auf die Blutdruckhomöostase.

Erhöhte sympathische Aktivität an der Niere führt zu erhöhter Reninsekretion, erhöhter Natriumresorption und renaler Vasokonstriktion.³¹ Durch eine Engstellung zuführender renaler Gefäße wird der renale Blutfluss (RBF) durch die Glomeruli gesenkt. Die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) sinkt. Das entsprechende Ausmaß der renalen Antwort ist abhängig vom Grad der sympathischen Aktivität. Bei geringer sympathischer Aktivität wird Renin vermehrt

Einleitung

produziert und ausgeschüttet. Die erste Antwort auf sympathische Aktivität greift also in die Kurzzeitregulation des Blutdruckes ein. Bei Steigerung der sympathischen Aktivität kommt es zusätzlich zur verstärkten Rückresorption von Natrium. RBF und GFR bleiben auf diesem Level unbeeinflusst. Bei maximaler sympathischer Aktivierung folgt eine komplette Antwort der Niere mit Anstieg von Reninsekretion, Antinatriuresis und Antidiuresis durch einen Abfall von GFR und RBF.³¹ Geminderte Aktivität sympathischer Efferenzen an der Niere führt entsprechend zu gegensätzlichen Effekten. Eine Haupthypothese für die Entstehung arterieller Hypertonie ist die Malregulation der eben geschilderten renalen Homöostase durch erhöhte renale sympathische Aktivität.³² So konnten bei Hypertonikern höhere Spiegel von Noradrenalin (NA), als Zeichen erhöhter Sympathikusaktivität, im Vergleich zu normotensiven Patienten nachgewiesen werden.³³ Dies stellt eine Grundlage der Funktionsweise renaler Denervation dar. Aus der Abbildung 2 wird deutlich, dass durch Inhibition sympathischer Einflüsse auf die Niere alle folgenden blutdrucksteigernden Effekte vermieden werden.

Es gilt zu beachten, dass die Abbildung 2 allenfalls eine vereinfachte Darstellung der renalen Einflüsse auf die Blutdruckhomöostase liefert und keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt. Sympathische Afferenzen der Niere sind nicht in Betracht gezogen worden. Diese leiten vor allem mechanosensitive als auch chemosensitive Signale entsprechender Rezeptoren.³⁴ Exzitatorische Reflexe bewirken eine Zunahme sympathischer Aktivität und Blutdrucksteigerung, beispielsweise als Antwort auf eine Nierenverletzung. Über diese Afferenzen wird das zentrale VNS beeinflusst, sodass Auswirkungen auf HF und Kontraktilität des Herzens erfolgen.^{31,35} Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz und arterieller Hypertonie zeigten erhöhte sympathische Nervenaktivität der Muskulatur sowie erhöhten Gefäßwiderstand in der Wadenmuskulatur.³⁶ Durch bilaterale Nephrektomie im Rattenmodell konnte eine Hypertonie beseitigt sowie sympathische Nervenaktivität der Muskulatur und der Widerstand in Gefäßen der Wadenmuskulatur im Rattenmodell reduziert werden.³⁷ So beeinflusst also nicht nur erhöhte Sympathikusaktivität die Nierenfunktion und deren Rolle in der Hypertonie-Entstehung, sondern renale Afferenzen selbst beeinflussen den Sympathikotonus. Diese Wechselwirkung spielt eine wichtige Rolle in der Genese arterieller Hypertonie.^{31,35,38} Dieser Zusammenhang wird in Abbildung 3 verdeutlicht.

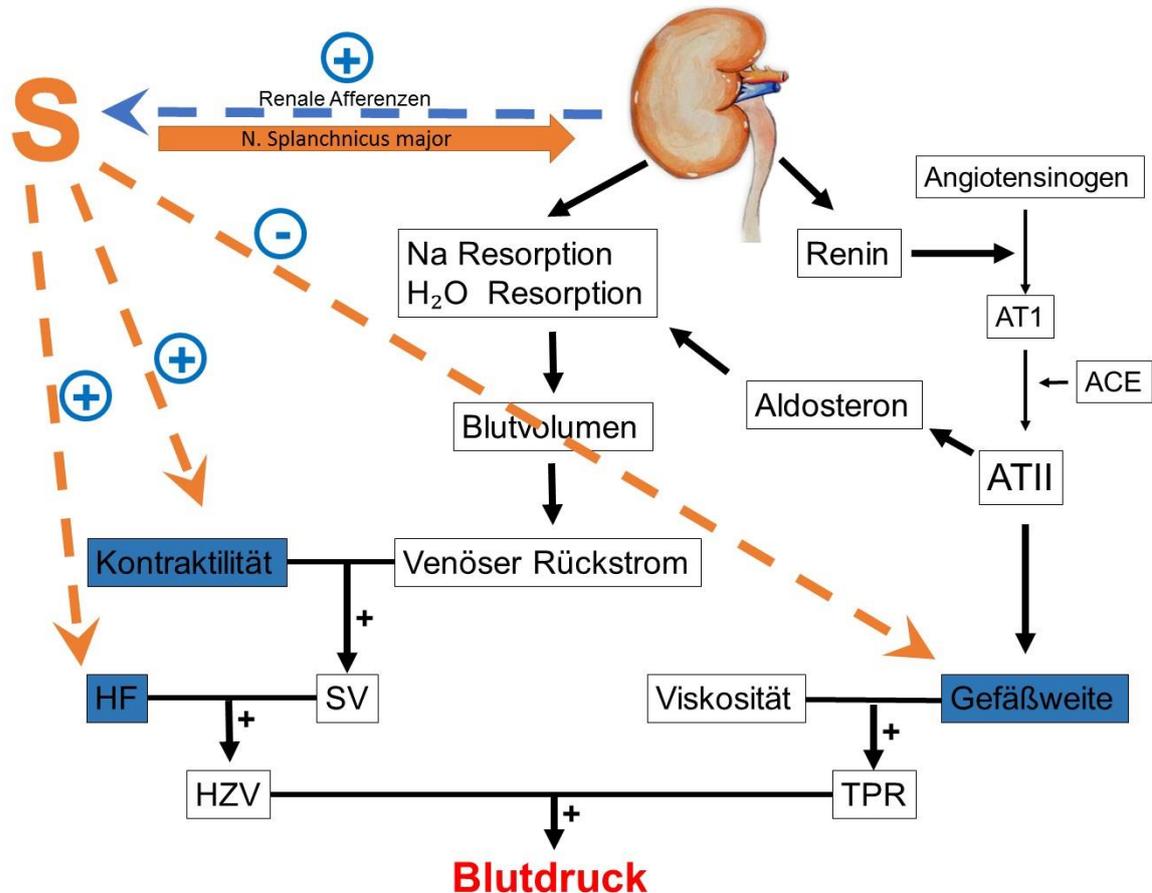


Abbildung 3: Blutdruckregulation – Einfluss renaler sympathischer Afferenzen, blauer gestrichelter Pfeil entspricht renalen sympathischen Afferenzen, orangene gestrichelte Pfeile dem Einfluss des zentralen Sympathikus (S), blau gefüllte Kästchen werden durch renale Afferenzen beeinflusst, „+“ bedeutet eine Steigerung, „-“ einen Abfall der Größe durch Aktivierung sympathischer renaler Afferenzen, es gelten ferner die gleichen Zusammenhänge wie für Abbildung 2, S – Sympathikus, N. – Nervus, ACE – Angiotensin converting enzyme, AT – Angiotensin, Na – Natrium, H₂O – Wasser, SV – Schlagvolumen, HZV- Herzzeitvolumen, HF – Herzfrequenz, TPR – Total peripherer Widerstand

Die renalen Afferenzen führen durch eine zentrale Sympathikusaktivierung über eine Steigerung von Kontraktilität und HF sowie Vasokonstriktion letztlich zu Blutdrucksteigerung. Auch Abbildung 3 erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit in der Darstellung sympathischer Effekte. Der Einfluss verstärkter Sympathikusaktivität auf die Niere selbst und die daraus folgenden Effekte sind in Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2 und Abbildung 3 verdeutlichen den Einfluss renaler sympathischer Efferenzen und Afferenzen auf die Entstehung einer Hypertonie. Die sympathische Denervation der Nieren stellt daher unter pathophysiologischen Gesichtspunkt ein vielversprechendes Verfahren in der Therapie der aHTN dar. Durch dieses Verfahren werden sowohl renale sympathische Efferenzen als auch Afferenzen zerstört. Entgegen allgemeiner Perzeption sind diese Idee und das Verfahren der renalen Denervation als therapeutische Option bei Bluthochdruck keine Erfindung der modernen Medizin. Nicht selektive renale Denervation, in Form von chirurgischer Splanchniektomie, wurde schon vor Entwicklung erster

Antihypertensiva als Therapie durchgeführt.^{39,40} Bereits 1859 konnte Claude Bernard nach Durchtrennung des sympathischen N. splanchnicus major eine ipsilaterale Diurese nachweisen. Im Gegenzug führte ipsilaterale elektrische Stimulation des peripheren Nervenendes zu Antidiurese.³¹ Aufgrund fortschreitender Entwicklung der Pharmakotherapie und intraprozeduralen Mortalitätsraten der zweizeitigen Splanchniektomie bis zu 11 %, wurde das noch 1953 als „Behandlung der ersten Wahl“ bezeichnete Verfahren bald verlassen.³⁹ Kritische Nebenwirkungen traten vor allem in Form von Darm-, Blasen- und erektilen Dysfunktionen auf.^{39,41} Das Konzept der selektiven Sympathikolyse der Niere blieb jedoch weiterhin eine interessante Therapieoption.

2.2 Therapie der arteriellen Hypertonie

2.2.1 Konventionelle Therapie

Als erste therapeutische Maßnahme gilt die Änderung des Lebensstils. Dieser Übergriff umfasst eine Gewichtsreduktion, das Einstellen des Rauchens, eine Verminderung des Alkoholkonsums, körperliche Bewegung, eine Reduktion des Kochsalzkonsums sowie eine insgesamt gesunde Ernährung.⁴² Die antihypertensiven Effekte dieser Maßnahmen sind hinreichend in der Literatur beschrieben.^{43,44}

Die größte Rolle in der aHTN Therapie ist den antihypertensiven Medikamenten zuzuschreiben. Die Mittel der ersten Wahl sind: ACE-Hemmer, Angiotensin-I-Rezeptorantagonisten, Calcium-Antagonisten, Diuretika und β -Rezeptor-Blocker. Diesen Arzneimittelgruppen wird in etwa die gleiche antihypertensive Wirkpotenz zugeschrieben.⁴⁵ Die Auswahl der passenden Medikation für den jeweiligen Patienten erfolgt individuell nach Kriterien wie Alter, Risikoprofil und Komorbiditäten. Besonders zu empfehlen ist die Verwendung von Kombinationspräparaten, da sie die Compliance des Patienten deutlich verbessern.⁴⁶ Abbildung 4 zeigt eine Übersicht über die Auswahl zur Verfügung stehender Antihypertensiva. Sie erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit in der Darstellung aller antihypertensiven Medikamente.

Einleitung

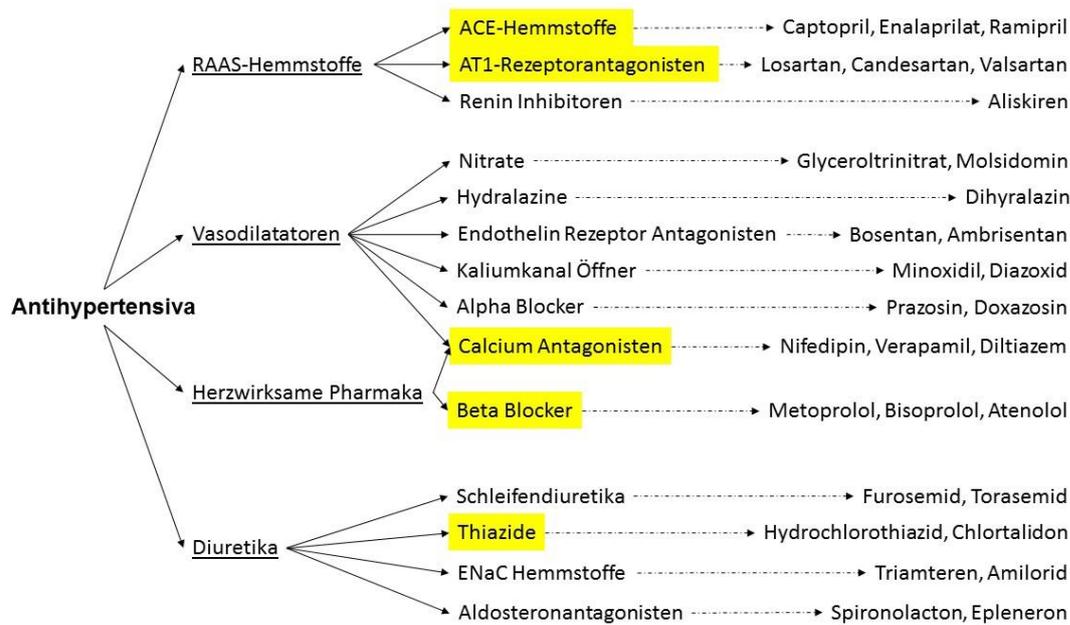


Abbildung 4: Übersicht über verschiedene Antihypertensiva. Unterteilung der vier großen Arzneimittelgruppen der Antihypertensiva in Substanzklassen und Wirksubstanzen von links nach rechts. Die Mittel der ersten Wahl sind gelb hinterlegt. RAAS – Renin – Angiotensin – Aldosteron – System, AT – Angiotensin, ENaC – endothelialer Natriumkanal, Verapamil und Diltiazem wirken auch am Herzmuskel, daher lassen sich Calciumantagonisten zum Teil auch den herzwirksamen Pharmaka zuordnen, Calciumantagonisten vom Dihydropyridin-Typ wie Nifedipin haben keine Wirkung am Herzmuskel

Trotz dieses großen Wirkstoffspektrums ist eine hohe Zahl der Hypertoniker insuffizient eingestellt. Alternative Methoden der Behandlung haben daher eine große Bedeutung. Zusätzlich ist eine Reduktion der täglichen Polypharmakotherapie durch die damit einhergehende Complianceverbesserung von großem Interesse. In diesem Zusammenhang sind nicht-medikamentöse Therapieansätze von großer Relevanz.

2.2.2 Minimalinvasive Therapieoptionen

In den letzten Jahren sind zahlreiche neue Therapiemethoden und Instrumente zur Reduktion des Blutdruckes in der Literatur beschrieben worden. Dies sind u.a. tiefe Hirnstimulation, Instrumenten-gesteuerte Atmungsregulation und Hirnstammchirurgie.⁴⁷ Ein weiteres Verfahren stellt die arterielle Barorezeptorstimulation dar. Nach chirurgischer bilateraler Eröffnung des Carotissinus werden Elektroden direkt in die Adventitia implantiert und über deren elektrische Aktivierung sympathische Signale aus dem zentralen Nervensystem reduziert. In Studien konnten weder die Kriterien für die Sicherheit des Eingriffs noch der primäre Endpunkt signifikanter Blutdrucksenkung erreicht werden, sodass der Stellenwert dieses Verfahrens aktuell als experimentell anzusehen ist.^{47,48} Erprobt wird auch die minimalinvasive Erzeugung eines arteriovenösen Shunts zwischen der Arteria (A.) und Vena (V.) iliaca externa. Ziel ist das Einbeziehen eines Venensegments in den zentralen arteriellen

Einleitung

Kreislauf zur Wiederherstellung der Windkesselfunktion und damit einer unmittelbaren Reduktion des Blutdruckes. In einer im Januar 2015 publizierten randomisierten kontrollierten Studie wurde 42 Patienten mit therapieresistenter aHTN ein arteriovenöser Koppler implantiert. Unter Aufrechterhalten der bestehenden antihypertensiven Therapie konnte gegenüber den Ausgangsblutdruckwerten nach sechs Monaten und im Vergleich zur Kontrollgruppe ein signifikanter Blutdruckabfall gemessen werden. Bei 25 Patienten traten interventionsbedingte unerwünschte Nebenwirkungen auf, darunter Harnverhalt, Anämie und Schmerz. Zwölf Patienten entwickelten eine therapiebedürftige tiefe Venenthrombose proximal der Anastomose binnen des sechsmonatigen Follow-Ups.⁴⁹

Das prominenteste Verfahren der minimalinvasiven aHTN Therapie, welches sich bereits in klinischer Anwendung befindet, ist die renale Denervation, zumeist über Katheter-basierte Radiofrequenzablation (RFA). Die renale Denervation als Behandlungsoption bei aHTN soll in der vorliegenden Arbeit beleuchtet werden. Ziel dieses Therapieansatzes ist es, alle sympathischen renalen Afferenzen und Efferenzen zu zerstören und somit deren hypertensiven Effekte zu unterbinden.

2.3 Renale Denervation

Seit dem Jahr 2009 wurden zahlreiche verschiedene, zum größten Teil minimalinvasive Verfahren zur renalen Denervation als Therapie bei aHTN entwickelt. Diese lassen sich grob in Katheter-basierte und nicht-Katheter-basierte, perkutane Verfahren unterteilen. Abbildung 5 zeigt eine Übersicht über die aktuell zur Verfügung stehenden, teils noch in der experimentellen Erprobung befindlichen minimalinvasiven Therapieansätze.

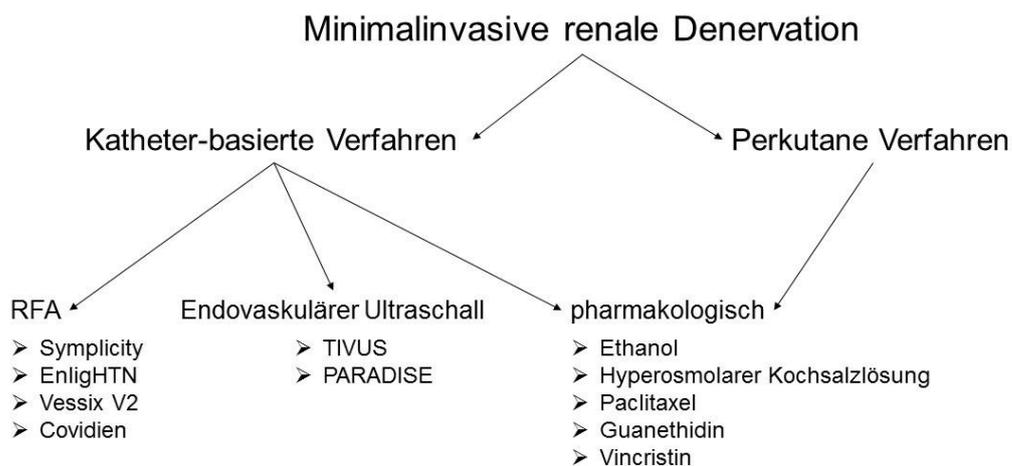


Abbildung 5: Minimalinvasive Verfahren der renalen Denervation. RFA – Radiofrequenzablation, unter „RFA“ sind die vier bisher CE-zertifizierten RFA-Katheter aufgelistet, unter „Endovaskulärer Ultraschall“ sind zwei CE-zertifizierten Ultraschall-Katheter aufgelistet, unter „pharmakologisch“ sind die in der Literatur bisher beschriebenen Substanzen zur chemischen renalen Denervation aufgeführt

Jüngst wurde auch MRT-gesteuerter hochintensiver Ultraschall (MRgHIFUS) als potenziell nicht-invasives Verfahren zur renalen Denervation im Schweinemodell beschrieben.⁵⁰ Studienergebnisse am Menschen liegen für dieses Verfahren noch nicht vor.

2.3.1 Katheter-basierte renale Denervation

Gemeinsamkeit der auf dem Einsatz von Kathetern basierenden Techniken ist der arterielle Zugangsweg. Dieser erfolgt meist über die A. femoralis. Von dort wird ein Katheter bis in die Nierenarterien vorgeschoben. Die Zerstörung periarterieller, sympathischer in der Adventitia befindlicher Nerven erfolgt transmural von endoluminal.

Radiofrequenzablation (RFA)

Das aktuell am häufigsten angewandte Verfahren in der interventionellen Therapie der refraktären Hypertonie mittels renaler Denervation stellt die Katheter-basierte Radiofrequenzablation (RFA) dar.^{31,38,51} Der transkutan in die A. femoralis eingeführte

Einleitung

Katheter wird nacheinander in beide Nierenarterien vorgeschoben. Von dort aus werden die Nerven abladiert.⁵² Die applizierte thermische Energie muss hoch genug sein, um die in der Adventitia gelegenen Nerven zu zerstören, aber Endothelschäden möglichst zu vermeiden. Zu diesem Verfahren der renalen Denervation liegen randomisierte kontrollierte Studien vor, deren Ergebnisse in jüngster Zeit kontrovers diskutiert wurden.^{38,53}

Die größte Datenlage existiert für das System Symplicity™ der Firma Medtronic (Minneapolis, Minnesota, USA). Mittels einer Elektrode an der Spitze des Katheters werden die Nervenfasern thermisch zerstört. Durch Drehung und Zurückziehen des Katheters entlang der Arterie erfolgen sechs bis acht Ablationen in verschiedenen Ebenen. Die Ablationsdauer an einer Stelle beträgt bis zu zwei Minuten (min), die gesamte Interventionsdauer beträgt im Mittel 38 min bis 54 min. Die RFA findet aufgrund starker visceraler Schmerzen unter intravenöser Narkose und Schmerzmittelgabe statt.^{52,54}

2009 wurde die Symplicity HTN-1 Studie veröffentlicht. In dieser „proof of principle“ Studie wurde bei 45 Patienten mit therapierefraktärer aHTN die RFA mittels Symplicity-Katheter durchgeführt.⁵² Die Blutdruckreduktion nach zwölf Monaten betrug im Mittel -27/-17 mmHg. Systolische sowie diastolische Blutdrucksenkung zeigten hohe Signifikanz. Bei zehn Patienten wurde die renale sympathische Aktivität mittels Noradrenalin (NA) Spillover-Methode bestimmt und im Mittel ein Abfall von 47 % (28 - 65 %) ermittelt.^{51,52} 2010 folgte die Symplicity HTN-2 Studie.³⁸ In dieser prospektiven randomisierten kontrollierten Studie wurden 106 Patienten eingeschlossen. 52 Patienten erhielten RFA mit dem Symplicity-Katheter. Nach sechs Monaten wurde ein mittlerer Abfall des Blutdruckes um -32/-12 mmHg gegenüber dem Ausgangswert in der Interventionsgruppe festgestellt. Der Mitteldruck innerhalb der Kontrollgruppe blieb nahezu unverändert. Der Blutdruckabfall zum Ausgangswert sowie im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte jeweils hohe Signifikanz. Im Zuge dieser beiden klinischen Studien wurde die RFA mittels Symplicity-Katheter als einfach, sicher und wirksam beschrieben.^{38,52,55}

Wichtige Limitationen des Symplicity-Katheters stellen die anatomischen Gegebenheiten der Patienten dar: Patienten mit relevanter Nierenarterienstenose, vorangegangener Intervention an der Nierenarterie oder einer Nierenarterie mit einem Durchmesser kleiner als 4 mm oder einer Länge kleiner 20 mm sind ausgeschlossen.³⁸ Als weiterer Nachteil gilt die lange Interventionszeit. Dies führte zur Entwicklung neuartiger Katheter. Diese sogenannten „next-generation“ RFA-Systeme haben teils multiple Elektroden zur polyquitären Ablation und kleinere Katheterdurchmesser um diesen Problemen zu begegnen.

Einleitung

Der EnligHTN™-Katheter der Firma St. Jude Medical (St. Paul, Minnesota, USA) ist ein Multielektrodensystem. Die Ablation ist an vier Stellen gleichzeitig möglich. Die Interventionszeit wird verkürzt. In der ARSENAL (Safety and Efficacy Study of Renal Artery Ablation in Resistant Hypertension Patients) Studie wurde ein mittlerer systolischer Blutdruckabfall von 28 mmHg erzielt.⁵⁶

Weitere Katheter-Systeme sind das Vessix V2 System™ der Firma Vessix Vascular Boston Scientific (Laguna Hills, Kalifornien, USA) und das wieder verlassene OneShot™ der Firma Covidien (Maya Medical Inc. Campbell, Kalifornien, USA). Bei beiden handelt es sich um „non-compliant“ Ballonkatheter. Letzterer ermöglicht durch eine umlaufende Lamelle zirkumferentielle RFA ohne zusätzliche Drehung des Katheters.⁵⁷ Das Vessix-System ist ebenfalls ein Ballonkatheter mit bipolaren RFA Elektroden, welche Ablationen an mehreren Stellen gleichzeitig ermöglichen. Ferner kann der Vessix-Katheter bei Arterien mit einem Lumen von minimal 3 mm verwendet werden.⁵⁸ In der REDUCE-HTN (Treatment of Resistant Hypertension Using a Radiofrequency Percutaneous Transluminal Angioplasty Catheter) konnte sechs Monate nach renaler Denervation via Vessix-Katheter ein mittlerer Blutdruckabfall von 25/10 mmHg gemessen werden.⁵⁹

Zwei weitere RFA-Kathetersysteme, der ThermoCool® RFA-Katheter (Biosense Webster Inc., Diamond Bar, Kalifornien, USA) und der Chilli II™-Katheter (Boston Scientific Inc., San Jose, Kalifornien, USA), werden in aktuell laufenden Studien getestet.⁵⁸ Auch eine weiterentwickelte Version des Symplicity-Katheters von Medtronic befindet sich seit 2013 in einer Machbarkeitsstudie. Der Symplicity Spyral ist ein Multielektrodenkatheter. Die vorläufigen Ergebnisse sprechen von einer Blutdrucksenkung um -19/-9 mmHg einen Monat postinterventionell bei einer im Vergleich zur HTN-II Studie um 33 min gesunkenen Interventionszeit.⁵⁴

Aufgrund der insgesamt vielversprechenden Studienergebnisse wurde die RFA zum Standard in der interventionellen Therapie der refraktären Hypertonie und fand bald Anwendung in mehr als 80 Ländern weltweit.^{53,60} Studien zu längerfristigen Wirkung der RFA existierten bis hierhin nicht.

Im März 2014 wurde die HTN-3-Studie veröffentlicht. Es handelt sich um eine randomisierte kontrollierte und einfach verblindete multizentrische Studie.⁵³ Wie in den vorausgegangenen Studien handelte es sich um ein Patientenkollektiv mit therapierefraktärer aHTN. Sekundäre Hypertonie, mehr als eine Hospitalisation wegen hypertensiven Notfalls im Vorjahr,

Einleitung

Nierenarterienstenose von mehr als 50 %, Nierenarterienaneurysma, vorangegangene Intervention an der Nierenarterie, ein Nierenarteriendurchmesser kleiner als 4 mm und eine Länge kleiner 20 mm galten als Ausschlusskriterien. Insgesamt wurden 535 Patienten randomisiert. Nach sechs Monaten konnte kein signifikanter Abfall des systolischen Blutdruckes der RFA-Gruppe (-14,13 mmHg Abnahme gegenüber der Ausgangsmessung) gegenüber der Kontrollgruppe mit Scheinbehandlung (-11,74 mmHg gegenüber der Ausgangsmessung) nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur HTN-1 und 2 Studie konnte in der HTN-3 Studie kein signifikanter Zugewinn durch die RFA gezeigt werden.⁵³

Eine aktuelle multizentrische Studie aus Frankreich kommt wiederum zu einem positiven Ergebnis. Diese Multicenter-Studie konnte zeigen, dass ein strikteres Studienprotokoll und größere Sorgfalt bei der antihypertensiven Begleittherapie den Unterschied gemacht haben könnten. Bei den 48 Patienten, die RFA mittels Symplicity-Katheter durchliefen, konnte gegenüber der Kontrollgruppe im Mittel ein signifikanter Blutdruckabfall von -5,9 mmHg gemessen werden.⁶¹

Im Zuge der HTN-3 Symplicity Ergebnisse kam es zu kontroversen Diskussionen des Stellenwertes der Katheter-basierten RFA als Therapie der refraktären Hypertonie.⁶² Es könnte jedoch auch die Notwendigkeit für alternative Verfahren der renalen Denervation bedeuten.

Katheter-basierter endovaskulärer Ultraschall

Das Prinzip Katheter-basierter renaler Denervation via Ultraschall liegt in der Erzeugung von Reibungswärme durch hochfrequente Schallwellen. Die Erwärmung tieferer Gewebeschichten führt zu Nervenschäden. Vertreter sind intravaskuläre Katheter-Systeme wie der PARADISE® (ReCor Percutaneous Renal Denervation System) Katheter (ReCor Medical Inc., Ronkonkoma, New York, USA) und das TIVUS™ (Therapeutic Intravascular Ultrasound System) von Cardiosonic (Cardiosonic Ltd., Tel Aviv, Israel).^{58,63} Vier Wochen postinterventionell konnte in der REALISE (Renal Denervation by Ultrasound Transcatheter Emission) Studie ein Blutdruckabfall um -30/-15 mmHg im Vergleich zu den Ausgangswerten vor Ultraschall-Applikation mittels PARADISE-Katheter erreicht werden. Bei 63 % der Patienten wurden Abdominal- und Rückenschmerzen verzeichnet.⁶³ Für das TIVUS konnte nach Intervention ein 50 % Abfall des NA-Gehaltes des Nierenparenchyms gezeigt werden.⁶⁴

Katheter-basierte chemische Renale Denervation

Das Hauptaugenmerk der Forschung nach Alternativen zur RFA zum Zwecke der renalen Denervation liegt auf chemischen Verfahren. Im Fokus steht die lokale Applikation neurotoxischer Substanzen direkt an die sympathischen Nerven um die A. renalis. Abgesehen von vereinzelten „First-in-man“ Publikationen sind die aktuellen Forschungsergebnisse auf Tierversuche limitiert. Es ist zwischen Katheter-basierten und nicht Katheter-basierten bzw. perkutanen Verfahren zu unterscheiden. Substanzen, deren erfolgreiche Anwendung bisher in der Literatur beschrieben wurde, sind: hypertone Kochsalzlösung, Ethanol, Paclitaxel, Vincristin und Guanethidin.⁶⁵⁻⁷¹

Ethanol wird bereits seit über 30 Jahren zur paravertebralen Sympathikolyse und Coeliacus Blockade angewendet. Im Schweinemodell erfolgte im Jahr 2013 eine endovaskuläre Applikation von 95 % Ethanol mittels intraarteriellen „Drei-Nadel-Injektionskatheter“ (Peregrine System, Ablative Solutions Inc.). Mikroinjektionsnadeln des Katheters durchdringen die Arterienwand und ermöglichen eine unmittelbar periarterielle Substanzapplikation. Jeweils nach zwei Wochen und drei Monaten wurde der NA-Gehalt des Nierenparenchyms als Indikator erfolgreicher Sympathikolyse durch Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC) bestimmt. Es konnte ein mittlerer NA-Abfall von 69 % gegenüber den Kontrollen nachgewiesen werden.⁷¹

Lokale, unilaterale Applikation von Vincristin im Jahr 2012 mittels perforiertem Ballonkatheter an porkine Nierenarterien führte im Seitenvergleich zu einer signifikanten Abnahme der histologisch nachweisbaren Nerven der behandelten gegenüber der nicht behandelten Seite.⁷² Die Wirksubstanz wurde mittels perforiertem Ballonkatheter appliziert. Eine ein Jahr später veröffentlichte Studie mit gleichem Studiendesign mit einem weiterentwickelten „Doppelballon-Katheter“, welcher die Menge des durch die Arterienwand tretender Wirksubstanz erhöhen sollte, konnte ebenfalls eine signifikante Abnahme der histologisch nachweisbaren Neuronen auf der behandelten Seite zeigen.⁶⁸ Im selben Jahr erfolgte durch dieselbe Arbeitsgruppe die erste Applikation von Vincristin als Mittel zur renalen Denervation an einem Patienten mit therapierefraktärer aHTN.⁶⁷ In der Folgeuntersuchung nach vier Wochen konnte ein Abfall des Blutdruckes von 146/85 mmHg auf 132/80 mmHg festgestellt werden. Zuvor konnte die antihypertensive Medikamentendosis reduziert werden.⁶⁷

Einleitung

Guanethidin wurde im Jahr 2011 via Bullfrog Mikroinfusions-Katheter der Firma Mercator Med Systems (San Leandro, Kalifornien) im Schweinmodell zur renalen Denervation genutzt. Nach Angiographie-gesteuerter Injektion durch die Nierenarterienwand zeigte sich ein Abfall des NA-Gehaltes der behandelten Nieren gegenüber den Kontrollen. In der histologischen Auswertung zeigte sich in allen mit Guanethidin behandelten Fällen perineurale Inflammation und nervale Degeneration.⁶⁹

Risiken Katheter-basierter Verfahren

Insgesamt gelten die Katheter-basierten Verfahren der renalen Denervation als sicher. Allerdings ist der endovaskuläre Zugangsweg auch mit Risiken assoziiert.

In der Literatur sind das Auftreten von Punktionsaneurysma an der Femoralarterie sowie Nierenarteriendissektion und Pseudoaneurysmabildung, transiente intraprozedurale Bradykardie, postprozedurale Hypotension, Harnwegsinfekt, Parästhesien und Rückenschmerzen im Rahmen der RFA mittels Symplicity-Katheter beschrieben.^{52,53,55} Die mit der arteriellen Punktion assoziierten Risiken der renalen Denervation mittels RFA sind nicht häufiger als bei anderen Interventionen mit endovaskulärem Zugangsweg.⁷³

Bei renaler Denervation via RFA muss die thermische Energie von endovaskulär alle Wandschichten der Nierenarterie durchdringen, um an die in der Adventitia gelegenen Zielstrukturen zu gelangen. Ferner besteht das Risiko von Gefäßirritationen bedingt durch den Katheter selbst. In der Folge sind in der Literatur Fibrose der Tunica media und Adventitia, Irregularitäten der Intima und intraluminale Thrombosierung der A. renalis unmittelbar nach RFA beschrieben.^{52,74-76} Im Tiermodell konnte auch noch sechs Monate nach RFA eine erhöhte Thromboseneigung aufgrund der Endothelschädigung nachgewiesen werden.⁷⁷ Templin et. al. schlossen daraus, dass antithrombotische Therapie vor und nach RFA nötig sei.⁷⁵ Langzeitergebnisse über assoziierte Risiken liegen bislang zu keinem Verfahren der renalen Denervation vor. Signifikante klinische Nebenwirkungen sind bisher nur für die RFA beschrieben worden.

In allen Katheter-basierten Verfahren muss die potenziell neurolytische Komponente, ob thermisch, mechanisch oder chemisch, zunächst alle Wandschichten der empfindlichen A. renalis durchdringen, um die adventitiell gelegenen Neuronen zu erreichen. Um dies und die potenziellen Risiken des endovaskulären Zugangsweges zu vermeiden, sind nicht-Katheter-basierten Methoden der renalen Denervation Thema aktueller Forschung.

2.3.2 Nicht-Katheter-basierte renale Denervation

Vorteil perkutaner nicht-Katheter-basierter gegenüber Katheter-basierter Verfahren ist die Vermeidung eines arteriellen Zugangsweges und dessen möglicher Komplikationen.

Außerdem erfolgt die Applikation der Wirkkomponente nicht durch die Wand der empfindlichen Nierenarterie hindurch.

MRT-gesteuerte perkutane unilaterale renale periarterielle Injektion von Ethanol beim Schwein führte zu einer signifikanten Abnahme des NA-Gehaltes im Nierenparenchym der behandelten gegenüber der nicht behandelten Niere.⁷⁰ Durch dieselbe Arbeitsgruppe erfolgte die erste publizierte Anwendung am Menschen. Bei einem 50-jährigen Mann mit Nierenversagen und therapieresistenter aHTN wurde CT-gesteuert Ethanol von perkutan an die Nierenarterien appliziert. Einen Monat postinterventionell konnte ein Blutdruckabfall von -29/-14 mmHg ohne das Auftreten erheblicher Nebenwirkungen gemessen werden.⁷⁸

Die Wirksamkeit von hypertoner Kochsalzlösung und Paclitaxel als potenzielle Agenten renaler Denervation konnte bislang nur im Rattenmodell nachgewiesen werden. Lokale Applikation führte zu einem signifikanten Abfall der renalen NA-Konzentration.⁶⁵

Die Wirksamkeit von Vincristin und Guanethidin wurde bereits für deren endovaskuläre Applikation mittels intraarteriellem Katheter im Schweinmodell gezeigt. Lokale Applikation Vincristins an eine Nierenarterie führte zu histopathologisch nachweisbarer Reduktion periarterieller Neuronen. Katheter-basierte periarterielle unilaterale Guanethidinapplikation reduzierte den NA-Gehalt im Parenchym behandelter gegenüber unbehandelter Nieren.^{69,72} Eine perkutane periarterielle Anwendung beider Substanzen wurde bislang nicht beschrieben.

2.4 Arbeitshypothese und Zielstellung

Die Hypothese dieser Arbeit lautet: Die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin um die A. renalis zur Induktion einer renalen Denervation ist ein effektives, sicheres und praktikables Therapieverfahren.

Ziel dieser Arbeit war die Evaluation der Machbarkeit, Sicherheit und Effektivität der perkutanen periarteriellen Applikation von Vincristin und Guanethidin in den jeweils gewählten Lösungen.

Als primäre Outcome Parameter galten:

1. Der NA-Gehalt in ng/g Nierengewebe im Vergleich von behandelter und unbehandelter Niere als funktioneller Parameter der Sympathikusaktivität und Indikator erfolgreicher Sympathikolyse
2. Der Nachweis pathologisch veränderter Nerven in histologischen Präparaten der behandelten Nierenarterien als morphologisches Korrelat einer erfolgreichen Denervation

Sekundäre Outcome Parameter:

1. Die technische Machbarkeit und Sicherheit der CT-gesteuerten perkutanen periarteriellen Substanzapplikation
2. Das Verhalten des arteriellen Blutdruckes der Tiere im Verlauf

3 Methodik

3.1 Studiendesign

In dieser tierexperimentellen Dissertationsarbeit wurden zwei Gruppen bestehend aus jeweils sechs Schweinen untersucht. Bei jedem Schwein erfolgte die CT-gesteuerte, perkutane periarterielle Applikation von Vincristin (Vincristin-Gruppe) oder Guanethidin (Guanethidin-Gruppe) an eine Nierenarterie. Die kontralaterale Seite blieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Zwei Wochen nach erfolgter Intervention wurden die Schweine euthanasiert und die Nieren inklusive Anhangsgewebe entnommen. Die Nierenarterien samt verbindendem Aortenabschnitt und Ureter wurden histologisch aufgearbeitet. Als primäres Endergebnis galten histopathologisch nachweisbare Effekte der applizierten Substanzen auf die renalen sympathischen Nerven, die Nierenarterien selbst und das umgebende Gewebe. Als funktioneller Parameter der renalen Sympathikolyse diente das im Nierenparenchym gemessene Noradrenalin (NA) im Vergleich von Interventions- und Kontrollseite. Der arterielle Blutdruck der Tiere wurde unmittelbar vor und nach der Intervention sowie vor der Euthanasie bestimmt.

3.2 Material

3.2.1 Versuchstiere und Haltung

Die vorliegende Studie wurde an Hausschweinen (H.G.E. Service GmbH Langerwisch, D-14552 Michendorf) durchgeführt. Es wurden ausschließlich männliche, kastrierte Schweine verwendet. Eventuell geschlechtsspezifische Wirkunterschiede von Vincristin oder Guanethidin auf die Versuchstiere sind daher in dieser Betrachtung ausgeschlossen. Die Tiere waren bei Intervention circa drei Monate alt und wogen zwischen 21 kg und 27,6 kg (Mittelwert $23,6 \text{ kg} \pm 2 \text{ kg}$). Unterbringung und Versorgung der Schweine entsprachen EU-Standards nach Richtlinie 2010/63/EU. Zwei Tiere wurden in einer 9,2 m² großen Box in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK, gehalten. Von 5 Uhr morgens bis abends 17 Uhr war das Gehege beleuchtet. Der Boden wurde mit Allspan Hobelspänen (Allspan® Spanverarbeitung GmbH, Karlsruhe, Deutschland) eingestreut. Diese wurde wöchentlich gewechselt. Zusätzlich war die Box mit Stroh, Heu, Ketten, Bällen und Kaustangen zur Beschäftigung der Tiere ausgestattet. Reinigung des Geheges erfolgte zweimal am Tag. Die Versuchstiere wurden zweimal täglich mit Mast Solo S1 pelletiert (Agravis Raiffeisen AG, Münster, Deutschland) gefüttert.

Die Anzeigennummer lautet G 0169/13. Die behördliche Genehmigung für die Tierversuche wurde am 07.10.2013 erteilt.

3.2.2 Substanzen zur renalen Denervation

Vincristin

Vincristin gehört zur Gruppe der Vinca-Alkaloide. Es bindet an das Protein „Tubulin“ und verhindert so dessen Polymerisierung zu Mikrotubuli. Diese stellen einen elementaren Bestandteil des Zytoskeletts dar. Ferner bilden sie den Spindelapparat in der Metaphase der Mitose. Dies wird durch Vinca-Alkaloide unterbunden. Deshalb werden sie auch Spindelgifte genannt.⁷⁹ Vincristin findet als Zytostatikum Verwendung in der Onkologie als intravenöses Medikament. Es wird vor allem bei malignen hämatologischen Neoplasien und kindlichen Malignomen angewendet.^{80,81} Die Höchstdosis liegt bei Erwachsenen bei 2 mg/m² Körperoberfläche. Als bekannte Nebenwirkung gilt Vincristin als stark neurotoxisch.⁸² Bei lokaler Applikation führt es zu Gewebnekrosen.⁸³ Im Mausmodell führte Vincristin bei intradermaler Gabe in 70 % der Fälle zu dosisabhängigen Ulzerationen.⁸⁴ Aufgrund seiner bekannten Neurotoxizität und der hohen Relevanz des Mikrotubulusgerüsts in Nervenzellen bestand die Vermutung, durch die lokale Applikation um die Nierenarterie, renale Denervation zu erzielen.⁸⁵

Vincristin wurde von der Apotheke der Charité Campus Virchow Klinikum (CVK) bereitgestellt. Es wurden je 7 ml Lösung mit 0,1 mg Vincristin steril verpackt in einer Einmalspritze mit Luer-Lock Anschluss im Lichtschutzbeutel geliefert und im Kühlschrank aufbewahrt. Direkt vor der Intervention wurden über einen Dreiwegehahn mit Hilfe einer zweiten Spritze mit Luer-Lock-Anschluss 2 ml Bupivacain (Carbostesin 0,5 %, Astra Zeneca, London, GB) und 1 ml Kontrastmittel (KM) (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB) unter sterilen Bedingungen hinzugefügt und die Substanzen vermischt. Insgesamt standen pro Schwein 10 ml Injektionslösung mit einer Konzentration von 0,1 mg Vincristin/10 ml zur Verfügung. Das Lokalanästhetikum Bupivacain diente der lokalen Betäubung an der Einstichstelle, KM zur CT-gestützten Kontrolle der Injektatverteilung peri- und postinterventionell.

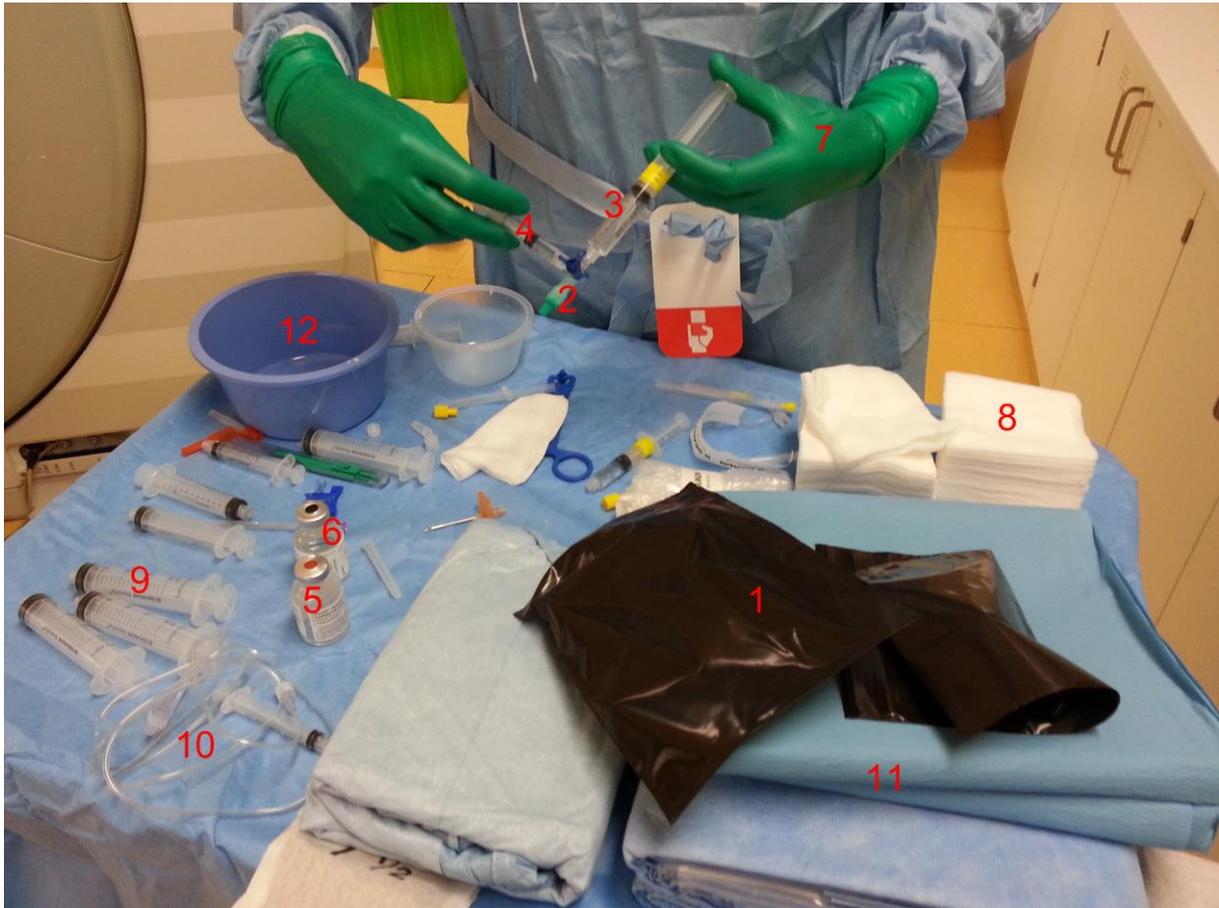


Abbildung 6: Interventionstisch neben dem Interventions-CT unmittelbar vor der Intervention, gezeigt ist das Anmischen der Injektionslösung über einen Dreivegehahn (2), Wirkstoff: Vincristin, 1 – schwarze Lichtschutzbeutel, 2 – Dreivegehahn, 3-Spritze mit Luer-lock Anschluss enthält 7 ml mit 0,1 mg Vincristin, 4 – Spritze mit Luer-Lock Anschluss mit Bupivacain und KM, 5 – KM, 6 – Bupivacain, 7 – grüne Schutzhandschuhe, 8 – Kompressen, 9 – Spritzen mit Luer-Lock Anschluss, 10 – kleine Verlängerungen, 11 – sterile Abdeckungen, 12 - Flüssigkeitsabwurf

Guanethidin

Guanethidin fand Anwendung in der Therapie bei schwerer Hypertonie insbesondere bei akuter hypertensiver Krise. Ein weiterer Anwendungsbereich war die Glaucomtherapie in Form von Augentropfen.⁸⁶ Aktuell wird Guanethidin in Deutschland nicht verwendet. Der Wirkstoff wird selektiv von noradrenergen Nervenfasern über deren NA-Transporter aufgenommen. Es ist somit hoch spezifisch für postganglionäre sympathische Fasern. Dort hemmt es die Signaltransduktion, wird anstelle von NA in Vesikeln gespeichert und bei Reizung anstelle des Transmitters ausgeschüttet. Es agiert als „Falscher Transmitter“.⁸⁶ Systemische Gabe von hohen Dosen Guanethidin kann im Tiermodell immunvermittelt periphere sympathische Nervenfasern zerstören.^{87,88}

Guanethidin wurde in Form von 1 mg/ml Ampullen über die Apotheke der Charité Virchow Klinikum (CVK) aus England bestellt, da der Wirkstoff in Deutschland nicht mehr verfügbar ist. Neun Ampullen je 1 ml wurden mit 1 ml KM (Accupaque 240, GE Healthcare,

Buckinghamshire, GB) in eine Einmalspritze zu einer Gesamtkonzentration von 90 mg Guanethidin pro 10 ml Injektionslösung aufgezogen. Aufgrund der im Vergleich zu Vincristin oder auch Ethanol fehlenden zytotoxischen Potenz und dem selektiven Wirkungsmechanismus von Guanethidin war hier keine Zugabe von Lokalanästhetikum notwendig.

3.3 Methoden

3.3.1 Interventionsvorbereitung, Narkose und präinterventionelle Bildgebung

Die Eingewöhnungszeit der Versuchstiere im Tierhaus der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK, betrug eine Woche. Am Interventionstag blieben die Schweine nüchtern und wurden gewogen.

Narkose

Mit einer Kanüle an einem Verlängerungsschlauch wurden 15 mg/kg Körpergewicht (KG) Ketaminhydrochlorid (Ketamin® 10 %, 100 mg/ml, Bela Pharm GmbH Co KG, D-49377 Vechta), und 0,2 mg/kg KG Midazolamhydrochlorid (Dormicum®, 5 mg/ml, Roche Pharma AG, Schweiz-79639 Grenzach-Wyhlen) in die Nackenmuskulatur der Schweine injiziert. Dank des Verlängerungsschlauches war keine Fixierung der Tiere nötig und die Injektion konnte im Stall erfolgen. Nach erfolgreicher Sedierung wurde noch im Stall eine Venenverweilkanüle in einer Ohrvene platziert und eine Perfusorspritze über einen Verlängerungsschlauch angeschlossen. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte über wirkungsadaptierte Gabe von Propofolboli von 1 ml bis 3 ml (B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen). Die Augen der Schweine wurden durch das Auftragen von Augensalbe (Regepithel, Alcon Pharma GmbH, D-79108 Freiburg i. Breisgau) vor Reizung von Cornea und Konjunktiven geschützt.

Positionierung im CT und präinterventionelle Bildgebung

Die Tiere wurden in den CT Untersuchungsraum gefahren. Nach initialer Blutdruckmessung erfolgte die Lagerung auf dem CT-Tisch in Bauchlage mit dem Kopf voraus. Dies ermöglichte den dorsolateralen Zugangsweg der Punktionsnadel zum Zielgebiet um die Nierenarterie. Mit Hilfe gefalteter Steckklaken wurde die Position fixiert. Die Schweine erhielten 3 l/min Sauerstoff über einen Becher, welcher über den Rüssel gestülpt und mittels Klebeband fixiert wurde. Der Sauerstoffschlauch wurde durch ein Loch im Boden des Bechers geschoben und luftdicht fixiert. Ein Sensor zur Messung der Sauerstoffsättigung wurde an einer Klaue oder dem Schwanz des Tieres angebracht. Über einen Drei-Wege-Hahn

Methodik

wurde ein Propofolperfusor (IVAC® P 4000 Anästhesie- Spritzenpumpe, Cardinal Health, D-52499 Baesweiler) (Dosierung: 5 mg/kg/h) sowie der Schlauch der Kontrastmittelpumpe (KM-Pumpe) an die Venenverweilkanüle in der Ohrvene angeschlossen. Unmittelbar vor der Punktion wurde der Schlauch der KM-Pumpe durch einen Fentanylperfusor (Janssen-Cilag GmbH, D-41470 Neuss) ersetzt (Lauftrate 1-3 µg/kg/h). Abbildung 7 zeigt die Lagerung eines Schweins im Interventions-CT direkt vor der Intervention.

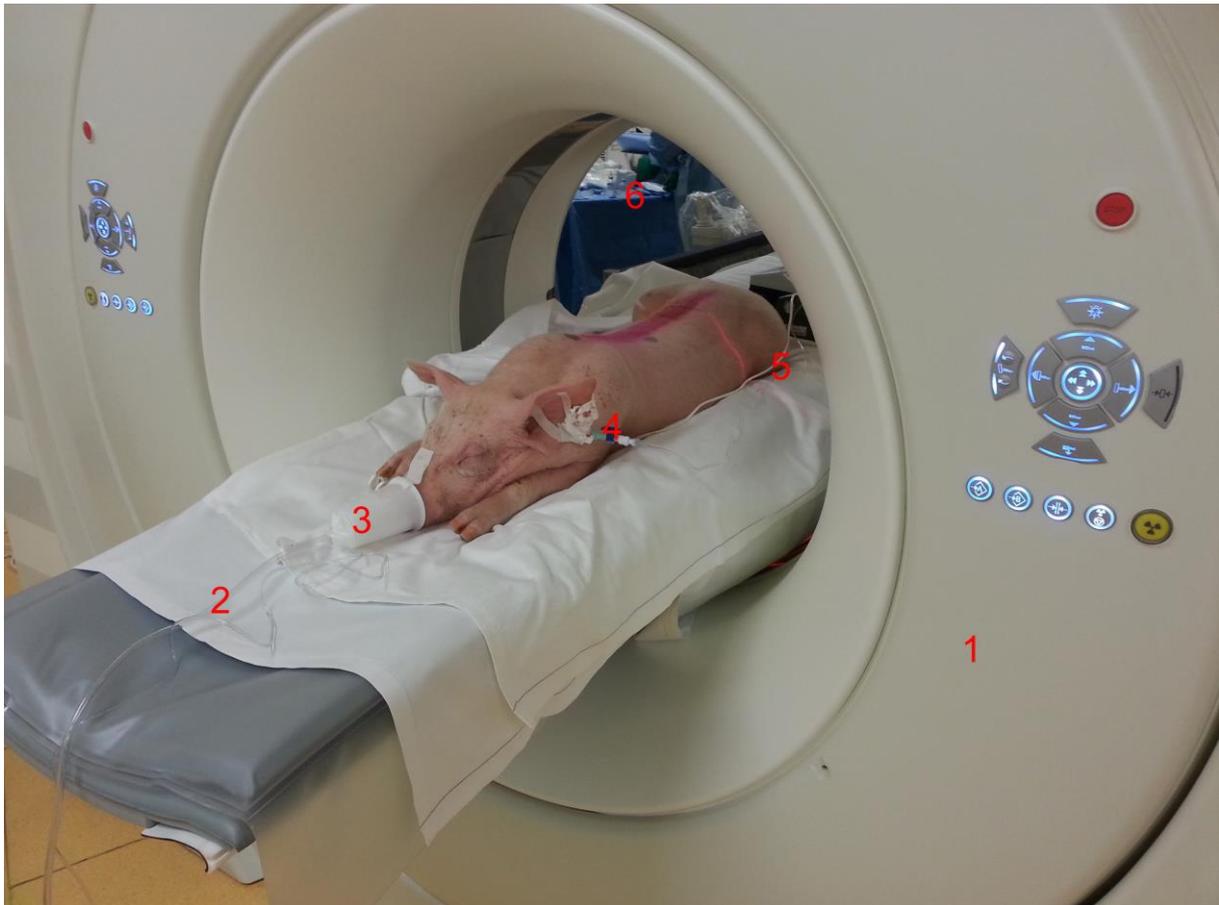


Abbildung 7: Lagerung eines Schweins der Vincristin-Gruppe im CT-Gerät in Bauchlage, 1 – CT Gerät (64-MSCT, Somatom Definition AS, Siemens, D-65760 Eschborn), 2 – Sauerstoffschlauch, 3 – Becher als Sauerstoffmaske, 4 – Drei-Wege-Hahn konnektiert zur Flexüle in einer Ohrvene, 5 – Perfusorleitung mit Propofol, 6 - Interventionstisch

Planungs-CT

Vor der Intervention erfolgte die Durchführung eines Planungs-CT. Alle Interventionen wurden mit einem 64-Multislice Computertomographen (MSCT, Somatom Definition AS, Siemens, Erlangen, Deutschland) der Radiologie, CVK durchgeführt. Evaluation der Punktionsebene und Seitenwahl erfolgte durch einen biphasischen CT-Scan mit arterieller und venöser Kontrast-Phase (50 ml Xenetix 350, Guerbet, F-93420, Villepinte, arterielle Phase, Delay: SURE© Start, ca. 15 s, venöse Phase 40 s Delay, 30 ml Kochsalzlösung, Flussrate

Methodik

2,5 ml/s). Abbildung 8 zeigt beispielhaft ein axiales und coronares Schnittbild der präinterventionell durchgeführten CT-Bildgebung zur Bestimmung der Punktionsebene.

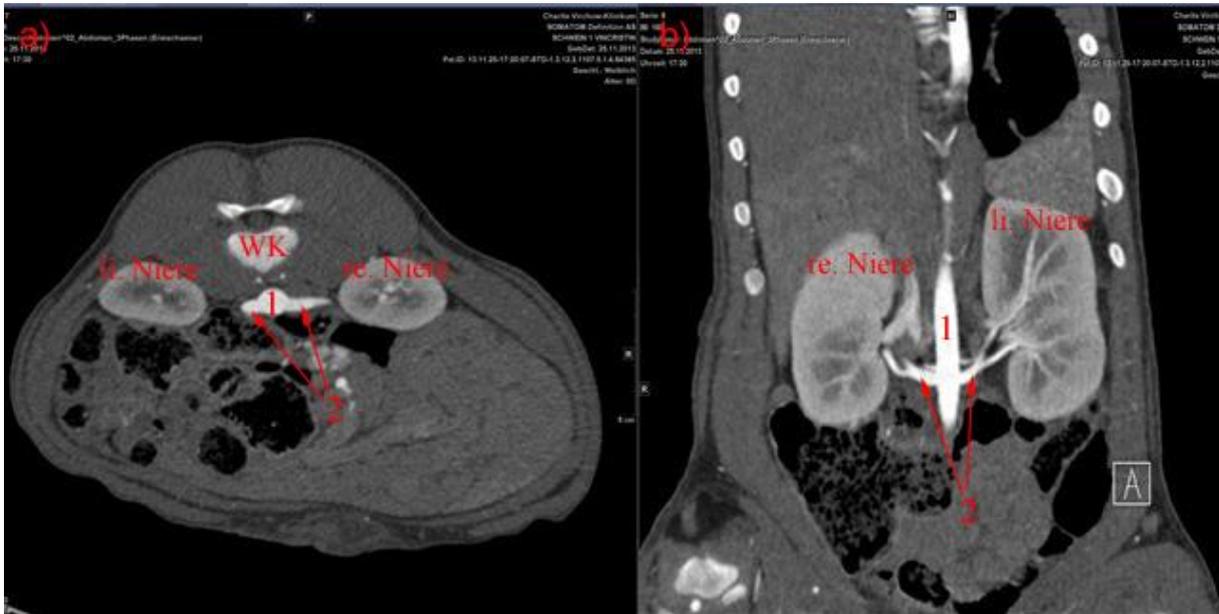


Abbildung 8: Planungs-CT, Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, arterielle Phase, a) axial und b) coronar, re. – rechts, li. – links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 – Nierenarterien

Wichtige Parameter für gute Erreichbarkeit der Nierenarterie waren die anatomischen Gegebenheiten, insbesondere der Processus. transversi der Wirbelkörper, der Verlauf der Vena (V.) cava inferior sowie Verlauf und Lage der Nierenarterien selbst. Das Schwein wurde dann auf die Höhe der für die Punktion ausgewählten Schnittebene gefahren.

3.3.2 Intervention – CT-gesteuerte periarterielle Injektion und postinterventionelle Bildgebung

Abbildung 9 zeigt den Versuchsaufbau während der Intervention.



Abbildung 9: Versuchsaufbau während der Intervention, 1 – Interventionalist, 2 – Assistent, 3 – Monitoring zur Überwachung der Sauerstoffsättigung und Herzfrequenz des Versuchstiers, 4 – Interventionstisch, 5 – CT-Steuerkonsole, 6 – Propofolperfusor, 7 – Fentanylperfusor, 8 – Monitore zur Darstellung der periinterventionellen CT-Bildgebung, 9 – Sauerstoffanschluss

Die Intervention erfolgte unter kontinuierlicher, gewichtsadaptierter Propofol- und Fentanylgabe. Nach großflächiger Desinfektion mit Iodlösung und sterilen Abdecken der umgebenden Haut erfolgte eine Hautinzision nach vorheriger Lokalanästhesie (10 ml Carbostesin 0,5 %, Astra Zeneca, London, GB) auf der vorher im CT bestimmten

Methodik

Punktionsstelle. Im Anschluss wurde eine 20 G-Spinalnadel (Becton Dickinson S.A., Madrid, Spain) dorsolateral an der Inzisionsstelle platziert.



Abbildung 10: Platzierte Injektionsnadel (1) und Substanzapplikation im Interventions-CT, 1 – 20 G Spinalnadel, 2 – Verlängerungsschlauch, 3 – 10 ml-Spritze mit Wirksubstanz (Vincristin), 4 – sterile Abdeckung, 5 – Kontrastmittelpumpe

Die Nadel wurde unter ständiger Bildkontrolle (CT-Fluoroskopie) bis zur Nierenarterie vorgeschoben. Nach initialer Aspiration wurden, vor der Injektion der eigentlichen Wirksubstanz, 1 ml Lokalanästhetikum (Carbostesin 0,5 %, Astra Zeneca, London, GB) plus KM (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB) injiziert. Dies diente der Sicherstellung einer optimalen Lage der Punktionsnadel und suffizienter Injektatverteilung. Nach erneuter Lagekontrolle erfolgte die Injektion von Vincristin oder Guanethidin in den in 3.2.2: „Substanzen zur renalen Denervation“ angegebenen Mischungsverhältnissen unter

ständiger CT-Bildkontrolle der Injektatverteilung.

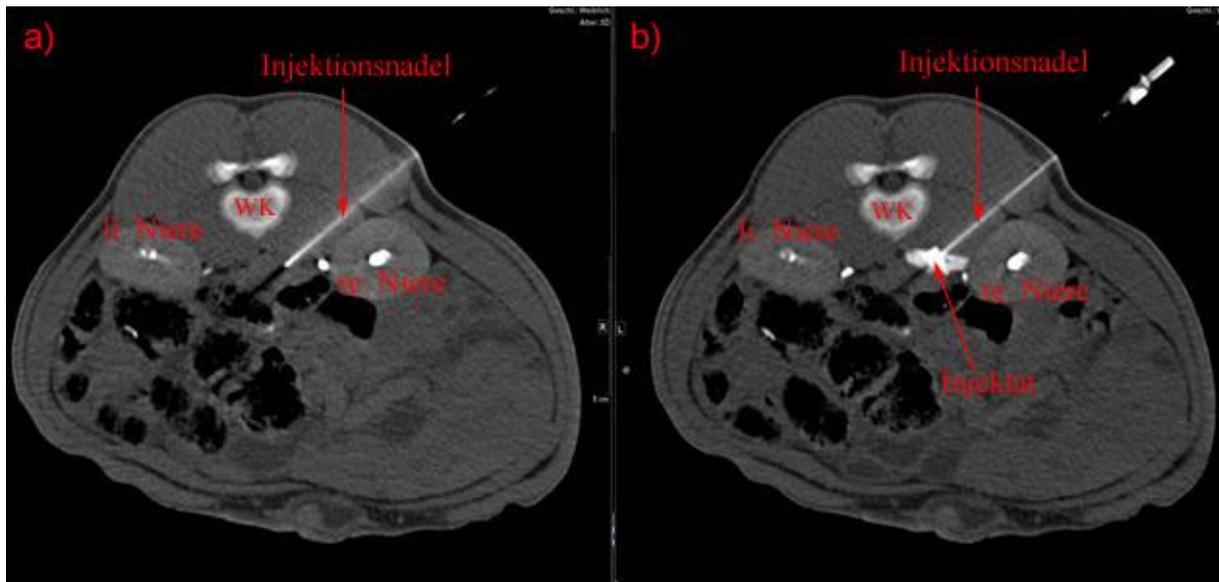


Abbildung 11: Intervention, Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, CT-Fluoroskopie, axial, a) finale Nadelposition vor und b) nach Injektion eines der Wirkstofflösung um die rechte Nierenarterie, Nativ-CT, re. - rechts, li. – links, WK – Wirbelkörper

Abbildung 11 zeigt während der Intervention aufgenommene CT-Bilder in axialer Schnittebene vor und nach der Applikation der Interventionslösung über die Injektionsnadel. Das KM enthaltende Injektat demarkiert sich hyperdens.

Bei Schwein Vincristin 1 wurden in Anbetracht der potenziell toxischen Wirkung Vincristins 7,5 ml und bei Schwein Vincristin 2 9 ml injiziert. Nach Ausbleiben von Nebenwirkungen wurden bei den folgenden vier Schweinen 10 ml Injektionslösung appliziert. Fünf Schweine der Guanethidin-Gruppe erhielten 10 ml Injektionslösung. Bei Schwein Guanethidin 5 wurde nach initialer Fehlapplikation 1 ml nachinjiziert.

Postinterventionelle Bildgebung und Evaluierung der Substanzdistribution

Postinterventionell erfolgte eine nativ-CT-Spirale zur Beurteilung der Substanzverteilung und gegebenenfalls notwendiger Nachinjektion. Entsprechende Bilder sind in 4.2 „Technische Durchführbarkeit“ dargestellt.

Die Injektatdistribution wurde mit einem Score von maximal 3 Punkten durch zwei Fachärzte für Radiologie bewertet. Tabelle 1 stellt die Score-Kriterien dar.

Tabelle 1: Injektatdistribution, die linke Spalte stellt die erreichte Punktzahl, die rechte Spalte das aus der CT-Bildgebung ersichtliche Korrelat der postinterventionellen Injektatverteilung zur entsprechenden Punktzahl dar

Punkte	Kriterien
1 (nicht ausreichend)	Ostium und folgende Anteile der Nierenarterie nicht umspült
2 (ausreichend)	Ostium umspült, Arterie im Verlauf partiell umspült
3 (exzellent)	Ostium umspült, Arterie im Verlauf vollständig zirkumferentiell von Injektatlösung umspült

Es wurde die Interventionszeit gemessen, definiert als das Zeitintervall zwischen initialer CT und postinterventioneller nativ-CT-Bildgebung. Die für Sedierung, Transport und Lagerung benötigten Zeiten sind nicht eingeschlossen.

Postinterventionell wurde erneut der Blutdruck am gleichen Hinterlauf gemessen. Unter wirkungsadaptierter Gabe von Propofol erfolgte der Rücktransport der Tiere. Bis zum Erwachen im Stall und dem Wiedererlangen eines sicheren Stand- und Gangbildes blieben sie unter Beobachtung. Anschließend wurden sie mit Futter versorgt. Die nächsten zwei Wochen wurden die Tiere für etwaige Interventionsfolgen beobachtet. Auffälligkeiten und notwendige Medikamentenanwendung (z.B. Schmerzmittel) wurden von den zuständigen Tierpflegern dokumentiert.

3.3.3 Verlaufskontrollen

Zwei Wochen nach der Intervention erhielten die Tiere eine Kontroll-CT. Sedierung, Narkose und Transport erfolgten analog zum Ersteingriff. Nach dreimaliger Blutdruckmessung am selben Hinterlauf folgte die bisphasische CT (50 ml Xenetix 350 i.v., arterielle Phase, Delay: SURE© Start, 15 Sekunden; venöse Phase 40 Sekunden Delay) zur Beurteilung eventueller Komplikationen und Veränderungen wie Nierenarterienstenose, Thrombose, Harnstauungszeichen und Schäden an Nachbarorganen. Bei Schwein 5 und 6 der Guanethidin-Gruppe wurde im Rahmen der Nachkontrolle ein Ballonkathetersystem in der Arteria (A.) femoralis getestet. Dieses System findet in weiterführenden Versuchen zu alternativen Verfahren renaler Denervation der Arbeitsgruppe seine Anwendung. Hierauf wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen. Aufgrund dessen erfolgte die Nachkontrolle der Schweine im MRT-Gerät mittels MR-Angiographie zur Beurteilung der Nierenarterien. Die Lagerung der Schweine erfolgte analog zum Vorgehen im CT-Gerät. Die Propofolgabe

erfolgte jedoch aufgrund fehlender MRT-geeigneter Perfusoren wirkungsadaptiert von Hand während der Bildgebung.

3.3.4 Euthanasie und Organentnahme

Direkt nach den CT-/MRT-Verlaufskontrollen wurden die Schweine nach initialem Propofolbolus i.v. über die Venenverweilkanüle mittels Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, 16 g/100 ml, Merial GmbH, D-85339 Hallbergmoos) euthanasiert. Anschließend folgte die Positionierung in Rückenlage auf dem OP Tisch und Fixierung mittels Klebeband an Vorder- und Hinterläufen. Zur Eröffnung des Abdomens erfolgte ein Medianschnitt von Sternum, entlang der Linea alba, bis hinunter zur Beckenachse. Entlastungsschnitte beidseits kaudal des Rippenbogens erlaubten eine bessere Einsicht in den Situs. Die Darmschlingen wurden von einem Assistenten beiseite gehalten und die Nieren vom Operateur aus der Nierenfaszie und umgebendem Fettgewebe beidseits freipräpariert. Benachbarte Organe und Strukturen wurden makroskopisch auf Auffälligkeiten untersucht. Abbildung 12 zeigt die noch intrakapsulär befindliche Niere im Situs.

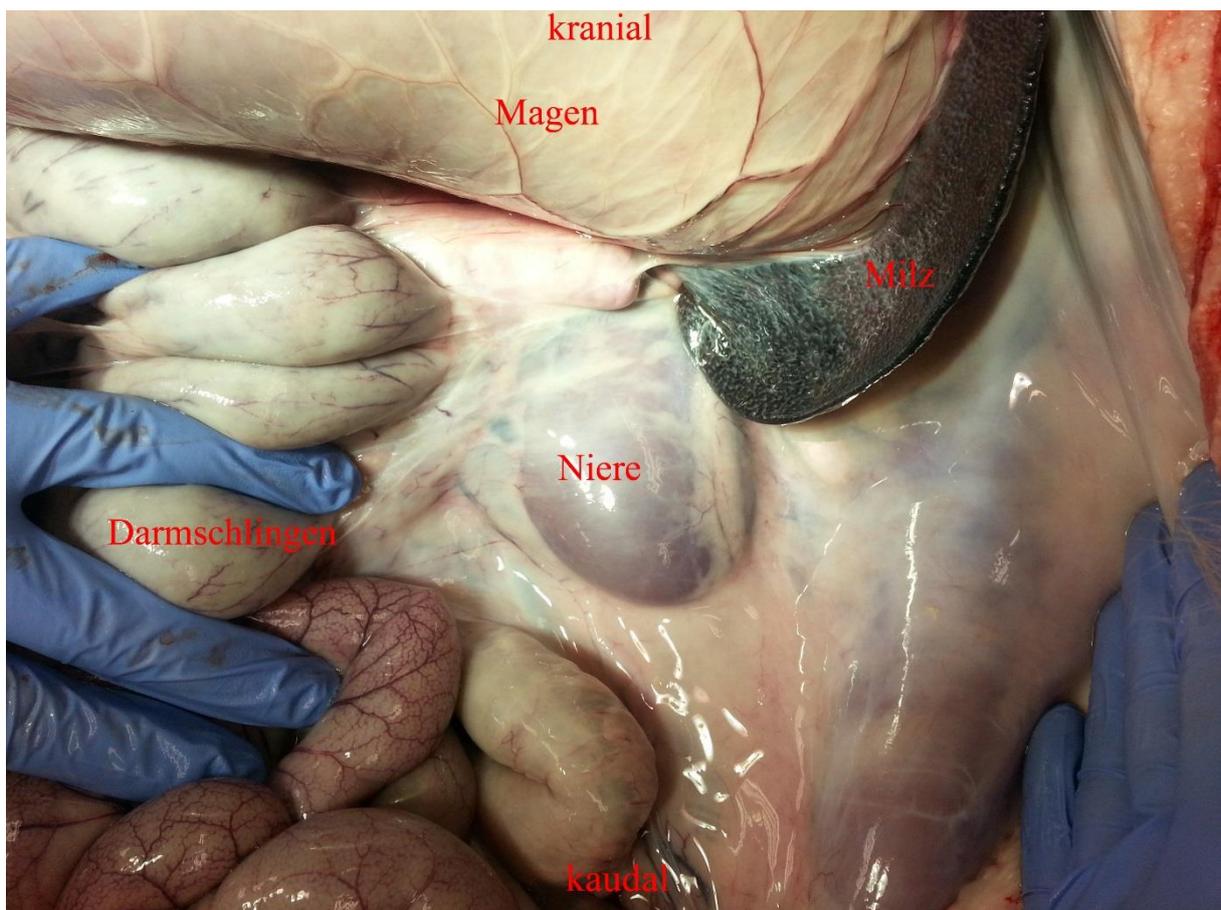


Abbildung 12: Niere im eröffneten Situs unmittelbar vor Organentnahme, die Darmschlingen werden zur besseren Einsicht beiseite gehalten

Methodik

Die behandelte Niere wurde intraoperativ zur späteren Wiedererkennung markiert. Die Ureteren wurden im Verlauf dargestellt und möglichst distal in Harnblasennähe durchtrennt. Die Aorta wurde kranial sowie kaudal des Ursprunges der Arteriae renalia abgeklemmt und durchtrennt. Die Nieren wurden als Ganzes, samt zuführenden Gefäßen, Aorta und Ureteren entnommen. Dies ist in Abbildung 13 dargestellt

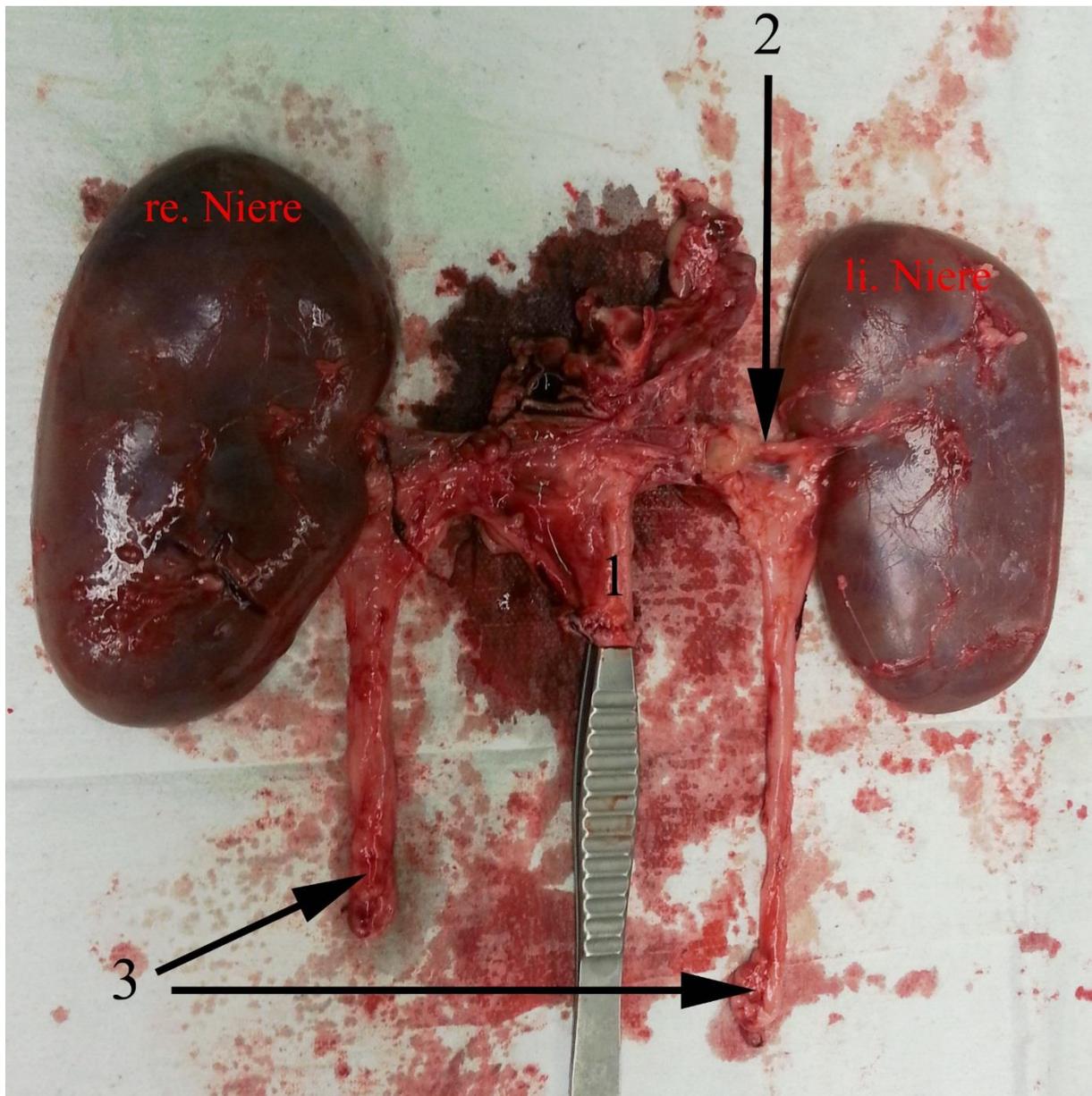


Abbildung 13: Entnommene Nieren, die Pinzette markiert die Aorta (1), 2 – A. renalis sinistra, 3 – Ureteren, re. – rechts, li. – links. Der in dieser Darstellung imponierende Größenunterschied der beiden Organe war bereits prä-interventionell bestehend und bei unauffälliger Histomorphologie am ehesten anlagebedingt

Für die NA-Bestimmung wurden die Vasa renalia am Hilus abgetrennt und die Nieren gewogen. Im Anschluss wurden sie mit 5 ml/g 0,2 M Ameisensäure (Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) in einem Metallbecher mit einem handelsüblichen Stabmixer homogenisiert. Das Homogenisat einer Niere wurde dann in drei Falcons von je 40

Methodik

50 ml Volumen überführt. Pro Schwein entstanden somit sechs Proben, jeweils drei pro Seite. Überschuss wurde verworfen. Die Falcons wurden bei -20°C tiefgefroren.

Der Gefäßbaum der Nieren wurde entlang einer in der Aorta eingeführten Pinzette von kranial nach kaudal mittig geteilt. Beide Seiten wurden in Probengefäße mit 50 ml 4 % Formaldehyd (Formalin Solution 4 %, Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) überführt.

Nach erfolgter Nephrektomie wurden die Kadaver im Rahmen der geltenden Richtlinien entsorgt.

3.3.5 Bestimmung des Noradrenalingehaltes im Nierengewebe

Die Bestimmung des Noradrenalin (NA)-Gehaltes der Nieren erfolgte im Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH (Leiter Prof. Dr. Ulrich Speck), Robert- Koch-Platz 4, 10115 Berlin, mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) nach Bauch et al.⁸⁹

Im ersten Arbeitsschritt wurde enthaltenes NA um den Faktor „4“ aufkonzentriert. Das Homogenisat aus Niere und 0,1 % Ameisensäure wurde zentrifugiert und 2 ml des Überstandes mit 10 µl einer 10 µg/ml Noradrenalin(d6)-Lösung ((±)-Norepinephrine-2,5,6,α,β,β-d₆ in 0,2 M Ameisensäure) als internem Standard, mit 1 ml der Lösung A (2 mol/l Ammoniumchlorid-/Ammoniumhydroxid; 8 mmol/l Diphenylborsäure-Ethanolaminkomplex; 13,4 mmol/l EDTA; pH 8,5 mit konzentrierter Salzsäure eingestellt) und 5 ml Lösung B (4,57 mmol/l Tetra-octyl-animoniumbromid in 25 % Chloroform, 75 % n-Heptan) versetzt. Nach dreimaligem Schütteln von jeweils 20 s auf dem Vortexer folgte eine 15 minütige Zentrifugation. Die obere Phase wurde abgenommen, in ein neues Gefäß überführt und mit 2 ml n-Oktanol und 0,5 ml 0,2 M Essigsäure auf dem Vortexer 20 s durchmischt und im Anschluss für 15 min zentrifugiert. Die obere organische Phase wurde abgenommen und verworfen. Die untere wässrige Phase wurde entnommen und erneut für 10 min zentrifugiert. Die nun aufkonzentrierte Probe wurde bis zur Analyse eingefroren.

Die NA-Konzentration wurde mittels HPLC bestimmt. Diese setzt sich zusammen aus einer Luna® C 18 Säule, 5 µm, 150 mm x 4.6 mm (Phenomenex®, Aschaffenburg, Deutschland), einer Pumpe (Waters 515, Waters Corporation, Milford, MA, USA), einem Detektor (Chromsystems CLC100, Chromsystems, Gräfelfing, Deutschland) mit Glas-Carbon-Arbeits Elektrode und Ag/AgCl-Referenzelektrode und einem Einspritzventil (Rheodyne® 7125, Chromtech, Apple Valley, MN, USA) mit 50 µl Probenschlaufe. Die

Methodik

Detektoreinstellungen waren: Potential 0,8 V, Range 5 nA, Offset 0,01 V, Rise Time 2 s. Fließmittel war ein Gemisch aus 62,43 mmol/l Methansulfonsäure, 29,59 mmol/l Phosphorsäure, 0,093 mmol/l Octansulfonsäure und 0,097 mmol/l EDTA (Titripex III) bei einer Fließrate von 1,3 ml/min isokratisch. Der pH-Wert wurde mittels 5 M Natriumhydroxyd auf 2,1 eingestellt. Der erhaltene Messwert wurde auf eine Probe mit bekanntem NA-Wert (Standard) bezogen.

3.3.6 Histopathologische Aufarbeitung

Für die histopathologische Untersuchung wurden Nierenarterien, Bauchorta und Ureteren zunächst in Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet.

Fixieren und Schneiden

Nierengefäße und Ureteren wurden im Labor der experimentellen Radiologie am CCM (Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, Charitéplatz 1, D-10117 Berlin) in größere formalinegefüllte Gefäße umgefüllt. Um eine ausreichende Infiltrationszeit in das Gewebe zu gewährleisten, verblieben die Präparate mindestens 24 Stunden (h) in Formalin. Im Anschluss wurden die Präparate geschnitten und in beschriftete Histologiekassetten (20 x 15 x 5 mm) überführt.

Die Einbettung erfolgte via Histokinette vollautomatisch (Leica TP 1020, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch). Die Kassetten wurden in einem Metallbehälter gesammelt und in den Automaten eingehängt. Während des 12 stündigen Durchlaufs durch die insgesamt zwölf Behälter (1 h/Behälter) wurden die Präparate zunächst in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und anschließend (mit Xylol als Zwischenmedium) mit Paraffin durchtränkt. Das lange etablierte Verfahren der Einbettung mittels Histokinette wird durch Russell et. al. ausführlich beschrieben.⁹⁰

Die nun eingebetteten Präparate wurden aus den Kassetten entnommen und in Stahlblechformen platziert. An der beheizten Paraffinausgießstation (Leica EG 1150H, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch) wurden die Formen mit Paraffin aufgegossen und die beschriftete Seite der zuvor verwendeten Kassetten auf der Stahlblechform platziert. Die Stahlblechformen wurden dann zur Aushärtung des Wachses auf eine Kühlplatte (Leica EG 1140C, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch) überführt. Nach dem Abkühlen konnten die Präparate in festen Wachsböcken aus den Metallgussformen entfernt werden.

Methodik

Nach der Aushärtung waren die Blöcke bereit zum Schneiden. Ziel war die Fertigung von Schnitten zur mikroskopischen Auswertung. Am Rotationsmikrotom (Leica RM2125RT, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch) wurden die Blöcke eingespannt und 5 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese wurden ins 37°C warme Wasserbad (Leica HI 1210, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch) und von dort auf zuvor beschriftete Objektträger (Super Frost® Plus Objektträger, R. Langenbrinck Labor- und Medizintechnik, D-79312 Emmendingen) überführt. Zum Trocknen wurden die Präparate einen Tag im Trockenschrank (Heraeus Kendro Laboratory Products, D-63505 Langenselbold) aufbewahrt. In Abbildung 14 ist der Laboratoriumsarbeitsplatz gezeigt.



Abbildung 14: Arbeitsplatz im Labor, 1 – Etikettendrucker für die Objektträger, 2 – Wasserbad, 3 – Mikrotom, 4 – Paraffinausgussstation, 5 – Kälteplatte mit Präparaten in Stahlblechformen, 6 – Automat zum Eindecken von Objektträgern, 7 – für die HE-Färbung genutzter Färbeautomat

Hier erfolgten das Einbetten, Schneiden der Wachsblöcke und Überführung der Schnitte auf Objektträger zur mikroskopischen Betrachtung.

Färben

Ziel war das Erkennen von Nervenzelldegenerationen entlang der behandelten Aa. renalia. Ebenso sollten mögliche Effekte auf das umliegende Gewebe sichtbar werden. In Abstimmung mit dem Institut für Neuropathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin wurde die Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung als Übersichtsfärbung gewählt. Als Spezialfärbung zum Erkennen von Nervenschäden wurde die Elastica van Gieson (EvG) Färbung ausgewählt. Zur

Methodik

späteren Auswertung wurden von jedem Präparat mindestens ein Objektträger mit HE und ein Objektträger mit EvG angefärbt.

Hämatoxylin-Eosin Färbung

Die HE Färbung ist eine histologische Standardfärbung. Die reaktiven Komponenten sind Eosin und Hämalalum. Funktionsweise und Anwendungen sind in der Literatur vielfach beschrieben.⁹¹ Der saure Farbstoff Eosin bindet an basische Zellbestandteile und färbt diese rot. Das basische Hämalalum färbt saure Zellbestandteile blau. Der Zellkern und das raue Endoplasmatische Retikulum stellen sich daher blau und das Zytoplasma rot dar.

Die Färbung der Präparate erfolgte im Labor der experimentellen Radiologie Charité am Färbeautomaten (Leica Autostainer XL, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch, Programm 14). Vor Färbebeginn wurden die Objektträger für einige Minuten im Wärmeschrank bei 60°C aufbewahrt. Das Färbeprotokoll entspricht dem üblichen Vorgehen. Zunächst wurden die Präparate mittels Xylol entparaffinisiert und in einer absteigenden Alkoholreihe gefolgt von Wasser rehydratisiert. Im Anschluss folgte der erste Färbeschritt in Mayers Hämalalum. Nach Spülung unter fließendem Wasser folgte die Eosinfärbung. In einer aufsteigenden Alkoholreihe – gefolgt von Xylol – wurde das Präparat vor der Eindeckung erneut dehydratisiert.

Im Anschluss an das Färbeprotokoll wurden die Objektträger vollautomatisch eingedeckt (Leica CV5030, Leica Biosystems Nussloch GmbH, D-69226 Nussloch).

Elastica van Gieson Färbung

Die EvG Färbung färbt Kollagenfasern rot und elastische Fasern schwarz. Kollagenzunahme als Zeichen einer Fibrosierung im Rahmen von Neurodegeneration wird damit sichtbar.

Die Färbung erfolgte manuell in der Neuropathologie am CCM (Institut für Neuropathologie Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte Charitéplatz 1, Virchowweg 15, D-10117 Berlin). Nach Entparaffinisierung und Rehydratisierung in Xylol, gefolgt von einer Spülung in absteigenden Alkoholkonzentrationen, verblieben die Präparate 20 min in Resorcin-Fuchsin-Lösung. Nach kurzem Spülen mit Wasser folgten 5 min in Weigertschen Hämatoxylin. Daraufhin wurden die Präparate unter fließendem Wasser gebläut und blieben im letzten Färbeschritt 3 min in Pikofuchsin. In einer aufsteigenden Alkoholreihe mit abschließendem Xylolbad wurden die Präparate dehydriert und anschließend vollautomatisch eingedeckt.

Methodik

Nach erfolgreicher Färbung wurden die Präparate von einem Neuropathologen beurteilt. Besonderes Augenmerk wurde auf Folgen der Substanzapplikation gelegt. Primäres Ziel war das Erkennen von geschädigten und um die behandelte A. renalis gelegenen Nervenfaszikeln. Ferner wurde nach weiteren Zellschäden und Veränderungen gesucht, welche als Nebenwirkungen aufgetreten sein konnten. Auffällige Präparate wurden zur späteren Wiedererkennung markiert.

Im Anschluss wurden am Mikroskop Bilder der histologischen Schnitte erzeugt (Zeiss Axio Observer, Carl Zeiss Microscopy GmbH, D-07745 Jena).

3.3.7 Blutdruckmessung

Die Messung des arteriellen Blutdruckes erfolgte unmittelbar prä- sowie postinterventionell und vor der Euthanasie. In Seitenlage des Tieres wurden jeweils drei Messungen am selben Hinterlauf durchgeführt. Die Messungen erfolgten mit dem IntelliVue MP5 patient monitor (Philips electronics, Eindhoven, Niederland) unter Verwendung einer Blutdruckmanschette der Größe „small“, geeignet für Zirkumferenzen von 20,5 cm bis 28 cm. Die Manschette ist für die klinische Anwendung bei Kindern konzipiert und wurde für die Anwendung im Tierversuch genutzt.

3.3.8 Statistik

Zum statistischen Vergleich der erhobenen Noradrenalin – und Blutdruckwerte wurden gepaarte t-Tests verwendet. P-Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant gewertet. Die statistische Auswertung sowie Bestimmung von Mittelwerten, Median und Standardabweichung von Gewicht der Tiere und ihrer Nieren, Interventionsdauer, Injektatvolumen, Wirkstoffmenge, Blutdruck- und Noradrenalinwerten erfolgte mit Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine Daten

Insgesamt wurden für die Versuche zwölf Schweine im Alter von etwa drei Monaten verwendet. Das mittlere Gewicht der Schweine in der Vincristin-Gruppe betrug am Tag der Intervention 23,8 kg ($\pm 2,6$ kg). Nach zwei Wochen, am Tag der Euthanasie, wogen die Schweine im Mittel 29,3 kg ($\pm 3,5$ kg). Das mittlere Gewicht betrug in der Guanethidin-Gruppe am Tag der Intervention 23,45 kg ($\pm 1,3$ kg) und am Tag der Euthanasie 33,1 kg ($\pm 3,3$ kg).

4.2 Technische Durchführbarkeit

Bei allen zwölf Schweinen ließen sich die Nierenarterien in der KM-gestützten Planungs-CT-Untersuchung zuverlässig darstellen. Auffällig war das häufige Auftreten von akzessorischen oder sich im Verlauf frühzeitig aufzweigenden Nierenarterien.



Abbildung 15: Darstellung der Nierenarterien, Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, CT in arterieller Phase, coronar, die rechte und linke A. renalis mitsamt Haupt- und Nebenästen sind rot umrandet, re. – rechts, li. – links

Abbildung 15 zeigt beispielhaft zwei aufeinanderfolgende coronare Schnitte (1 mm Schichtdicke) einer KM-CT in der arteriellen Phase. Sie entspricht den Verhältnissen vor der Intervention. Die Nieren und deren zuführenden Arterien stellen sich beidseits deutlich dar. Besonderes Augenmerk soll in dieser Abbildung ferner auf die Aufzweigungen der

Ergebnisse

Nierenarterien gelegt werden. Rechts und links entspringt kranial des sich im Verlauf früh aufzweigenden Hauptastes der A. renalis ein weiteres die Nieren versorgendes Gefäß aus der Aorta, eine sogenannte akzessorische Polararterie.

Das Anmischen der Injektionslösungen mit Vincristin oder Guanethidin war in allen Fällen problemlos möglich. Es entstanden homogene, flüssige Injektatmischungen. Die CT-gesteuerte Punktion, die Positionierung der Injektionsnadel um die betreffende proximale Nierenarterie und die Applikation der Interventionslösung war bei allen Schweinen möglich.

Einen wichtigen Outcome Parameter stellt die Distribution des Injektats dar. Als primäres Ziel galt das Umspülen des Nierenostiums, sekundär sollte auch eine Umspülung der A. renalis in ihrem Verlauf erreicht werden. Bei elf von insgesamt zwölf behandelten Schweinen gelangen die Umspülung des Ostiums und mindestens eine partielle Umspülung der Nierenarterie im Verlauf.

Vincristin

Tabelle 2 zeigt die Injektatdistribution für die sechs mit Vincristin behandelten Schweine.

Tabelle 2: Scoring der Injektatdistribution der Schweine Vincristin (Vinc.) 1 - 6

Schwein	Vinc. 1	Vinc. 2	Vinc. 3	Vinc. 4	Vinc. 5	Vinc. 6
Score	2	3	3	2	3	3

Bei vier von sechs Schweinen wurde der Maximalscore von 3 Punkten erzielt.

Abbildung 16 und Abbildung 17 zeigen die Injektatdistribution von Schwein Vincristin 3, beispielhaft geltend auch für Schwein Vincristin 2, 5, 6 und Guanethidin 1 – 4, bei einem Distributionsscore von 3 Punkten. Dies entspricht einer exzellenten Injektatverteilung.

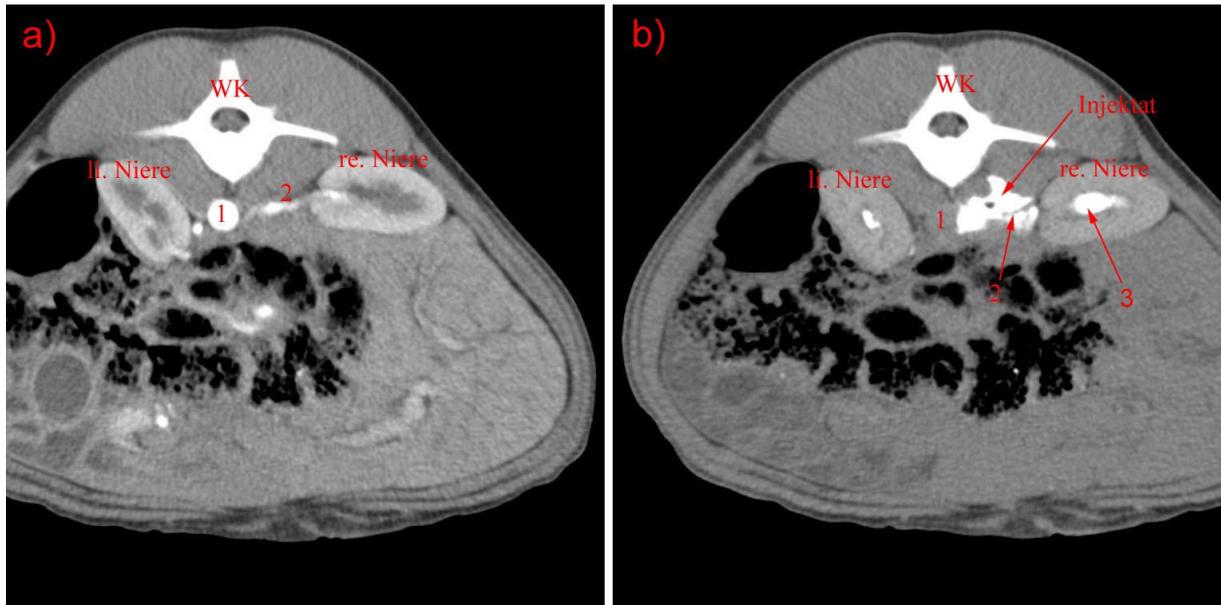


Abbildung 16: Distributionsscore 3 (exzellente Verteilung), Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, axial, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra, 3 - KM gefülltes NBKS, re. - rechts, li. - links

In der Abbildung 16 ist eine axiale CT-Aufnahme in der arteriellen Phase präinterventionell a) einer nativen CT-Aufnahme post-injektionem b) gegenübergestellt. Das sich in Abbildung 16b) hyperdens darstellende Injektat umspült das Ostium der Nierenarterie. Die A. renalis stellt sich als hypodense Struktur (2) innerhalb des Injektats dar.

Wie auch in den nachfolgenden Abbildungen zur Injektatverteilung zeigt sich bereits eine regelrechte renale KM-Ausscheidung im Nierenbeckenkelchsystem (3) und Ureter.

Ergebnisse

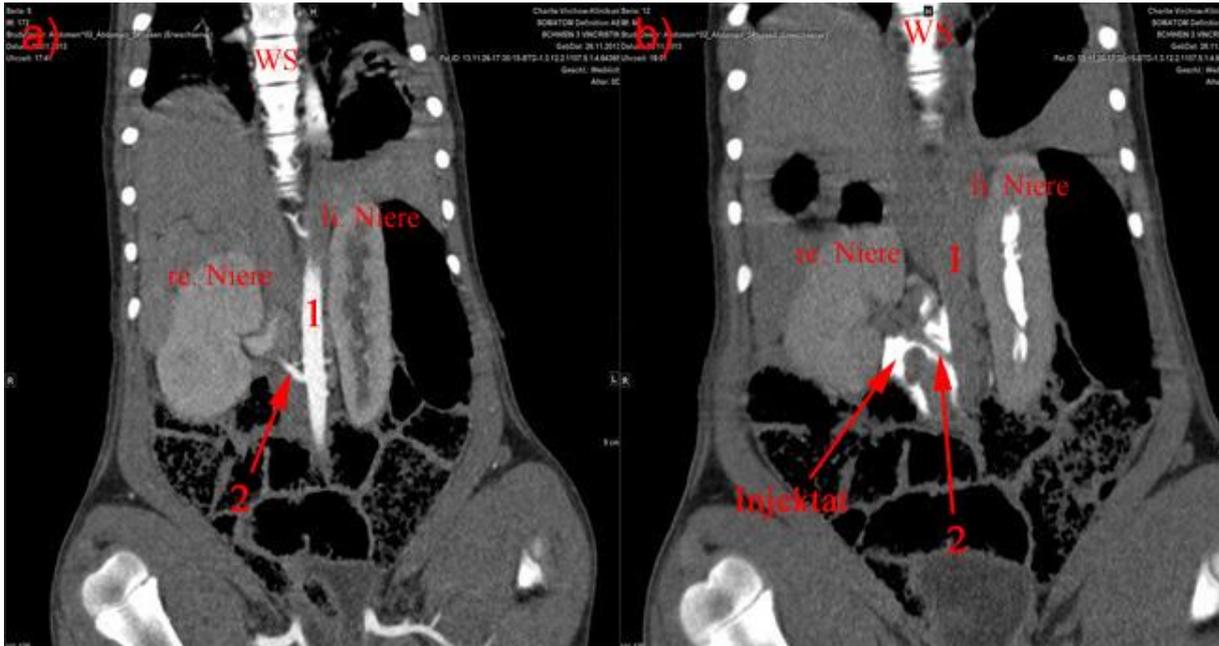


Abbildung 17: Distributionsscore 3 (exzellente Verteilung), Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra

Analog zu Abbildung 16 ist in Abbildung 17 der präinterventionellen KM-gestützten CT-Aufnahme a) von Schwein Vincristin 3 eine unmittelbar postinterventionell durchgeführte Nativ-CT-Aufnahme b) gegenübergestellt. Die Nierenarterie (2) stellt sich hypodens im KM enthaltenden hyperdensen Injektat dar, welches das Ostium sowie die Arterie selbst im Verlauf umspült.

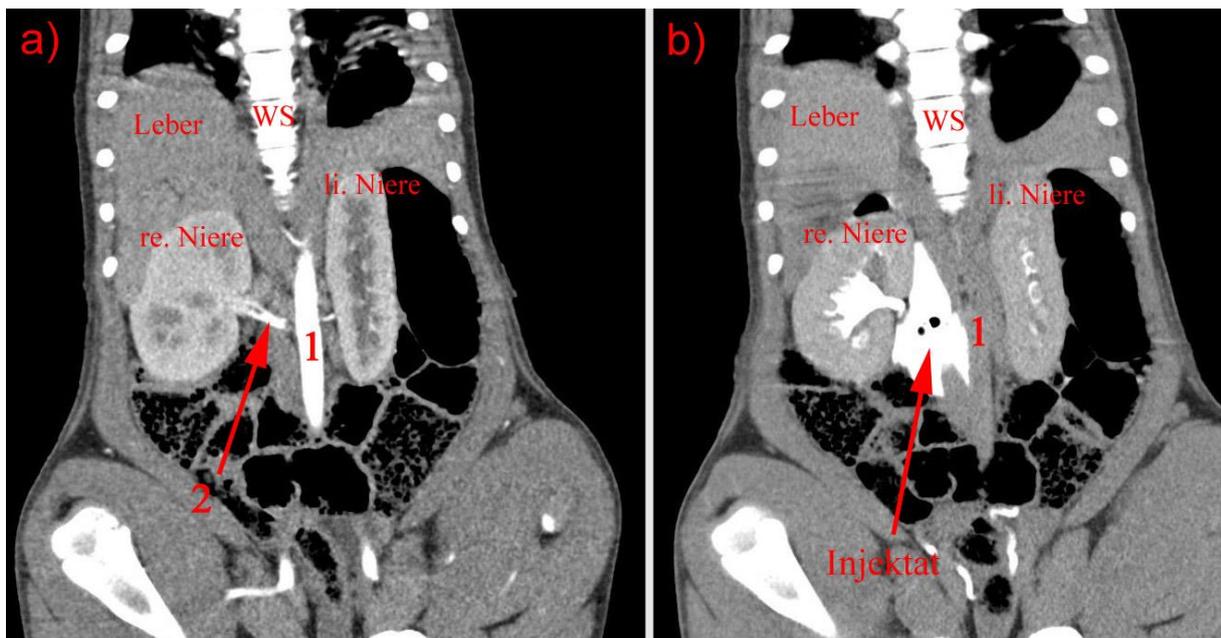


Abbildung 18: Injektatdistribution, Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re.-= rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra

Ergebnisse

Abbildung 18 zeigt im Vergleich zu Abbildung 17 eine etwas weiter dorsal gelegene Schnittebene der gleichen Untersuchung. Im Vergleich von Abbildung 17 und Abbildung 18 wird deutlich, dass in der dorsalen Schnittebene mehr Injektat zur Darstellung kommt.

Bei den Interventionen der Schweine Vincristin 1, 4 und Schwein Guanethidin 6 ist eine Umspülung des Ostiums und eine partielle Umspülung der Nierenarterie erreicht worden. Abbildung 19 und Abbildung 20 zeigen die Injektatdistribution bei einem Score von 2 Punkten (suffiziente Injektatverteilung).

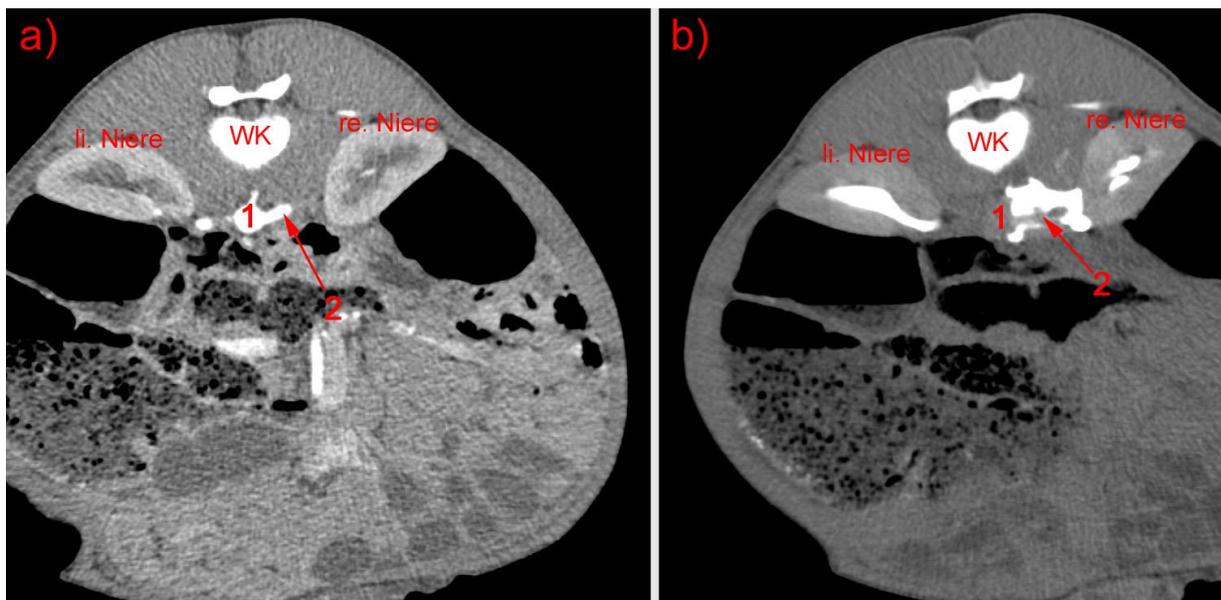


Abbildung 19: Distributionsscore 2 (ausreichende Verteilung), Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, axial, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra

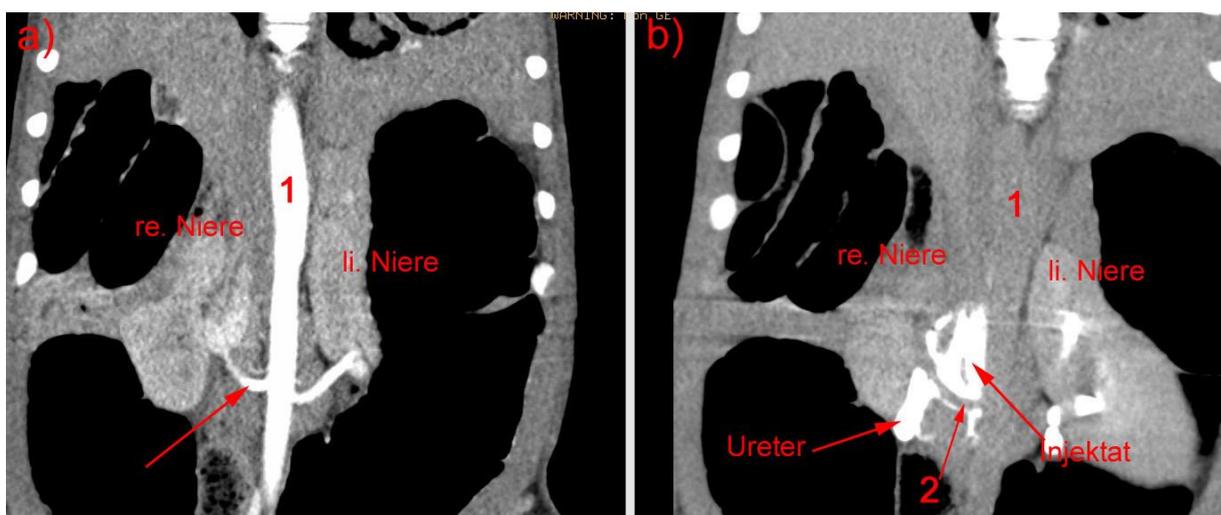


Abbildung 20: Distributionsscore 2 (ausreichende Verteilung), Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra

Ergebnisse

Analog zu den vorausgehenden Abbildungen ist der präinterventionellen CT in der arteriellen Phase a), die postinterventionelle CT b) in der gleichen Schnittebene gegenübergestellt. Der Fokus liegt bei Abbildung 19 und Abbildung 20 auf der Darstellung des Injektatkontaktes zum Ostium der Nierenarterie. Im Vergleich zu Abbildung 16 und Abbildung 17 umgibt das Injektat die A. renalis nicht im gesamten Verlauf. Der partiellen Umspülung der A. renalis entsprechend ergibt sich ein Distributionsscore von 2 Punkten.

Der mittlere Distributionsscore betrug für die Vincristin-Gruppe 2,7 ($\pm 0,5$).

Die mittlere Interventionsdauer (definiert als das Zeitintervall zwischen initialer CT und postinterventioneller Nativ-CT-Bildgebung) für alle mit Vincristin behandelten Schweine betrug 23,6 Minuten ($\pm 4,5$ Minuten).

Guanethidin

Tabelle 3 zeigt die Injektatdistribution für alle mit Guanethidin behandelten Schweine.

Tabelle 3 Scoring der Injektatdistribution der Schweine Guanethidin (Guan.) 1 - 6

Schwein	Guan. 1	Guan. 2	Guan.3	Guan. 4	Guan. 5	Guan. 6
Score	3	3	3	3	1	2

Für vier Schweine konnte eine exzellente Injektatverteilung mit maximalem Injektationsscore, entsprechend der Darstellung in Abbildung 16 und Abbildung 17 erreicht werden. Bei Schwein Guanethidin 6 konnte eine ausreichende Injektatverteilung, entsprechend Abbildung 18 und Abbildung 19 erreicht werden. Bei Schwein Guanethidin 5 wurde keine Umspülung von Ostium oder Nierenarterie erzielt.

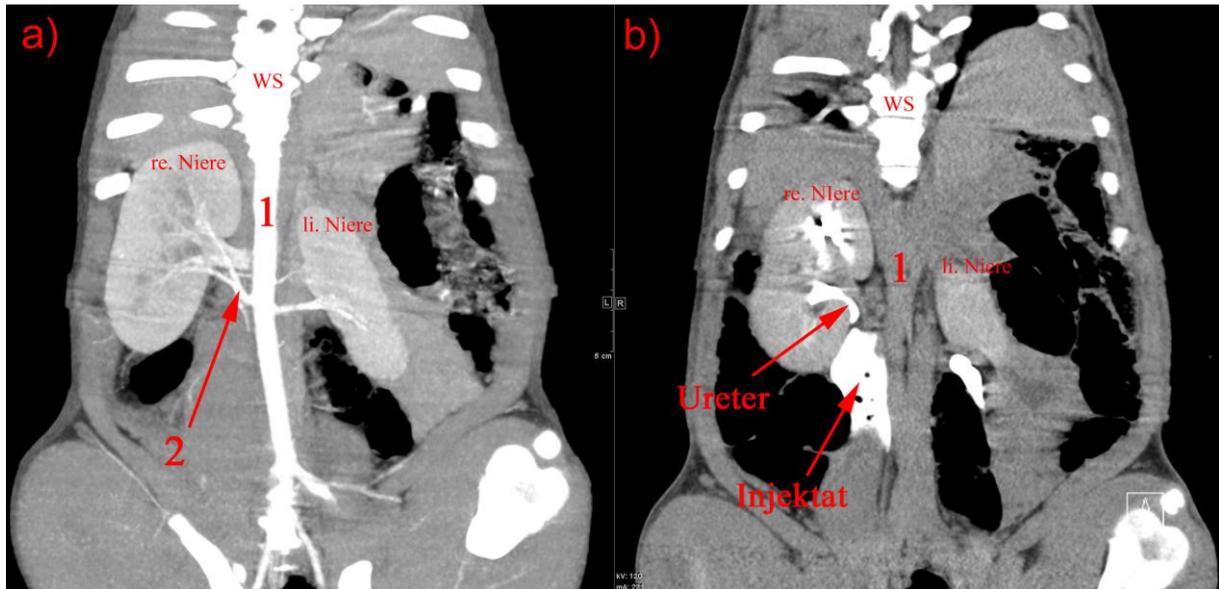


Abbildung 21: Distributionsscore 1 (nicht ausreichende Verteilung), Schwein 5 der Guanethidin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in Maximumintensitätsprojektion und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, WS – Wirbelsäule, 1 - Aorta, 2= A. renalis dextra, re. – rechts, li. – links

Abbildung 21 stellt ein präinterventionelles Bild in Maximumintensitätsprojektion (MIP, 10 mm) zur besseren Gefäßdarstellung a) der unmittelbar postinterventionell durchgeführten CT Aufnahme b) gegenüber. Das Injektat stellt sich in der postinterventionellen Aufnahme deutlich kaudal des Gefäßverlaufes (2) dar. Es sind weder das Gefäßostium noch die Arterie selbst umspült. Dies entspricht dem Distributionsscore 1.

Der mittlere Distributionsscore für die Guanethidin-Gruppe betrug $2,5 (\pm 0,8)$ Punkte.

Die mittlere Interventionsdauer lag bei 30 Minuten (± 22 Minuten).

4.3 Sicherheit und Komplikationen

Bei allen 12 Schweinen beider Gruppen traten keine intra- oder postinterventionellen akuten Komplikationen auf. Auch während der zwei-wöchigen Beobachtungszeit konnten keine mit der Substanzinjektion assoziierten Nebenwirkungen identifiziert werden. Weder zeigte eines der Schweine Verhaltensauffälligkeiten noch kam es zur Notwendigkeit einer Anwendung von Schmerzmitteln oder sonstiger Medikation binnen des Beobachtungszeitraums.

In der vor der Euthanasie durchgeführten CT-Bildgebung konnten bei keinem der Schweine mit der Intervention assoziierte Auffälligkeiten entdeckt werden. Es gab keine CT-morphologischen Anzeichen für Nierenarterienstenose, Thrombose oder Harnstau. Schwein Guanethidin 4 zeigte als Zufallsbefund bereits in der präinterventionell durchgeführten CT

Ergebnisse

große Nierenzysten. Sie sind in der Abbildung 22 gezeigt. Dies konnte sicher von einer postinterventionell aufgetretenen Hydronephrose unterschieden werden.

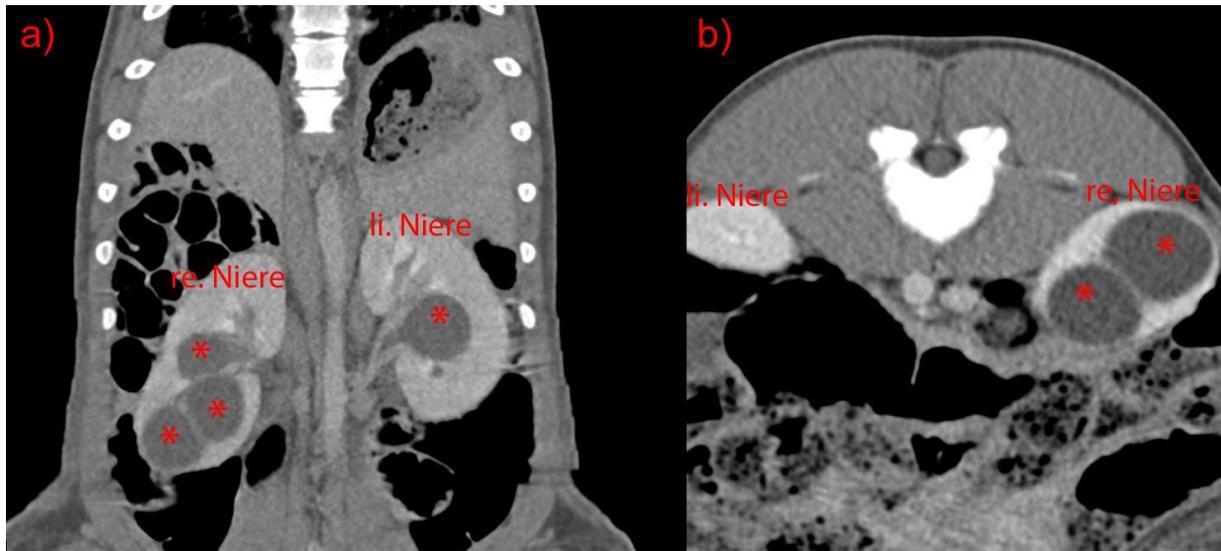


Abbildung 22: Nierenzysten im Planungs-CT, Schwein Guanethidin 4, a) coronare und b) axiale Aufnahme, Nativ-CT, Nierenzysten, sind mit * gekennzeichnet, re. – rechts, li. – links

Nach Eröffnung des Situs ließen sich makroskopisch im Zuge der Nierenentnahme in keinem Fall interventionsbedingte Veränderungen nachweisen. Abbildung 23 zeigt die Nierenzysten von Schwein Guanethidin 4, korrelierend zu Abbildung 22.

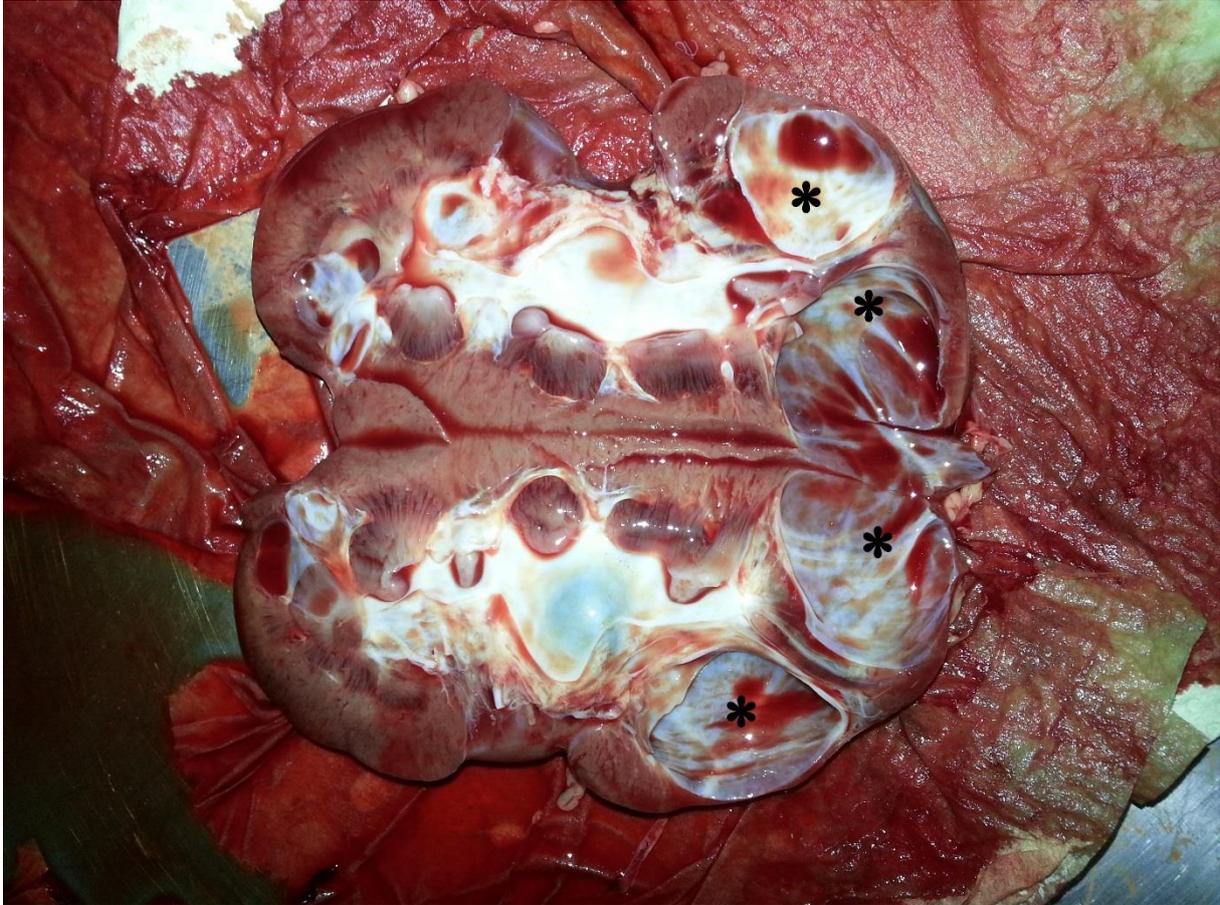


Abbildung 23: Nierenzysten von Schwein Guanethidin 4, rechte Niere entlang Längsachse halbiert, die prominentesten Zysten sind mit * gekennzeichnet

4.4 Effektivität - Noradrenalinwerte

Die Noradrenalin (NA)-Konzentration im Nierenparenchym diene als funktioneller Parameter der renalen Denervation. Eine erfolgreiche Sympathikolyse bedingt eine verminderte NA-Ausschüttung aus den postganglionären sympathischen Neuronen. Indikator für eine erfolgreiche renale Denervation ist daher ein Abfall der NA-Konzentration im Nierenparenchym der Interventionsseite gegenüber der unbehandelten Seite.

4.4.1 Vincristin-Gruppe

Die Tabelle 4 stellt die NA-Konzentrationen im Nierenparenchym für Schwein Vincristin 1 – 6 im Vergleich von behandelter und unbehandelter Seite gegenüber. In dieser Gruppe handelt es sich bei der behandelten Seite immer um die rechte Nierenarterie.

Ergebnisse

Tabelle 4: NoradrenalinKonzentrationen im Nierenparenchym von Schwein Vincristin 1 – 6, NA - Noradrenalin

Schwein	Applizierte Injektatmenge in ml	NA in ng/g unbehandelte Niere	NA in ng/g behandelte Niere	Differenz in %
Vincristin 1	7,5	605,67	270,34	-55,40
Vincristin 2	9	451,16	170,19	-62,30
Vincristin 3	10	390,08	174,76	-55,20
Vincristin 4	10	576,15	298,11	-48,30
Vincristin 5	10	433,5	270,0	-37,70
Vincristin 6	10	696,0	298,5	-57,10

Bei allen mit Vincristin behandelten Schweinen ist die NA-Konzentration im Nierengewebe der behandelten Seiten gegenüber dem Nierenparenchym der unbehandelten Seite niedriger. Im Vergleich zur unbehandelten Seite beträgt der Abfall zwischen 37,7 % und 62,3 %. Abbildung 24 stellt die NA-Konzentrationen der behandelten und unbehandelten Seiten im Vergleich grafisch dar.

Ergebnisse

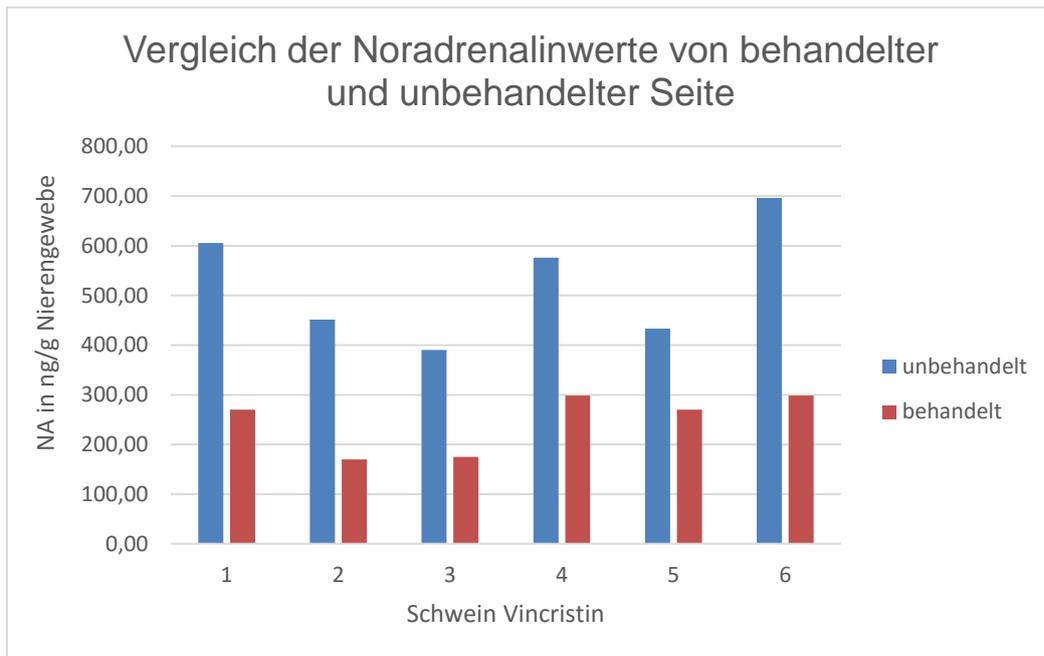


Abbildung 24: Noradrenalin (NA)-Werte Schwein 1 - 6 Vincristin, jeweils zwei Balken pro Schwein repräsentieren die behandelte (rot) und unbehandelte Seite (blau), die Ordinate zeigt die NoradrenalinKonzentration im Nierenparenchym, auf der Abszisse sind die Tiere 1 – 6 abgebildet,

Der arithmetische Mittelwert für die NA-Konzentration der unbehandelten Seite beträgt 525,43 ng/g ($\pm 118,65$ ng/g). Der arithmetische Mittelwert der behandelten Seite beträgt 246,99 ng/g ($\pm 59,09$ ng/g). Im Mittel beträgt der NA-Abfall der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite 53 %. Die erzielte NA-Reduktion der behandelten Seite ist statistisch signifikant (p-Wert < 0,01). Abbildung 25 zeigt die arithmetischen Mittelwerte samt Standardabweichung der NA- Konzentrationen von behandelten und unbehandelten Seiten im Vergleich.

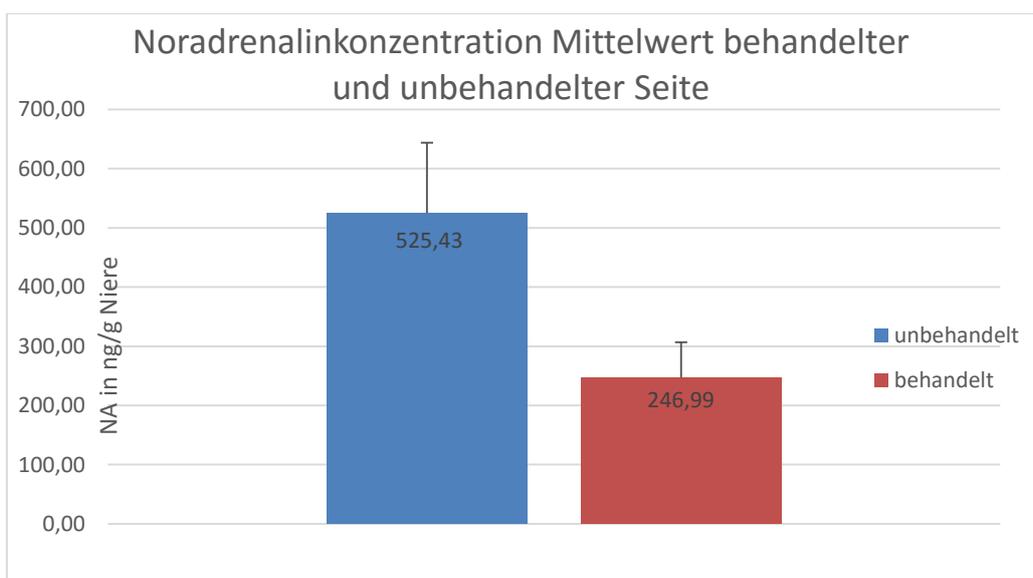


Abbildung 25 Arithmetische Mittelwerte der Noradrenalin (NA)-Konzentrationen der mit Vincristin behandelten und unbehandelten Nieren im Vergleich, Fehlerbalken sind Standardabweichungen (p-Wert < 0,01, zweiseitig, gepaarter t-Test)

4.4.2 Guanethidin-Gruppe

Tabelle 5 zeigt die NA-Konzentrationen der mit Guanethidin behandelten Schweine Guanethidin 1 – 6. Bei Schwein Guanethidin 1, 2 und 6 erfolgte die Intervention an der rechten Seite. Bei Schwein Guanethidin 3, 4 und 5 war die linke Nierenarterie Ort der Intervention.

Tabelle 5: Noradrenalinwerte (NA) Schwein Guanethidin 1 - 6

Schwein	Applizierte Menge in ml	NA in ng/g unbehandelte Niere	NA in ng/g behandelte Niere	Differenz in %
Guanethidin 1	10	128,86	138,91	+7,80
Guanethidin 2	10	306,76	201,00	-34,50
Guanethidin 3	10	166,58	189,35	+13,70
Guanethidin 4	10	166,40	121,05	-27,25
Guanethidin 5	10	246,00	362,00	+47,20
Guanethidin 6	10 + 1 *	252,00	164,00	-34,90

* steht für die Nachinjektion von 1 ml Lösung entsprechend 1 mg Guanethidin nach initialer Fehlapplikation. Drei der sechs Schweine weisen einen Abfall der NA-Konzentration im Nierenparenchym der behandelten Seite gegenüber der unbehandelten Seite auf (Schwein 2, 4 und 6). Der Abfall beträgt zwischen 27,25 % und 34,9 %. Die anderen drei Schweine weisen um 7,8 % bis 47,2 % höhere Werte der jeweils behandelten Seite gegenüber der unbehandelten Seite auf. Abbildung 26 stellt die NA-Konzentrationen der behandelten und unbehandelten Seiten im Vergleich grafisch dar.

Ergebnisse

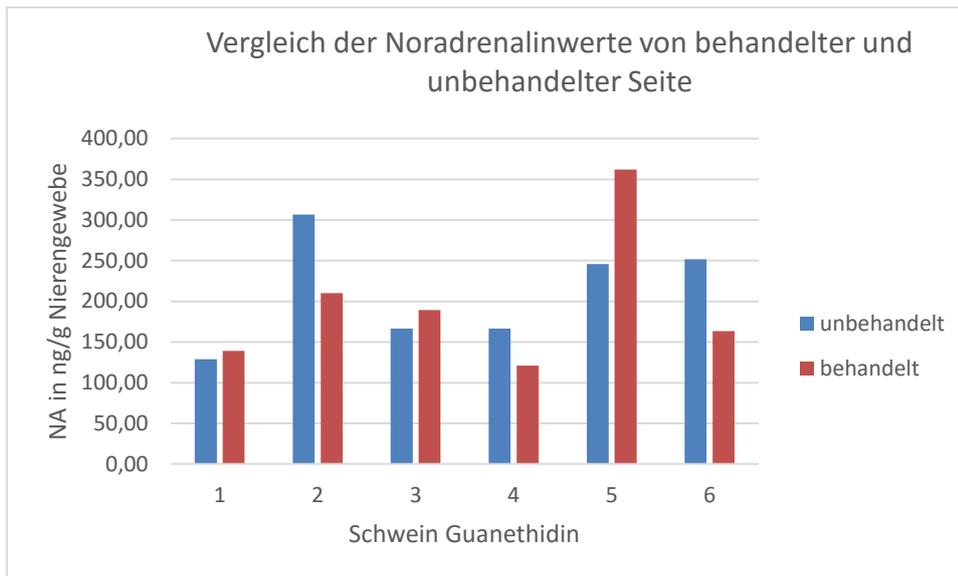


Abbildung 26: Noradrenalin (NA)-Werte Schwein 1 - 6 Guanethidin, jeweils zwei Balken pro Schwein repräsentieren die behandelte (rot) und unbehauelte Seite (blau), die Ordinate zeigt die NoradrenalinKonzentration, auf der Abszisse sind die Tiere 1 – 6 abgebildet

Die mittlere Konzentration von NA im Nierenparenchym der unbehauelten Seite beträgt 211,06 ng/g ($\pm 67,48$ ng/g). Die Konzentration der behandelten Seite beträgt 197,45 ng/g ($\pm 86,80$ ng/g). Die Differenz von unbehauelter zu behauelter Seite entspricht einer nicht signifikanten Abnahme von 10,7 % (p-Wert $> 0,1$). Abbildung 27 zeigt die arithmetischen Mittel im Vergleich.

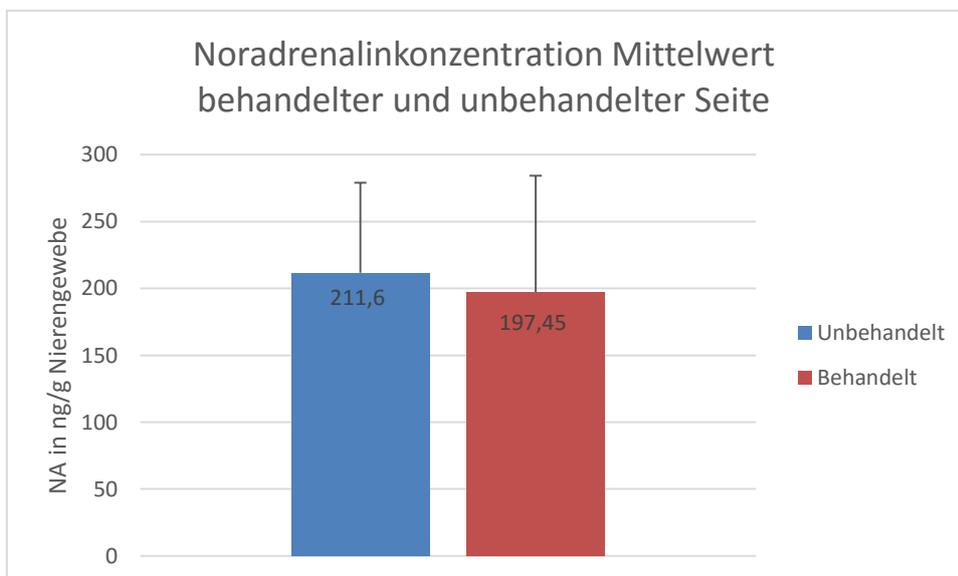


Abbildung 27: Arithmetische Mittelwerte der Noradrenalin (NA)-Konzentrationen der mit Guanethidin behandelten und unbehauelten Nieren im Vergleich, Fehlerbalken sind Standardabweichungen (p-Wert = 0,69, zweiseitig, gepaarter t-Test)

4.5 Histopathologische Auswertung

Ziel der Auswertung war die Darstellung der durch die Substanzapplikation verursachten Effekte auf das Gewebe. Fokus lag auf dem Erkennen von Schädigungen an Neuronen in der Adventitia der A. renalis und dem umgebenden Bindegewebe. Als Korrelat für neuronale Degeneration gelten intra- und perineurale Fibrosierung. Dies bezeichnet einen bindegewebigen Umbau und dadurch schlechtere oder fehlende Abgrenzung der Nerven zum umliegenden Bindegewebe sowie stärkere Anfärbung in der EvG Färbung.

Ferner wurde nach möglichen histologisch sichtbaren Nebenwirkungen der Substanzinjektion auf das Nachbargewebe gesucht. Besonderes Augenmerk lag hier auf den Präparaten der Ureteren der behandelten Seiten, da diese in unmittelbarer Nachbarschaft zur Zielregion liegen.

Insgesamt wurden 659 Schnitte angefertigt und auf Objektträger gebracht. Die Begutachtung und Auswertung erfolgte gemeinsam mit einem Facharzt für Neuropathologie am Institut für Neuropathologie der Charité Universitätsmedizin, Campus Mitte.

Die Abbildung 28 zeigt exemplarisch das histologische Schnittbild einer gesunden, unbehandelten Nierenarterie in HE Färbung. Zellkerne stellen sich blau, das Zytoplasma rötlich/violett gefärbt dar.

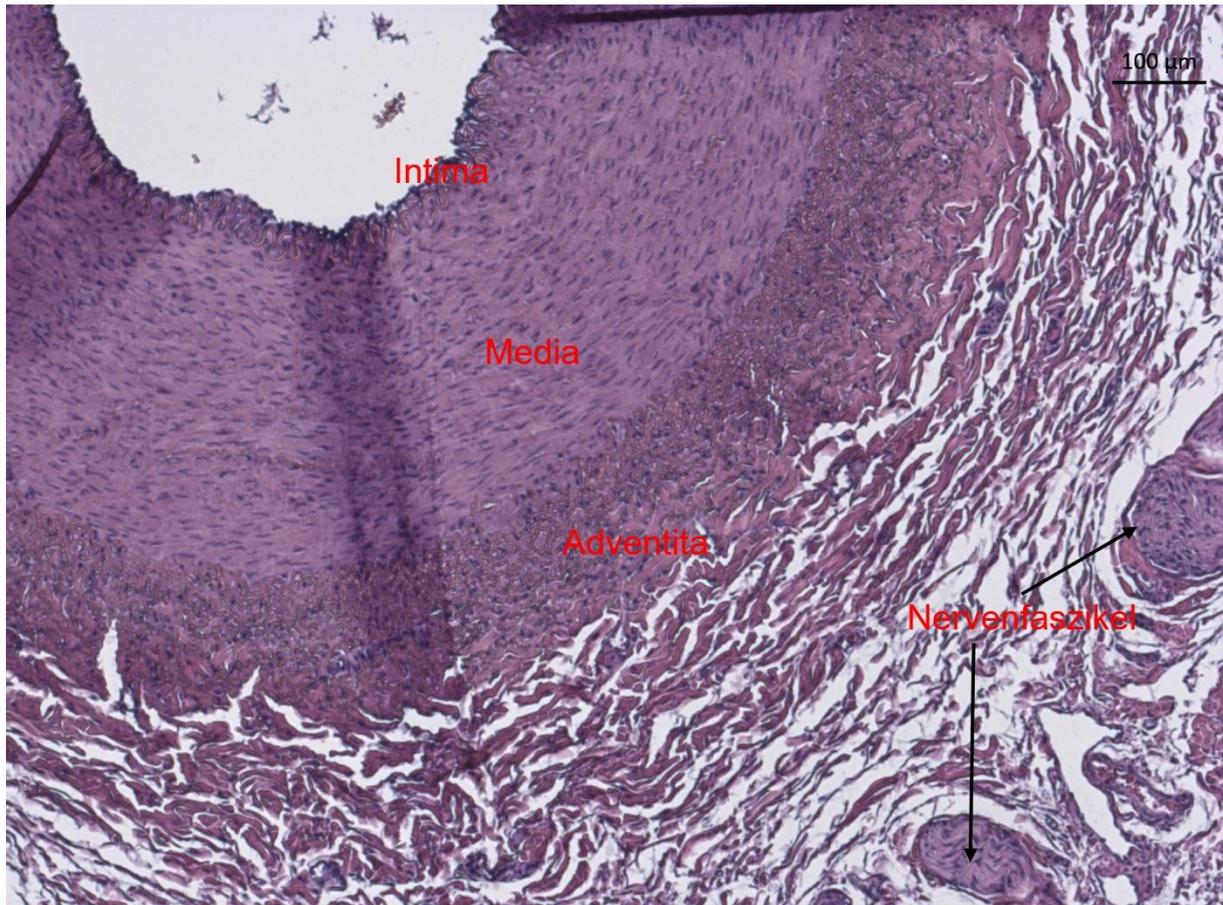


Abbildung 28: Übersicht Nierenarterie, Schwein Vincristin 2, linke Nierenarterie, HE Färbung, 5x Vergrößerung, schwarze Pfeile weisen auf intakte Nervenfaszikel im umgebenden Bindegewebe

Die Abbildung 28 zeigt den klassischen Aufbau einer Arterie mit Tunica Intima, Media und Adventitia (auch Tunica Externa). Die Adventitia geht in das umgebende Bindegewebe über. Hier befinden sich die sympathischen Neuronen des Plexus renalis. Im rechten unteren Bildrand sind zwei intakte Nervenfaszikel dargestellt. Diese Beispielabbildung stammt von der unbehandelten Nierenarterie von Schwein Vincristin 2.

Ergebnisse

In der folgenden Abbildung 29 sind exemplarisch histomorphologisch gesunde Nervenfaszikel in HE Färbung gezeigt.

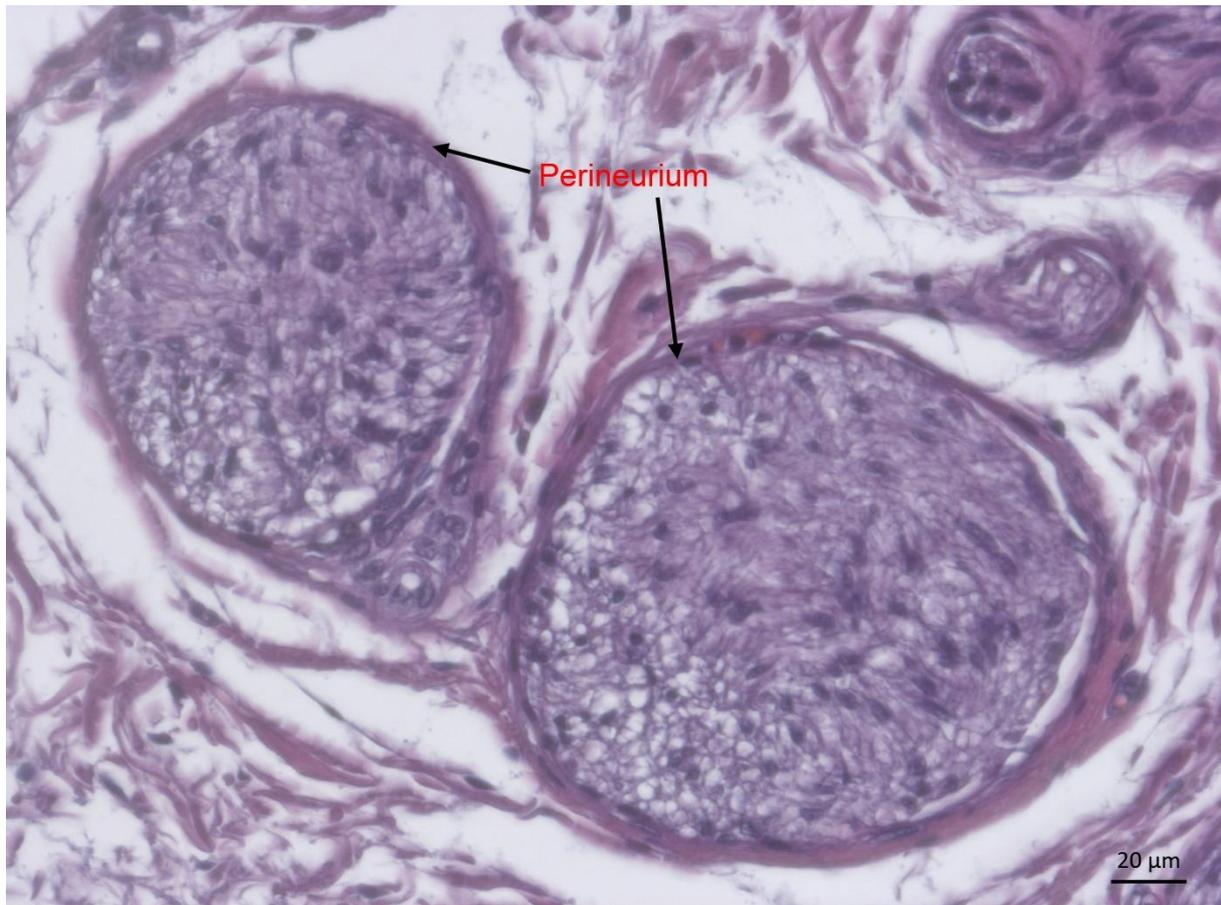


Abbildung 29: Intakte Nervenfaszikel, Vincristin Schwein 6, unbehandelte linke Nierenarterie, HE Färbung, 20x vergrößert; Ablösung des Faszikels vom Perineurium ist ein durch Fixation bedingtes Artefakt

Die Faszikel umgebendes Perineurium ist eindeutig abgrenzbar und zart. Die Nerven selbst zeigen keine Vakuolenbildung oder Zeichen von Fibrosierung, soweit in HE Färbung beurteilbar. Freie Räume zwischen Nerv und Perineurium sind fixationsbedingte Artefakte.

Ergebnisse

Abbildung 30 zeigt exemplarisch eine gesunde, unbehandelte Nierenarterie mit umgebendem Bindegewebe in EvG Färbung. Kollagenfasern werden rot, elastische Fasern schwarz angefärbt.

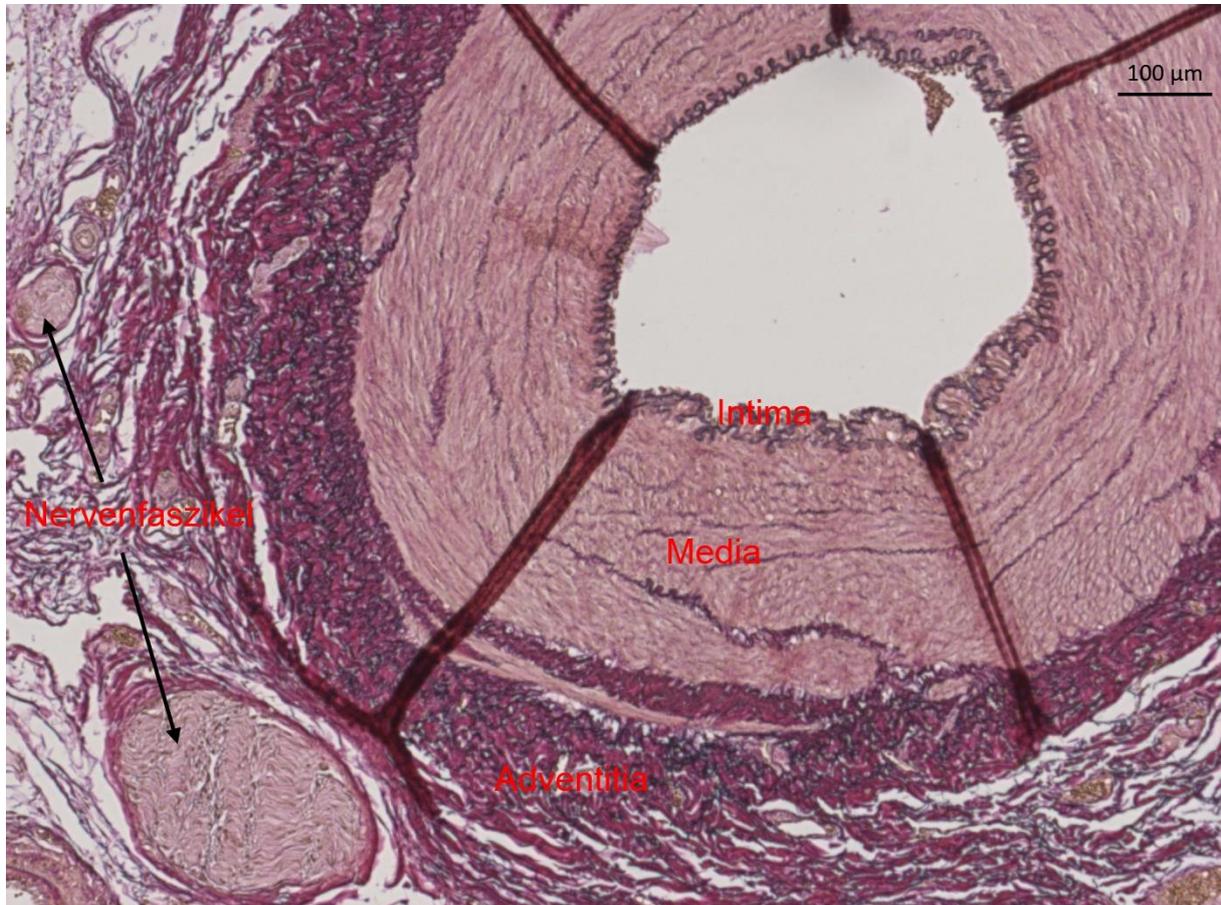


Abbildung 30: Übersicht Nierenarterie, Schwein Vincristin 3 unbehandelte linke Nierenarterie, EvG Färbung, 5x Vergrößerung, schwarze Pfeile weisen auf intakte Nervenfaszikel im umgebenden Bindegewebe, durch alle Wandschichten ziehende nadelartige Streifen sind Überlagerungsartefakte

Auch in Abbildung 30 wird der typische Wandaufbau der Arterie deutlich. Innerhalb der Intima stellt sich die Membrana elastica interna aufgrund ihres hohen Anteils elastischer Fasern als „schwarzes Band“ dar. Die kollagenreiche Adventitia wird durch stärkeres Anfärben deutlich sichtbar. Bei den durch alle Wandschichten verlaufenden dunklen, nadelartigen Streifen handelt es sich um Überlagerungsartefakte der Arterienwand. Diese entstehen beim Aufziehen des Schnittpräparates aus dem Wasserbad auf den Objektträger. Der im linken unteren Bildrand markierte Nervenfaszikel imponiert ebenfalls durch eine stark angefärbte, weil kollagenreiche, Hülle: das Perineurium.

Ergebnisse

Die Abbildung 31 zeigt beispielhaft einen intakten Nervenfaszikel in EvG Färbung. Es handelt es sich um einen Bildausschnitt aus dem die Nierenarterie umgebenden Bindegewebe.

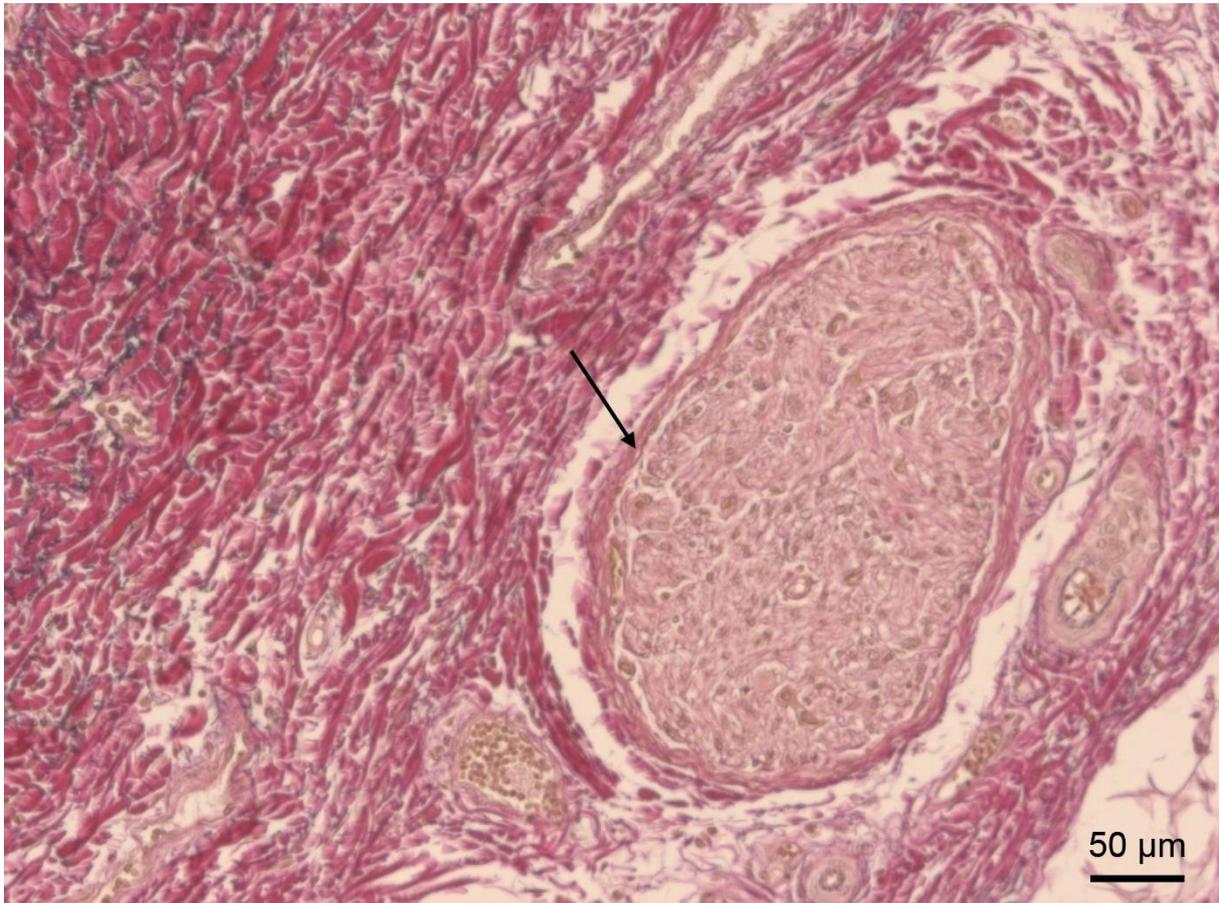


Abbildung 31: Intakte Nervenfaszikel, Vincristin Schwein 6, linke Nierenarterie, EvG Färbung, 10x vergrößert; der schwarze Pfeil markiert das Perineurium

Das kollagenreiche Bindegewebe hebt sich deutlich vom darin liegenden Nervenfaszikel ab. Ferner trennt es den Faszikel vom umliegenden Gewebe. Im Vergleich zu den im Folgenden dargestellten Beispielen von geschädigten Nerven ist das Perineurium zart und allseits gegenüber dem Nerv und umliegenden Bindegewebe abgrenzbar. Der Faszikel selbst stellt sich homogen dar. Innerhalb des Faszikels gibt es keinen Anhalt von einer Bindegewebsvermehrung im Sinne einer Fibrosierung. Die dargestellten Bilder geschädigter Nerven beziehen sich vergleichend auf die Abbildung 31.

Aufgetretene Nervenschäden konnten nur in EvG Färbung ausgemacht werden. In HE gefärbten Präparaten ließen sich aufgetretene Nervenschäden nicht eindeutig erkennen. Aus diesem Grund handelt es sich bei allen folgenden gezeigten Darstellungen geschädigter Nervenfaszikel um Präparate in EvG Färbung.

4.5.1 Vincristin-Gruppe

Für alle sechs mit Vincristin behandelten Schweine ließen sich nervale Degenerationen in EvG gefärbten Präparaten der behandelten Nierenarterien nachweisen. Pro Nierenarterie wurden abhängig von der Länge des Gefäßes drei bis sieben Objektträger mit HE und ebenso viele mit EvG gefärbt.

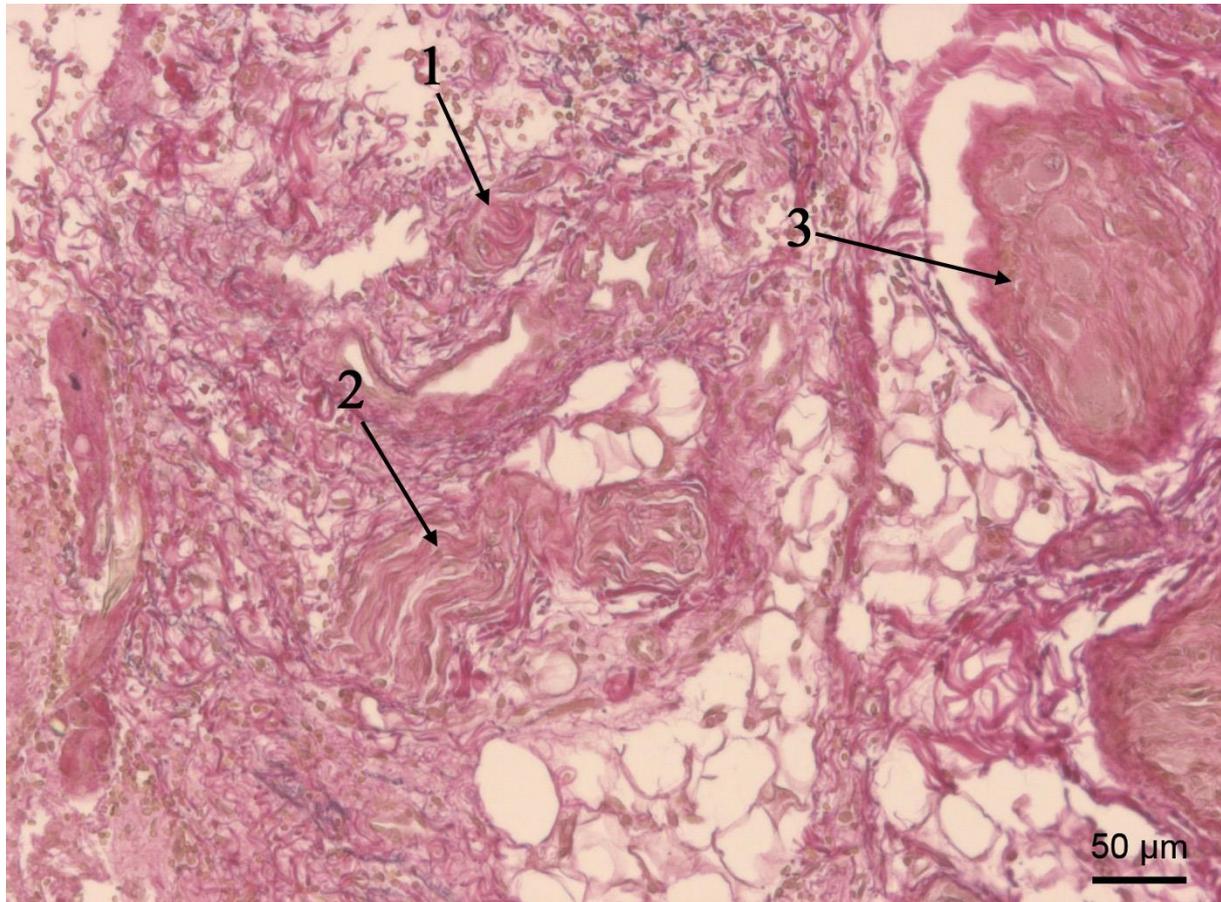


Abbildung 32 Übersicht, Schwein Vincristin 4 behandelte Seite, EvG, 10x vergrößert, schwarze Pfeile weisen auf Faszikel mit Zeichen von Degeneration

Abbildung 32 zeigt einen Ausschnitt aus dem umgebenden Bindegewebe einer mit Vincristin behandelten Nierenarterie. Die drei markierten Nervenfaszikel stellen sich stark degeneriert dar. Der kleinste markierte Faszikel (1) im oberen Bildabschnitt ist kaum noch als solcher zu erkennen. Die prominente rötliche Färbung entspricht einer Bindegewebszunahme im Sinne einer Fibrosierung. Der mittig im Bildausschnitt befindliche Faszikel (2) lässt sich nur schwer bis gar nicht gegen das ihn umgebende Gewebe abgrenzen. Im Vergleich zum in Abbildung 31 dargestellten histomorphologisch gesunden Nerv ist das Perineurium nicht eindeutig auszumachen.

Ergebnisse

Der in Abbildung 32 im rechten Bildabschnitt ebenfalls durch einen schwarzen Pfeil markierte Faszikel (3) weist deutliche Schädigung auf. Auffällig sind die innerhalb des Faszikels befindlichen „Eulenaugenzellen“. Diese Ganglienzellen sind in Abbildung 33 mit einem gelben Pfeil markiert. Es handelt sich hier um den Anschnitt des Übergangs von einem sympathischen Ganglion in seinen Nervenfaszikel. Die typischen Zeichen nervaler Degeneration sollen an diesem Beispiel dargestellt werden.

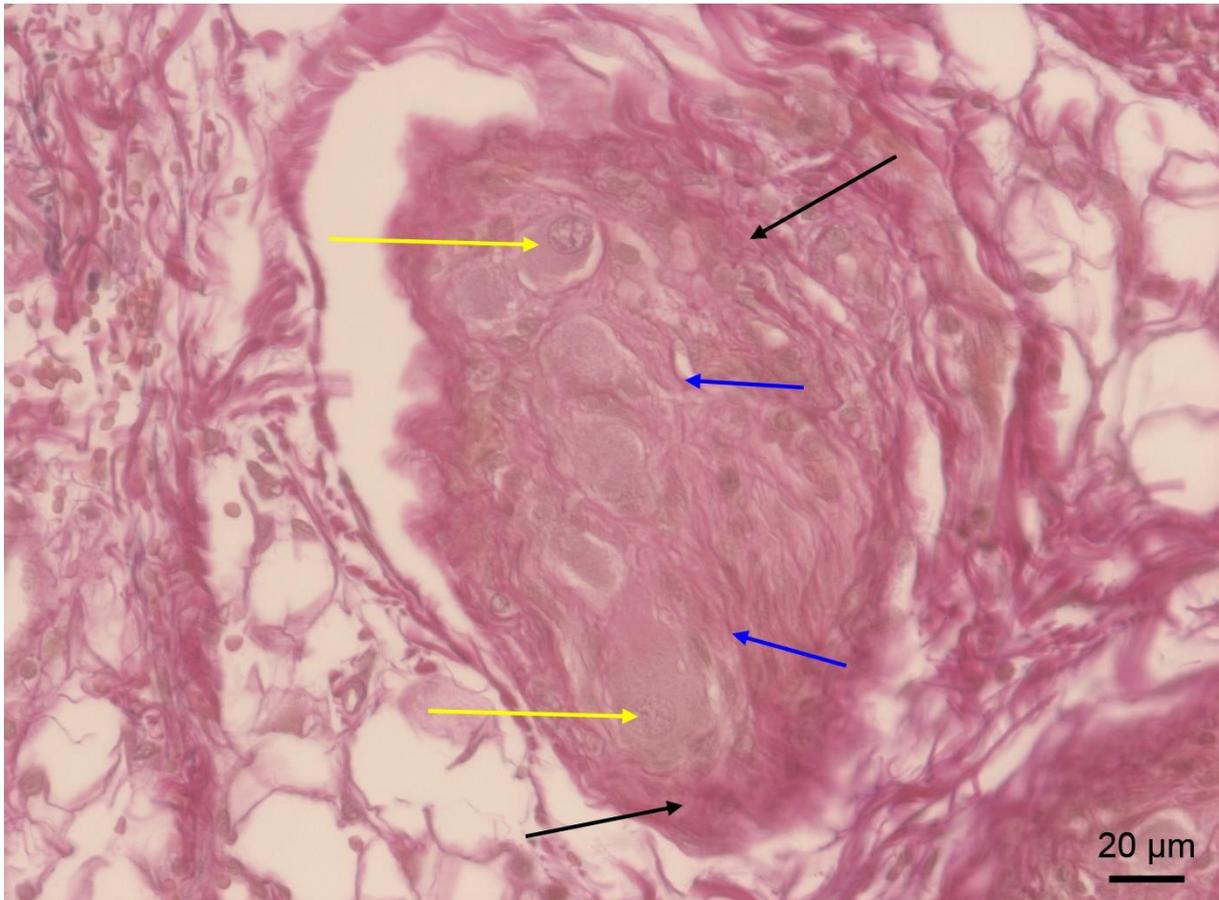


Abbildung 33: geschädigter Faszikel, Schwein Vincristin 4, EVG, 20x vergrößert, gelbe Pfeile weisen auf Ganglienzellen, schwarze Pfeile markieren beispielhaft zwei Stellen an denen das Perineurium nicht abgrenzbar ist, blaue Pfeile markieren in den Faszikel ziehende Bindegewebsstränge

In der Abbildung 33 werden folgende histomorphologische Korrelate für die nervale Degeneration ersichtlich:

1. Das Perineurium selbst ist nicht zart und vor allem im rechten oberen Bildausschnitt weder gegen das umliegende Bindegewebe noch gegen den Nervenfaszikel abgrenzbar (oberer schwarzer Pfeil).
2. Innerhalb des Faszikels verlaufen sich stark anfärbende, daher kollagenreiche Bindegewebsstränge, als Zeichen intrafaskikulärer Fibrosierung (blaue Pfeile).
3. Der Faszikel selbst stellt sich vergleichend mit Abbildung 31 stark inhomogen dar.

Ergebnisse

Abbildung 34 zeigt den Nerv (2) aus dem mittleren Bildausschnitt aus Abbildung 32.

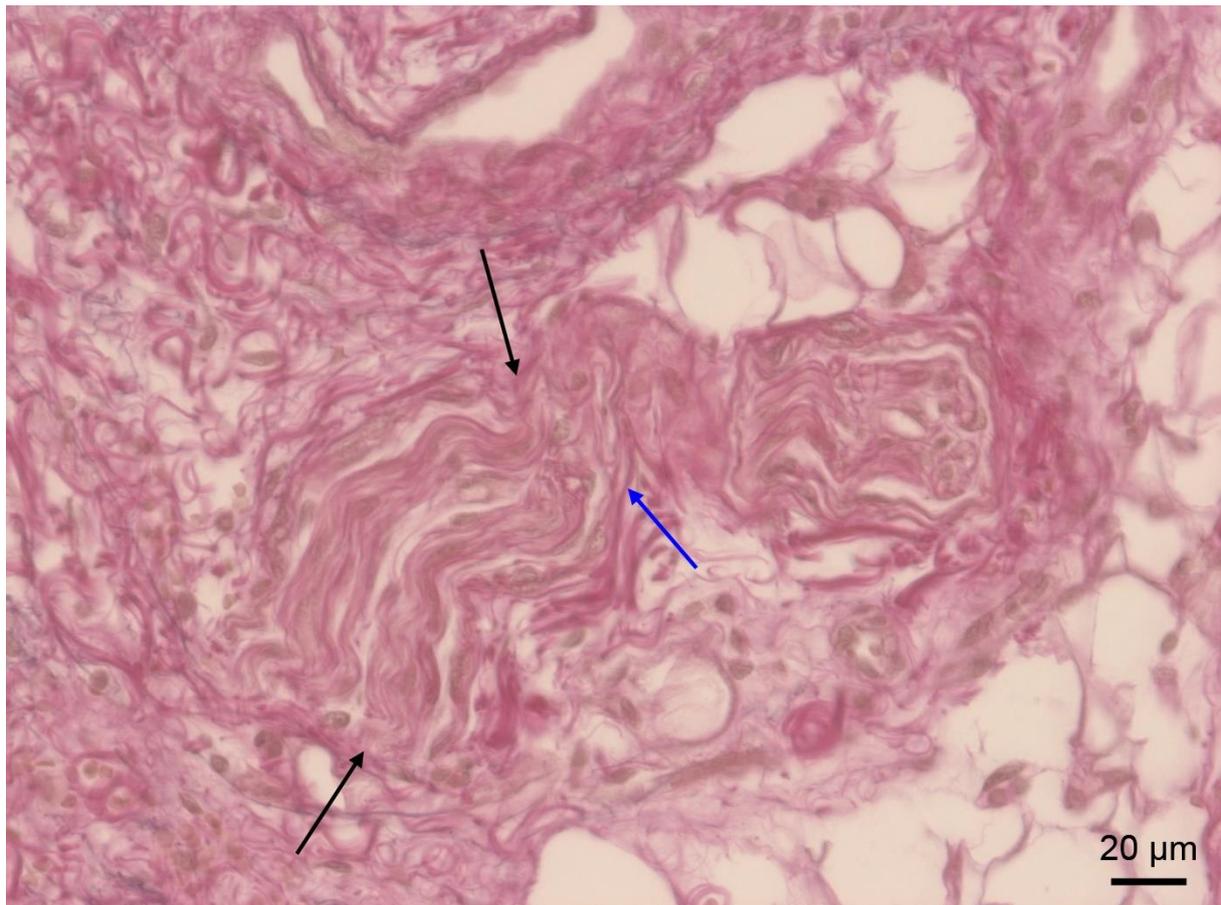


Abbildung 34: geschädigter Faszikel, Schwein Vincristin 4, EVG, 20x Vergrößerung, schwarze Pfeile markieren schlechte Abgrenzbarkeit des Perineuriums, der blaue Pfeil zeigt intrafaszikuläre Fibrose

Von den typischen Anzeichen nervaler Degeneration soll in Abbildung 34 Hauptaugenmerk auf die fehlende Abgrenzung des Faszikels gegenüber dem umgebenden Gewebe gelegt werden (schwarzer Pfeil).

Ergebnisse

Abbildung 35 zeigt einen kleinen, geschädigten Nervenfaszikel.

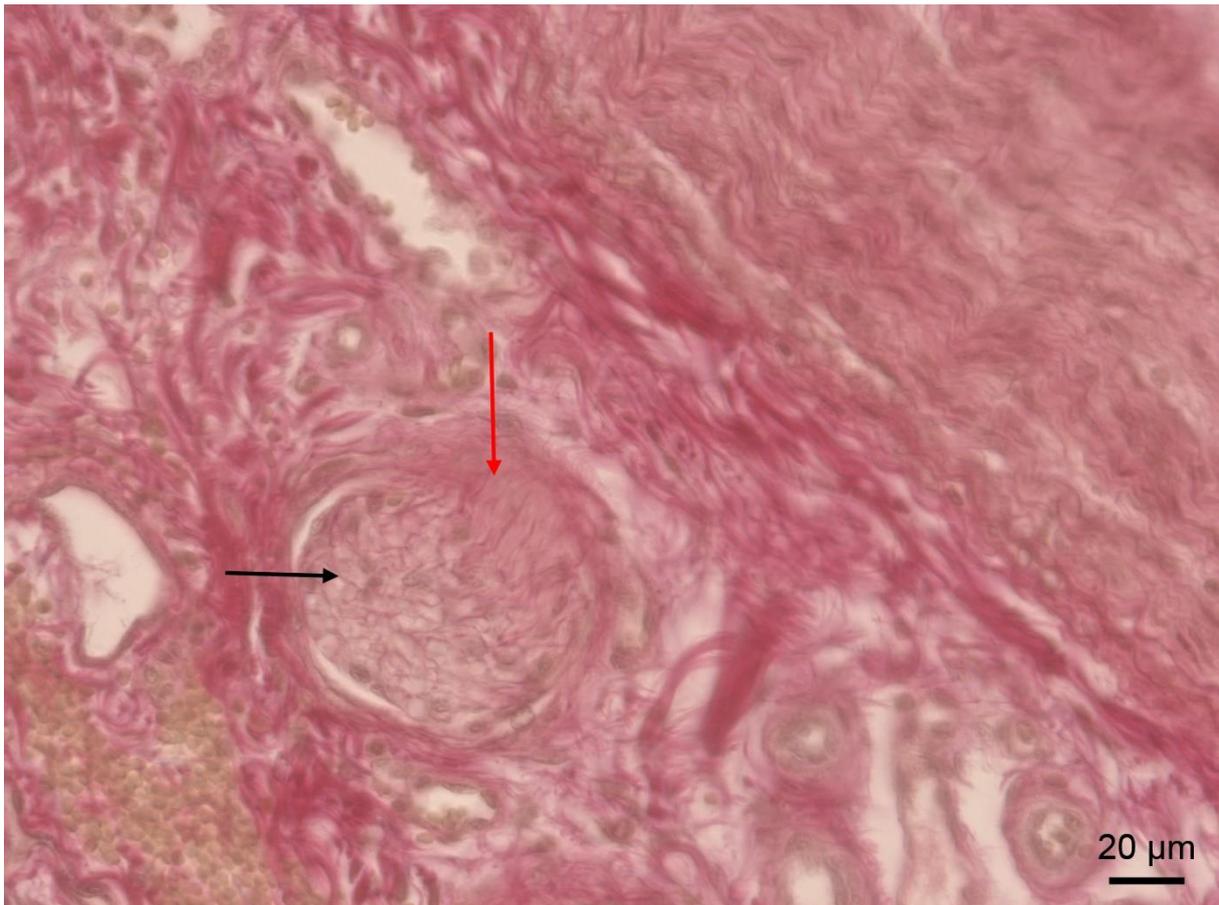


Abbildung 35: geschädigter Faszikel, Schwein Vincristin 3, EVG, 20x Vergrößerung, schwarzer Pfeil markiert Nerv, roter Pfeil Fibroseareal

In der Abbildung 35 lassen sich unter genauer Betrachtung ebenfalls alle Kriterien nervaler Degeneration erkennen. Hauptaugenmerk soll hier jedoch auf das sich vor allem rechts oben am Faszikel, durch den roten Pfeil markierte, Fibroseareal gelegt werden. Von diesem ausgehend ziehen multiple Bindegewebsstränge in den Faszikel. Dies entspricht einem fibrotischen Umbau.

Die perkutane periarterielle Applikation von Vincristin führte zur histomorphologisch sichtbaren Schädigung von Nervenfaszikeln verschiedener Größen, darunter auch Anteile von sympathischen Ganglien.

Das mikroskopische Ausmaß der Schädigung variierte zwischen den betrachteten Objektträgern desselben Präparates und interindividuell. Auch innerhalb eines Schnittpräparates zeigten sich unterschiedlich stark degenerierte Nervenfaszikel. Dies soll beispielhaft in Abbildung 36 verdeutlicht werden.

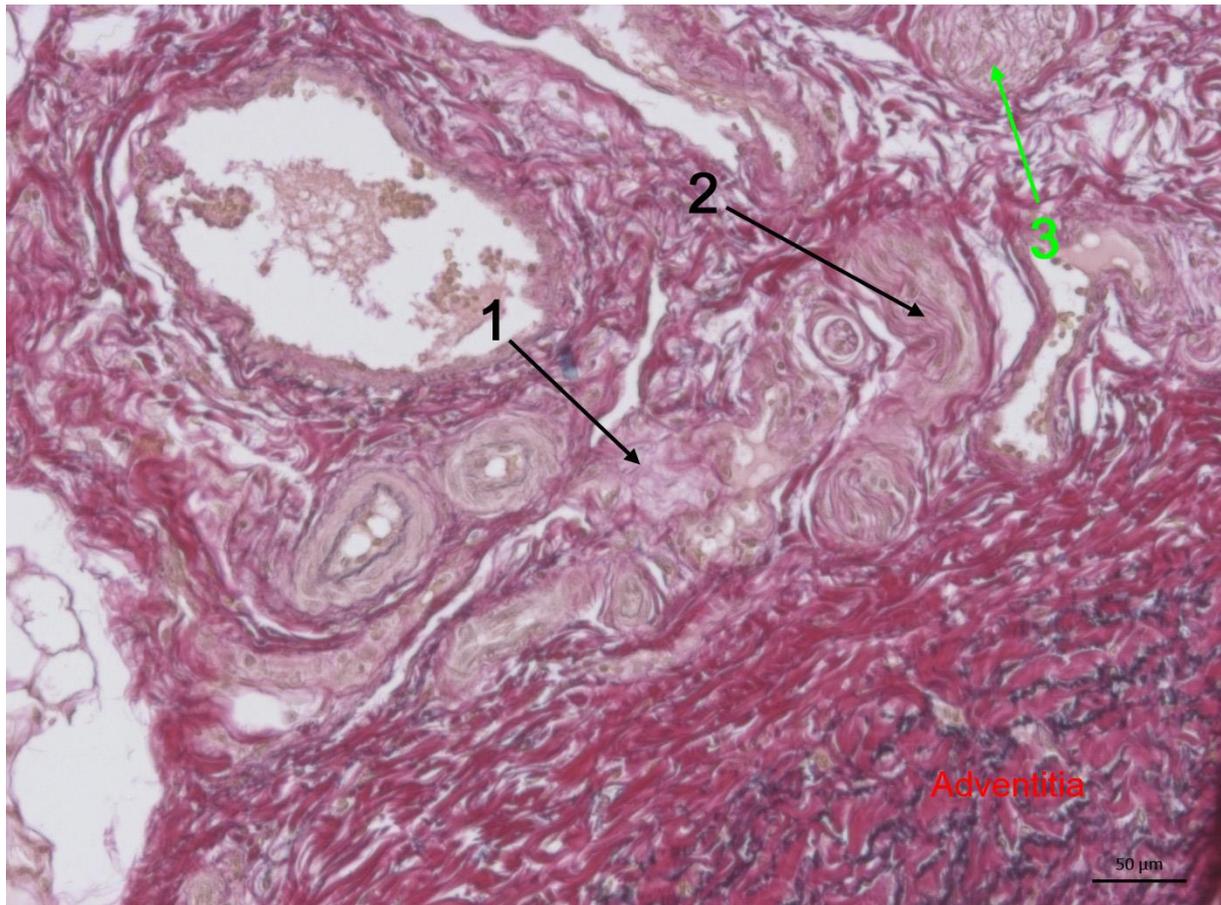


Abbildung 36: geschädigte Nervenfaszikel, Schwein Vincristin 1, EvG Färbung, 10x vergrößert, schwarze Pfeile weisen auf stark geschädigte Faszikel, grüner Pfeil weist auf angeschnittenen optisch intakten Nervenfaszikel

In der Abbildung 36 stellt sich ein Konvolut kleinerer Nervenfaszikel im die Nierenarterie umgebenden Bindegewebe dar. Der im mittleren Bildausschnitt mit einem schwarzen Pfeil markierte Nervenfaszikel (1) ist kaum noch als solcher zu identifizieren. Der etwas weiter rechts im Bild befindliche, ebenfalls mit einem schwarzen Pfeil markierte Nerv (2), ist eindeutig als solcher zu erkennen, weist aber die typischen Zeichen nervaler Degeneration auf. Im Gegensatz dazu imponiert der mit einem grünen Pfeil markierte Nerv (3) als histomorphologisch intakt.

Der Unterschied im Ausmaß nervaler Schädigung wird durch Abbildung 37 unterstrichen.

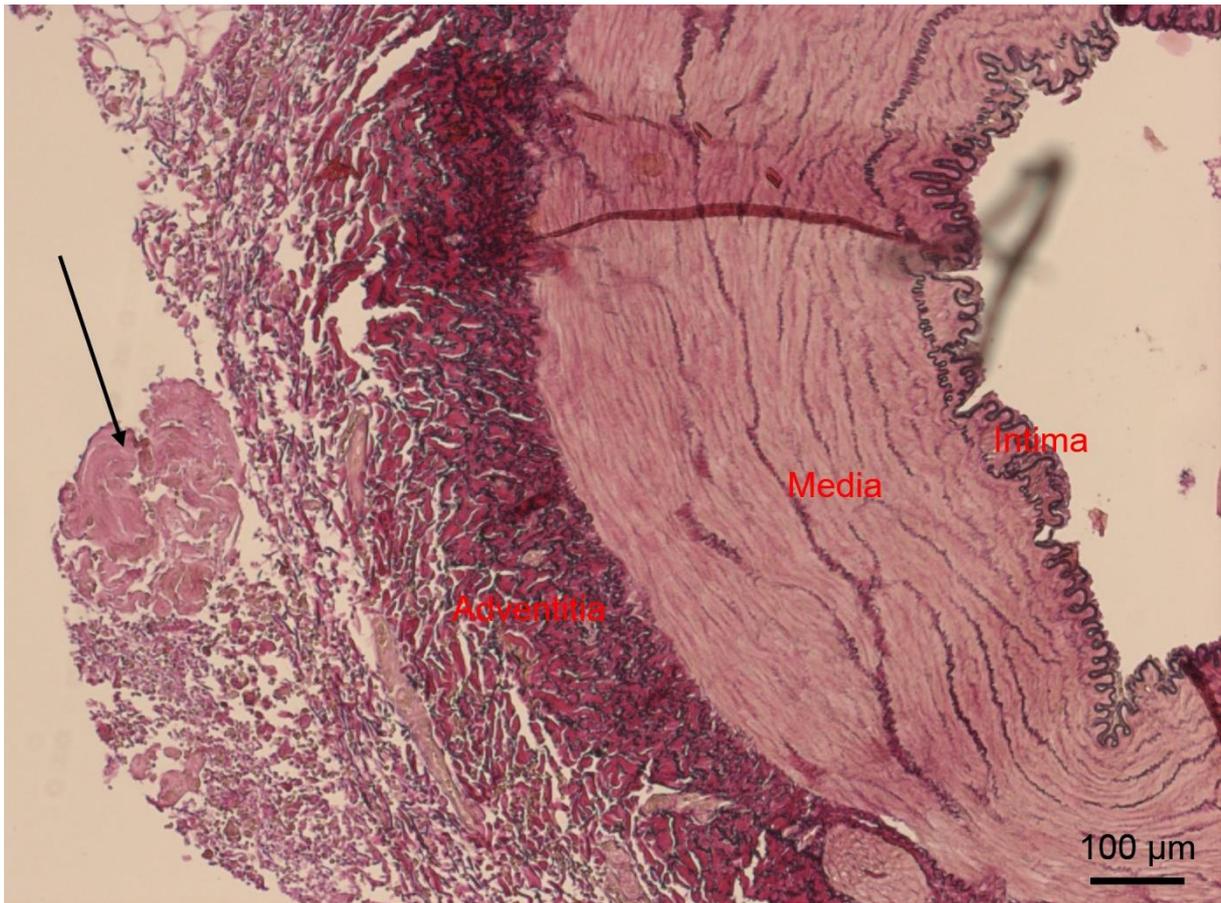


Abbildung 37: stark degenerierte Struktur, Schwein Vincristin 6, Nierenarterie, EVG, 5x vergrößert, schwarzer Pfeil weist auf starke degenerierte Struktur

Neben dem klassischen Wandaufbau der Nierenarterie zeigt die Abbildung 37 im linken Bildrand, durch einen schwarzen Pfeil markiert, eine große nicht sicher zu kategorisierende Struktur. Aufgrund Lage und Form wäre die Einordnung als nahezu maximal zerstörter Nervenfaszikel denkbar. Dies übersteigt das Schädigungsmaß der in den Abbildung 32 bis Abbildung 36 gezeigten Faszikeln. Allgemein gilt, dass sich die nervale Degeneration meist semizirkumferenziell um die Nierenarterie identifizieren ließ. Alle weiteren betrachteten Präparate von Ureteren, Aorten und Nierenarterien der nicht behandelten Seite der mit Vincristin behandelten Schweine waren unauffällig.

4.5.2 Guanethidin-Gruppe

In keinem der mikroskopisch untersuchten Präparate von Schwein Guanethidin 1 bis 6 ließen sich durch die Substanzapplikation verursachte Effekte nachweisen. Abbildung 38 zeigt stellvertretend das Präparat der behandelten Nierenarterie von Schwein Guanethidin 3, bei dem eine exzellente Injektatverteilung in der CT-Bildgebung nachgewiesen werden konnte.

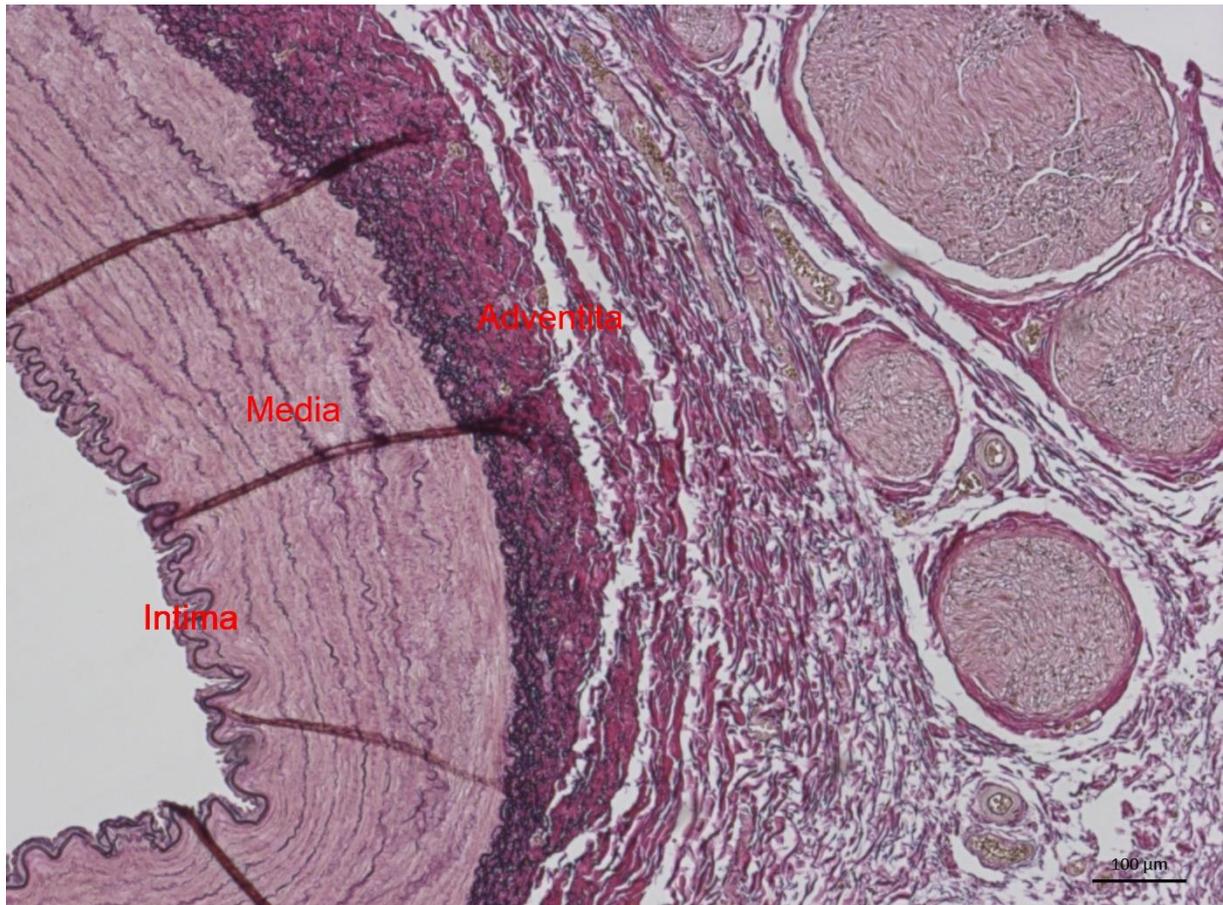


Abbildung 38: Übersicht, Schwein Guanethidin 3, behandelte Nierenarterie rechts, EvG Färbung, 5x vergrößert

Die Abbildung 38 zeigt wieder den klassischen Wandaufbau der A. renalis. Im oberen rechten Bildabschnitt lassen sich einige Nervenfaszikel verschiedener Größen identifizieren, die sich insgesamt unauffällig darstellen. Die intrafaszikuläre Hohlraumbildung ist als Fixationsartefakt zu betrachten.

4.6 Blutdruck

Die Blutdruckmessung erfolgte am Hinterlauf unmittelbar prä- und postinterventionell sowie am Tag der Euthanasie vor der Kontroll-CT in Allgemeinnarkose. Alle dargestellten Drücke stellen Mittelwerte aus jeweils drei aufeinanderfolgenden Einzelmessungen am selben Hinterlauf in Seitenlage dar.

4.6.1 Vincristin-Gruppe

Die Tabelle 6 zeigt die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte für Schwein Vincristin 1 – 6 zu allen Messzeitpunkten.

Ergebnisse

Tabelle 6: Blutdruckwerte Schwein Vincristin 1 – 6, RR – arterieller Blutdruck, Syst. – Systolisch, Diast. - Diastolisch

Schwein Vincristin	RR in mmHg Präintervention		RR in mmHg Postintervention		RR in mmHg vor Euthanasie	
	Syst.	Diast.	Syst.	Diast.	Syst.	Diast.
1	123	64	90	38	107	51
2	102	35	131	48	91	38
3	119	32	120	56	84	33
4	84	31	85	40	81	41
5	93	31	95	39	109	48
6	96	44	103	60	96	45

Schwein Vincristin 1 zeigte einen deutlichen Abfall des systolischen und diastolischen Blutdruckes zwischen der präinterventionellen Messung und vor Euthanasie. Für die anderen Schweine der Gruppe ließ sich kein signifikanter Abfall erkennen. Die über alle Schweine gemittelten Blutdruckwerte der Vincristin-Gruppe betragen präinterventionell systolisch 103 mmHg (± 15 mmHg) zu diastolisch 40 mmHg (± 13 mmHg), postinterventionell systolisch 104 mmHg (± 18 mmHg) zu diastolisch 47 mmHg (± 9 mmHg) und vor Euthanasie systolisch 95 mmHg (± 12 mmHg) zu diastolisch 43 mmHg (± 7 mmHg). Abbildung 39 zeigt die Blutdruckwerte im Mittel über die drei Messzeitpunkte für Schwein Vincristin 1 – 6.

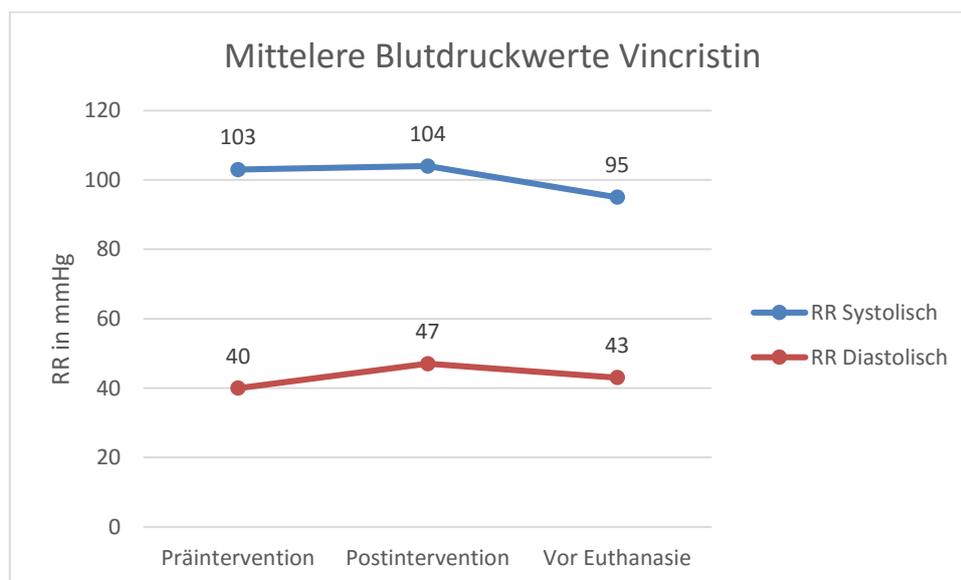


Abbildung 39: Mittlere Blutdruckwerte Vincristin 1 - 6, Abszisse zeigt die Messzeitpunkte, Ordinate RR = arterieller Blutdruck, Syst = systolisch, Diast = diastolisch

Ergebnisse

Die Abbildung 39 zeigt einen leichten Anstieg des systolischen wie diastolischen Blutdruckwertes unmittelbar postinterventionell. Vor Euthanasie wurde im Mittel ein Abfall des systolischen und ein Anstieg des diastolischen Blutdruckwerts ohne statistische Signifikanz (p -Wert $> 0,1$) gegenüber den präinterventionellen Ausgangswerten gemessen.

4.6.2 Guanethidin-Gruppe

In Tabelle 7 sind die ebenfalls über drei Messungen gemittelte Werte für die präinterventionell, postinterventionell und die vor Euthanasie ermittelten Blutdruckdruckwerte von Systole und Diastole dargestellt.

Tabelle 7: Blutdruckwerte Schwein Guanethidin 1 – 6, RR – arterieller Blutdruck, Syst. – Systolisch, Diast. - Diastolisch

Schwein Guanethidin	RR in mmHg Präintervention		RR in mmHg Postintervention		RR in mmHg vor Euthanasie	
	Syst.	Diast.	Syst.	Diast.	Syst.	Diast.
1	87	35	101	48	90	48
2	74	29	89	32	85	45
3	95	43	98	44	94	44
4	86	38	89	36	91	41
5	116	46	96	23	99	55
6	100	28	90	32	128	62

In der Guanethidin Gruppe zeigte keines der Schweine eine deutliche Senkung des Blutdruckes im Vergleich der präinterventionellen zur Messung vor Euthanasie. Schwein Guanethidin 1, 2 und 6 zeigten einen Anstieg von systolischem und diastolischem Wert. Die mittlere Entwicklung der Blutdruckwerte aller Schweine über alle drei Messzeitpunkte ist in Abbildung 40 dargestellt.

Ergebnisse

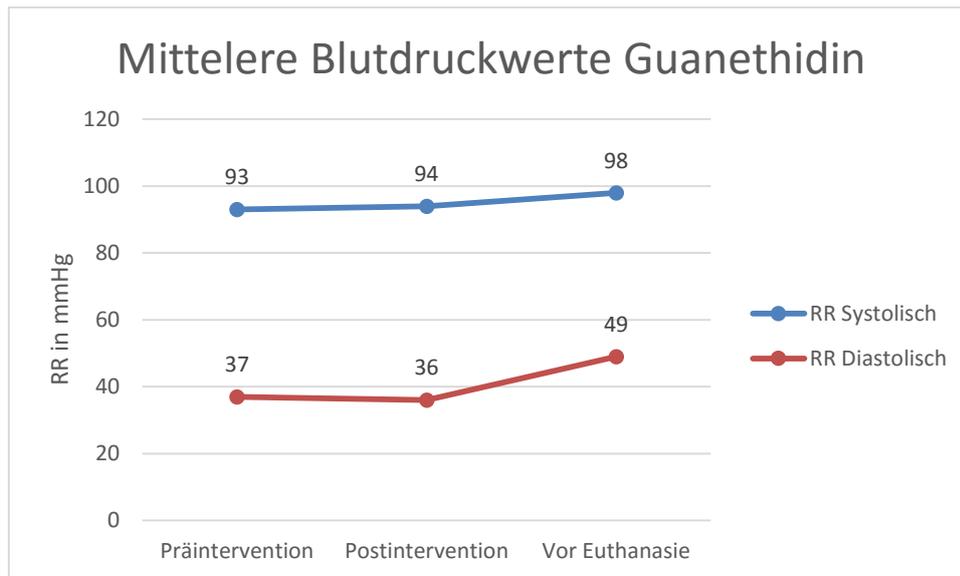


Abbildung 40: Mittlere Blutdruckwerte Guanethidin 1 - 6, Abszisse zeigt die Messzeitpunkte, Ordinate RR = arterieller Blutdruck

Die Abbildung 40 zeigt einen mittleren Anstieg des systolischen Blutdruckes und einen Abfall des diastolischen Druckes um jeweils 1 mmHg von prä- nach unmittelbar postinterventionell. Im Vergleich von initialem, präinterventionellem Blutdruck zur Messung vor Euthanasie zeigt sich ein Anstieg des systolischen Wertes ($p > 0,1$) und des diastolischen Blutdruckes um 12 mmHg ($p < 0,05$).

4.7 Ergebnisübersicht

Tabelle 8 zeigt zusammenfassend die gewonnenen Ergebnisse für jedes Schwein der Vincristin-Gruppe.

Tabelle 8: Ergebnisübersicht der Vincristin-Gruppe.

NA-Ratio in % im behandelten gegenüber dem unbehandelten Nierenparenchym. Die histologische Denervation beschreibt Zeichen von Nervenschädigungen. Die beiden primären Outcome Parameter sind gelb hinterlegt. Das RR Verhalten ergibt sich als Differenz aus dem systolischen Blutdruck gemessen vor Euthanasie und präinterventionell für den ersten Wert, der zweite Wert aus der Differenz des diastolischen Blutdrucks gemessen vor Euthanasie und präinterventionell., NA – Noradrenalin, RR – arterieller Blutdruck

Schwein Vincristin	1	2	3	4	5	6
Interventionsdauer in min	31	18	24	22	26	21
Injektatvolumen in ml	7,5	9	10	10	10	10
Distributionsscore	2	3	3	2	3	3
NA-Ratio in %	-55,4	-62,3	-55,2	-48,3	-37,7	-57,1
Histologische Denervation	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
Unerwünschte Nebenwirkungen	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
RR in mmHg	-16/-13	-11/+3	-35/+1	-3/+10	+16/+17	±0/+1

Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Outcome Parametern und deren Verhalten zueinander werden in 5.3.3: „Effektivität von Vincristin“ diskutiert.

Ergebnisse

Tabelle 9 liefert eine Übersicht über die für die Schweine der Guanethidin-Gruppe gewonnenen Ergebnisse.

Tabelle 9: Ergebnisübersicht der Guanethidin-Gruppe.

NA-Ratio in % im behandelten gegenüber dem unbehandelten Nierenparenchym. Die histologische Denervation beschreibt Zeichen von Nervenschädigungen. Die beiden primären Outcome Parameter sind gelb hinterlegt. Das RR Verhalten ergibt sich als Differenz aus dem systolischen Blutdruck gemessen vor Euthanasie und präinterventionell für den ersten Wert, der zweite Wert aus der Differenz des diastolischen Blutdrucks gemessen vor Euthanasie und präinterventionell., NA – Noradrenalin, RR – arterieller Blutdruck, * - Nachinjektion 1 ml Guanethidins nach initialer Fehlapplikation

Schwein Guanethidin	1	2	3	4	5	6
Interventionsdauer in min	43	16	19	16	71	17
Injektatvolumen in ml	10	10	10	10	10 + 1*	10
Distributionsscore	3	3	3	3	1	2
NA-Ratio in %	+7,8	-34,5	+13,7	-27,3	+47,2	-34,9
Histologische Denervation	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
Unerwünschte Nebenwirkungen	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
RR in mmHg	+3/+13	+11/+16	+1/+1	+5/+3	-17/+9	+28/+34

Die gezeigten Ergebnisse werden in 5.3.4: „Effektivität von Guanethidin“ diskutiert.

5 Diskussion

5.1 Grundsätzliche Überlegungen

Die Relevanz einer suffizienten Therapie von Patienten mit therapierefraktärer aHTN wurde bereits in der Einleitung geschildert. Nach der HTN-1 und HTN-2 Symplicity Studie wurde die Methode der Katheter-basierten RFA zum interventionellen Standard.⁶⁰ Seit der Veröffentlichung der Ergebnisse der HTN-3 Symplicity Studie⁵³, der bisher größten randomisierten kontrollierten Studie zu dieser innovativen Therapiemethode, wird der Stellenwert der Katheter-basierten RFA kontrovers diskutiert. Infolgedessen gilt es mehr denn je neue alternative Verfahren zur Behandlung von Patienten mit therapierefraktärer aHTN zu entwickeln. Diverse thermische und nicht-thermische Methoden befinden sich aktuell in der tierexperimentellen Phase oder erfuhren bereits erste klinische Anwendungen. Diese Verfahren sind in 2.3: „Renale Denervation“ beschrieben. Eine Alternative ist die perkutane Applikation neurotoxischer Substanzen um die Nierenarterien im Sinne einer chemischen renalen Denervation.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich durch die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin um die Nierenarterie eine Zerstörung sympathischer Nerven im Sinne einer renalen Denervation erreichen lässt. Wie in 2.4: „Arbeitshypothese und Zielstellung“ beschrieben, galten der NA-Gehalt im Nierengewebe und die histopathologische Auswertung als primäre Outcome Parameter. Sekundäre Outcome Parameter waren die technische Machbarkeit und Sicherheit der CT-gesteuerten perkutanen periarteriellen Substanz-Applikation sowie die Entwicklung des arteriellen Blutdruckes der Versuchstiere.

5.2 Bewertung der Materialien und Methoden

5.2.1 Das Schweinmodell

Das Hausschwein stellte für unsere Anforderungen das ideale Versuchstier dar. Anatomische und physiologische Gegebenheiten von Mensch und Schwein ähneln sich stark. Vor allem Tiere mit einem Gewicht zwischen 30 kg und 40 kg weisen humanoide Größenverhältnisse von Herz und Gefäßsystem zum restlichen Körper auf.⁹² Die von uns gewonnenen Ergebnisse lassen sich daher gut auf den Menschen übertragen. Als mögliche Einschränkung ist unter Umständen das Regenerationspotenzial von Neuronen juveniler Schweine im Wachstum im Vergleich zum erwachsenen Menschen zu betrachten. Die aktuelle Datenlage erlaubt hierzu

keine Aussage. Es gilt zu bedenken, dass die Processus transversus der Wirbelkörper – als ein die Einstichstelle begrenzender Faktor – beim Schwein deutlicher ausgeprägter sind als beim Menschen. Beim Patienten sollte daher ein größeres dorsales Einstichfenster zur Verfügung stehen. Die Folge sind günstigere Punktionsverhältnisse.

5.2.2 Noradrenalin Bestimmung

Der NA-Gehalt im Nierenparenchym korreliert mit der Aktivität sympathischer renaler Efferenzen. Aus diesem Grund galt das im Nierenparenchym gemessene NA als funktioneller Marker einer erfolgreichen renalen Denervation und als primärer Outcome Parameter. Die Höhe des prozentualen Abfalls gilt als Qualitätsmaß der renalen Denervation.⁷³ Ein Verfahren der NA-Messung stellt die Spillover Technik dar. Diese wurde auch zur NA-Bestimmung im Rahmen der Symplicity Studien genutzt.⁵² Sie stand in der vorliegenden Arbeit nicht zur Verfügung. Ein Vergleich des NA-Abfalls von verschiedenen Methoden der renalen Denervation ist demnach eingeschränkt und nur unter Beachtung des Messverfahrens möglich.

Die hier verwendete Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist ein komplexes Verfahren. Insgesamt waren die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen NA-Messwerte, auch im Vergleich mit Messwerten anderer Gruppen von Versuchsschweinen, stabil und plausibel.

Auffällig ist die hohe Streuung des NA-Gehaltes im Parenchym der unbehandelten Nieren. Die Werte reichten von 128,9 ng/g bis 696 ng/g Nierengewebe. Ähnliche Unterschiede konnten bereits in anderen Versuchsreihen ermittelt werden: durch dieselbe Arbeitsgruppe wurden bei zwei weiteren Kohorten à 6 Schweinen mit vergleichbarem Alter und Gewicht perkutan Lösungen mit den Wirkstoffen Paclitaxel oder hyperosmolarer Kochsalzlösung periarteriell appliziert (bisher nicht publizierte Daten). Die Messungen des NA-Gehaltes entsprachen dem in Absatz 3.3.5: „Bestimmung des Noradrenaliningehaltes im Nierengewebe“ geschilderten Vorgehen. Der NA-Gehalt der unbehandelten Nieren der Paclitaxel-Gruppe lag zwischen 117,3 ng/g bis 794 ng/g. Die unbehandelten Nieren der sechs mit hyperosmolarer Kochsalzlösung behandelten Tiere wiesen einen NA-Gehalt von 107 ng/g bis 655 ng/g auf. In einer früheren Arbeit der Arbeitsgruppe wurden zehn Schweine mit dem Ziel der renalen Denervation mit MR-gesteuerten hochintensivem Ultraschall behandelt.⁵⁰ Der NA Gehalt wurde mittels HPLC bestimmt. Dieser betrug für die nicht behandelten Nieren 270,5 ng/g bis 658,5 ng/g. In einer weiteren Studie wurde die periarterielle-perkutane Applikation von Ethanol mit dem Ziel renaler Denervation beschrieben. Der NA-Gehalt der unbehandelten Nieren lag hier bei 70 ng/g bis 742 ng/g.⁷⁰

Bei den Messungen handelt es sich um Momentaufnahmen kurz vor der Euthanasie der Schweine. Die Sympathikusaktivität unterliegt starken situativen Einflüssen und weist interindividuelle Unterschiede auf.⁹²

5.2.3 Histopathologische Aufarbeitung

HE und EvG Färbung dienen dem Identifizieren von Effekten der Injektionslösungen auf das Gewebe. Die Fibrosierung als Korrelat von Nervendegeneration ließ sich aufgrund des selektiven Färbeverhaltens sicher in der EvG Färbung darstellen. Nach Aussage des Neuropathologen ist es jedoch nicht immer sicher möglich, einen geschädigten Nervenfaszikel als solchen zu erkennen bzw. von einem funktionsfähigen Faszikel zu unterscheiden. Ein sich histomorphologisch unauffällig darstellender Nervenfaszikel kann durchaus geschädigt und funktionslos sein. Ein kompletter Untergang der Nervenfasern und Faszikel ist durch die Färbungen nicht nachzuweisen. Ein solcher gänzlich fehlender Nachweis stellt sich im Vergleich von behandelter und unbehandelter Seite dar. Stefanadis et. al. nutzten das unilaterale Fehlen von Nervenfaszikeln 28 Tage postinterventionell in ihrer Arbeit gar als einziges Kriterium zum Beweis einer erfolgreichen renalen Denervation nach Katheter-gestützter periarterieller Vincristinapplikation im Schweinemodell.⁶⁶

5.2.4 Blutdruckmessung

Da es sich bei allen Versuchstieren um normotone Schweine handelte und die Intervention unilateral an einer Nierenarterie erfolgte, wurde nicht von einer signifikanten Blutdrucksenkung ausgegangen. Aus diesem Grund wurde die Veränderung des arteriellen Blutdruckes nicht als primärer Outcome Parameter definiert. In der klinischen Anwendung am Patienten mit der Indikation der aHTN Therapie ist eine beidseitige Anwendung obligat. Durch eine unilaterale renale Denervation lässt sich keine signifikante Blutdrucksenkung erzielen. So kommt es beispielsweise nach einseitiger Nephrektomie beim Menschen, wie bei einer Organspende, zu keinen signifikanten Veränderungen des arteriellen Blutdruckes.⁹³

5.3 Bewertung der Ergebnisse

5.3.1 Technische Machbarkeit CT-gesteuerter perkutaner renaler Denervation

Die Nierenarterien der zwölf behandelten Tiere ließen sich in allen Fällen präzise mittels KM-gestützter CT darstellen und eine entsprechende Punktionslokalisation bestimmen. Das Mischen und die Injektion der Wirksubstanzen waren problemlos möglich. Bei elf der zwölf Schweine konnte eine suffiziente bis exzellente Injektatverteilung erreicht werden. Dies entspricht einem Distributionsscore von 2 oder 3. Lediglich bei einem Schwein der

Diskussion

Guanethidin-Gruppe erfolgte eine Fehlapplikation durch eine zu weit kaudal gewählte Einstichstelle. Ursache hierfür war die Fehlinterpretation einer akzessorischen Nierenarterie als Hauptast. Im Mittel über alle zwölf Tiere betrug der Distributionsscore 2,6 von 3 möglichen Punkten.

Die Interventionsdauer von präinterventioneller Planungs-CT bis postinterventioneller CT-Injektatkontrolle betrug im Mittel 27 min (± 15 min), was als gut praktikabel einzustufen ist. Bedingt durch die Fehlapplikation und in der Folge durchgeführter Nachinjektion und weiterer Kontroll-CTs gab es bei Schwein Guanethidin 5 eine lange Interventionsdauer von 71 min. Infolgedessen liefert der Median von 22 min einen repräsentativeren Wert für die durchschnittliche Dauer des in dieser Arbeit beschriebenen Verfahrens. Median als auch Mittelwert liegen deutlich unterhalb der Interventionsdauer der RFA mittels Symplicity-Katheter von im Mittel 38 min – 54 min.⁵⁴ Die perkutane, MR-gestützte Applikation von Ethanol dauerte im Schweinmodell im Mittel 28 min (± 8 min).⁷⁰ Die Injektionskatheterbasierte Ethanolapplikation im Schweinmodell dauerte vom Zeitpunkt des Einbringens des Katheters in die Nierenarterie bis zu erfolgter Applikation weniger als 2 min. Eine Angabe der gesamten Interventionszeit erfolgte nicht.⁷¹ Weitere Daten zur Dauer der jeweiligen Verfahren zur renalen Denervation sind in der Literatur zum aktuellen Zeitpunkt nicht zu finden. Nach unseren Erfahrungen im Umgang mit verschiedenen Applikationsverfahren und im Vergleich mit den Interventionszeiten der RFA bieten perkutane Verfahren einen zeitlichen Vorteil gegenüber Katheter-basierten Techniken.

5.3.2 Sicherheit

Wie unter 4.3: „Sicherheit und Komplikationen“ dargestellt, erwies sich die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Substanzapplikation zur renalen Denervation als ein sicheres minimal-invasives Verfahren. Keines der zwölf Schweine zeigte im Zuge der Intervention oder im Laufe der Beobachtung interventionsbedingte Nebenwirkungen. Gewichtszunahme und Entwicklung verliefen bei allen Tieren unauffällig. Weder im Kontroll-CT vor Euthanasie noch makroskopisch nach Eröffnung des Situs ließen sich auf die Intervention zurückzuführende Veränderungen nachweisen. Auch mikroskopisch zeigten sich keine interventionsbedingten unerwünschten Nebenwirkungen an den histologisch untersuchten Strukturen: Ureter, Aorta, Nierenarterie und deren umgebendes Bindegewebe.

Die Ballonkatheter-basierte Applikation von Vincristin im Schweinmodell durch Stefanadis et. al. war ähnlich nebenwirkungsarm. Im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen zeigten sich dort milde Intimaschäden mit vereinzelter Mediabeteiligung in der Vincristin- sowie

Placebo-Gruppe.^{68,72} Nach Mikroinjektionskatheter-gestützter periarterielle Applikation von Guanethidin im Schweinmodell war die Arterienwand bei Versuchstieren und Kontrollen intakt. Es wurden keine histomorphologischen Veränderungen oder Nebenwirkungen beschrieben.⁶⁹ Die perkutane Applikation von 10 ml Ethanol im Schweinmodell verursachte bei zwei von zwölf Tieren Hydronephrosen und superfiziellen Adhäsionen.⁷⁰ Injektionskatheter-basierte Ethanol-Injektion führte bei porkinen Nierenarterien vereinzelt zu fokalem Muskelzellverlust der Media.⁷¹ Stenosen, Thrombosen oder Veränderungen der Nieren und ableitenden Harnwegen wurden in keinem der in diesem Absatz genannten Verfahren angegeben.

RFA mittels Symplicity-Katheter rief im Schweinmodell keine signifikanten klinischen Nebenwirkungen hervor. In einigen behandelten Nierenarterien wurde Fibrose von 10 – 25 % der Media sowie der angrenzenden Adventitia beschrieben.⁷⁴ Optical Coherence Tomografie (OCT) und histopathologische Untersuchungen zeigten 45 min nach erfolgter RFA mittels Symplicity-Katheter Evidenz für Vasospasmus, Endothelverlust, Ödem, lokale Thrombusbildung und eine eingeschränkte Nierendurchblutung. Nach zehn Tagen fand eine nahezu vollständige Reendothelialisierung statt. Thromben wurden nicht mehr nachgewiesen. Lediglich in vereinzelt Fällen zeigte sich eine Fibrosierung der Tunica Media.⁷⁷ Daten über Langzeitfolgen der verschiedenen Verfahren renaler Denervation, beispielsweise die Nierenfunktion betreffend, liegen bislang nicht vor.

Insgesamt werden minimalinvasive Verfahren zur renalen Denervation in der Literatur als sicher und komplikationsarm beschrieben. Die von uns gewonnenen Ergebnisse stehen im Einklang mit den bisherigen Erkenntnissen.

5.3.3 Effektivität von Vincristin

Für alle sechs Schweine der Vincristin-Gruppe wurden sowohl funktionelle als auch histomorphologische Korrelate für eine stattgefundene renale Denervation gefunden. Da somit beide primären Outcome Parameter entsprechend 2.4: „Arbeitshypothese und Zielstellung“ erfüllt wurden, sind die Ergebnisse in allen sechs Fällen mit einer erfolgreichen renalen Denervation vereinbar.

Stefanadis et. al. publizierten die unseres Wissens nach einzigen Studien zur Anwendung von Vincristin im Kontext der renalen Denervation oder allgemeinen Sympathikolyse.⁶⁶⁻⁶⁸ Darunter sind zwei Katheter-basierte Applikationen im Schweinmodell sowie die erste klinische Anwendung an Patienten. Im Jahr 2012 verwendeten Stefanadis et. al. einen

Diskussion

perforierten Ballonkatheter zur Applikation. Dieser wurde unter fluoroskopischer Kontrolle in die A. renalis vorgeschoben und mit einem Druck von 20 Atmosphären aufgeblasen. 4 ml Injektionslösung mit der Vincristinkonzentration von 25 mg/dl wurden durch die Gefäßwand hindurch appliziert. Dies entspricht analog zu dieser Arbeit einer Menge von 0,1 mg Vincristin. Nach 28 Tagen wurden die Tiere euthanasiert und die Nierenarterien histologisch aufgearbeitet. Als primärer Outcome Parameter und Korrelat der erfolgreichen Denervation wurde die Anzahl der mittels Neuronen spezifischer Enolase (NSE) Färbung nachgewiesenen Nerven im Vergleich von behandelter und unbehandelter Seite bestimmt. Es konnten in allen betrachteten Präparaten ein signifikanter Abfall der Neuronenzahl nachgewiesen werden. In ihrer histologischen Auswertung konnten keine signifikante Stenose oder Thombosierung der A. renalis festgestellt werden. Untersuchungen der Substanzinjektion auf Effekte am umliegenden Gewebe wie Aorta und Ureter wurden nicht beschrieben. Eine Bestimmung des NA-Gehaltes als funktionellem Outcome Parameter wurde ebenfalls nicht durchgeführt. Im Einklang mit unseren Beobachtungen wurden auch bei Stefanadis. et al. keine unerwünschten Nebenwirkungen, im Sinne einer Beeinträchtigung oder Schmerzen der Tiere nach erfolgter Intervention, festgestellt.⁶⁶ Eine zweite Studie im Schweinmodell mit einem weiterentwickelten Applikations-Katheter wurde durch dieselbe Arbeitsgruppe im Jahr 2013 veröffentlicht. Mit einem „Doppelballonkatheter“ wurden unter Verwendung der gleichen Injektionslösung den Ergebnissen der ersten Studie entsprechende Werte erzielt. Ein innerer Ballon diente nach Inflation der Fixierung im Gefäß, ein äußerer zweiter, perforierter Ballon enthielt den Wirkstoff. Durch diesen neuen Katheter sollte die gesamte Wirkstofflösung durch die Gefäßwand hindurch gelangen und nicht partiell im Gefäßstrom weggespült werden.⁶⁸ Im selben Jahr erfolgte die erste Applikation von Vincristin zur renalen Denervation bei einem Patienten mit therapierefraktärem Hypertonus. Wie im Schweinmodell wurden 4 ml Injektionslösung entsprechend 0,1 mg Vincristin appliziert. Bereits nach zwei Wochen konnten zwei der vier eingenommenen Antihypertensiva in ihrer Dosis reduziert werden Nach vier Wochen konnte ein Abfall des Blutdruckes von 146/85 mmHg auf 132/80 mmHg gemessen werden.⁶⁷

Die durch Stefanadis et. al. beschriebenen Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit: die periarterielle Applikation von 0,1 mg Vincristin führt zu erfolgreicher renalen Denervation.

Noradrenalin

Jedes der sechs Schweine zeigte einen Abfall der NA-Konzentration im Nierenparenchym der behandelten Seite gegenüber der unbehandelten Seite. Dieser Abfall als Ausdruck verminderter sympathischer Aktivität betrug im Mittel 53 % bei hoher Signifikanz (p -Wert $< 0,01$). In präklinischen Studien Katheter-basierter RFA am Schweinemodell konnte ein NA-Abfall im Nierenparenchym von über 85 % gezeigt werden. Dies entspricht dem Abfall nach renaler Denervation via chirurgischer Nervendurchtrennung. Beim Menschen wurde nach RFA mittels Symplicity-Katheter eine mittlere NA-Reduktion von 47 % bestimmt (28 – 65 %).⁵² Diese Messungen erfolgten mit der Spillover Technik. Eine direkte Vergleichbarkeit ist daher nicht gegeben. Endovaskulärer Ultraschall erzielte einen NA-Abfall im Parenchym von Schweinenieren um 50 %.⁶⁴ Die „Drei-Nadel-Injektionskatheter“-basierte Injektion von 95 % Ethanol an porcine Nierenarterien erzielte einen mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC) gemessenen signifikanten NA-Abfall im Nierenparenchym. Dieser betrug unter Verwendung von 0,15 ml, 0,3 ml und 0,6 ml Ethanol im Mittel 54 %, 78 % und 88 %.⁷¹ Die perkutane Applikation von 10 ml Injektionslösung bestehend aus 7 ml 95 % Ethanol, 2 ml KM und 1 ml Bupivacain führte zu einem NA-Abfall von 53 %. Der NA-Gehalt wurde ebenfalls mittels HPLC bestimmt.⁷⁰ Die durch die perkutane periarterielle Injektion von Vincristin verursachte Reduktion an gemessener renaler Sympathikusaktivität um 53 % ist also mit anderen erfolgreichen Verfahren renaler Denervation vergleichbar. Der Einfluss des gewählten Verfahrens auf die Wirksamkeit der periarteriellen Substanzapplikation wird in 5.3.4 „Effektivität von Guanethidin“ diskutiert.

Auffällig ist der große Unterschied in der Höhe der NA-Mittelwerte der Kontrollen zwischen der Vincristin-Gruppe (525,4 ng/g) und der Guanethidin-Gruppe (211,6 ng/g). In der experimentellen Studie „MR-guided Periarterial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs“ konnte bei ebenfalls perkutaner Applikation in der mit Ethanol behandelten Gruppe durch Streitparth et. al. eine erfolgreiche renale Denervation gezeigt werden.⁷⁰ Auch hier zeigten sich hohe NA-Werte der unbehandelten Nieren von 536 ng/g (± 312 ng/g). Vor diesem Hintergrund ist zu überlegen, ob die nahezu gleich hohen Werte der jeweils unbehandelten Seiten durch sympathische Gegenregulation in Folge der einseitigen Sympathikolyse zu erklären sind. Verursacht durch ein fehlendes Feedback aus der denervierten Niere, hätte eine reaktive Zunahme der Sympathikusaktivität eine Steigerung des NA-Gehaltes der nicht behandelten Niere zur Folge. Hier sind die in Abbildung 2 und Abbildung 3 geschilderten Zusammenhänge von Bedeutung. Gegen die Hypothese der

Diskussion

gesteigerten Sympathikusaktivität sprechen allerdings die im Verlauf nicht signifikant veränderten Blutdruckwerte der Tiere.

Histopathologische Auswertung

Im Sinne eines positiven zweiten primären Outcome Parameters konnten für alle Schweine der Vincristin-Gruppe in histologischen Präparaten der behandelten Nierenarterien Zeichen nervaler Degeneration nachgewiesen werden. Geschädigte Nervenfaszikel konnten meist nicht um die gesamte Nierenarterie gefunden werden. Dies korreliert mit der in der postinterventionellen Bildgebung gesehenen Injektatverteilung. Histopathologie und postinterventionelle Bildgebung liefern hier korrelierende Ergebnisse. Wie im Ergebnisteil in Abbildung 36 dargestellt, kamen teilweise im gleichen Schnittpräparat histomorphologisch veränderte neben mikroskopisch intakt erscheinenden Nerven zur Darstellung. Dies kann auf die ungleiche Verteilung des Wirkstoffes in Adventitia und Bindegewebe zurückzuführen sein. Kollagene Fasern und Nachbarstrukturen der Nervenfaszikel beeinflussen die Verteilung der Injektionslösung. Ferner gelten die in 5.2.3 „Histopathologische Aufarbeitung“ beschriebenen Zusammenhänge: ein histomorphologisch als intakt imponierender Nerv kann dennoch geschädigt sein.

Nach den von uns ermittelten und in Tabelle 8 zusammenfassend gezeigten Ergebnissen scheint es keine direkte Korrelation zwischen appliziertem Injektionsvolumen, Distributionsscore und NA-Abfall im Nierenparenchym zu geben. Bei Schwein Vincristin 1 wurden zum Zwecke der Dosisfindung und zur Vermeidung von eventuell auftretenden Komplikationen 7,5 ml Injektat appliziert. Der Distributionsscore betrug 2 von 3 möglichen Punkten. Dennoch lag der Abfall des NA-Gehaltes (55,4 %) über dem Mittelwert der Gruppe (53 %). Schwein Vincristin 3, 5 und 6 erhielten jeweils 10 ml Volumen und erreichten einen maximalen Distributionsscore. Allerdings zeigte Schwein Vincristin 5 den kleinsten prozentualen Abfall (37,7 %) des NA-Gehaltes. Schwein Vincristin 2 hingegen zeigte trotz reduzierten Injektatvolumens (9 ml) einen maximalen Distributionsscore und den höchsten Abfall des NA-Gehaltes im Nierengewebe (62,3 %) aller Tiere. Während die Injektatverteilung und die histopathologischen Befunde korrelieren, gibt es in dieser kleinen Stichprobe keinen direkten Zusammenhang von Injektatverteilung und Höhe des NA-Abfalls.

Eine Erklärung liefert die Anatomie: Am Ostium der A. renalis ist die Dichte periarterieller sympathischer Fasern bei Mensch und Schwein höher als in den distalen Segmenten des Gefäßes.^{94,95} Die Zahl der periarteriellen sympathischen Nerven nimmt nach distal ab.⁹⁵ Aus

diesem Grund ist die Umspülung des Ostiums von großer Bedeutung und wurde in dieser Studie angestrebt. Folglich kann bei einem Injektionsscore von 2 (ausreichende Injektatverteilung, Ostium umspült, Arterie im Verlauf partiell umspült) ein nahezu maximaler Effekt auf die sympathischen Fasern erzielt werden.

Arterieller Blutdruck

Analog zu Stefanadis et. al. konnte auch in dieser Arbeit keine signifikante Blutdruckabnahme der Schweine durch die Intervention festgestellt werden.⁷² Da es sich in beiden Fällen um initial normotone Versuchstiere handelte und unilaterale Substanzapplikation erfolgte, gelten die in 5.2.4 „Blutdruckmessung“ beschriebenen Zusammenhänge. Ein Blutdruckabfall als Ausdruck einer Suppression erhöhter Sympathikusaktivität war nicht zu erwarten.

Auffällig sind die bei allen Schweinen der vorliegenden Arbeit niedrig gemessenen Blutdruckwerte zu allen drei Messzeitpunkten. Präinterventionell betrug der über alle sechs Schweine gemittelte Blutdruck der Vincristin-Gruppe 103/40 mmHg, postinterventionell 104/47 mmHg, vor Euthanasie 95/43 mmHg und weicht damit deutlich vom normal zu erwartenden Wert von ca. 120/80 mmHg ab.⁹² Der leichte postinterventionelle Anstieg lässt sich am ehesten durch den Interventionsstress erklären. Die Ursache für die hypotensiven Blutdruckwerte über alle drei Messzeitpunkte liegt am ehesten in der Narkosemedikation. Dies wird ausführlich in 5.3.4: „Effektivität von Guanethidin“ beschrieben.

5.3.4 Effektivität von Guanethidin

Owens et. al. beschrieben im Jahr 2011 die erste Anwendung von Guanethidin zur renalen Denervation. Die Applikation von 2 ml oder 3 ml Lösung entsprechend 20 mg oder 30 mg Guanethidin mit 20 % Verdünnung durch KM erfolgte ebenfalls im Schweinmodell. Angiographie-gesteuert wurde ein Mikroinjektionskatheter in die Nierenarterie vorgeschoben und die Wirksubstanz von endovaskulär transmural appliziert. Nach 28 Tagen zeigte sich ein Abfall um ca. 34 % des NA-Gehaltes der elf mit 2 ml behandelten Nieren gegenüber vier Kontrollen. Die insgesamt vier mit 3 ml Lösung behandelten Nieren zeigten einen stärkeren und statistisch signifikanten Abfall des NA-Gehaltes um ca. 44 % gegenüber den vier Kontrollen. In der histologischen Auswertung zeigte sich in allen mit Guanethidin behandelten Präparaten perineurale Inflammation und nervale Degeneration.⁶⁹

Diskussion

Noradrenalin

In der vorliegenden Arbeit zeigten drei Schweine der Guanethidin-Gruppe (2, 4, 6) einen Abfall des NA-Gehaltes im Nierenparenchym der behandelten Seite. Die anderen drei Tiere (1, 3, 5) wiesen einen höheren NA-Gehalt auf der Interventionsseite auf. Über alle sechs Schweine gemittelt ergibt sich ein nicht signifikanter Abfall der NA-Konzentration von 10,7 % (p-Wert > 0,1). In einer Untersuchung des NA-Gehaltes mittel HPLC im Nierenparenchym elf unbehandelter Schweine in einer Versuchsanstalt in Rottmersleben (AG Prof. Dr. Ulrich Speck) wiesen die NA-Werte eine ähnliche Streuung zwischen rechter und linker Niere auf. Im Mittel betrug die Seitendifferenz 13,8 % bei Abweichungen zwischen 4,8 % bis 34,6 % (Mitteilung, Prof. U. Speck, InnoRa GmbH, Berlin). Es ist davon auszugehen, dass die Applikation von Guanethidin keinen funktionellen Effekt auf die Wirkung des Sympathikus an der jeweiligen Niere hatte.

Insgesamt ließ sich kein signifikanter Abfall des NA-Gehaltes nachweisen. Dieser primäre Outcome Parameter wurde nicht im Sinne erfolgreicher renaler Denervation erfüllt.

Für Schwein Guanethidin 1 – 6 wurden vergleichend mit allen anderen betrachteten Interventionsgruppen der Arbeitsgruppe die im Mittel niedrigsten NA-Werte gemessen (siehe 4.4.2 „Guanethidin-Gruppe“). Ursache hierfür könnte die Narkosetiefe sein. Die niedrigen NA-Werte entsprechen funktionell einer niedrigen renalen Sympathikusaktivität. Infolgedessen ist im Rahmen einer Sympathikolyse durch renale Denervation auch nur ein marginaler Effekt auf den NA-Gehalt im Nierenparenchym zu erwarten. Eine weitere Senkung der bereits niedrigen Sympathikusaktivität an der Niere ließe sich schwer erfassen. Da durch die Substanzapplikation wahrscheinlich nicht alle sympathischen Efferenzen der Nieren restlos zerstört werden, ist es fraglich, ob bei niedriger sympathischer Aktivität Effekte durch erfolgreiche renale Denervation über die NA-Bestimmung gezeigt werden können.

Für diese Hypothese spricht, dass für Schwein Guanethidin 2, welches den höchsten NA-Gehalt der unbehandelten Nieren aufweist (306,7 ng/g), tatsächlich ein NA-Abfall von 34,5 % gemessen werden konnte. Schwein Guanethidin 4 zeigt den zweihöchsten Wert der unbehandelten Seite. Auch hier konnte ein NA-Abfall von 34,9 % nachgewiesen werden. Schwein Guanethidin 5 zeigt den höchsten NA-Gehalt der Gruppe in der Niere, auf deren Seite die Intervention stattfand. Allerdings kam es hier wie unter 4.2 „Technische Durchführbarkeit“ beschrieben zur Fehlapplikation, sodass keine suffiziente Umspülung des Zielareals erreicht wurde. In diesem Zusammenhang lässt sich hier keine sichere Beurteilung

Diskussion

abgeben. Die Nachinjektion erfolgte lediglich mit 1 ml Injektat, da aufgrund des hohen Preises Guanethidins keine vollständige Ersatzdosis zur Verfügung stand.

Histopathologische Auswertung

Die von Owens et. al. beschriebene perineurale Inflammation ließ sich von uns nicht nachweisen. Insgesamt zeigte keines der untersuchten histologischen Präparate von Schwein Guanethidin 1 - 6 Hinweise für eine nervale Degeneration. Es ist theoretisch denkbar, dass geschädigte Nerven übersehen wurden oder Nerven bis zur Unkenntlichkeit degeneriert sind. In Zusammenhang mit den Ergebnissen der NA-Messung erscheint dies allerdings sehr unwahrscheinlich. Es gilt zu bedenken, dass Guanethidin im Vergleich zu Vincristin nicht vorrangig über eine toxische Schädigung der Nerven wirkt. Guanethidin ist kompetitiver Antagonist und wird anstelle von NA an den Synapsen postganglionärer sympathischer Fasern aufgenommen und bei Aktivierung ausgeschüttet. Zusätzlich wird die Aktionspotenzialweiterleitung an der Präsynapse gehemmt.⁹⁶ Davon ausgehend wären nicht zwingend histomorphologische Korrelate für eine nervale Degeneration zu erwarten. Allerdings konnte bereits 1971 eine Zerstörung peripherer sympathischer Nerven bei systemischer Anwendung Guanethidins im Rattenmodell gezeigt werden.^{87,97} Dies wurde auf einen immun-vermittelten Prozess zurückgeführt. Anders als in der vorliegenden Arbeit wurden 25 - 30 mg Guanethidin/kg KG über einen Zeitraum von sechs Wochen durch mehrmalige intraperitoneale Injektionen appliziert. In der Folge degenerierten die Neuronen der oberen cervicalen Ganglien nahezu vollständig und die verbliebenen Nervenzellen wiesen starke Schädigungen auf.⁸⁷

Owens et al. und auch Streitparth et. al. beschrieben eine Wirkungsabhängigkeit Substanz-vermittelter renaler Denervation von der Wirkstoffmenge und dem Injektionsvolumen.^{69,70} Eine Abhängigkeit erfolgreicher Sympathikolyse von der Menge Guanethidins zeigten Demas et. al. bereits im Jahr 2001. Als potenzielle Alternative zu chirurgischer Sympathektomie applizierten sie Guanethidin via Mikroinjektionen à 2 µl in inguinale oder epididymale Fettpolster im Hamster. Insgesamt wurden einmalig bis zu 400 µg Guanethidin pro Fettkörper injiziert. Nach zwei Wochen wurden die Tiere euthanasiert. Je höher die Wirkstoffdosis desto stärkeres Wachstum zeigten die Fettpolster als Ausdruck verminderter Sympathikusaktivität. In der ersten Gruppe, in der zehn Mikroinjektionen mit einer Guanethidinkonzentration von 5 µg/µl durchgeführt wurden, konnte kein signifikanter Effekt festgestellt werden. Die Höchstdosis von 20 Mikroinjektionen à 10 µg/µl Guanethidin wies dagegen den deutlichsten

Diskussion

Abfall des NA-Gehaltes auf.⁹⁸ Im Falle einer zu geringen Wirkstoffmenge ist also keine Sympathikolyse nachweisbar.

Trotz einer mindestens dreifach höheren absoluten Wirkstoffmenge (90 mg zu 20 – 30 mg) und einer ebenfalls höheren Wirkstoffkonzentration (0,9 mg/ml zu 0,8 mg/ml) im Vergleich zu Owens et. al. konnten wir in unserer Studie keinen signifikanten Abfall des NA-Gehaltes oder histologisch eine nervale Degeneration nachweisen.

Arterieller Blutdruck

Auch Guanethidin wurde unilateral bei initial normotonen Versuchstieren appliziert, sodass kein signifikanter Abfall des arteriellen Blutdruckes erwartet wurde. In der Gruppe wurden im Mittel ebenfalls niedrige Blutdruckwerte gemessen: präinterventionell 93/37 mmHg, postinterventionell 94/36 mmHg und vor Euthanasie 98/49 mmHg. Abgesehen von fehlerhaften Messungen, falsch kalibriertem Messgerät und Ähnlichem, lässt sich die Ursache hierfür am ehesten in der Narkosemedikation finden. Die Sedierung mit Midazolam führte beim Minipig zu einer Reduktion des Blutdruckes.⁹⁹ Die blutdrucksenkende Wirkung von Propofol wurde bereits mehrfach in der Literatur beschrieben.¹⁰⁰⁻¹⁰² Dafür sprechen auch die im Gesamtdurchschnitt niedrigeren Blutdruckwerte der Guanethidin-Gruppe, vor allem zu den ersten beiden Messzeitpunkten. Bei den Schweinen der Guanethidin-Gruppe wurden am Interventionstag Narkosezeiten bis zu 8,5 h erreicht. Dies ist durch einen verzögerten Zugriff zum CT-Gerät und vorbereitende Versuche an den Tieren für weitere Studien zu Katheter-basierter renaler Denervation zu begründen. Infolgedessen wurden größere Mengen Propofol verabreicht mit einem möglichen, senkenden Einfluss auf den arteriellen Blutdruck.

Erklärungsansätze für die fehlende Wirkung Guanethidins

Als eine potenzielle Erklärung für die fehlende Wirksamkeit Guanethidins im Sinne der Arbeitshypothese ist das Applikationsverfahren zu sehen. Im direkten Vergleich der Arbeiten von Streitparth et al. und Fischell et al. zeigt sich, dass durch die perkutane Applikation von 7 ml 95 % Ethanol in 10 ml Lösung im Vergleich zur Katheter-basierten Applikation von 0,15 ml 95 % Ethanol der annähernd gleiche Abfall des NA-Gehalt erzielt wurde (53 % vs. 54 %).^{71,78} Unter Vernachlässigung aller weiteren Einflussfaktoren sowie substanzspezifischer Wirkpotenzen und selektiv nur das Applikationsverfahren betrachtend, ist eine etwa 47-fach höhere Wirkpotenz der Katheter-basierten Applikation gegenüber des perkutan periarteriellen Zugangsweges anzunehmen. Unter dieser Annahme hätte die applizierte Menge Guanethidins deutlich erhöht werden müssen, da Owens et. al. bereits 30 mg des Wirkstoffs in ihrem

Diskussion

Katheter-basierten Verfahren benötigten, um einen signifikanten Abfall des NA-Gehalt in porkinen Nieren nachzuweisen. Legt man den gleichen Faktor des Ethanolmengenverhältnisses (x47) zu Grunde entsprächen dies deutlich über 1000 mg Guanethidin. Einschränkend ist zu sagen, dass es sich bei Owens et. al. und Fischell et. al. um unterschiedliche Injektionskatheter handelte.^{69,71}

Dieser potenzielle Vorteil der endoluminalen transmuralen Applikation lässt sich am ehesten mit den anatomischen Gegebenheiten der Nierenarterie begründen. Sowohl beim Menschen als auch beim Schwein nimmt die Dichte und Anzahl sympathischer Fasern mit wachsendem Abstand vom Gefäßlumen der Nierenarterie nach periarteriell ab.^{94,95} Durch die Applikation mittels intraarteriellem Injektionskatheter wird die Wirksubstanz möglicherweise eher an den Ort höchster sympathischer Faserdichte gebracht als bei der perkutanen Applikation. Ferner ist die Dichte periarterieller sympathischer Fasern ventral höher als dorsal des Gefäßes.⁹⁴ Wie unter 3.3.2 „Intervention – CT-gesteuerte periarterielle Injektion und postinterventionelle Bildgebung“ dargestellt, kam ein Großteil der von uns applizierten Injektionslösung dorsal des Gefäßes zur Darstellung. Beim Menschen ließ sich in ersten Anwendungen mit gleicher Methodik eine gleichmäßig zirkumferenzielle Injektatverteilung erzielen.⁷⁸ Ein wesentlicher Grund ist der beim Schwein schmale periarterielle Raum ventral der Nierenarterie mit Abgrenzung zum Peritoneum.

Als weitere potenzielle Ursache kommt ein zügiger Abstrom Guanethidins vom Zielort in Betracht. Seinem Konzentrationsgradienten folgend verteilt sich der Wirkstoff im gesamten umliegenden Gewebe und steht daher nicht mehr in ausreichender Konzentration der Wirkung am renalen Sympathikus zur Verfügung. Geschieht dieser Vorgang schneller als die Aufnahme in die sympathischen Nervenzellen, so ist keine Wirkung zu erzielen. Die Katheter-gestützte Applikation eines kleineren Volumens in die Adventitia könnte diesem Effekt entgegenwirken.

Um diesen Problemen zu begegnen, müsste zum einen die Wirkstoffmenge stark erhöht werden. Es ist davon auszugehen, dass nicht das gesamte injizierte Volumen renale sympathische Neuronen erreicht. Eine weitere Erhöhung des Injektionsvolumens bei konstanter Wirkstoffkonzentration scheint daher nicht zweckmäßig. Vielmehr sollte die Wirkstoffkonzentration erhöht werden. Diese stellt im Zusammenhang mit Guanethidin allerdings den limitierenden Faktor dar: Guanethidin wird in 10 mg/ml Ampullen geliefert. Eine weitere Aufkonzentrierung auf deutlich über 100 mg/ml wäre theoretisch erforderlich, allerdings praktisch aufwändig, kostenintensiv und aus unserer Sicht technisch schwer

möglich. Eine weitere Maßnahme der Erhöhung der Wirkpotenz Guanethidins liegt im Vermeiden bzw. Verlangsamen des Abstroms des einmal applizierten Wirkstoffes vom Zielgebiet. Durch Applikation von 75 µl in Glycerin gelösten 6,7 mg/ml Guanethidins konnte im Rattenmodell eine signifikante Abnahme des NA-Gehaltes der behandelten Niere von über 98 % gezeigt werden.⁶⁵ Die Lösung von Guanethidin in Glycerin führt zu einer Viskositätszunahme. Damit kann durch Einschränkung der Diffusion eine längere Wirkung am Zielgewebe gewährleistet werden. Ein Vergleich gegenüber der Wirksamkeit des nicht mit Glycerin vermischten Wirkstoffes wurde nicht durchgeführt.

Im Zuge dieser Betrachtungen stellt sich die Frage, wieso für Vincristin im Rahmen dieser Arbeit erfolgreiche funktionelle wie morphologische Denervation gezeigt wurde, obwohl die Wirkstoffmenge (0,1 mg) zu der Katheter-gestützten Applikation von Stefanadis et. al. identisch ist. Die verwendete Wirkstoffkonzentration ist sogar geringer (0,1 mg/10 ml vs. 0,1 mg/4 ml).⁷² Als Chemotherapeutikum besitzt Vincristin eine deutlich höhere toxische Potenz als Guanethidin. Beispielsweise zeigen sich bereits nach Paravasation geringer Mengen Vincristins stärkste Gewebeschäden.^{83,84,103} Die stark neurotoxische Wirkkomponente Vincristins ist hinreichend beschrieben.⁸² Stefanadis et. al. führten keine Messungen des NA-Gehaltes der Nieren durch, sodass in diesem Zusammenhang keine vergleichenden Aussagen getroffen werden können. Ferner ist es möglich, dass Vincristin aufgrund seiner Fließeigenschaften langsamer abströmt und daher länger am Zielgewebe in wirksamer Konzentration erhalten bleibt. Dies veranschaulicht eine Limitation dieser Arbeit: direkte Aussagen über die Verteilung des Injektatvolumens können über den Zeitpunkt der postinterventionellen CT hinaus nicht getroffen werden. Weitere Arbeiten, die das Verhalten verschiedener Substanzen im Gewebe über einen längeren Zeitraum untersuchen, wären von großen Interesse.

5.3.5 Vor- und Nachteile der CT-gesteuerten perkutanen renalen Denervation

Insgesamt lässt sich die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin in den von uns gewählten Dosierungen als sicheres, schnelles und einfach durchzuführendes Verfahren ohne ernste Nebenwirkungen charakterisieren.

Unseres Wissens existiert bis zum jetzigen Zeitpunkt keine veröffentlichte Studie, welche die perkutane periarterielle Substanzapplikation von Vincristin oder Guanethidin mit dem Ziel renaler Denervation beschreibt. Der Tatsache geschuldet, dass bis hierhin randomisierte kontrollierte Studien lediglich für die RFA vorliegen, sind vergleichende Aussagen zwischen den verschiedenen Verfahren der renalen Denervation nur eingeschränkt möglich.^{38,53}

Diskussion

Im Vergleich der *perkutanen versus Katheter-gestützten Verfahren* kristallisierten sich unseres Erachtens folgende Vorteile heraus:

1. Keine Einschränkungen durch kleinen Nierenarteriendurchmesser, vorbestehende Thrombosierung, akzessorische oder mehrere Nierenarterien und frühe Gefäßauszweigung
2. Aufgrund weniger anatomischer Limitationen Erschließung eines größeren Patientenkollektivs möglich
3. Anwendung auch in Kliniken ohne Expertise und Ressourcen eines Katheterlabors durchführbar und damit mögliche Kostenersparnis
4. Kostenreduktion durch Verzicht auf relativ teure Applikationskatheter
5. Verzicht auf einen arteriellen Zugangsweg und damit verbundene Punktionsrisiken wie Punktionsaneurysmen, arterio-venöser Shuntbildung, Intimaschädigung, Thrombosierung und Stenosierung
6. Schutz der empfindlichen Intima der A. renalis, da diese nicht unmittelbar mit potenziell toxischen Substanzen, thermischer Energie oder Schallenergie in Kontakt tritt. Kein erhöhtes Risiko für Intimaschäden, Thrombosierung und Stenosierung des Gefäßes aufgrund der fehlenden intravaskulären Manipulation der A. renalis
7. Verzicht auf antithrombotische Therapie möglich
8. Kürzere Interventionszeiten

Im Vergleich der *chemischen Denervation versus thermischen Denervation (RFA)* kristallisierten sich unseres Erachtens folgende Vorteile heraus:

1. Minderung des Schmerzpotenzials und Option der Zugabe eines lokalen Anästhetikums zur Injektatlösung
2. Möglicher Verzicht auf Totalanästhesie und Vermeidung von Narkoserisiken
3. Kürzere Interventionszeit, besonders im Vergleich zu Einzelelektroden-Ablationskathetern
4. Kostenersparnis

In der HTN-1 Studie wurden fünf von 50 Patienten aufgrund ungünstiger anatomischer Verhältnisse der Nierenarterien ausgeschlossen.⁵² Patienten mit vorbestehenden Gefäßstenosen oder Nierenarterien kürzer als 20 mm oder einem Durchmesser kleiner als 90

Diskussion

4 mm sind für die Katheter-basierte RFA mittel Symplicity-Katheter nicht zugänglich. Dies gilt auch für den Großteil der „next-generation“ Ablationskatheter. Die in unserer Studie häufig auftretenden akzessorischen und früh aufzweigenden Nierenarterien hätten eine Katheter-basierte Vorgehensweise erschwert oder ausgeschlossen und stellen für den perkutanen Ansatz keine Kontraindikation dar.

In dieser Arbeit war aufgrund des verwendeten Tiermodels die Behandlung in Totalanästhesie notwendig. Die RFA muss wegen ihres hohen Schmerzpotenzials unter totaler Anästhesie mit starker systemischer schmerzmedizinischer Komponente durchgeführt werden. Im Gegensatz dazu ist im Falle der perkutanen periarteriellen Applikation ein Verzicht auf Selbige denkbar.^{51,104} In ihrer „First-In-Man“ beschriebenen technischen Mitteilung zur perkutanen periarteriellen Applikation von Ethanol nutzten Streitparth et al. lediglich eine lokale Betäubung der Einstichstelle.⁷⁸ Das Mischen der Wirksubstanz mit einem Lokalanästhetikum wie Bupivacain ermöglicht eine gute Analgesie am Zielgebiet. In der weiteren klinischen Anwendung wäre eine für interventionelle Eingriffe übliche Analgosedierung ausreichend. Die Prävalenz therapierefraktärer aHTN steigt mit zunehmendem Alter.³ Gleichzeitig steigt auch die Anzahl an Komorbiditäten. In der Folge zeigt ein zunehmender Teil des für die renale Denervation in Frage kommenden Patientenkollektivs einen American Society of Anesthesiology (ASA) Score > 1 und damit erhöhte Narkoserisiken. Ein möglicher Verzicht auf eine Totalanästhesie und systemischer Medikation stellt daher einen großen Zugewinn dar. Die Zeiteinsparung gegenüber der RFA und der Verzicht auf einen arteriellen Zugangsweg bedeuten ebenfalls eine Stressreduktion und damit Verringerung des Risikos des Patienten. Eine anschließende Antikoagulationstherapie, wie sie im Rahmen der RFA gefordert wird, ist ebenfalls nicht nötig. Unter Betrachtung eines potenziell sturzgefährdeten Patientenkollektivs stellt dies ebenfalls einen wichtigen Zugewinn dar.

Chemische Wirksubstanzen stellen eine preiswerte Alternative zur RFA dar. Der Symplicity Katheter von Medtronic kostet etwa 4200 Euro und ist für die einmalige Verwendung vorgesehen. Der zugehörige Generator kostet etwa 20800 Euro.¹⁰⁵ Nach Aussage der Apotheke des CVK beträgt der offizielle Listenpreis Vincristins 11,66 Euro plus Mehrwertsteuer (MwSt.) pro mg. Bei einer Interventionsdosis von 0,1 mg sind die Kosten pro Patient entsprechend 1,17 Euro + MwSt. Kürzere Interventionszeiten, Verzicht auf ein Katheterlabor und komplizierte Injektionskatheter bedingen eine weitere Kostenreduktion bei perkutaner Substanzapplikation.

Nachteile der *percutanen chemischen Denervation versus Katheter-gestützten renalen Denervation* sind:

- Verletzungen von Strukturen durch die Punktionsnadel im Einstichkanal sind denkbar
- Nachbarstrukturen und Skelettanatomie limitieren mögliche Punktionsstellen
- Substanzapplikation erfolgt aus nur einer Richtung
- Größere Wirkstoffmengen und Injektionsvolumina sind nötig
- Durch höhere Injektionsvolumina potenzielles Risiko des Kontaktes der Wirksubstanzen mit Ureteren und Nierenkapsel – abhängig von der toxischen Potenz des Wirkstoffes sind Hydronephrose, Kapsel- oder Parenchymschaden denkbar
- Möglichkeit einer Fehlapplikation ist fraglich höher, damit Risiko von Verletzung von Gewebsstrukturen potenziell erhöht

In der von uns postinterventionell durchgeführten Nativ-CT konnte in allen Fällen dorsal eine größere Menge Injektionslösung ausgemacht werden als ventral der Nierenarterie. Dies ist vermutlich zu einem geringen Anteil der von dorsal durchgeführten Punktion geschuldet. Ein wesentlicher Grund ist der beim Schwein schmale periarterielle Raum ventral der Nierenarterie mit Abgrenzung zum Peritoneum. Es ist davon auszugehen, dass nur ein Teil des Injektats die Zielregion umgibt und für die Wirkung an periarteriellen sympathischen Fasern verantwortlich ist. Auch in der histopathologischen Auswertung konnten nervale Defekte häufig nur semizirkumferentiell an der Nierenarterie gefunden werden. Beim Menschen ließ sich in ersten Anwendungen mit gleicher Methodik eine gleichmäßig zirkumferenzielle Injektatverteilung erzielen.⁷⁸

Wie bei Schwein Guanethidin 5 erfolgt und in Abbildung 21 gezeigt, ist eine Fehlapplikation der Wirksubstanz möglich. Durch die von dorsal eingeführte Nadel ist theoretisch das Risiko von Verletzung benachbarter Strukturen oder Punktion der V. cava oder der Nierenarterie selbst gegeben. Dieses Komplikationsrisiko ist aufgrund der präzisen CT-Bildsteuerung jedoch als sehr niedrig einzustufen.

5.4 Limitationen der Arbeit

Eine Limitation dieser Arbeit stellt die geringe Fallzahl dar. In beiden Gruppen wurden je sechs Tiere behandelt ($n = 6$), um eine signifikante Aussage treffen zu können und dennoch die Zahl der Versuchstiere gering zu halten. Eine höhere Fallzahl würde einen besseren Rückschluss auf die in der Grundgesamtheit geltenden Ergebnisse erlauben. Ferner würden Ausreißer der einzelnen Messwerte besser ausgeglichen werden. In der Guanethidin-Gruppe

Diskussion

zeigten 50 % der behandelten Nieren einen NA-Abfall im Parenchym gegenüber der Kontrolle. Hier wären Ergebnisse weiterer Versuchstiere interessant, gegebenenfalls unter Verwendung einer höheren Wirkstoffkonzentration.

Eine weitere Limitation dieser Arbeit ist in dem gewählten Beobachtungszeitraum von zwei Wochen zu sehen. Aussagen über Langzeiteffekte der perkutanen periarteriellen Applikation von Vincristin oder Guanethidin in den gewählten Injektionslösungen sind daher nicht möglich. Auch die histopathologische Auswertung wird durch den Beobachtungszeitraum beeinflusst: so zeigte sich nach Sympathektomie im Rattenmodell ein höherer Anteil histomorphologisch geschädigter Nerven nach drei als nach sieben Tagen.⁶⁵ Es ist davon auszugehen, dass durch Umstrukturierungs- und Organisationsprozesse in ihrer Funktionalität stark geschädigte Nerven abgebaut werden. Es existieren keine Daten wann im Schweinemodell die maximale Anzahl geschädigter Nerven nach Applikation neurotoxischer Substanzen ausgemacht werden kann. Ferner ist nicht bekannt wann die stärksten Schädigungen durch Guanethidin oder Vincristin auszumachen sind. Auch das regenerative Potenzial sympathischer Nerven selbst ist bis hierhin unzureichend erforscht.³¹ Aufgrund der Datenlage aus der Literatur und eigenen Erfahrungen der Arbeitsgruppe erschien uns eine Standzeit von zwei Wochen bis zur Euthanasie jedoch als adäquat.

Unseres Wissens wurde in dieser Arbeit erstmalig die Bild-gesteuerte perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin beschrieben. Die komplexe Dosisfindung und Ermittlung des Injektionsvolumens war elementarer Bestandteil der Versuchsvorbereitung. Im klinischen Gebrauch finden Vincristin und Guanethidin vor allem Anwendung als intravenöse Medikation. Eine Datenlage zum Verhalten der Substanzen im Organismus bei lokaler interstitieller Applikation existiert unseres Wissens nach nicht. Lediglich die nekrotische Wirkung Vincristins nach Paravasation wurde in der Literatur beschrieben.⁸³ In bereits genannten Arbeiten wurde die lokale Applikation von Guanethidin und Vincristin im Tiermodell beschrieben.^{65-69,72,98} Die Applikationsformen wichen in allen Fällen von dem von uns gewählten perkutanen Zugangsweg ab. Die Übertragung von Dosierungen von einem Tiermodell auf eine andere Spezies ist schwierig.

Zusätzlich zu der Variable des unmittelbaren Verhaltens der Substanzen nach der Injektion spielt auch das Diffusionsverhalten der Wirkstofflösungen eine Rolle. Durch CT-Bildsteuerung konnte das Verhalten des Injektates in vivo nur kurze Zeit postinjektionem beurteilt werden. Langfristige Aussagen konnten nicht getroffen werden. Vor allem im

Diskussion

Hinblick auf Guanethidin wäre es interessant zu sehen, ob die Ursache des fehlenden Wirkungsnachweises in der schnellen Abdiffusion des Injektats zu finden ist.

Im klinischen Gebrauch findet renale Denervation bei Patienten mit Hypertonie Anwendung. In der vorliegenden Studie wurden normotone Schweine verwendet. Die Substanzapplikation erfolgte unilateral. Im klinischen Gebrauch wird eine bilaterale Anwendung durchgeführt. Die Aussagekraft für ein bilateral angewandtes Verfahren ist daher eingeschränkt. Dies gilt ebenso für die Entwicklung des Blutdruckes postinterventionell. In „first-in-man“ Applikationen konnte gezeigt werden, dass sich die im Schwein gewonnenen Ergebnisse sehr gut auf den Menschen übertragen lassen. Die an normotonen Schweinen mittels unilateraler Applikation gewonnenen Ergebnisse führten nach bilateraler Applikation im Menschen zu signifikanter Blutdruckreduktion.^{67,78} Als weiterer Einflussfaktor ist die Narkose der Tiere anzusehen. Der Einfluss auf beispielsweise die Blutdruckwerte ist in 5.3.3 „Effektivität von Vincristin“ beschrieben. Beim Menschen ist ein Verzicht auf eine Totalanästhesie für die perkutane periarterielle Substanzapplikation denkbar.

Die sympathische Nervenaktivität unterliegt einer Vielzahl von Einflussfaktoren und ist schwierig zu messen. Es handelt sich um „Momentaufnahmen“ einer laufend angepassten und schnell regulierbaren Entität. Standardmethoden zur Bestimmung der Sympathikusaktivität im Tiermodell existieren bisher nicht. Die von uns gewählte Messung von Noradrenalin im Nierenparenchym durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ist ein anspruchsvolles Verfahren und lieferte über mehrere Gruppen von Versuchstieren stets nachvollziehbare und konstante Ergebnisse. Die in einigen Studien, wie auch in der HTN-1 Symplicity, verwendete NA-Spillover Messung stand in der beschriebenen Studie nicht zur Verfügung. Vergleiche des NA-Abfalls durch unterschiedliche Ansätze sind durch Verwendung unterschiedlicher NA-Messmethoden nur eingeschränkt möglich.

In dieser Studie wurden keine immunhistochemische Färbungen genutzt. Aussagen über die tatsächliche Nervenaktivität histomorphologisch intakter oder geschädigter Nerven können vom tatsächlichen Ist-Zustand abweichen. Die verwendete EvG Färbung wurde in Rücksprache mit einem Facharzt für Neuropathologie ausgewählt und war adäquat für das Erkennen von nervalen Degenerationen.

5.5 Schlussfolgerung

Die in der Einleitung aufgestellte Arbeitshypothese lautete: Die CT-gesteuerte perkutane periarterielle Applikation von Vincristin oder Guanethidin um die A. renalis zur Induktion einer renalen Denervation ist ein effektives, sicheres und praktikables Therapieverfahren. Ziel war das Belegen dieser Hypothese. Die Bestimmung des NA-Gehaltes im Nierenparenchym und Nachweis pathologisch veränderter Nerven um die behandelte A. renalis galten als primäre Outcome Parameter einer erfolgreichen renalen Denervation.

Es konnte gezeigt werden, dass die CT-gesteuerte periarterielle-perkutane Substanzapplikation ein technisch einfaches und sicheres Verfahren zur renalen Denervation darstellt. Im Vergleich zu Katheter-basierten Techniken handelt es sich um ein schonenderes Verfahren mit potentiell weniger Limitationen. Die wesentlichen Vorteile sind:

1. Das Verfahren ist unabhängig von Gefäßverlauf und –anatomie.
2. Es erfolgt keine direkte Gefäßpunktion, weder der A. femoralis als Zugangsweg noch der A. renalis zur Substanzapplikation.
3. Es gibt keine unmittelbar erhöhte Gefahr von Intimaschäden, Thrombosierung und Stenosierung der A. renalis.
4. Es ist keine Antikoagulation und keine Totalanästhesie nötig.
5. Interventionszeit und Kosten werden reduziert.

Für die Anwendung von 0,1 mg Vincristin gelöst in 10 ml Injektionslösung ließ sich die Arbeitshypothese uneingeschränkt bestätigen. Nach perkutaner-periarterielle Applikation konnte sowohl funktionell wie histomorphologisch eine erfolgreiche renale Denervation nachgewiesen werden. Es traten keine unerwünschten Nebenwirkungen auf. Für die Anwendung von 90 mg Guanethidin in 10 ml Injektionslösung in gleicher Applikationstechnik ist die Arbeitshypothese zu verwerfen. Weder funktionell noch histomorphologisch konnte eindeutig eine renale Denervation nachgewiesen werden. Auch hier traten keine unerwünschten Nebenwirkungen auf.

Eine Übertragung der in dieser Arbeit im Tiermodell gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen muss in weiteren Studien untersucht werden.

5.6 Ausblick

Die Inzidenz der therapierefraktären Hypertonie mit assoziierten Morbiditäten und Mortalität wird in Zukunft weiter zunehmen. Durch die Arbeitsgruppe sind weitere Versuchsreihen mit anderen Substanzen und auch mit Katheter-basierten Methoden geplant. Weitere Studien am Tier mit größeren Fallzahlen und längeren Beobachtungszeiträumen sind erforderlich, um die gewonnenen Ergebnisse zu validieren und Aussagen über die Langzeitauswirkungen der Behandlung treffen zu können. Die aktuelle Forschung und Produktentwicklung setzt ihr Hauptaugenmerk auf Katheter-basierte Vorgehensweisen unter Verwendung thermaler Techniken wie RFA. Wie in dieser Arbeit gezeigt wurde, ist auch das perkutane Vorgehen erfolgsversprechend. Es verdient aufgrund seiner Vorzüge gegenüber endovaskulären Vorgehen weiterer Forschungsbemühungen. Für Vincristin konnte bereits eine effektive Wirkung gezeigt werden. In früheren Arbeiten wurde eine Abhängigkeit des Ausmaßes der Sympathikolyse von der Wirkstoffkonzentration und -menge gezeigt. Aus diesem Grund sind weitere Arbeiten zur Dosisfindung für die perkutan periarterielle Applikation von Vincristin von großem Interesse.

Abgesehen von der RFA existieren zu keinem Verfahren der renalen Denervation bisher randomisierte kontrollierte Studien. Die meisten Verfahren befinden sich bis hierhin in der tierexperimentellen Phase. Zukünftige tierexperimentelle und klinische Studien müssen zeigen, welche der zahlreichen minimal-invasiven Verfahren - endovaskulär oder perkutan, chemisch oder thermisch - mit welchen Energien und Wirkstoffkonzentrationen – das optimale Wirkungs-Sicherheits-Profil unter Berücksichtigung der zunehmend relevanter werdenden Kosteneffektivität aufweisen. Die bisherigen Forschungsergebnisse suggerieren, dass renale Denervation eine weiter zunehmende Rolle in der Therapie therapierefraktärer aHTN spielen wird. Zukünftige Studien werden helfen, den Stellenwert der renalen Denervation in der Therapie von Patienten mit therapierefraktärer oder sogar nicht-refraktärer aHTN zu definieren.

6 Literaturverzeichnis

1. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006;367:1747-57.
2. Wolf-Maier K, Cooper RS, Kramer H, et al. Hypertension treatment and control in five European countries, Canada, and the United States. *Hypertension* 2004;43:10-7.
3. Calhoun DA, Jones D, Textor S, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008;117:e510-26.
4. Thoenes M, Neuberger HR, Volpe M, Khan BV, Kirch W, Böhm M. Antihypertensive drug therapy and blood pressure control in men and women: an international perspective. *J Hum Hypertens* 2010;24:336-44.
5. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Collaboration PS. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903-13.
6. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-52.
7. Sarafidis PA, Georgianos P, Bakris GL. Resistant hypertension--its identification and epidemiology. *Nat Rev Nephrol* 2013;9:51-8.
8. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005;365:217-23.
9. Chiong JR, Aronow WS, Khan IA, et al. Secondary hypertension: current diagnosis and treatment. *Int J Cardiol* 2008;124:6-21.
10. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhäger WH. Essential hypertension. *Lancet* 2003;361:1629-41.

Literaturverzeichnis

11. Menni C, Mangino M, Zhang F, et al. Heritability analyses show visit-to-visit blood pressure variability reflects different pathological phenotypes in younger and older adults: evidence from UK twins. *J Hypertens* 2013;31:2356-61.
12. Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *Lancet* 2007;370:591-603.
13. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Nephrol* 2000;13:205-10.
14. Schmieder RE. End organ damage in hypertension. *Dtsch Arztebl Int* 2010;107:866-73.
15. Verdecchia P, Reboldi G, Angeli F, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and calcium channel blockers for coronary heart disease and stroke prevention. *Hypertension* 2005;46:386-92.
16. Schrader J, Lüders S, Kulschewski A, et al. Morbidity and Mortality After Stroke, Eprosartan Compared with Nitrendipine for Secondary Prevention: principal results of a prospective randomized controlled study (MOSES). *Stroke* 2005;36:1218-26.
17. Löwel H, Meisinger C, Heier M, Hymer H, Alte D, Völzke H. Epidemiology of hypertension in Germany. Selected results of population-representative cross-sectional studies. *Dtsch Med Wochenschr* 2006;131:2586-91.
18. Deutsche Hochdruckliga. Leitlinien zur Behandlung der arteriellen Hypertonie. Nieren- und Hochdruckkrankheiten. Leitlinien zur Behandlung der arteriellen Hypertonie; 2009:137–88.
19. Mahfoud F, Himmel F, Ukena C, Schunkert H, Böhm M, Weil J. Treatment strategies for resistant arterial hypertension. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108(43): 725–31.
20. Jung O, Gechter JL, Wunder C, et al. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis. *J Hypertens* 2013;31:766-74.
21. Sarwar MS, Islam MS, Al Baker SM, Hasnat A. Resistant hypertension: underlying causes and treatment. *Drug Res (Stuttg)* 2013;63:217-23.
22. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003;290:199-206.

23. Lloyd-Jones DM EJ, Larson MG, O'Donnell CJ, Rocella EJ, D. L. Differential control of systolic and diastolic blood pressure: factors associated with lack of blood pressure control in the community. *Hypertension*.2000;594 –9.
24. ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002;288:2981-97.
25. Peralta CA, Hicks LS, Chertow GM, et al. Control of hypertension in adults with chronic kidney disease in the United States. *Hypertension* 2005;45:1119-24.
26. de la Sierra A, Segura J, Banegas JR, et al. Clinical features of 8295 patients with resistant hypertension classified on the basis of ambulatory blood pressure monitoring. *Hypertension* 2011;57:898-902.
27. Cuspidi C, Macca G, Sampieri L, et al. High prevalence of cardiac and extracardiac target organ damage in refractory hypertension. *J Hypertens* 2001;19:2063-70.
28. Klinker R, Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie*. 6 ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2011:197 - 216, 388 - 98.
29. Schmidt RF, Lang F. *Physiologie des Menschen*. 30 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007.
30. Ferrari R. RAAS inhibition and mortality in hypertension. *Glob Cardiol Sci Pract* 2013;2013:269-78.
31. DiBona GF, Esler M. Translational medicine: the antihypertensive effect of renal denervation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;298:R245-53.
32. Schlaich MP, Lambert E, Kaye DM, et al. Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation. *Hypertension* 2004;43:169-75.
33. Esler M, Jennings G, Biviano B, Lambert G, Hasking G. Mechanism of elevated plasma noradrenaline in the course of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986;8 Suppl 5:S39-43.

34. Liu L, Barajas L. The rat renal nerves during development. *Anat Embryol (Berl)* 1993;188:345-61.
35. Stella A, Zanchetti A. Functional role of renal afferents. *Physiol Rev* 1991;71:659-82.
36. Converse RL, Jacobsen TN, Toto RD, et al. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. *N Engl J Med* 1992;327:1912-8.
37. Campese VM, Kogosov E. Renal afferent denervation prevents hypertension in rats with chronic renal failure. *Hypertension* 1995;25:878-82.
38. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, et al. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:1903-9.
39. Smithwick RH, Thompson JE. Splanchnicectomy for essential hypertension; results in 1,266 cases. *J Am Med Assoc* 1953;152:1501-4.
40. Hoobler SW, Manning JT, Paine WG, et al. The effects of splanchnicectomy on the blood pressure in hypertension; a controlled study. *Circulation* 1951;4:173-83.
41. Evekyn KA, Singh MM, Chapman WP, Perera GA, Thaler H. Effect of thoracolumbar sympathectomy on the clinical course of primary (essential) hypertension. A ten-year study of 100 sympathectomized patients compared with individually matched, symptomatically treated control subjects. *Am J Med* 1960;28:188-221.
42. Wilson DE, Van Vlack T, Schievink BP, Doak EB, Shane JS, Dean E. Lifestyle factors in hypertension drug research: systematic analysis of articles in a leading cochrane report. *Int J Hypertens* 2014;2014:835716.
43. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001;344:3-10.
44. Xin X, He J, Frontini MG, Ogden LG, Motsamai OI, Whelton PK. Effects of alcohol reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 2001;38:1112-7.

45. Law MR, Wald NJ, Morris JK, Jordan RE. Value of low dose combination treatment with blood pressure lowering drugs: analysis of 354 randomised trials. *BMJ* 2003;326:1427.
46. Hill MN, Miller NH, Degeest S, et al. Adherence and persistence with taking medication to control high blood pressure. *J Am Soc Hypertens* 2011;5:56-63.
47. Laurent S, Schlaich M, Esler M. New drugs, procedures, and devices for hypertension. *Lancet* 2012;380:591-600.
48. Bisognano JD, Bakris G, Nadim MK, et al. Baroreflex activation therapy lowers blood pressure in patients with resistant hypertension: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled reos pivotal trial. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:765-73.
49. Lobo MD, Sobotka PA, Stanton A, et al. Central arteriovenous anastomosis for the treatment of patients with uncontrolled hypertension (the ROX CONTROL HTN study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2015.
50. Freyhardt P, Heckmann L, Beck A, et al. MR-guided high-focused ultrasound for renal sympathetic denervation-a feasibility study in pigs. *J Ther Ultrasound* 2014;2:12.
51. Investigators SH-. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: durability of blood pressure reduction out to 24 months. *Hypertension* 2011;57:911-7.
52. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet* 2009;373:1275-81.
53. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, et al. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med* 2014;370:1393-401.
54. Disper-Wilmsen J, Günther S. Mitteilung für die Presse: Simplicity Spyral Katheter zur renalen Denervation verkürzt Eingriffsdauer bei signifikanter Blutdrucksenkung.: Medtronic; 2013.
55. Esler MD, Krum H, Schlaich M, et al. Renal sympathetic denervation for treatment of drug-resistant hypertension: one-year results from the Symplicity HTN-2 randomized, controlled trial. *Circulation* 2012;126:2976-82.

56. Worthley SG, Tsioufis CP, Worthley MI, et al. Safety and efficacy of a multi-electrode renal sympathetic denervation system in resistant hypertension: the EnligHTN I trial. *Eur Heart J* 2013;34:2132-40.
57. Ormiston JA, Watson T, van Pelt N, et al. First-in-human use of the OneShot™ renal denervation system from Covidien. *EuroIntervention* 2013;8:1090-4.
58. Bunte MC, Infante de Oliveira E, Shishehbor MH. Endovascular treatment of resistant and uncontrolled hypertension: therapies on the horizon. *JACC Cardiovasc Interv* 2013;6:1-9.
59. Sievert H, Schofer J, Ormiston J, et al. Renal denervation with a percutaneous bipolar radiofrequency balloon catheter in patients with resistant hypertension: 6-month results from the REDUCE-HTN clinical study. *EuroIntervention* 2015;10:1213-20.
60. Myat A, Redwood SR, Qureshi AC, et al. Renal sympathetic denervation therapy for resistant hypertension: a contemporary synopsis and future implications. *Circ Cardiovasc Interv* 2013;6:184-97.
61. Azizi M, Sapoval M, Gosse P, et al. Optimum and stepped care standardised antihypertensive treatment with or without renal denervation for resistant hypertension (DENERHTN): a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2015.
62. Esler M. Illusions of truths in the Symplicity HTN-3 trial: generic design strengths but neuroscience failings. *J Am Soc Hypertens* 2014;8:593-8.
63. Mabin T, Sapoval M, Cabane V, Stemmett J, Iyer M. First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension. *EuroIntervention* 2012;8:57-61.
64. Gulati V, White WB. Novel Approaches for the Treatment of the Patient with Resistant Hypertension: Renal Nerve Ablation. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2013;7.
65. Consigny PM, Davalian D, Donn R, Hu J, Rieser M, Stolarik D. Chemical renal denervation in the rat. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:218-23.
66. Stefanadis C, Toutouzas K, Synetos A, et al. Chemical denervation of the renal artery by vincristine in swine. A new catheter based technique. *Int J Cardiol* 2013;167:421-5.

67. Stefanadis C, Toutouzas K, Vlachopoulos C, et al. Chemical denervation of the renal artery with vincristine for the treatment of resistant arterial hypertension: first-in-man application. *Hellenic J Cardiol* 2013;54:318-21.
68. Stefanadis C, Synetos A, Toutouzas K, et al. New double balloon delivery catheter for chemical denervation of the renal artery with vincristine. *Int J Cardiol* 2013;168:4346-8.
69. Owens C, Gasper WJ, Seward K, et al. Percutaneous Peri-Adventitial Guanethidine Delivery Induces Renal Artery Sympathectomy: Preclinical Experience and Implication for Refractory Hypertension. *J Vasc Surg*; 2011:87.
70. Streitparth F, Walter A, Stolzenburg N, et al. MR-guided periarterial ethanol injection for renal sympathetic denervation: a feasibility study in pigs. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2013;36:791-6.
71. Fischell TA, Vega F, Raju N, et al. Ethanol-mediated perivascular renal sympathetic denervation: preclinical validation of safety and efficacy in a porcine model. *EuroIntervention* 2013;9:140-7.
72. Stefanadis C, Toutouzas K, Synetos A, et al. Chemical denervation of the renal artery by vincristine in swine. A new catheter based technique. *Int J Cardiol* 2012;167:421-5.
73. Saleh A. Renal denervation. Current developments. *Radiologe* 2013;53:216-22.
74. Rippy MK, Zarins D, Barman NC, Wu A, Duncan KL, Zarins CK. Catheter-based renal sympathetic denervation: chronic preclinical evidence for renal artery safety. *Clin Res Cardiol* 2011;100:1095-101.
75. Templin C, Jaguszewski M, Ghadri JR, et al. Vascular lesions induced by renal nerve ablation as assessed by optical coherence tomography: pre- and post-procedural comparison with the Simplicity catheter system and the EnligHTN multi-electrode renal denervation catheter. *Eur Heart J* 2013;34:2141-8, 8b.
76. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254:1178-81.

77. Steigerwald K, Titova A, Malle C, et al. Morphological assessment of renal arteries after radiofrequency catheter-based sympathetic denervation in a porcine model. *J Hypertens* 2012;30:2230-9.
78. Streitparth F, Gebauer B, Nickel P, et al. Percutaneous computer tomography-guided ethanol sympathectomy for the treatment of resistant arterial hypertension. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:513-8.
79. Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8 ed. New York, NY: Pergamon Press; 1990:1237.
80. Moore AS, Norris R, Price G, et al. Vincristine pharmacodynamics and pharmacogenetics in children with cancer: a limited-sampling, population modelling approach. *J Paediatr Child Health* 2011;47:875-82.
81. Raj TA, Smith AM, Moore AS. Vincristine sulfate liposomal injection for acute lymphoblastic leukemia. *Int J Nanomedicine* 2013;8:4361-9.
82. Riga M, Psarommatis I, Korres S, et al. Neurotoxicity of vincristine on the medial olivocochlear bundle. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;71:63-9.
83. American Society of Health System Pharmacists. AHFS Drug Information 2008. Bethesda, Maryland 2008:1266.
84. Dorr RT, Alberts DS. Vinca alkaloid skin toxicity: antidote and drug disposition studies in the mouse. *J Natl Cancer Inst* 1985;74:113-20.
85. Banks P, Mayor D. Intra-axonal transport in noradrenergic neurons in the sympathetic nervous system. *Biochem Soc Symp* 1972:133-49.
86. Goodman LS, Gilman A. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 5 ed. New York: Macmillan Publishing Co., Inc.; 1975:556.
87. Burnstock G, Evans B, Gannon BJ, Heath JW, James V. A new method of destroying adrenergic nerves in adult animals using guanethidine. *Br J Pharmacol* 1971;43:295-301.
88. Manning PT, Powers CW, Schmidt RE, Johnson EM. Guanethidine-induced destruction of peripheral sympathetic neurons occurs by autoimmune-mediated mechanism. USA: *The Journal of Neuroscience*; 1982.

Literaturverzeichnis

89. Bauch HJ, Kelsch U, Hauss WH. Einfache, schnelle, selektive und quantitative Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Plasma durch Kombination von Flüssigextraktion, HPLC-Trennung und elektrochemischer Detektion. Berlin New York: J. Clin. Chem. Clin. Biochem.; 1986:651 -8.
90. Russel NL. A rapid double-embedding method for tissues, using an automatic tissue processing apparatus (histokinette-histokine). J Med Lab Technol 1956;13:484-6.
91. Avwioro G. Histochemical Uses of Haematoxylin - A Review. Nigeria: JPCS; 2011.
92. Hannon JP, Bossone CA, Wade CE. Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. Lab Anim Sci 1990;40:293-8.
93. Lawrentschuk N, Trottier G, Mayo K, Rendon RA. Effects of partial nephrectomy on postoperative blood pressure. Korean J Urol 2012;53:154-8.
94. Sakakura K, Ladich E, Cheng Q, et al. Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man. J Am Coll Cardiol 2014;64:635-43.
95. Tellez A, Rousselle S, Palmieri T, et al. Renal artery nerve distribution and density in the porcine model: biologic implications for the development of radiofrequency ablation therapies. Transl Res 2013;162:381-9.
96. Richard DY. Pharmacology of antihypertensive agents. 312-996-5087 CMW 406: UIC Dept of Pharmacology.
97. Manning PT, Powers CW, Schmidt RE, Johnson EM. Guanethidine-Induced destruction of peripheral sympathetic neurons occurs by an immune-mediated mechanism. USA: The Journal of Neuroscience; 1982.
98. Demas GE, Bartness TJ. Novel method for localized, functional sympathetic nervous system denervation of peripheral tissue using guanethidine. J Neurosci Methods 2001;112: 21-8.
99. Goodrich JA, Lackland DT, Del Signore MJ, Swindle MM. Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation. Comp Med 2001;51:13-5.

Literaturverzeichnis

100. Goldfrank L, al. e. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. 7th ed 2002:940.
101. MICROMEDEX Thomson Health Care. USPDI - Drug Information for the Health Care Professional. 22 ed. Greenwood Village: MICROMEDEX Thomson Health Care; 2002.
102. Tendillo FJ, Mascías A, Santos M, de Segura IA, Castillo-Olivares JL. Cardiorespiratory and analgesic effects of continuous infusion of propofol in swine as experimental animals. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1996;43:126-9.
103. Ener RA, Meglathery SB, Styler M. Extravasation of systemic hemato-oncological therapies. *Ann Oncol* 2004;15:858-62.
104. Pansieri M, Barnay P, Larderet E, et al. Renal denervation for resistant hypertension without general anesthesia: advantage of a MEOPA morphine protocol. Preliminary experience. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2013;62:283-6.
105. Nicolau ID, Nandini. Renal Denervation for Resistant Hypertension. Montreal: Technology Assessment Unit (TAU) of the McGill University Health Centre (MUHC); 2013:25.

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Injektatdistribution , die linke Spalte stellt die erreichte Punktzahl, die rechte Spalte das aus der CT-Bildgebung ersichtliche Korrelat der postinterventionellen Injektatverteilung zur entsprechenden Punktzahl dar	38
Tabelle 2: Scoring der Injektatdistribution der Schweine Vincristin (Vinc.) 1 - 6	47
Tabelle 3 Scoring der Injektatdistribution der Schweine Guanethidin (Guan.) 1 - 6	51
Tabelle 4: NoradrenalinKonzentrationen im Nierenparenchym von Schwein Vincristin 1 – 6 , NA - Noradrenalin.....	55
Tabelle 5: Noradrenalinwerte (NA) Schwein Guanethidin 1 - 6	57
Tabelle 6: Blutdruckwerte Schwein Vincristin 1 – 6 , RR – arterieller Blutdruck, Syst. – Systolisch, Diast. - Diastolisch.....	71
Tabelle 7: Blutdruckwerte Schwein Guanethidin 1 – 6 , RR – arterieller Blutdruck, Syst. – Systolisch, Diast. - Diastolisch.....	72
Tabelle 8: Ergebnisübersicht der Vincristin-Gruppe. NA-Ratio in % im behandelten gegenüber dem unbehandelten Nierenparenchym. Die histologische Denervation beschreibt Zeichen von Nervenschädigungen. Die beiden primären Outcome Parameter sind gelb hinterlegt. Das RR Verhalten ergibt sich als Differenz aus dem systolischen Blutdruck gemessen vor Euthanasie und präinterventionell für den ersten Wert, der zweite Wert aus der Differenz des diastolischen Blutdrucks gemessen vor Euthanasie und präinterventionell., NA – Noradrenalin, RR – arterieller Blutdruck	74
Tabelle 9: Ergebnisübersicht der Guanethidin-Gruppe. NA-Ratio in % im behandelten gegenüber dem unbehandelten Nierenparenchym. Die histologische Denervation beschreibt Zeichen von Nervenschädigungen. Die beiden primären Outcome Parameter sind gelb hinterlegt. Das RR Verhalten ergibt sich als Differenz aus dem systolischen Blutdruck gemessen vor Euthanasie und präinterventionell für den ersten Wert, der zweite Wert aus der Differenz des diastolischen Blutdrucks gemessen vor Euthanasie und präinterventionell., NA – Noradrenalin, RR – arterieller Blutdruck, * - Nachinjektion 1 ml Guanethidins nach initialer Fehlapplikation.....	75

8 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Folgen arterieller Hypertonie an Niere, Herz, Gehirn und Auge¹²**, die Abbildung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit in der Darstellung der Folgen arterieller Hypertonie auf den menschlichen Organismus 12
- Abbildung 2: Blutdruckregulation - Einfluss renaler sympathischer Efferenzen**, orange Pfeile zeigen direkt durch sympathische Efferenzen beeinflusste Schenkel der Blutdruckregulation, orange gefüllte Kästchen zeigen in der Folge durch sympathische Efferenzen beeinflusste Größen, unten stehende Größen ergeben sich aus den darüber stehenden Größen, „+“ bedeutet eine Zunahme, „-“ eine Abnahme im Zuge sympathischer Aktivität, S – Sympathikus, N. – Nervus, ACE – Angiotensin converting enzyme, AT – Angiotensin, Na – Natrium, H₂O – Wasser, SV – Schlagvolumen, HZV- Herzzeitvolumen, HF – Herzfrequenz, TPR – Total peripherer Widerstand 15
- Abbildung 3: Blutdruckregulation – Einfluss renaler sympathischer Afferenzen**, blauer gestrichelter Pfeil entspricht renalen sympathischen Afferenzen, orangene gestrichelte Pfeile dem Einfluss des zentralen Sympathikus (S), blau gefüllte Kästchen werden durch renale Afferenzen beeinflusst, „+“ bedeutet eine Steigerung „-“ einen Abfall der Größe durch Aktivierung sympathischer renaler Afferenzen, es gelten ferner die gleichen Zusammenhänge wie für Abbildung 2, S – Sympathikus, N. – Nervus, ACE – Angiotensin converting enzyme, AT – Angiotensin, Na – Natrium, H₂O – Wasser, SV – Schlagvolumen, HZV- Herzzeitvolumen, HF – Herzfrequenz, TPR – Total peripherer Widerstand 17
- Abbildung 4: Übersicht über verschiedene Antihypertensiva**, Unterteilung der vier großen Arzneimittelgruppen der Antihypertensiva in Substanzklassen und Wirksubstanzen von links nach rechts. Die Mittel der ersten Wahl sind gelb hinterlegt. RAAS – Renin – Angiotensin – Aldosteron – System, AT – Angiotensin, ENaC – endothelialer Natriumkanal, Verapamil und Diltiazem wirken auch am Herzmuskel, daher lassen sich Calciumantagonisten zum Teil auch den herzwirksamen Pharmaka zuordnen, Calciumantagonisten vom Dihydropyridin-Typ wie Nifedipin haben keine Wirkung am Herzmuskel 19
- Abbildung 5: Minimalinvasive Verfahren der renalen Denervation**, RFA – Radiofrequenzablation, unter „RFA“ sind die vier bisher CE-zertifizierten RFA-Katheter aufgelistet, unter „Endovaskulärer Ultraschall“ sind zwei CE zertifizierten Ultraschall-

Katheter aufgelistet, unter „pharmakologisch“ sind die in der Literatur bisher beschriebenen Substanzen zur chemischen renalen Denervation aufgeführt..... 21

Abbildung 6: Interventionstisch neben dem Interventions-CT unmittelbar vor der Intervention, gezeigt ist das Anmischen der Injektionslösung über einen Dreiwegehahn (2), Wirkstoff: Vincristin, 1 – schwarze Lichtschutzbeutel, 2 – Dreiwegehahn, 3-Spritze mit Luer-lock Anschluss enthält 7 ml mit 0,1 mg Vincristin, 4 – Spritze mit Luer-Lock Anschluss mit Bupivacain und KM, 5 – KM, 6 – Bupivacain, 7 – grüne Schutzhandschuhe, 8 – Kompressen, 9 – Spritzen mit Luer-Lock Anschluss, 10 – kleine Verlängerungen, 11 – sterile Abdeckungen, 12 - Flüssigkeitsabwurf 31

Abbildung 7: Lagerung eines Schweins der Vincristin-Gruppe im CT-Gerät in Bauchlage, 1 – CT Gerät (64-MSCT, Somatom Definition AS, Siemens, D-65760 Eschborn), 2 – Sauerstoffschlauch, 3 – Becher als Sauerstoffmaske, 4 – Drei-Wege-Hahn konnektiert zur Flexüle in einer Ohrvene, 5 – Perfusorleitung mit Propofol, 6 - Interventionstisch 33

Abbildung 8: Planungs-CT, Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, arterielle Phase, a) axial und b) coronar, re. – rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 – Nierenarterien 34

Abbildung 9: Versuchsaufbau während der Intervention, 1 – Interventionalist, 2 – Assistent, 3 – Monitoring zur Überwachung der Sauerstoffsättigung und Herzfrequenz des Versuchstiers, 4 – Interventionstisch, 5 – CT-Steuerkonsole, 6 – Propofolperfusor, 7 – Fentanylperfusor, 8 – Monitore zur Darstellung der periinterventionellen CT-Bildgebung, 9 - Sauerstoffanschluss 35

Abbildung 10: Platzierte Injektionsnadel (1) und Substanzapplikation im Interventions-CT, 1 – 20 G Spinalnadel, 2 –Verlängerungsschlauch, 3 – 10 ml-Spritze mit Wirksubstanz (Vincristin), 4 – sterile Abdeckung, 5 – Kontrastmittelpumpe 36

Abbildung 11: Intervention, Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, CT-Fluoroskopie, axial, a) finale Nadelposition vor und b) nach Injektion eines der Wirkstofflösung um die rechte Nierenarterie, Nativ-CT, re. - rechts, li. – links, WK – Wirbelkörper 37

Abbildung 12: Niere im eröffneten Situs unmittelbar vor Organentnahme, die Darmschlingen werden zur besseren Einsicht beiseite gehalten 39

Abbildung 13: Entnommene Nieren , die Pinzette markiert die Aorta (1), 2 – A. renalis sinistra, 3 – Ureteren, re. – rechts, li. – links. Der in dieser Darstellung imponierende Größenunterschied der beiden Organe war bereits prä-interventionell bestehend und bei unauffälliger Histomorphologie am ehesten anlagebedingt	40
Abbildung 14: Arbeitsplatz im Labor , 1 – Etikettendrucker für die Objektträger, 2 – Wasserbad, 3 - Mikrotom, 4 – Paraffinausgussstation, 5 – Kälteplatte mit Präparaten in Stahlblechformen, 6 – Automat zum Eindecken von Objektträgern, 7 – für die HE-Färbung genutzter Färbeautomat	43
Abbildung 15: Darstellung der Nierenarterien , Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, CT in arterieller Phase, coronar, die rechte und linke A. renalis mitsamt Haupt- und Nebenästen sind rot umrandet, re. – rechts, li. – links.....	46
Abbildung 16: Distributionsscore 3 (exzellente Verteilung) , Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, axial, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra, 3 – KM gefülltes NBKS, re. – rechts, li. - links	48
Abbildung 17: Distributionsscore 3 (exzellente Verteilung) , Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra	49
Abbildung 18: Injektatdistribution , Schwein 3 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re.= rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra.....	49
Abbildung 19: Distributionsscore 2 (ausreichende Verteilung) , Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, axial, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra..	50
Abbildung 20: Distributionsscore 2 (ausreichende Verteilung) , Schwein 1 der Vincristin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in der arteriellen Phase und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, re. - rechts, li. - links, WK - Wirbelkörper, 1 - Aorta, 2 - A. renalis dextra	50

- Abbildung 21: Distributionsscore 1 (nicht ausreichende Verteilung)**, Schwein 5 der Guanethidin-Gruppe, a) präinterventionelle Aufnahme in Maximumintensitätsprojektion und b) postinterventionelle Nativ-CT, coronar, WS – Wirbelsäule, 1 - Aorta, 2= A. renalis dextra, re. – rechts, li. – links 52
- Abbildung 22: Nierenzysten im Planungs-CT**, Schwein Guanethidin 4, a) coronare und b) axiale Aufnahme, Nativ-CT, Nierenzysten, sind mit * gekennzeichnet, re. – rechts, li. – links 53
- Abbildung 23: Nierenzysten von Schwein Guanethidin 4**, rechte Niere entlang Längsachse halbiert, die prominentesten Zysten sind mit * gekennzeichnet 54
- Abbildung 24: Noradrenalin (NA)-Werte Schwein 1 - 6 Vincristin**, jeweils zwei Balken pro Schwein repräsentieren die behandelte (rot) und unbehandelte Seite (blau), die Ordinate zeigt die Noradrenalin-Konzentration im Nierenparenchym, auf der Abszisse sind die Tiere 1 – 6 abgebildet, 56
- Abbildung 25 Arithmetische Mittelwerte der Noradrenalin (NA)-Konzentrationen der mit Vincristin behandelten und unbehandelten Nieren im Vergleich**, Fehlerbalken sind Standardabweichungen (p-Wert < 0,01, zweiseitig, gepaarter t-Test)..... 56
- Abbildung 26: Noradrenalin (NA)-Werte Schwein 1 - 6 Guanethidin**, jeweils zwei Balken pro Schwein repräsentieren die behandelte (rot) und unbehandelte Seite (blau), die Ordinate zeigt die Noradrenalin-Konzentration, auf der Abszisse sind die Tiere 1 – 6 abgebildet 58
- Abbildung 27: Arithmetische Mittelwerte der Noradrenalin (NA)-Konzentrationen der mit Guanethidin behandelten und unbehandelten Nieren im Vergleich**, Fehlerbalken sind Standardabweichungen (p-Wert = 0,69, zweiseitig, gepaarter t-Test)..... 58
- Abbildung 28: Übersicht Nierenarterie**, Schwein Vincristin 2, linke Nierenarterie, HE Färbung, 5x Vergrößerung, schwarze Pfeile weisen auf intakte Nervenfaszikel im umgebenden Bindegewebe..... 60
- Abbildung 29: Intakte Nervenfaszikel**, Vincristin Schwein 6, unbehandelte linke Nierenarterie, HE Färbung, 20x vergrößert; Ablösung des Faszikels vom Perineurium ist ein durch Fixation bedingtes Artefakt..... 61

- Abbildung 30: Übersicht Nierenarterie**, Schwein Vincristin 3 unbehandelte linke Nierenarterie, EvG Färbung, 5x Vergrößerung, schwarze Pfeile weisen auf intakte Nervenfaszikel im umgebenden Bindegewebe, durch alle Wandschichten ziehende nadelartige Streifen sind Überlagerungsartefakte 62
- Abbildung 31: Intakte Nervenfaszikel**, Vincristin Schwein 6, linke Nierenarterie, EvG Färbung, 10x vergrößert; der schwarze Pfeil markiert das Perineurium..... 63
- Abbildung 32 Übersicht**, Schwein Vincristin 4 behandelte Seite, EvG, 10x vergrößert, schwarze Pfeile weisen auf Faszikel mit Zeichen von Degeneration 64
- Abbildung 33: geschädigter Faszikel**, Schwein Vincristin 4, EVG, 20x vergrößert, gelbe Pfeile weisen auf Ganglienzellen, schwarze Pfeile markieren beispielhaft zwei Stellen an denen das Perineurium nicht abgrenzbar ist, blaue Pfeile markieren in den Faszikel ziehende Bindegewebsstränge..... 65
- Abbildung 34: geschädigter Faszikel**, Schwein Vincristin 4, EVG, 20x Vergrößerung, schwarze Pfeile markieren schlechte Abgrenzbarkeit des Perineuriums, der blaue Pfeil zeigt intrafaszikuläre Fibrose 66
- Abbildung 35: geschädigter Faszikel**, Schwein Vincristin 3, EVG, 20x Vergrößerung, schwarzer Pfeil markiert Nerv, roter Pfeil Fibroseareal..... 67
- Abbildung 36: geschädigte Nervenfaszikel**, Schwein Vincristin 1, EvG Färbung, 10x vergrößert, schwarze Pfeile weisen auf stark geschädigte Faszikel, grüner Pfeil weist auf angeschnittenen optisch intakten Nervenfaszikel 68
- Abbildung 37: stark degenerierte Struktur**, Schwein Vincristin 6, Nierenarterie, EVG, 5x vergrößert, schwarzer Pfeil weist auf starke degenerierte Struktur..... 69
- Abbildung 38: Übersicht**, Schwein Guanethidin 3, behandelte Nierenarterie rechts, EvG Färbung, 5x vergrößert 70
- Abbildung 39: Mittlere Blutdruckwerte Vincristin 1 - 6**, Abszisse zeigt die Messzeitpunkte, Ordinate RR = arterieller Blutdruck, Syst = systolisch, Diast = diastolisch . 71
- Abbildung 40: Mittlere Blutdruckwerte Guanethidin 1 - 6**, Abszisse zeigt die Messzeitpunkte, Ordinate RR = arterieller Blutdruck..... 73

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Ricardo Donners, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Renale Sympathikolyse durch CT-gesteuerte periarterielle Applikation von Vincristin und Guanethidin im Schwein zur Evaluation innovativer Therapieoptionen bei therapierefraktärer arterieller Hypertonie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Herr Ricardo Donners hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Freyhardt P, Donners R, Riemert A, Schnorr J, Stolzenburg N, Rinnenthal J, Guenther R, Hamm B, Streitparth F. Renal Sympathicolysis by Percutaneous Periarterial Injection of Vincristin-A Feasibility Study in Pigs. Radiological Society of North America 2014 Scientific Assembly and Annual Meeting, November 30 - December 5, 2014, Chicago IL. rsna2014.rsna.org/program/details/?emID=14010150 Accessed August 30, 2015

Publikation 2: Freyhardt P, Donners R, Riemert A, Schnorr J, Stolzenburg N, Rinnenthal J, Hamm B, Günther R, Streitparth F. Renale Sympathikolyse mittels CT-gestützter periarterieller Injektion von Vincristin, hypertoner Kochsalzlösung, Paclitaxel und Guanethidin im Schweinmodell. 96. Deutscher Röntgenkongress und 6. Gemeinsamer Kongress der DRG und ÖRG, 13. – 16. Mai, 2015, Hamburg. Thieme RöFo. Fortschr Röntgenstr 2015; 187 - WISS401_8. DOI: 10.1055/s-0035-1550864

Beitrag im Einzelnen:

Herr Donners war an der Versuchsplanung und -vorbereitung sowie der Versuchsdurchführung beteiligt. Zu seinen Aufgaben zählten ferner das Erstellen histopathologischer Schnittpräparate und deren mikroskopische Auswertung. Ebenso führte er anteilig die statistische Auswertung der Ergebnisse durch.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.