

Aus dem Institut für experimentelle Radiologie der Charité,
Universitätsklinikum Berlin und der Klinik für Kleintiere des
Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Computertomographie-gestützte periarterielle Injektion von Paclitaxel und hochmolekularer Kochsalzlösung zur renalen Denervation im Schweinemodell

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Alexandra Riemert
Tierärztin aus Oschatz

Berlin 2018
Journal-Nr.: 4008

Aus dem Institut für experimentelle Radiologie der Charité,
Universitätsklinikum Berlin und der Klinik für Kleintiere des
Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Computertomographie-gestützte periarterielle
Injektion von Paclitaxel und hochmolekularer
Kochsalzlösung zur renalen Denervation im
Schweinemodell

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Alexandra Riemert

Tierärztin aus Oschatz

Berlin 2018

Journal-Nr.: 4008

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Prof. Dr. Karl-Heinz Lahrmann
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Florian Streitparth
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Robert Klopffleisch

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs; animal models; blood pressure; animal experiments; kidneys; application methods; sodium chloride (MeSH); histopathology; tomography; x-ray computed (MeSH)

Tag der Promotion: 24.03.2018

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <https://dnb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-899-3

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2018

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2018

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

gewidmet

meinem geliebten Vater

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
1 Einleitung	1
2 Ziel der Studie	3
3 Literaturübersicht	4
3.1 <i>Physiologie des Blutdrucks</i>	4
3.2 <i>Hypertonie</i>	6
3.3 <i>Bluthochdruckassoziierte Begleit- und Folgeerscheinungen</i>	8
3.4 <i>Massnahmen gegen arterielle Hypertonie</i>	10
3.4.1 <i>Prävention</i>	10
3.4.2 <i>Antihypertensive Medikamente</i>	10
3.4.3 <i>Minimalinvasive Therapieoptionen</i>	12
4 Material und Methoden	33
4.1 <i>Studiendesign</i>	33
4.2 <i>Versuchstiere</i>	33
4.3 <i>Haltung und Fütterung der Versuchstiere sowie zeitlicher Versuchsablauf</i>	34
4.4 <i>Sedation, Schmerzausschaltung und Narkoseüberwachung</i>	35
4.5 <i>Blutdruckmessungen</i>	37
4.6 <i>Vorbereitung des Tieres zur Intervention</i>	37
4.7 <i>Verwendete Wirkstoffe</i>	39
4.7.1 <i>Hochmolare Natriumchloridlösung</i>	39
4.7.2 <i>Paclitaxel</i>	39
4.8 <i>Planungs- CT und CT - gestützte Intervention</i>	40
4.9 <i>Postinterventionelle Überwachung</i>	44
4.10 <i>Beurteilung Technischer Durchführbarkeit</i>	45
4.11 <i>Euthanasie</i>	45
4.12 <i>Probenentnahme</i>	45
4.13 <i>Makroskopische Untersuchung</i>	46
4.14 <i>Weitere Bearbeitung der Zielstrukturen</i>	46
4.15 <i>Noradrenalinbestimmung im Nierenparenchym</i>	47
4.16 <i>Histologische Untersuchung</i>	48
4.16.1 <i>Vorbereitung der Proben</i>	49
4.16.2 <i>Paraffineinbettung</i>	49
4.16.3 <i>Anfertigung histologischer Schnitte</i>	49
4.16.4 <i>Histologische Färbungen</i>	50
4.17 <i>Statistik</i>	53
5 Ergebnisse	54
5.1 <i>Entwicklungs- und Gesundheitsstatus der Versuchstiere</i>	54
5.2 <i>Technische Durchführbarkeit der Intervention</i>	55
5.2.1 <i>Injektatdistribution - Scoreeinteilung</i>	55
5.3 <i>Sicherheit und Nebenwirkungen der Intervention</i>	58
5.4 <i>Blutdruckmessung</i>	58

5.4.1	5M Natriumchlorid	58
5.4.2	Paclitaxel	59
5.5	<i>Noradrenalinmessung</i>	62
5.5.1	5M Natriumchlorid	62
5.5.2	Paclitaxel	63
5.6	<i>Makroskopische Untersuchung</i>	66
5.7	<i>Histologische Untersuchung</i>	67
5.7.1	Nerven	68
5.7.2	Intaktes Nervenfaszikel	69
5.7.3	Veränderte Nervenstrukturen	71
5.7.4	Ureter	72
5.7.5	Immunhistochemische Färbungen	73
6	Diskussion	74
6.1	<i>Studiendesign</i>	74
6.1.1	Versuchstiermodell	75
6.1.2	Sedation und Narkose	75
6.2	<i>Diskussion der Ergebnisse</i>	76
6.2.1	Bewertung der Blutdruckmessungen	76
6.2.2	Bewertung der Noradrenalinwerte	77
6.2.3	Bewertung histologischer Ergebnisse	78
6.2.4	Technische Durchführbarkeit der CT-gestützten perkutanen, periarteriellen Intervention	79
6.3	<i>Vergleich zu katheterbasierten Denervationsverfahren</i>	80
6.4	<i>Mögliche Ursachen der fehlenden Wirkstoffwirkung</i>	85
6.5	<i>Sicherheit der Intervention</i>	87
6.6	<i>Übertragbarkeit der renalen Denervation auf den Menschen</i>	88
7	Schlussfolgerung	89
8	Ausblick	90
9	Zusammenfassung	90
10	Summary	92
11	Tabellenverzeichnis	94
12	Abbildungsverzeichnis	95
13	Literaturverzeichnis	98
14	Publikationen	105
15	Danksagung	106

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
ACE	Angiotensin converting enzym
atm	Atmosphäre
ca.	circa
cm	Zentimeter
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CT	Computertomograph
d	Tag
EvG	Elastica van Giesson
F	French
FDA	Food and Drug Administration
G	Gauge
HE	Hämatoxilin Eosin
HPLC	Hochflüssigkeits-Chromatographie
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
L	Liter
L	Lumbal
M	Mol
min.	Minute
mind.	Mindestens
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
µm	Mikroliter

µm	Mikrometer
NA	Noradrenalin
NaCl	Natriumchlorid
NNM	Nebennierenmark
Pac	Paclitaxel
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RDN	Renale Denervation
RR	Riva Rocci
Th	Thorakal
UpM	Umdrehungen pro Minute
VNS	Vegetatives Nervensystem
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

In den Industrienationen sowie in den Entwicklungsländern ist Bluthochdruck ein relevantes Gesundheitsproblem, das eine der Ursachen für kardiovaskuläre und renale Erkrankungen darstellt. Im Jahr 2000 belief sich die Zahl nachweislich an Hypertonie erkrankter Menschen weltweit auf ca. 972 Millionen. Schätzungen zufolge soll die Anzahl betroffener Erwachsener bis zum Jahr 2025 um rund 60% auf 1,56 Milliarden ansteigen [1]. Die „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS), als Bestandteil des Gesundheitsmonitorings des Robert-Koch-Instituts, erfasste Daten von 2008-2011. Die Auswertung ergab, dass in Deutschland jeder dritte Erwachsene von Bluthochdruck betroffen ist, wobei es bei jungen Menschen im Alter von 18-29 Jahren ca. 5% betraf. Bei 70 bis 79-jährigen hingegen leiden ca. drei Viertel an Hypertonie [2]. Jährlich entfallen etwa 2,9 Millionen Todesfälle auf die Folgen einer Hypertonie [3].

Bluthochdruck wird den Leitlinien entsprechend mit dauerhaften Werten von $> 140\text{mmHg}$ systolisch und $> 90\text{mmHg}$ diastolisch definiert [2, 4]. Die Bezeichnung gilt auch für Patienten die unter antihypertensiver Medikation stehen [5]. Bei Diabetikern und Patienten mit vorliegenden Nierenerkrankungen liegen die Richtwerte bei $>130/80\text{ mmHg}$ [4]. Somit ist Hypertonie eine ernst zu nehmende Erkrankung, die einen hohen Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer und zerebrovaskulärer sowie von Nierenerkrankungen darstellt [6]. Tückisch ist dabei, dass Bluthochdruck als solcher oftmals für die Betroffenen zunächst ohne merkliche Symptome verläuft [7]. Das Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung beginnt bereits ab Messwerten von $115/75\text{ mmHg}$ und verdoppelt sich bei einer Erhöhung des Blutdruckes um $20/10\text{ mmHg}$ [8]. Dabei kann bereits eine länger währende Reduzierung des systolischen Blutdruckes um 10 mmHg bzw. um 5 mmHg in der diastolischen Phase das Risiko eines Schlaganfalls um 40% und das Risiko einer koronaren Herzerkrankung um 30% reduzieren [9]. Hypertonie ist eine risikobehaftete Erkrankung hinsichtlich Begleit- und Folgeerkrankungen mit weitreichenden Folgen, die jedoch auch in weiten Teilen beeinflussbar ist. Bei Patienten mit Blutdruckwerten, die trotz adäquater Behandlung mit Antihypertensiva weiterhin im hypertensiven Bereich liegen, spricht man von therapierefraktärer Hypertonie [10]. Gleiches gilt wenn mehr als drei Medikamente erforderlich sind, um den Zielwert zu erreichen

[4]. Untersuchungen ergaben, dass die Quote an Patienten, deren Hypertonie durch verschiedenste Maßnahmen erfolgreich gesenkt werden konnte, bei 25-50% liegt. Dementsprechend hoch (50-75%) ist der Prozentsatz an Patienten mit unkontrolliertem Bluthochdruck. Begründet ist dies oftmals durch eine unzureichende medikamentöse Therapie oder einer ungenügenden Compliance der Patienten. Der Prozentsatz therapierefraktärer Patienten, d.h. Patienten, die trotz guter Compliance und korrekter medikamentöser Therapie eine unkontrollierte Hypertonie aufweisen, liegt nach Schätzungen bei 10-30% [11].

Der primären - ursprünglich auch „Essentiellen Hypertonie“ – kann ein multifaktorielles Geschehen zu Grunde liegen. Darunter versteht man den Einfluss von Nährstoffaufnahme, Fettleibigkeit, körperliche Bewegung, Alkoholkonsum, Umwelteinflüsse, psychosozialer Stress und genetische Prädisposition [12]. Es gibt klinische Hinweise darauf, dass auch eine gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystems einen wesentlichen Beitrag zu dessen Entwicklung leistet [13]. Dabei führt eine gesteigerte efferente Aktivität des renalen Sympathikus durch das Freisetzen von Renin über den Mechanismus des Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) zur Erhöhung des Blutdrucks [4]. Es ist zu beobachten, dass sowohl die Sympathikusaktivierung als auch der Plasma-Noradrenalinwert bei Menschen mit essentieller Hypertonie höher ist als bei normotonen Patienten. Diese beiden Faktoren wiederum korrelieren positiv mit einer Zunahme an kardiovaskulären Geschehnissen und damit assoziierter Morbidität und Mortalität [4].

Die renale Denervation (RDN) beschäftigt sich damit, die Nerven, die in der Adventitia der A. renalis verlaufen, derart zu schädigen, dass sie nicht mehr funktionstüchtig sind und folglich ihr Einfluss auf die Entstehung einer Hypertonie unterbunden wird. Zu den bisherigen Versuchen der renalen Denervation zählt unter anderem die chirurgische Sympathektomie. Dieses invasive Verfahren wurde durch eine 4%-ige perioperative Mortalitätsrate begleitet. Behandelte Patienten wiesen eine Überlebensrate von 70-80% 5 Jahre nach dem Eingriff auf [13]. Dieses erste Verfahren zur renalen Denervation wurde bereits 1921 unternommen und reichte bis in die 1950er Jahre. Als Resultat konnte zwar ein signifikanter Abfall des Blutdrucks verzeichnet werden, jedoch ging dieser Erfolg mit schweren Nebenwirkungen, wie Harn- und Kotinkontinenz, Impotenz und orthostatischer Hypotension [14] einher. Mit der Entwicklung medikamentöser Therapieformen verlies man das Feld der chirurgischen Sympathektomie [15]. In jüngerer Zeit wurde der Gedanke technischer Denervationsmethoden wiederbelebt, die jedoch in ihrer Durchführung weniger radikal sind als eine chirurgische Sympathektomie. Besondere Beachtung fand bisher die Entwicklung endovaskulärer Behandlungsformen, allen

voran die Radiofrequenzablation (RFA). Die Radiofrequenzenergie wird dabei zur selektiven Denervation der sympathischen Nervenfasern genutzt, die in der Adventitia der Nierenarterie liegen [16]. Inzwischen gibt es mehrere Studien zur renalen Denervation, bei denen unter anderem auch verschiedene Formen von Ablationskathetern getestet wurden. Zu weiteren Methoden zählen extrakorporaler Ultraschall, Kryoablation sowie die lokale Applikation von chemischen Reagenzien oder Neurotoxinen [17], wie zum Beispiel Ethanol. Ergänzend zählt auch HIFUS, der Hochintensive fokussierte Ultraschall dazu, dessen Wirksamkeit zur Denervation bereits am Schweinemodell getestet wurde. Die größte Evidenzlage besteht derzeit für das Simplicity™-Kathetersystem von Medtronic [18]. Während die SIMPLICITY-HTN1 und SIMPLICITY-HTN2 Studien sehr vielversprechend erschienen, wurden die Erwartungen durch die Folgestudie SIMPLICITY-HTN3 Studie enttäuscht. Das Ergebnis dieser Studie wird inzwischen jedoch auch kontrovers diskutiert, da eine jüngere Veröffentlichung (DENERHTN) sehr wohl den Erfolg einer renalen Denervation unterstreicht [19]. Als Reaktion auf die unterschiedlichen wissenschaftlichen Ergebnisse wurden weitere Interventionsverfahren mit dem Ziel einer renalen Denervation untersucht. Ein Gebiet dieser alternativen Methoden ist Bestandteil der vorliegenden Arbeit.

2 Ziel der Studie

Die vorliegende kontrollierte Studie beschäftigt sich erstmalig mit der Erprobung einer neuen Methodik zur renalen Denervation im Schweinemodell mittels einer Computertomographie (CT) - gestützten perkutanen periarteriellen Applikation chemischer Wirkstoffe als Alternative zur katheterbasierten physikalischen Denervation. Die gesamte Studie umfasst die Erprobung verschiedener Wirksubstanzen. Dazu zählen Guanethidin, Vincristin, Paclitaxel und hochmolare Kochsalzlösung. Dieser Teil der Studie beschäftigt sich mit den beiden letztgenannten Wirkstoffen. Die Untersuchung dient der Überprüfung der Applikationsmethodik und der Wirksamkeit der Wirkstoffe anhand der Bestimmung des Noradrenalinwertes im Nierenparenchym, der bildgestützten Injektatverteilung, der Erhebung der Blutdruckwerte sowie der morphohistologischen Beurteilung der Nierenarterien mit den umgebenden Nervenstrukturen.

3 Literaturübersicht

3.1 Physiologie des Blutdrucks

Spricht man allgemein von Blutdruck, so bezieht sich dies für gewöhnlich auf den arteriellen Blutdruck. Der intravasale arterielle Blutdruck ist nach dem Ohmschen Gesetz das Produkt aus Herzminutenvolumen und arteriellem Abstromwiderstand [20]. Während der systolischen Auswurfphase des Herzens steigt er auf ein Maximum an [21]. Der niedrigste Druck ist während der Diastole messbar. Im normalen Ruhezustand liegt der Blutdruck bei 100-130 mmHg systolisch und 60-90 mmHg diastolisch. Andauernde Abweichungen im Sinne einer Hypotonie oder Hypertonie hingegen schädigen den Organismus [21]. Ein geregelter Blutdruck entsteht durch das Zusammenwirken verschiedener Faktoren, die untereinander im komplexen Zusammenhang stehen. Der Blutdruck steht in positiver Beziehung zu Herzfrequenz, Herzschlagvolumen und totalem peripheren Widerstand. Letzterer steht stark unter sympathisch beeinflusster Vasokonstriktion. Ein Abfall des Blutdruckes kann zur Abnahme des Blutflusses und Minderversorgung der peripheren Gewebe mit Sauerstoff führen. Infolge dessen können Zellen und Organsysteme geschädigt werden. Umgekehrt kann aber auch ein erhöhter Blutdruck Endorganschäden bewirken [22]. Unter normalen Bedingungen interagieren die Niere und das sympathische System miteinander und sorgen dafür, den Blutdruck und die glomeruläre Filtration in der Norm zu halten [23].

Das RAAS hat einen bedeutenden Einfluss auf den Blutdruck. Kommt es im gesunden Organismus zu einer Minderdurchblutung der Niere, wird Renin aus dem juxtaglomerulären Apparat freigesetzt. Die Freisetzung des Renins wird hauptsächlich über die Zufuhr von Natrium bestimmt. Renin sorgt dafür, dass Angiotensinogen zu Angiotensin I katalysiert wird, welches dann durch das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) zu Angiotensin II umgewandelt wird. Angiotensin II bewirkt eine Blutdrucksteigerung, die über mehrere Wege erzielt wird (siehe Abbildung 1). Die Stimulation der Aldosteronsekretion sorgt für eine Natriumrückresorption im distalen Tubulus. Dies bewirkt eine vermehrte Rückresorption von Natriumchlorid und Flüssigkeit [24]. Bei einigen Patienten mit essentieller Hypertonie ist ein speziell intrarenal aktiviertes RAAS verantwortlich [25]. Jede Klasse der Antihypertensiva greift in dieses System ein und bewirkt einen anderen Effekt. Daher lässt sich durch eine Kombinationstherapie eine additive Wirkung zur Blutdrucksenkung erzielen [26].

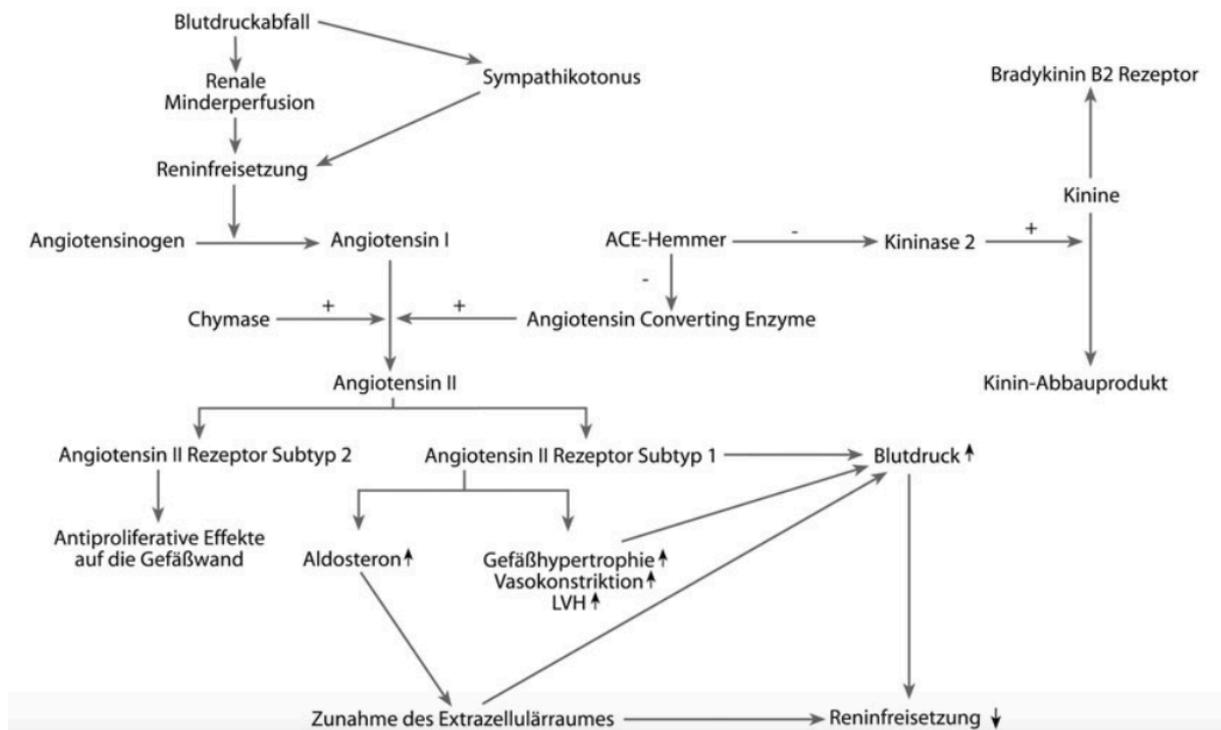


Abbildung 1: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System [25]

Im komplexen System der Blutdruckregulation spielt auch der Sympathikus, auf dem der Fokus dieser Arbeit liegt, eine entscheidende Rolle.

Das sympathische Nervensystem zählt wie das parasympathische Nervensystem zum vegetativen Nervensystem (VNS). Diese vegetative (auch als autonom bezeichnete) Innervation unterliegt keiner bewussten Kontrolle. Das VNS ist Teil des peripheren Nervensystems, dem das Zentralnervensystem (ZNS) bestehend aus Gehirn und Rückenmark gegenübersteht [27]. Das VNS steht mit endokrinen, parakrinen und humoralen Regulationssystemen in Kontakt. Es kann sehr effizient und schnell auf Veränderungen des inneren Milieus reagieren, mit dem Ziel, die Homöostase wiederherzustellen. Aus diesem Grund sind vegetative Dysfunktionen „von erheblicher klinischer Tragweite“ [27]. In Bezug auf Über- oder Unterfunktionen von Systemen, die unter Beeinflussung des VNS stehen, ist das medizinische Interesse besonders hoch. Allgemein erhöht der Sympathikus die Aktivität der Organe („fight or flight“) [27]. Die renalen sympathischen Nervenfasern haben ihren Ursprung am sympathischen Grenzstrangganglion im thorakolumbalen Übergang vom 10. Brustwirbel bis zum 1. Lendenwirbel (Th10-L1). Die Nerven, bestehend aus afferenten und efferenten Fasern, umgeben die Gefäße netzartig, wobei sie bis in die Adventitia eindringen [18]. Der primäre Neurotransmitter, der von den sympathischen Nerven freigesetzt wird, ist Noradrenalin. Dieser führt zu erhöhter Salzreabsorption der tubulären Epithelzellen, Kontraktion der glatten

Muskulatur und Reninfreisetzung aus dem juxtaglomerulären Apparat [28]. Die renalen sympathischen afferenten und efferenten Nervenfasern sind wichtige Mediatoren zwischen renaler Aktivität und gesamter Sympathikusaktivität [29]. Afferente Signale seitens der Niere werden von Chemo- und Mechanorezeptoren wahrgenommen und bewirken letztlich eine Regulation des Sympathikus über freigesetztes und zirkulierendes Angiotensin II in Folge einer Ausschüttung aus dem Gehirn [23]. Die renalen sympathischen Nerven können auf verschiedene Weise ihren Beitrag zur Hypertonie leisten. Zum Einen aufgrund defekter renaler Ausscheidung, zum Anderen durch den Gefäßtonus, der direkt oder indirekt über das RAAS zu Stande kommt [23]. Bei Patienten, die an schwerer arterieller Hypertonie erkrankt sind, korreliert die Aktivität des Sympathikus mit der Höhe des Blutdrucks [30]. Daraus resultiert der Ansatz, dem erhöhten arteriellen Blutdruck durch eine Denervation sympathischer renaler Fasern entgegenzuwirken. Aus den sympathischen Nervenendigungen wird der Neurotransmitter Noradrenalin freigesetzt, der den synaptischen Spalt überbrückt und am Zielorgan nach Bindung an entsprechende Rezeptoren für die Entfaltung der Wirkung sorgt. Noradrenalin zählt neben Adrenalin und Dopamin zu den Katecholaminen. Sie bilden eine Klasse chemischer Neurotransmitter und Hormone, die eine Schlüsselrolle in physiologischen Prozessen und der Entwicklung von neurologischen, psychiatrischen, endokrinen und kardiovaskulären Erkrankungen einnehmen [31]. Ein erhöhter Noradrenalinwert im Plasma deutet auf eine erhöhte Sympathikusaktivität hin [23], wobei der Plasmaanteil nur einen Teil des existierenden Noradrenalins im Körper darstellt, der in den synaptischen Spalt freigesetzt wird. Eine anhaltende sympathische Aktivität und somit erhöhter zirkulierender Gehalt an Noradrenalin kann zu Veränderungen in den intrarenalen Blutgefäßen führen. Zudem bewirken Katecholamine eine Proliferation der glatten Muskelzellen [23]. Ergänzend sind die Barorezeptoren, die sich in der thorakalen Aorta und dem Karotissinus wiederfinden, zu erwähnen. Es ist bekannt, dass die Barorezeptoren ebenfalls eine Rolle zur Regulation des Blutdrucks spielen. Steigt der Druck, wird dies über Signalwege im Hirn vernommen und eine kardiovaskuläre Gegenreaktion folgt.

3.2 Hypertonie

Als Hypertonie oder Bluthochdruck bezeichnet man den Zustand eines dauerhaft erhöhten intravasalen Drucks, der über den Normwerten liegt. Nach derzeitigen Richtlinien entspricht dies einem systolischen Blutdruckwert von mehr als 140 mmHg und einem diastolischen Wert von mehr als 90 mmHg. In Deutschland weisen etwa 25-30 Millionen Menschen einen

erhöhten Blutdruck auf [32]. Schätzungen zu Folge führt Bluthochdruck jährlich und weltweit zu etwa 9,4 Millionen Todesfällen [2]. Durch Bluthochdruck wird das Risiko eines Schlaganfalls, einer Herzinsuffizienz, einer chronischen Nierenerkrankungen oder eines Herzinfarktes signifikant erhöht [33]. Die Hypertonie kann neben einer Einteilung in Schweregrade auch in eine primäre (auch idiopathische oder früher essentielle) und eine sekundäre Hypertonie unterschieden werden. Die Differenzierung gestaltet sich jedoch nicht immer einfach und bedarf einer ausführlichen Anamnese und Diagnostik.

Etwa 85% der Hypertoniker werden der idiopathischen Hypertonie zugeschrieben. Die verbleibenden 15% entfallen auf die sekundäre Hypertonie. Bei einer sekundären Hypertonie gelten die Ursachen für die erhöhten Werte als bekannt [34]. Im Gegensatz dazu ist eine genaue Ursache oder die Ursachen für die Entstehung einer primären Hypertonie unklar. Die Gefahr arterieller Hypertonie liegt darin, dass sie als solche für die Betroffenen in der Regel ohne merkliche Symptome verläuft [7]. Die Ursachen können multifaktoriell sein und weitreichende Folgen nach sich ziehen. Mögliche Ursachen stellen die Wahl der Nährstoffaufnahme, Fettleibigkeit, mangelhafte körperliche Bewegung, Alkoholkonsum, Umwelteinflüsse, psychosozialer Stress und genetische Prädisposition [12] sowie Geschlecht und Alter dar. Weitere Pathomechanismen, die eine Hypertonie bedingen können, sind Gefäßsteifigkeit, erhöhter Gefäßwiderstand, gestörte Barorezeptorfunktion, gestörter Salz- und Wasserhaushalt, Aktivierung des RAAS und eine gesteigerte sympathische Aktivität [35]. Wie bereits beschrieben, entfallen rund 15% der Patienten mit Hypertonie auf die sekundäre Form. Unter Umständen ist die sekundäre Hypertonie reversibel. Diese reversiblen, oftmals organischen Ursachen beinhalten das obstruktive Schlafapnoe-Syndrom, chronische Nierenerkrankungen (renovaskulär oder renoparenchymatös), renale Arterienstenosen und den primären Hyperaldosteronismus. Ebenso ursächlich, jedoch seltener im Auftreten, sind Cushing, Phäochromozytom, Aortenisthmusstenose und Hyperparathyreoidismus [18, 36]. Auch einige Arzneimittel können ursächlich sein, wenn eine Erhöhung des intravasalen Drucks besteht [36].

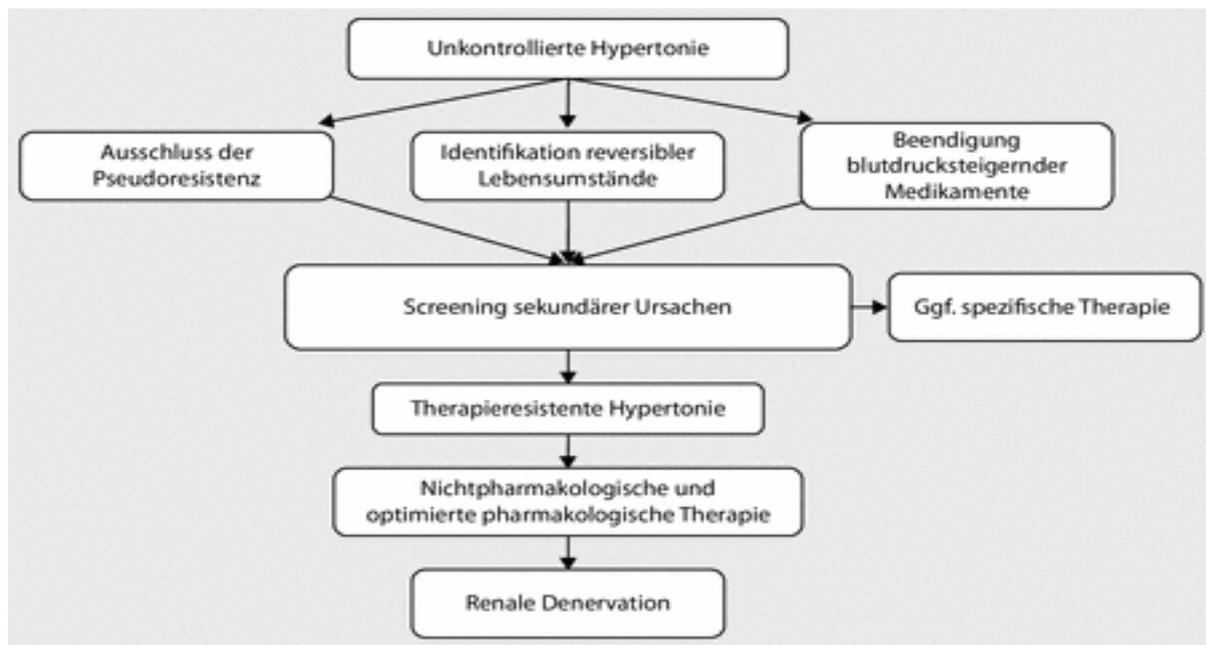


Abbildung 2: Prozedere im Falle einer unkontrollierten Hypertonie [37]

Um das Vorliegen einer therapierefraktären Hypertonie zu bestätigen, müssen zunächst andere Ursachen, die dem Bild ähneln, ausgeschlossen werden (Abb. 2). Dazu zählen Pseudoresistenzen, verursacht durch insuffiziente medikamentöse Behandlung, Weißkittelhypertonie und inadäquate Messtechniken des Blutdrucks [38], sowie eine unzureichende Compliance der Patienten. Definiert wird der Zustand einer therapierefraktären Hypertonie als unkontrollierte Hypertonie trotz Gabe von mehr als 3 Antihypertensiva oder kontrollierter Blutdruck unter Medikation mit mehr als 4 Antihypertensiva. Die Prävalenz von behandlungsresistenter Hypertonie unter den Hypertonikern liegt bei 13% - 16% [39]. Ätiologisch liegt der therapierefraktären Hypertonie ein multifaktorielles Geschehen zu Grunde. Patienten, bei denen eine sekundäre Hypertonie ausgeschlossen wurde und die adäquate Lebensgewohnheiten aufweisen sowie nachweislich ein Therapieschema mit mehr als drei Medikamenten verfolgen, gelten als resistente Hypertoniker [14].

3.3 Bluthochdruckassoziierte Begleit- und Folgeerscheinungen

Die Auswirkungen eines anhaltenden Bluthochdrucks kommen besonders an den Endorganen wie Gehirn, Herz und Nieren zum Tragen. Durch langanhaltende Veränderungen des intravaskulären Drucks führen Struktur- und Funktionsänderungen im kardiovaskulären Systems zur negativen Auswirkung auf die Blutdruckregulation [22]. Jährlich sterben rund 8 Millionen Menschen an den Folgen einer nicht ausreichend therapierten Hypertonie [40]. Als Folge einer malignen Hypertonie kann es zu einem akut lebensbedrohlichen Zustand einer

hypertensiven Krise kommen. Diese beschreibt den Zustand von Lungenödemen, Koronarschämie, Aortenaneurysma, hypertensiven Enzephalopathien oder aber anderweitiger Zustände, die unmittelbar durch eine Hypertonie verursacht werden. Im Falle einer hypertensiven Krise können Werte von mehr als 210/120 mmHg festgestellt werden [41].

Die Nieren zählen zu den Organen die am häufigsten Folgen einer chronischen Hypertonie aufweisen. Eine chronische Niereninsuffizienz kann sowohl ursächlich als auch die Folge eines Endorganschadens durch arterielle Hypertonie sein. Bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung erreichen weniger als 15% die angestrebten Zielwerte von 130/80 mmHg trotz medikamentöser Mehrfachkombination [18]. In den USA ist Hypertonie die zweithäufigste Ursache für Nierenerkrankungen im Endstadium. Solange die glomerulären, afferenten Strukturen der Arteriolen intakt sind, können diese durch renale Autoregulation die Übertragung von erhöhten Blutdruckwerten auf die Glomeruli oder peritubulären Kapillaren [42], also den sensiblen Mikrogefäßen, verhindern. Durch anhaltenden Bluthochdruck wird das Endothel jedoch in seiner Funktion gestört, wodurch die Vasodilatation allmählich beeinträchtigt wird und durch die Strukturveränderungen das Autoregulationsvermögen verändert. Dadurch erhöht sich das Risiko einer Mikroalbuminämie oder gar einer Nierenerkrankung im Endstadium [42]. Der Bluthochdruck hängt eng mit fortschreitender Nierendysfunktion in Form von Glomerulosklerose, interstitieller Fibrose, Proteinurie und abnehmender glomerulärer Filtration zusammen [42]. Auch die Folgen für das menschliche Herz bzw. dessen koronaren Gefäßstrukturen durch arterielle Hypertonie können lebensbedrohliche Ausmaße annehmen. Die permanente Veränderung durch den Bluthochdruck führt als Reaktion auch zu einer Veränderung am Herzen. Das Herz wird hypertrophisch. Später führt dies zu verminderter Herzauswurfleistung oder Herzversagen [43]. Auch die Gefäße zeigen hypertrophe Veränderungen. Durch die dickwandigen Arteriolen wird die vasokonstriktorische Reaktion verstärkt [22] und das Risiko von Herzerkrankungen und Herzversagen erhöht. Linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) ist ein häufiges durch Hypertonie verursachtes subklinisches Krankheitsbild. Die Prävalenz von linksventrikulärer Hypertrophie unter Hypertonikern liegt bei 20%- 40% [44]. Eine erhöhte Herzfrequenz ist insbesondere bei Patienten mit arterieller Hypertonie mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität verbunden. Nach renaler Denervation zeigte sich durch eine Reduktion erhöhter Herzfrequenz auch hier ein positiver Effekt [29]. Neben den Auswirkungen an Herz und Nieren zeigen sich insbesondere am Gehirn schwerwiegende Folgeerscheinungen. So gilt anhaltender Bluthochdruck als größter Risikofaktor für das Auftreten eines Schlaganfalls [45]. Eine

persistierende Hypertonie verändert die zerebrale Gefäßmorphologie, den Blutfluss im Hirn und das Reaktionsvermögen der Gefäße, wodurch Stenosen, chronische Minderperfusion und eingeschränkte zerebrovaskuläre Reservemöglichkeiten resultieren. Diese wiederum bedingen eine erhöhte Anfälligkeit für Hirnleistungsstörungen, geminderte kognitive Fähigkeiten und Schlaganfall [46]. Zudem erhöht Bluthochdruck das Risiko von Demenz vom Alzheimerstyp [47]. Auch am Auge können hypertoniebedingte Veränderungen auftreten. Diese zeigen sich unter anderem in Form von Retinopathien, die weitere Erkrankungen des Auges begünstigen können. Dabei reicht das Spektrum von harmloseren Hyposphagmata bis hin zu Venenverschlüssen, deren Folge der Verlust der Sehfähigkeit sein kann [48].

3.4 Massnahmen gegen arterielle Hypertonie

3.4.1 Prävention

Einen ersten und unter Umständen bereits entscheidenden Einfluss auf den Bluthochdruck kann der Patient bereits gezielt durch die Änderung der eigenen Ernährungs- und Lebensgewohnheiten erreichen. Durch körperliche Aktivität, Vermeidung von Fettleibigkeit durch Aufnahme geeigneter Lebensmittel, Reduktion des Salzkonsums sowie durch Verzicht auf Nikotin und Alkohol kann der Betroffene ein gesundheitsförderndes Verhalten zeigen [18]. Ebenfalls sollte versucht werden, den alltäglichen Stress nach Möglichkeit zu mindern. Letztendlich empfiehlt es sich, sich regelmäßigen Kontrollen zu unterziehen, denn ein bestehender Bluthochdruck geht nicht immer mit einer merklichen Symptomatik für den Betroffenen einher. Reicht dies nicht aus, so ist eine medikamentöse Therapie mit dem Ziel der dauerhaften Blutdrucksenkung indiziert. Allerdings gibt es auch hier Patienten, die trotz entsprechender Therapieleitlinien keinen Erfolg erzielen oder durch eine suboptimale antihypertensive Therapie und blutdrucksteigernde Nebenwirkungen anderer Pharmaka Bluthochdruck bekommen [18]. Hinsichtlich dieses Problems, greift man nun seit einiger Zeit wieder, in minimalinvasiver Form, das Grundprinzip der Sympathektomie auf.

3.4.2 Antihypertensive Medikamente

Die Entwicklung sogenannter Antihypertensiva begann vor etwa 50 Jahren. Heutzutage stehen gegenüber damaliger Medikamente jedoch besser verträgliche Substanzgruppen zur Verfügung [49]. Medikamente verschiedener Wirkstoffklassen, die zur Therapie von Bluthochdruck

Verwendung finden, sind in erster Linie ACE-Hemmer, Kalziumkanalblocker, Betarezeptorblocker, Angiotensin(AT)-1-Rezeptor-Antagonisten und Diuretika. Oftmals werden diese in Kombination verabreicht. Die Entscheidung hinsichtlich Mono- oder Kombinationstherapie bzw. die Auswahl entsprechender Wirkstoffklassen und Dosierungen sollte individuell erfolgen. Für gewöhnlich erreichen die Wirkstoffe frühestens nach 3-4 Wochen ihre volle Wirksamkeit [49]. Eine Behandlung arteriell resistenten Bluthochdrucks besteht aus wenigstens drei Medikamenten, wobei eines ein Diuretikum ist [50]. Zwar besteht im Rahmen der Therapie die Möglichkeit die Dosis zu erhöhen, aber mit einer Erhöhung steigen auch die Nebenwirkungen überproportional [49]. Eine bestehende Hypertonie trotz der Einnahme von Medikamenten kann unter Umständen auf fehlendes Ansprechen auf die Wirksubstanzen, inadäquate Dosierungen oder ungeeignete Wirkstoffkombinationen zurückzuführen sein. Auch unzureichend intensive Therapien können dazu beitragen [14]. Ein weiteres oft beschriebenes Problem der medikamentösen Behandlung liegt in der mangelnden Compliance vieler Patienten [36]. Durch den Einsatz von Antihypertensiva wird die Gefahr von druckbedingten Herzveränderung und eine möglich Entwicklung hin zum Herzversagen reduziert [43].

ACE-Hemmer

Zielort der ACE-Hemmer ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. Das Enzym verhindert die Umwandlung von Angiotensin I in Angiotensin II. Angiotensin II bewirkt eine Erhöhung des Blutdrucks. Des Weiteren inaktiviert der ACE-Hemmer die Katalyse von Bradykinin. Bradykinin wiederum wirkt vasodilatatorisch [24].

Kalziumkanalblocker

Kalziumkanalblocker, auch Kalziumantagonisten genannt, verringern den Einstrom von Kalzium durch die dafür vorgesehenen spannungsabhängigen L-Typ Kanäle in das Zellinnere. Unter normalen Umständen sorgt der Einstrom der Kalziumionen dafür, dass der Gefäßtonus erhöht wird. Kalziumkanalblocker wirken stark vasodilatativ und reduzieren den peripheren Widerstand. Zudem haben sie nur geringe Nebenwirkungen [51]. Neuere Medikamente dieser Kategorie der 3. Generation blocken Kanäle vom L-Typ und vom T-Typ. Ältere hingegen wirkten primär am spannungsabhängigen L-Typ Kanal. Medikamente dritter Generation haben eine vorteilhafte Wirkung auf die intrarenale Hämodynamik, Proteinurie und weitere Nierenfunktionen [23].

Betarezeptorblocker

Beta-Rezeptorblocker, kurz Betablocker, verursachen eine Senkung des Blutdruckes und erniedrigen die Pulsfrequenz durch Blockade der Beta-Adrenorezeptoren. Eine besondere Stellung nimmt der Betablocker Nebivolol ein, ein Betablocker der dritten Generation. Dieser hemmt wie andere Betablocker auch selektiv die Beta-1-Rezeptoren, aktiviert jedoch als einziger zusätzlich das endotheliale NO-System. Dies senkt den peripheren Gefäßwiderstand. Ein weiterer Vorteil ist die lange Halbwertszeit, wodurch eine BD-Senkung über 24h bewirkt wird [49].

AT-2-Rezeptor Antagonist

Die Indikation für den Einsatz von Angiotensin-Rezeptor-Blockern gleicht der für ACE-Hemmer. Der Wirkmechanismus ist jedoch ein anderer. Es sind Wirkstoffe, die AT-1-Rezeptoren an Blutgefäßen und anderen Geweben blockieren. Diese Rezeptoren haben stimulierenden Einfluss auf die Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur. Sie haben jedoch keinen limitierenden Einfluß auf das ACE und somit auch nicht auf das Gefäß erweiternde Bradykinin [24].

Diuretika

Thiaziddiuretika werden üblicherweise bei der Behandlung von Nephrolithiasis und Bluthochdruck eingesetzt. Sie binden und hemmen den Natriumchloridtransporter und gelten als Mittel erster Wahl bei der Mehrzahl der Patienten bzw. werden sie in der Regel als zusätzlicher Wirkstoff in der antihypertensiven Therapie eingesetzt [52]. Die thiazidsensitiven NaCl-Kotransporter sind hauptverantwortlich für die Resorption von Natrium und Chlorid. Sie befinden sich in der apikalen Membran der distalen Tubuliendothelzellen und wirken bei der Regulation verschiedener Mechanismen. Dazu zählen die transepitheliale Ionenabsorption und -sekretion, Regulation des Zellvolumens und Kontrolle der intrazellulären Chloridkonzentration. Die thiazidsensitiven Kotransporter sind erster Angriffspunkt für Thiaziddiuretika [53].

3.4.3 Minimalinvasive Therapieoptionen

Durch minimalinvasive Therapieoptionen eröffnen sich bei arzneimittelrefraktären Patienten neue Möglichkeiten der Behandlung. Eine der Möglichkeiten stellt die Intervention unter Einsatz des ROX-Couplers dar. Dabei wird eine arteriovenöse Fistel zwischen A. iliaca externa und V.

iliaca externa angelegt. Ursprünglich wurde der ROX-Coupler eingesetzt um Patienten mit COPD zu behandeln. Aus der Anlage des Shunts resultiert eine Abnahme des peripheren Widerstandes als Gegenreaktion zum induzierten erhöhten Herzzeitvolumen. In Folge dieser Feststellung beschäftigen sich internationale Studien mit dem Einsatz dieser Methodik zur Behandlung therapieresistenter arterieller Hypertonie [11, 54, 55]. Es ist bekannt, dass auch Barorezeptoren eine essentielle Rolle in der Regulation des Blutdrucks spielen. Ein ansteigender Blutdruck aktiviert die Rezeptoren, die über den afferenten Signalweg im Hirnstamm zur kardiovaskulären parasymphatischen und sympathischen Anpassung führen. Elektrische Karotisstimulatoren wurden entwickelt, um die therapierefraktäre Hypertonie zu behandeln. Ein rezeptornaher Stimulator steht dabei mit einem Schrittmacheraggregat in Verbindung. Dem Gehirn wird dadurch suggeriert, dass der intravasale Druck steigt. Infolge dessen wird die Sympathikusaktivität reduziert und der Blutdruck sinkt. Dieses Verfahren wurde bereits im Tiermodell und am Menschen durchgeführt [55]. Diese Zweige der möglichen Therapieoptionen sollen hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden.

Ein viel diskutiertes Feld der minimalinvasiven Therapie stellt die renale Denervation dar. Das Ziel der renalen Denervation liegt darin, die Nervenfasern des Sympathikus, die in der Adventitia der Nierengefäße verlaufen derart zu schädigen, dass sie ihre Funktion nicht weiter erfüllen können. Im Jahr 2009 erregte die SIMPLICITY-HTN1 Studie große Aufmerksamkeit. Durch einen Katheter, der über einen Zugang in der A. femoralis zu den Nierenarterien vorgeschoben wird und die dortigen Nerven thermisch abladiert, konnte eine deutliche Senkung des Blutdrucks herbeigeführt werden. Diesem positivem Ergebnis folgend wurden weitere Studien veröffentlicht, die sich mit verschiedenen Kathetersystemen zur renalen Denervation beschäftigten. Die größte Studien- und Probandenzahl sowie die bis dato meisten Erfahrungswerte liegen für katheterorientierte Denervationsmethoden vor. Während die SIMPLICITY-HTN1 und HTN2 Studien noch sehr vielversprechend erschienen, zeigten letzte Publikationen der HTN-3 Studie nicht die erwarteten Resultate. Die Ergebnisse sechs Monate nach dem Eingriff konnten keinen signifikanten Abfall des systolischen Wertes hinsichtlich einer erfolgreichen Blutdrucksenkung im Vergleich zur Sham-Gruppe (eine nur scheinbar behandelte Gruppe) [56] verzeichnen. In wissenschaftlichen Kreisen werden seither kontroverse Diskussionen geführt. Die im Jahr 2015 im Lancet veröffentlichte französische DENERHTN-Studie, konnte im Gegensatz zur Simplicity-HTN3 Studie die Effektivität der renalen Denervation bestätigen [19].

3.4.3.1 Angriffspunkt der minimalinvasiven renalen Denervation

Es ist bekannt, dass die Aktivität des Sympathikus in Zusammenhang mit dem Auftreten einer arteriellen Hypertonie steht. Das Prinzip der minimalinvasiven renalen Denervation basiert darauf, die sympathischen Fasern, die in der Adventitia der Nierengefäße verlaufen (afferente wie efferente Fasern) zu schädigen und eine vollständige Unterbrechung zu erreichen.

Für gewöhnlich wird die Katheterbasierte Radiofrequenzablation (RFA) bevorzugt am Hauptast der Nierenarterie durchgeführt. In Versuchen am Schwein versuchte man die Frage zu klären, wie entscheidend die Positionierung der Energiequelle bezüglich der Effektivität der Denervation ist. Dazu wurde der Katheter nahe dem Ostium, dem Hauptnierenast nahe der Bifurkation bzw. in den hauptextrarenalen Nierenästen lokalisiert. Nach zwei Wochen wurden die Schweine euthanasiert und neben einer histologischen Auswertung auch der Noradrenalinwert (NA) bestimmt. Dabei ergab sich eine Verminderung des NA-Gehaltes um 74% bei der extrarenalen Katheterposition, während die RFA nahe der Aufgabelung der Hauptnierenarterie einen Abfall um 45% und die Behandlung am Hauptast der Niere nur um 12% senken konnte. Eine mögliche Ursache könnte eine unterschiedliche Dichte der Nerven sein, die von distal nach proximal zwar weniger wurde, jedoch war die Nervendicke proximal wesentlich größer. Die durchschnittliche Entfernung zwischen Endothel und der Zielstruktur Nerv war am größten im proximalen Bereich und am geringsten im distalen Gebiet des Nierengefäßes [57]. In einer Studie wurden die mittleren Durchmesser der Nierenarterien von 10 Schweinen im Alter von rund 3 Monaten auf 3,6-3,8 mm bemessen [58]. In der Literatur wird der Durchmesser der Hauptnierenarterien des Menschen durchschnittlich mit 5-8 mm beschrieben [59]. Die Verhältnisse ähneln sich demnach. Insbesondere hinsichtlich unserer Zielstruktur - dem Nervennetz um die A.renalis - weisen Menschen und Schweine ebenfalls Parallelen auf. Es wurde eine höhere Dichte an efferenten Fasern im Vergleich zu afferenten Fasern in einer umfangreichen Untersuchung nachgewiesen. Auch Untersuchungen am Schwein belegen dies [60]. Veranschaulicht wird dies in Abb.3. Einer Studie zu Folge gibt es keine Unterschiede zwischen der Nervenstruktur von normotonen und hypertonen Patienten [60].

Verteilung der Nerven im
Verlauf des Gefäßes

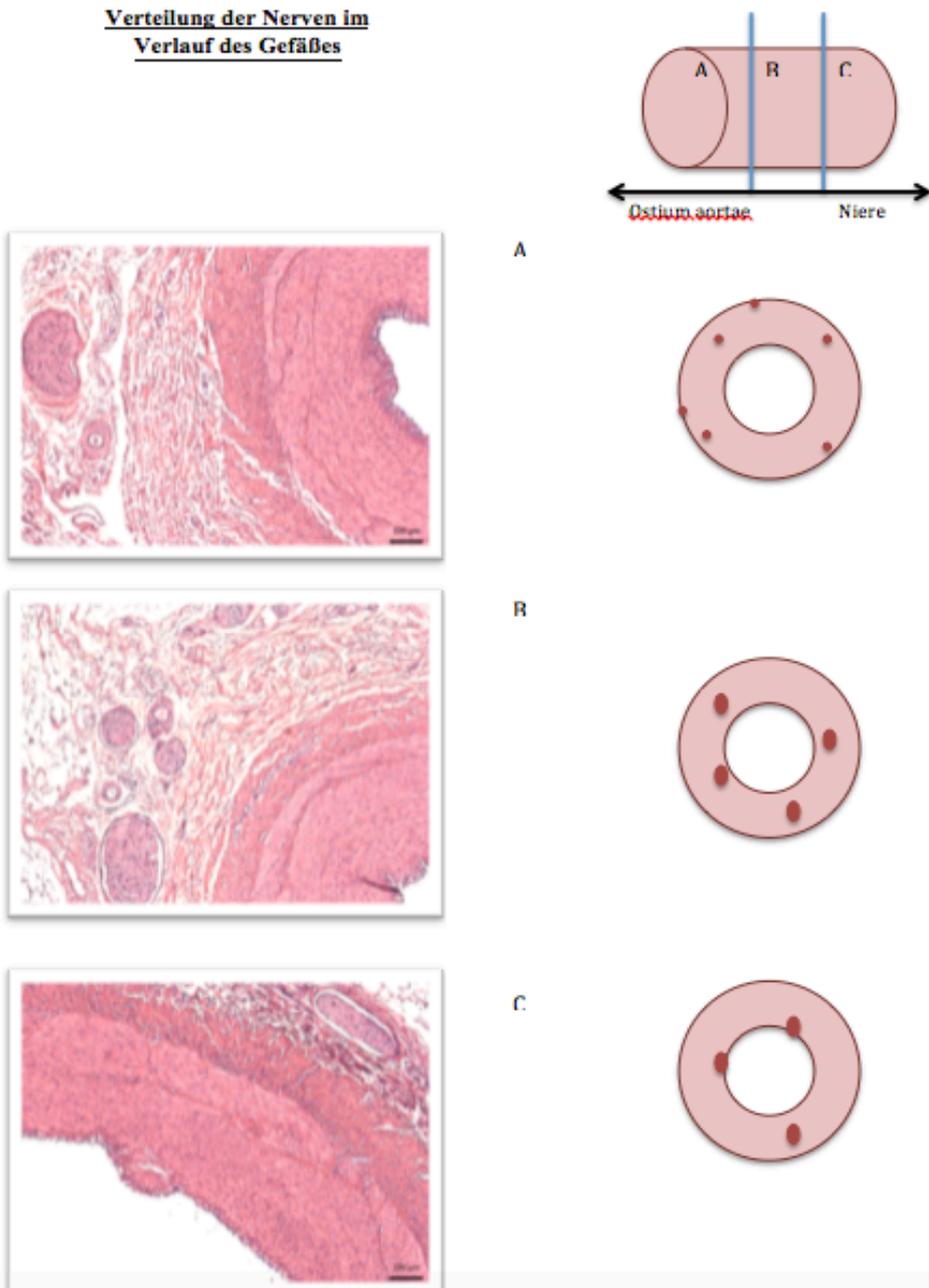


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Verteilung der Nerven im Verlauf der Nierenarterie. Von proximal nach distal abnehmende Anzahl und abnehmender Abstand der Nerven vom Gefäßlumen (Eigenanfertigung).

Lumenseitig liegt die Tunica intima (Intima), aufgebaut aus einem Endothel und einer dünnen bindegewebigen Membran. Es folgt die Tunica Media (Media), in der sich vorwiegend glatte Muskelzellen befinden. Diese Gefäßschicht dient der Tonusregulation und ist sympathisch adrenerg innerviert. Letztlich folgt die Tunica adventitia (Adventitia), bestehend aus lockerem Bindegewebe. Diese Schicht des Gefäßes umschließt es einerseits und stellt andererseits eine Verbindung zum umliegenden Gewebe her. Die Innervation der Gefäßmuskulatur übernimmt das vegetative Nervensystem in der Adventitia. Hier können auch zusätzliche

Spannungsrezeptoren vorhanden sein. Vegetative Fasern werden bis in das Kapillargebiet nachgewiesen [27].

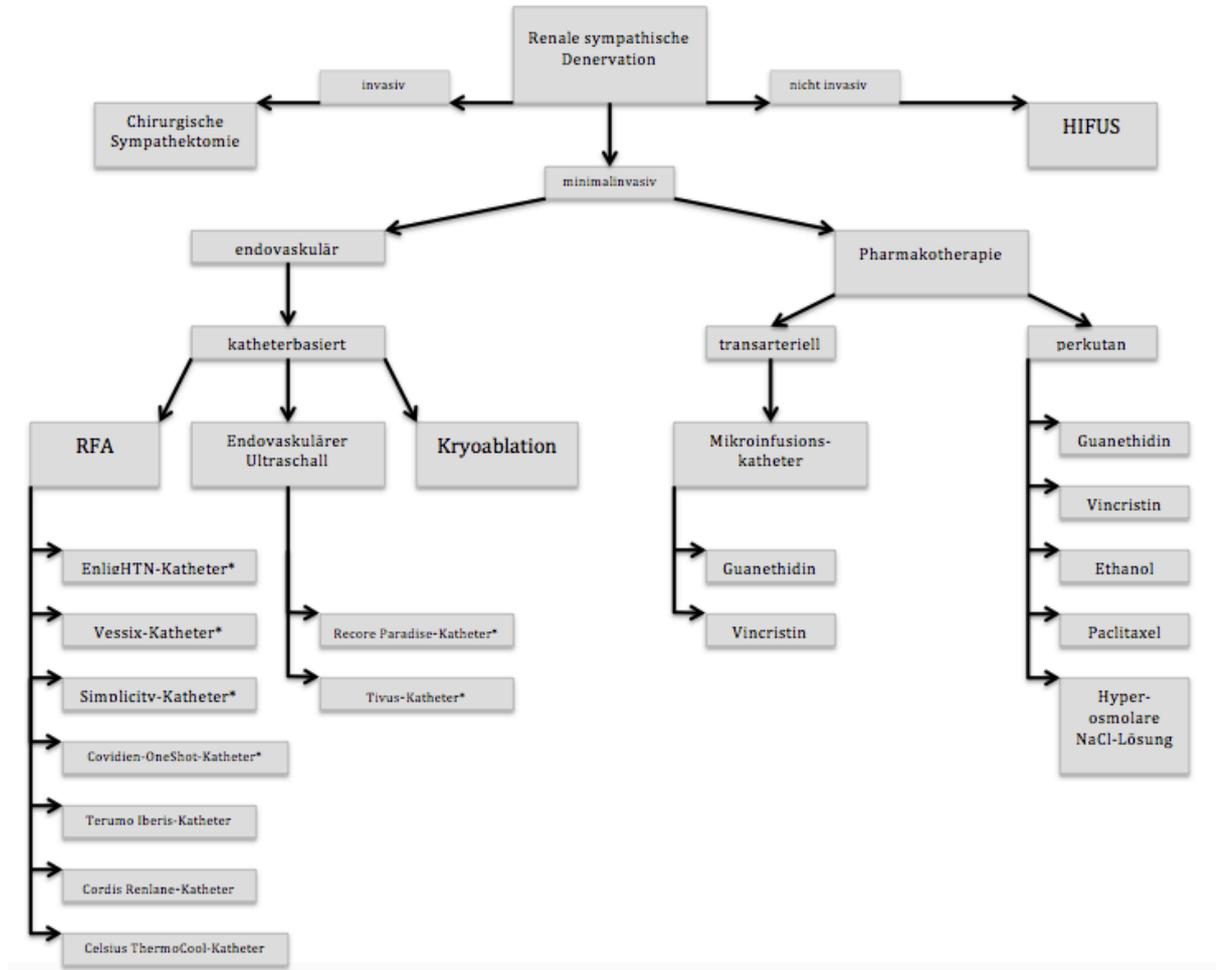


Abbildung 4: Verschiedene minimal-invasive Methoden der renalen Denervation. Mit * gekennzeichnete Kathetersysteme sind CE zertifiziert (Die Abbildung ist eine Eigenanfertigung)

3.4.3.2 Katheterbasierte renale Denervation

Durch die Entwicklung endovaskulär einsetzbarer Kathetersysteme zur selektiven renalen Denervation ist es möglich, die in der Adventitia gelegenen Nerven zu schädigen. Über einen Zugangspunkt in der A. femoralis wird ein Katheter bis zur A. renalis vorgeschoben. Im folgenden Abschnitt sollen bisherige Methoden der renalen Denervation sowie die je nach Vorgehensweise genutzten Kathetertypen beschrieben werden. In Abbildung 4 werden verschiedene minimalinvasive Methoden aufgezeigt.

Radiofrequenzablation (RFA)

Die RFA zur selektiven Denervation sympathischer Fasern wird seit 2009 durchgeführt [61]. Mittels CT - oder MRT - gestützter Angiografie wird präinterventionell nach Gefäßanomalien wie Nierenarterienstenosen, Doppelversorgungen oder Polararterien gesucht. Zeigt die Zielstruktur eine geeignete Anatomie in Länge und Durchmesser, wird der Ablationskatheter unter zu Hilfenahme von Röntgendurchleuchtung vor der ersten Bifurkation positioniert und ein hochfrequenter Strom abgegeben. Durch die fokale Erhitzung veröden die Nervenfasern, die in der Adventitia liegen. Unter Zurückziehen des Katheters von distal nach proximal werden mindestens vier Ablationen pro Nierengefäß unternommen [18]. Die Intervention findet beidseitig statt.

Zunächst zeigten klinische Studien eine effektive Wirkung der katheterbasierten RFA, und eine Minderung des arteriellen Blutdrucks wurde belegt [17]. Die Vorteile dieser Methodik liegen darin, dass die Eingriffe relativ kurz, lokal und minimalinvasiv sind. Sie haben den Vorteil einer schnellen postinterventionellen Erholungsphase [14]. Nachteilig bei der Anwendung der katheterbasierten Methode ist das Auftreten von Komplikationen wie Nierenarterienstenosen, Nebenwirkungen durch die Methodik und degenerative Veränderung der afferenten sensorischen Fasern [16]. Die SIMPLICITY HTN-1, eine multizentrische, offene proof – of - concept Studie, zeigte jedoch, dass diese Form der Denervation relativ sicher für den Patienten ist. Die Effektivität des Eingriffs wurde anhand des Noradrenalinwertes gemessen. Bei 10 stichprobenartig ausgewählten Patienten reduzierte sich der NA-Gehalt um 47%. In dieser Kohortenstudie wurde der systolische Blutdruck um 14 mmHg nach einem Monat und um 27 mmHg nach 12 Monaten gesenkt. Insgesamt wiesen mehr als 85% der Studienteilnehmer einen Abfall des systolischen Messwertes um mehr als 10 mmHg auf. Jedoch gab es auch nach drei Jahren keine ausreichende Indikation, um die Medikamente trotz renaler Denervation zu reduzieren [14]. Die folgende SIMPLICITY HTN-2 Studie (randomisiert und kontrolliert) umfasste mit 346 Teilnehmern ein entsprechend größeres Datenvolumen. 106 Patienten waren der Kontrollgruppe zugeteilt und nahmen weiterhin Medikamente. Die zweite Gruppe bestand aus Patienten die einer Intervention unterzogen wurden. Zu Beginn lag der durchschnittliche Blutdruck bei 178/96 mmHg obwohl durchschnittlich 5,3 antihypertensive Mittel genommen wurden. Ein halbes Jahr nach dem Eingriff zeigte sich ein signifikanter Blutdruckabfall um durchschnittlich 32/12 mmHg. Bei 84% der behandelten Patienten zeigte sich ein systolischer Abfall um mehr als 10 mmHg. Im Vergleich dazu konnten in der Kontrollgruppe keine

signifikanten Veränderungen festgestellt werden [18]. Die Limitationen der Studien sind eine begrenzte Nachbeobachtungszeit, Fehlen einer Scheinbehandlung und eine geringe Anzahl an Langzeitmessungen des Blutdrucks [18].

Als Reaktion auf die vorausgegangenen SIMPLICITY-Studien, und um die Genehmigung der FDA (Food and Drug Association) in den USA zu erhalten, wurden durch die FDA strenge Kriterien festgelegt. Auf diese Weise wurde die SYMPLICITY-HTN3 Studie konstruiert. Eine Voraussetzung war unter anderem, dass es eine Sham-Gruppe gab, die einer Scheinintervention unterzogen wurde. Nach 6 Monaten zeigte sich sowohl in der Denervations- als auch in der Kontrollgruppe ein signifikanter Abfall des systolischen Blutdrucks. Im Vergleich zueinander zeigten die beiden Gruppen jedoch keinen signifikanten Unterschied (14,13 mmHg zu 11,74 mmHg). Letztlich konnte die Studie nicht die an sie gestellten Erwartungen erfüllen. Der angestrebte primäre Endpunkt, beschrieben als Streuungsabstand von 5 mmHg, der den Vorteil einer renalen Denervation unterstreichen sollte, wurden mit einer Differenz von nur 2,39 mmHg nicht erreicht [14]. Als mögliche Gründe dafür, dass der primäre Endpunkt nicht erreicht werden konnte, wurde unter anderem eine erhöhte Anzahl an durchführenden Zentren und Interventionalisten in Erwägung gezogen, die zu wenig Erfahrung mit der Prozedur hatten. Es stellte sich heraus, dass eine adäquate Durchführung nicht immer gegeben war. Als weitere Ursache wurde eine veränderte ethnische Zusammensetzung der Studienteilnehmer mit einem erhöhten Anteil afroamerikanischer Menschen im Vergleich zu den Vorgängerstudien angeführt [39]. Der Studienumfang umfasste 535 Patienten. Die Anzahl der Ablationen pro Intervention variierte zwischen den verschiedenen Zentren. Deren Anzahl ist jedoch auch für den Therapieerfolg von großer Bedeutung [14]. Allgemein hat sich die RFA klinisch etabliert, wenn auch die SIMPLICITY-Studien, unterstrichen durch die Ergebnisse der SIMPLICITY-HTN3 Studie kontrovers diskutiert werden. Die im Jahr 2015 veröffentlichte DENERHTN-Studie konnte im Gegensatz zur Simplicity-HTN3 Studie die Effektivität der renalen Denervation belegen. Dabei handelt es sich um eine randomisierte, kontrollierte Untersuchung an 15 Zentren [19]. Der Patientenpool wurde dabei in zwei Gruppen aufgeteilt. Beide Gruppen standen unter gleicher medikamentöser Therapie mit ACE-Hemmern, Kalziumantagonisten und Diuretika. Die Teilnehmer einer der beiden Gruppen wurden zufällig gewählt und zusätzlich einer renalen Denervation mittels eines Radiofrequenzkatheters unterzogen. Nach 6-monatiger Kontrolle konnte eine signifikante Differenz des mittleren systolischen Blutdrucks in der Interventionsgruppe von -15,8 mmHg gegenüber der Kontrollgruppe, die ausschließlich unter medikamentöser Therapie stand (- 9,9 mmHg),

festgestellt werden. Eine Limitation der DENERHTN-Studie ist das Fehlen einer Scheinbehandlung. Ein Kritikpunkt, der bereits die ersten beiden SIMPLICITY-Studien begleitete [19].

Neben dem ersten Simplicity Katheter (Medtronic-Ardian) gibt es inzwischen verschiedene, technisch weiterentwickelte Kathetermodelle auf dem Markt. Sie unterscheiden sich unter anderem in Bezug auf die Anzahl der Ablationspunkte und die Anwendungsdauer (Abb. 5)

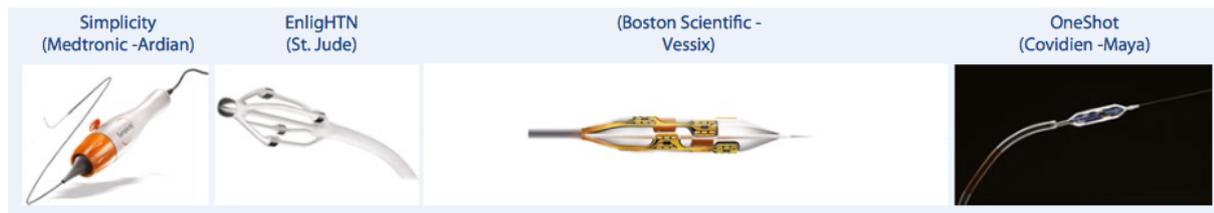


Abbildung 5: Verschiedene Kathetermodelle zur renalen Denervation. Von links nach rechts: Simplicity (Single Point Ablation); EnligHTN (Multi Point Ablation 4); Vessix (Multi Point Ablation 8); OneShot (Spiral Ablation) [4]

Simplicity® Katheter

Der Simplicity® Katheter (Medtronic, Minneapolis, MN, USA) wirkt durch Hochfrequenzablation an den Gefäßen. Ausgehend von der Elektrode, die an der Spitze des Katheters liegt, findet eine thermische Ablation statt. Eine Ablationsdauer umfasst 2 Minuten und wird sechs bis acht Mal wiederholt, bis der gesamte Umfang der Arterie behandelt wurde.

EnligHTN™ Katheter

Der EnligHTN™ Katheter (St. Jude Medical Inc., Westford, USA) ist ein Multielektrodensystem mit gleichmäßigem 4-Punkte-Kontakt mit der Gefäßwand. Der Katheter besteht aus einem dehnbaren, mit Elektroden ausgestattetem, Korb. Das distale Segment des Ablationskatheters ist lenkbar und unterstützt dadurch die Positionierung des Katheters im Lumen. Die angestrebte Ablationstemperatur liegt bei 75 Grad Celsius. Pro Elektrode dauert ein Ablationsintervall 90 Sekunden. Nach Neupositionierung wird die Ablation vier bis maximal acht Mal je Nierenarterie wiederholt. Dadurch muss der Katheter im Vergleich zu Kathetersystemen mit singulärer Elektrode während des Eingriffs weniger häufig im Gefäßlumen neu positioniert werden. Dies reduziert das Risiko einer Gefäßverletzung und senkt die Interventiondauer. [62, 63].

Vessix-V2 Katheter

Die 8 Elektroden dieses Katheters (Vessix-V2; Boston Scientific, Boston, USA) sind helikal auf einem Ballon angebracht, der diese durch Inflation von innen an die Endothelwand drückt. Für die Dauer der Inflation und Ablation wird der Blutfluss in der Nierenarterie unterbunden. Die Ablation dauert 30 Sekunden. Es handelt sich hierbei um ein Non-Compliant System. Dies bedeutet, dass der Ballon in seiner Größe an den zuvor bestimmten Gefäßdurchmesser der Ablationsstelle angepasst werden muss. Unterscheiden sich die Gefäßdurchmesser eines Patienten, bedarf es der Verwendung mehrerer dieser Ballone pro Patient. [4].

Covidien OneShot™

Dieser Katheter (Covidien, Campbell, CA, USA) verfügt nicht über einzelne Elektroden, sondern besitzt eine kontinuierlich fortlaufende Spiralelektrode. Das Ablationsintervall ist mit 120 Sekunden viermal länger im Vergleich zum Vessixkatheter. Ein weiterer bauartlicher Unterschied besteht darin, dass der Ballon mit kleinen Löchern ausgestattet ist, aus denen Spülflüssigkeit austritt. Durch diesen Mechanismus soll ein kühlender Effekt sowie eine effektivere Ablation erzielt werden [4]. Im Januar 2014 wurde bekannt gegeben, dass Covidien mit dem OneShot™-Kathetersystem den Markt der renalen Denervation aufgegeben hat. Laut Hersteller konnte das Wachstum des Marktes den Erwartungen nicht standhalten.

Auch andere Kathetersysteme wie der **Terumo® Iberis Katheter** (Terumo Medical Corporation, Tokyo, Japan) [64], der **Cordis® Renlane Katheter** (Cordis Corporation, Bridgewater, NJ, USA), dessen Anwendungsergebnisse in der RENABLATE-Studie [65] veröffentlicht wurden und der **Celsius® ThermoCool® Katheter** (Biosense Webster Inc., Diamond Bar, CA, USA) [66], der Bestandteil der aktuellen SWAN HT-Studie ist und sich zudem derzeit zusammen mit den Chilli II Katheter (Boston Scientific Inc., San Jose, CA, USA) in einer Langzeitstudie (SAVE Studie) von 2012 bis voraussichtlich abschließend 2019 [67] befindet, basieren auf dem Grundprinzip der thermischen Ablation.

Endovaskulärer Ultraschall

Für die REDUCE Studie, die von Oktober 2011 bis Februar 2012 stattfand, wurde bei Patienten, die definitionsgemäß als Hypertoniker eingestuft wurden, eine renale Denervation mittels endovaskulärem Ultraschall durchgeführt [33]. Ähnlich der katheterbasierten RFA kann

auch ein Ultraschalltransducer endovaskulär, katheterbasiert, in die Nierenarterien eingeführt werden. Anschließend werden hochfrequente Schallwellen in zylindrischer Weise von einem piezoelektrischen Wandler ausgesandt, passieren die umgebende Flüssigkeit und erzeugen Reibungshitze im umgebenden Gewebe. Die Nutzung von Energie, die keinen direkten Gewebekontakt benötigt, macht es möglich, dass man um den energiegeliebenden Wandler einen flüssigkeitsgefüllten Ballon aufblasen kann. Der verwendete Ballonkatheter der Firma ReCor Medical (NY, USA) besitzt einen Durchmesser von 8mm. Diese Technologie ermöglicht durch zirkulierende Flüssigkeit, die Arterienwände während des Eingriffs zu kühlen und somit das Auftreten von Gewebeschäden zu minimieren. Durch die zentrale Lage der Schallquelle im Ballon, der gleichmäßig aufgeblasen im Lumen des Gefäßes liegt, wird die Energie gleichermaßen ringsum in alle Richtungen abgegeben. Der Zugang wird über die Femoralarterie gewählt. Der endovaskuläre Ultraschall bietet hinsichtlich Effektivität und Sicherheit eine weitere Alternative zur renalen Denervation [33]. Mit dem Recor® Paradise - Katheter hat der Hersteller ReCor Medical (Ronkonkoma, NY, USA) ein System auf dem Markt, das sich Ultraschallenergie zu Nutze macht, um die Nerven zu schädigen. Der 6F Katheter funktioniert über ein gekühltes Ballonsystem [65].

Kryoablation

Bei der Kryoablation handelt es sich um ein hypothermes Ablationsverfahren. Im Bereich der Sonde wird durch ein zirkulierendes Kühlmedium ein schnelles Abkühlen des umliegenden Gewebes herbeigeführt, infolge dessen es zum Zelltod kommt. Bei einer schnellen Abkühlung kommt es durch Eisbildung in den Zellen zum sofortigen Zelltod. Findet hingegen eine langsame Abkühlung statt, kommt es zu einer extrazellulären Eisbildung, deren Folge eine Dehydratation der Zelle ist, bedingt durch eine Flüssigkeitsverschiebung in den extrazellulären Raum auf Grund des Salzgradienten. Für den Patienten ist dieses Verfahren relativ schmerzarm. Die Kryoablation findet vor allem in der Tumorthherapie Anwendung [68]. Im Chinese Medical Journal wurde im Jahr 2015 von dem Verfahren der Kryoablation als weitere Option im Rahmen der renalen Denervation berichtet.

3.4.3.3 Nichtinvasive renale Denervation

HIFUS

Der Hochintensive Fokussierte Ultraschall (HIFUS) ist ein nichtinvasives Verfahren, bei dem akustische Schallwellen auf einen kleinen ausgewählten Bereich gerichtet werden können, ohne

das umliegende Gewebe zu schädigen. Dabei wird ein Teil der Schallwellen absorbiert und in Hitze umgewandelt, was eine Koagulation des Gewebes zur Folge hat. Die Temperaturen erreichen dabei 60°C - 90°C. Die Grenze zwischen geschädigtem und verschontem Gewebe ist dabei weniger als zehn Zellen breit [69]. HIFUS findet besonders im Bereich der Gynäkologie Verwendung [70]. In einer kürzlich veröffentlichten tierexperimentellen Studie am Schweinmodell wurde diese Methode bereits als mögliches Alternativverfahren zur renalen Sympathektomie hin untersucht [58]. Die Versuche fanden an 10 narkotisierten Schweinen unter MRT Kontrolle statt. Nach vier Wochen wurden die Tiere euthanasiert und die Nieren hinsichtlich des NA - Gehaltes untersucht. Auch eine histologische Untersuchung der Zielstruktur fand statt. Es traten keine größeren Komplikationen auf. Die Auswertung der NA - Werte ergab, dass kein signifikanter Unterschied zwischen behandelter und unbehandelter Seite erzielt werden konnte. Auch die histologische Untersuchung ergab nur bei einem Schwein pathologische Veränderungen [69]. Es wurde geschlussfolgert, dass sich das Schwein möglicherweise als Tiermodell nur unzureichend aufgrund eines deutlich verlängerten Querfortsatzes und einer stark ausgeprägten Faszia thoracolumbalis eignet, da diese anatomischen Gegebenheiten das Schallfenster einengen.

3.4.3.4 Chemische Denervation

Als chemische Denervation versteht man die Gabe einer chemisch wirksamen Substanz, die an der Zielstruktur ihre Wirkung entfaltet und in diesem Fall eine renale Denervation bewirken soll. Es wurden bis dato verschiedene Substanzen zur chemischen Denervation als Alternative zur renalen Denervation via katheterbasierter Methoden in der Literatur beschrieben. Guanethidin, Vincristin und Ethanol wurden bereits hinsichtlich ihrer Eignung zur renalen Denervation mittels Katheter untersucht. Erste „First-in-man“- Studien fanden bereits mit Ethanol [61] und Vincristin [16] statt. Im Folgenden werden Natriumchlorid, Vincristin, Paclitaxel und Guanethidin beschrieben, wobei der Fokus auf Natriumchlorid und Paclitaxel im Hinblick auf die eigenen Untersuchungen liegt.

Ethanol

In der Humanmedizin nutzt man den neurolytischen Effekt hochprozentigen Ethanols bereits bei der Behandlung des chronischen Schmerzsyndroms, verursacht durch abdominale Tumore, oder bei vorherrschender Pankreatitis. Die Therapie basiert auf induzierter Plexus coeliacus Blockade [71]. Der Wirkmechanismus beruht auf einer lokalen toxischen Endothelschädigung

[72] durch Dehydratation und Ausfällung des Protoplasmas [61] mit konsekutiver Gefäßthrombose, die mit Schmerzen für den Patienten einhergeht. Ein weiteres Einsatzgebiet hochprozentigen Ethanol ist die Tumorembolisation insbesondere von Nierentumoren im Bereich der interventionellen Onkologie. Der Einsatz findet für gewöhnlich unter Verwendung eines Ballonkatheters statt. Damit soll verhindert werden, dass der Wirkstoff durch den Blutfluss abgeschwemmt wird. Auch in der Sklerosierung von Varizen wird hochprozentiger Alkohol eingesetzt [72]. In einer neueren Studie wurde die Tauglichkeit von Ethanol für die renale Denervation getestet. In MRT - kontrollierten Versuchen wurde 6 narkotisierten Schweinen unilateral 95%iges Ethanol perkutan, periarteriell appliziert. Zwei Tiere erhielten 4 ml und vier Tiere wurden mit 10 ml Ethanol behandelt. Nach 4 Wochen wurden die Tiere euthanasiert und der NA-Wert bestimmt sowie die Gefäßabschnitte histologisch untersucht. Der NA - Gehalt der Nieren der mit 10 ml Ethanol behandelten Schweine sank im Vergleich zur Kontrollseite um 53%. [73]. Die Vorteile der periarteriellen Ethanolinjektion gegenüber einer katheterbasierten RFA liegt darin, dass die Anwendung kurz, kostengünstiger und weniger schmerzhaft ist, da man dem Wirkstoff ein Lokalanästhetikum beimischen kann. Ein weiterer und erheblicher Vorteil besteht darin, dass auch bei Patienten mit kurzer Hauptnierenarterie oder frühen Aufzweigungen eine Intervention stattfinden kann, da dies bei renaler Denervation mittels Katheter eine Limitation darstellt [73].

Im Jahr 2014 wurde ein erster Fall publiziert bei dem ein 50 Jahre alter Patient mit Niereninsuffizienz im Endstadium und weiteren Erkrankungen einer renalen Sympathikolyse durch periarterielle Ethanolapplikation unterzogen wurde. Der Mann stand bereits unter medikamentöser Therapie mit 6 verschiedenen Antihypertensiva. Vor dem Eingriff lag der BD des therapierefraktären Hypertonikers bei 172/84 mmHg und sank um 29/14 mmHg einen Monat später auf 143/70 mmHg. Auch die hypertonieassoziierten Kopfschmerzen verschwanden. Es wurde berichtet, dass der Eingriff schmerzfrei und komplikationslos stattfand [61].

Vincristin

Vincristin wird als Chemotherapeutikum als alleiniges Mittel oder als Kombinationspräparat zur Behandlung von Leukämie, Lymphomen und soliden Tumoren eingesetzt. Es gehört zu den Vincaalkaloiden und ist ein potentes Neurotoxin, das an die Tubuli bindet und so die Bildung der Mikrotubuli in den mitotischen Spindeln unterdrückt. Dadurch wird die Zellteilung

verhindert. Wie auch Paclitaxel zählt es zu den Spindelgiften. Am häufigsten treten periphere Neuropathien auf. Zentrale Neuropathien treten seltener in Erscheinung [74].

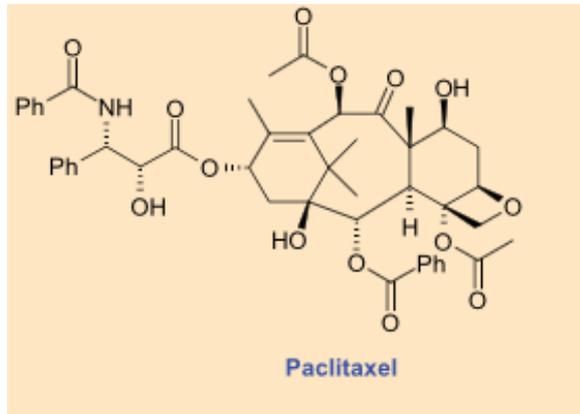
Bereits im Jahr 2013 wurde die Effizienz einer Vincristinapplikation mittels Katheter im Tiermodell mit dem Ziel einer renalen Denervation untersucht. Der Versuch wurde an 14 juvenilen Schweinen im Alter von 3-5 Monaten mittels Ballonkatheter durchgeführt. Verglichen wurden die Ergebnisse mit der Placebo behandelten zweiten Seite der Tiere. Achtundzwanzig Tage später erfolgte die Euthanasie der Tiere mit anschließender histologischer Untersuchung der Zielstrukturen. Dabei konnten keine Schäden oder Hyperplasien der Gefäßintima, Stenosen oder Thrombosen gefunden werden. Immunohistochemische Analysen zeigten eine reduzierte Anzahl von Nerven nach der Behandlung mit Vincristin. Das Verfahren wurde als sicher und effizient gewertet [75].

Die erste Anwendung am Menschen zur Behandlung der therapierefraktären Hypertonie durch chemische Denervation mittels Vincristin wurde an einem 74-jährigen Mann beschrieben, der unter arterieller Hypertonie mit BD Werten von 174/104 trotz medikamentöser Behandlung litt. Hinzu kamen multiple Herzprobleme. Unter Lokalanästhesie wurde eine 8 – French - Schleuse über die rechte Femoralarterie eingeführt und ein Führungskatheter bis zum Ostium der linken Nierenarterie vorgeschoben. Anschließend wurde ein Ballonkatheter unter Zuhilfenahme eines Führungsdrahtes in den Hauptast der Nierenarterie eingeführt. Der Ballonkatheter besaß 6 Seitenlöcher mit einem 25 µm Durchmesser, die ringsum in 60° Intervallen angeordnet waren. Der Ballon wurde auf 20 atm mittels einer Mischung aus Vincristin und Kontrastmittel aufgeblasen. Unter Druck kommt es zur Abgabe des Wirkstoffes durch die Seitenlöcher des Ballons in die Arterienwand, wo dieser bis zu den Nerven vordringt. Es wurden 4 ml appliziert. Unter anderem wurde nach dem Eingriff ein Kontrollangiogramm angefertigt. Es gab keinerlei Hinweise auf Anomalien. Vier Wochen nach der Intervention zeigten sich Blutdruckwerte von 132/80 mmHg [16]. Studien haben gezeigt, dass die lokale Gabe von niedrig dosiertem Vincristin sicher ist und zur Denervation der sympathischen Nervenfasern der Nierenarterien beiträgt. Es wirkt längerfristig neurotoxisch und demyelinisiert die peripheren Nerven. Darüber hinaus zeigte sich in einem normotensiven Model, dass es zur Senkung des systolischen Blutdruckwertes nach lokaler Applikation führt [16].

Guanethidin

Guanethidin ist eine potente antihypertensive Substanz [76]. Es hemmt das postganglionäre autonome adrenerge System [77] und ist relativ selektiv auf periphere noradrenerge Varikositäten beschränkt [78]. Die Wirkung wird dadurch erzielt, dass es von den Noradrenalinvesikeln der Nerven „verwechselt“ wird und als vermeintlich echter Neurotransmitter gespeichert bzw. freigesetzt wird [77]. Aufgrund der Wirkung an den Varikositäten bewirkt es einen schnellen und sehr deutlichen Blutdruckabfall. Daher wird Guanethidin nur bei einer ausgeprägten Hypertonie eingesetzt [78]. Im Gegensatz zu NA besitzt es keine vasokonstriktorische Wirkung [79]. Guanethidin verfügt über eine hohe Polarität wodurch es nicht ins ZNS eindringen kann und dementsprechend keine zentrale Wirkung entfaltet [78]. Die auftretenden Nebenwirkungen sind auf die Auswirkungen auf den Sympathikus zu erklären. Zu den Nebenwirkungen zählen starke orthostatische Kreislaufregulationsstörungen, Ejakulationsstörungen, Impotenz, Diarrhoe, muskuläre Schwäche sowie erhöhte renale Natrium- und Wasserretention [78]. Auch plötzliche Hypotonie, Synkopen während körperlicher Bewegung, ungeklärte Atemnot und starke Muskeler schlaffung sowie Bradykardien können auftreten. Positiv hingegen ist die angesprochene blutdrucksenkende Wirkung bei Hypertonikern sowie der positive Effekt auf Lungenödeme [76]. In einer ausreichend hohen Dosierung kann es zur Degeneration noradrenerger Neurone kommen [78]. Begründet wird dies mit einer Zerstörung nach chronischer Aufnahme höherer Dosen durch eine induzierte autoimmune Reaktion [80].

Paclitaxel



Quelle:[81]

In den frühen 1960er Jahren stieß man bei der Suche nach antineoplastischen Wirksubstanzen auf Paclitaxel (Taxol®), einem aus der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia* Nutt) gewonnenen Wirkstoff [82]. Nachdem der hohe Nutzen dieses Wirkstoffes bekannt wurde, folgten Versuchsreihen bis hin zur klinischen Zulassung von Taxol® im Jahr 1993 in den USA. Heutzutage wird Taxol® synthetisch hergestellt [83]. In der Humanmedizin wird Paclitaxel zur Behandlung von Krebserkrankungen als Chemotherapeutikum eingesetzt [84]. Es zählt zu den effektivsten Wirkstoffen hinsichtlich seiner antineoplastischen Wirkung. Taxol® findet hauptsächlich Anwendung in der Therapie von Ovarialkarzinomen und Mammatumoren [85] sowie zur Restenoseprophylaxe [83].

Wie auch einige andere Zytostatika greift Paclitaxel in den Zellzyklus, genauer in die Phase der Zellteilung ein. Damit die Zellteilung stattfinden kann, muss der Spindelapparat ausgebildet werden. Dieser besteht aus sogenannten Mikrotubuli, die Bestandteil des Zytoskeletts sind. Sie sorgen für die Formgebung und Stabilität einer Zelle und ermöglichen darüber hinaus Bewegungen und Transporte innerhalb dieser. Die Mikrotubuli befinden sich in einem ständigen Gleichgewicht aus Polymerisation und Depolymerisation. Stört man dieses Gleichgewicht, kommt die mitotische Teilung der (Krebs) -zelle zum Erliegen. Taxane hemmen die Depolymerisation. Dadurch entstehen enorm stabile und somit funktionsuntüchtige Mikrotubuli [85] während andere Vinca-Alkaloide und Colchicin die Polymerisation beeinflussen [81].

Die intraperitoneale Gabe des Chemotherapeutikums Paclitaxel wird auch zur Behandlung von Ovarial- und Tubenkarzinomen beschrieben. Dabei werden Kathetersysteme eingesetzt, die über mehrere Zyklen den Wirkstoff freigeben. Limitierend wirken intraperitoneale Verwachsungen. Es wird beschrieben, dass durch diese Form der Chemotherapie höhere Dosen im Vergleich zur systemischen Gabe erzielt werden können. Die Eindringtiefe bei Tumoren liegt bei 1-2 mm. Durch die Aufnahme über das Peritoneum in den Körper sind theoretisch auch systemische Nebenwirkungen möglich [86]. Infolge von Eingriffen die Stenosen in Gefäßen beseitigen sollen, treten nicht selten Restenosen, verursacht durch Narbenbildung infolge eines Proliferationsprozesses auf. Um den iatrogenen Stenosebildungen nach Anwendung von Stents oder Ballonen möglichst entgegenzuwirken, wurden Systeme entwickelt die eine Proliferation verhindern indem sie Wirkstoffe mit entsprechend antiproliferativer Wirkung absondern. Jährlich werden weltweit über 1,5 Millionen Eingriffe zur koronaren Revaskularisation durchgeführt, wobei ein bedeutender Anteil auf die Behandlung mit intrakoronaren Stents entfällt. Ein Problem hinsichtlich des Erfolgs ist das Auftreten der bereits erwähnten Stenosen innerhalb des Stents [87]. Durch die bereits beschriebenen antiproliferativen Eigenschaften von Paclitaxel ist es ein vielversprechendes Agens und zeigte in der Anwendung am Menschen als Bestandteil eines wirkstoffabgebenden Stents überwiegend positive Wirkung [87]. Wissenschaftler untersuchten die Wirkung von Paclitaxel beladenen Palmaz - Schatz Metallstents mit unterschiedlicher Konzentration die in die Koronararterien von Schweinen implantiert wurden [88]. Auch im Falle der „Drug Eluting Balloons“ (DEB), hat sich Paclitaxel als geeigneter Wirkstoff auf Grund der raschen intrazellulären Aufnahme unter anderem in die glatte Muskulatur der Gefäße und seiner langen Verweildauer erwiesen. Die perkutane Ballonangioplastie stellte eine Revolution auf dem Gebiet der Rekanalisation verengter Koronararterien dar. Besonders geeignet zeigte sich dieses System bei der Behandlung von Restenosen innerhalb eines zuvor eingebrachten Stents. Über die Ballonoberfläche wird der Wirkstoff gleichmäßig auf die Gefäßwand übertragen und im Gegensatz zum Stent verbleibt dieser nicht in dem zu behandelnden Gefäß wodurch mögliche Entzündungsreaktionen minimiert werden. [89].

Durch den Einfluss auf sich schnell teilende Zellen (Haut-, Haar-, Darm-, Immun- und Geschlechtszellen), treten auch entsprechende Nebenwirkungen wie Darmbluten, Haaraufall und eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen auf [81]. Die neurologische Toxizität stellt nach den hämatopoetischen Begleiterscheinungen die größte Nebenwirkung dar. Es wird vermutet, dass dies in direktem Zusammenhang mit der pharmakologischen Wirkung an den

Mikrotubuli liegt. Nerven sowie deren Ausläufer weisen eine hohe Anzahl an Mikrotubuli auf. Es sind gleichermaßen sensorische wie auch motorische Nerven betroffen [85]. Taxane können zu Schädigungen an Axonen, dem Myelin und den dorsalen Wurzelganglien führen. Durch die beschriebene Wirkung der Taxane kommt es zum apoptotischen Untergang der Nervenzelle. Diese durch Taxane bedingte Neuropathie tritt mit mehr als 80% bei Patientinnen mit Brustkrebs sehr häufig auf und endet in einigen Fällen mit Therapieabbruch. Ein weiterer neurotoxischer Effekt von Taxanen liegt in der Wirkung am Toll - like - Rezeptor. Diese Rezeptoren sind Proteine, die eine Schlüsselrolle im angeborenen Immunsystem spielen. Die genaue Funktionsweise ist jedoch noch ungeklärt [90]. Klinisch berichten Patienten über sensorische Symptome wie Taubheitsgefühl, Sensibilitätsstörung, motorische Beeinträchtigungen, veränderte Propriozeption, nadelstichartige Gefühle und elektroshockähnliche Empfindung, veränderte Vibrations- und Temperaturwahrnehmung und in 20-30% der Fälle über echten neuropathischen Schmerz. Von den Nebenwirkungen können alle peripheren Nerven, also sensorische, motorische und autonome Nerven betroffen sein, wobei am häufigsten die großen, myelinisierten sensorischen Nerven betroffen sind [90]. Aufgrund der peripheren Neurotoxizität ist der Einsatz limitiert. Im Tiermodell zeigte die Behandlung mit diesem Wirkstoff eine aus neurophysiologischer Sicht signifikante Reduktion der Leitungsgeschwindigkeit von Schwanznerven. Auf pathologischer Ebene sind axonale Degenerationen der myelinisierten Fasern sowie Veränderung hinsichtlich kleinerer Größe der Fasern bis hin zur Atrophie der Axone erkennbar [91]. Die periphere sensorische Neuropathie nach Gabe von Paclitaxel und pathologische Auffälligkeiten in den dorsalen Nervenwurzelganglien und Ischiasnerven 10d post i.v. Applikation von Paclitaxel im Rattenmodell wurde durch Peters et al. (2007), einhergehend mit einer Veränderung hinsichtlich gesteigerter Kälte- und Schmerzempfindlichkeit sowie Defiziten in der Koordinationsfähigkeit festgestellt. Paclitaxel veranlasst eine Schädigung der sensorischen Neuronen, morphologische und biochemische Veränderung von Satellitenzellen der dorsalen Ganglienwurzeln, Hyperplasie/Hypertrophie von Makrophagen im peripheren Nervensystem und verstärkt die Mikroglia- und Astrozytenaktivierung im Rückenmark. Zusammenfassend könnten diese Zelländerungen dazu beitragen, dass die sensorischen Dysfunktionen und der Schmerz im Rahmen der paclitaxelinduzierten peripheren Neuropathie auftreten [92].

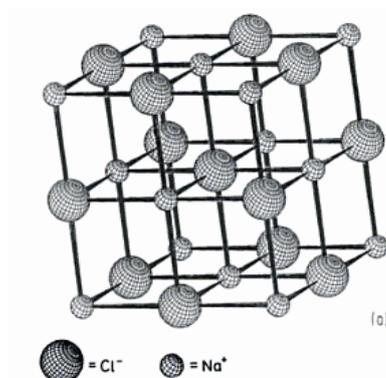
In Tierversuchen konnte eine Reaktion bzgl. der Wirkung von Paclitaxel auf den Noradrenalinwert in einem Dosisbereich von 10^{-6} M bis 10^{-2} M bei einer jeweiligen Applikationsmenge von 150 Mikroliter festgestellt werden [17]. Nach chirurgischer

Vorbereitung des Applikationsfeldes wurde die Substanz lokal in den perivaskulären Raum kranial und kaudal der Zielstruktur aus einer Tuberkulinspritze mit Hilfe einer 28 G Nadel verabreicht. Am dritten Tag nach dem Eingriff wurden den Ratten beide Nieren entnommen um deren Noradrenalinwert zu bestimmen. Der größte Effekt, mit einer prozentualen Denervationsrate, gemessen an NE-Wert, von 88%, wurde bei einer Dosis von 10^{-2} gemessen. Erhebliche Schäden durch die Gabe von Paclitaxel an den Nierenarterien in den erwähnten unterschiedlichen Dosierungen wurden nicht erwartet. [17]. Weitere Versuche testeten die Wirkung von Paclitaxel an 40 Ratten, die in 5 Gruppen à 8 Tiere unterteilt wurden. In drei Gruppen wurde Paclitaxel in unterschiedlichen Dosen i.v. appliziert, in einer Gruppe in einer Konzentration von 16 mg/kg intraperitoneal. Vier Tiere der Gruppe verstarben 14, 16 und 18 Tagen nach der Behandlung. Nach der intraperitonealen Gabe von Paclitaxel wurde bei allen Tieren eine bestehende Aszites diagnostiziert [91]. Durch die bekannte neurotoxische Wirkung von Paclitaxel und den erfolgreichen vorausgegangenen Tierversuchen am Rattenmodell war es unser Ziel diesen Wirkstoff am Schweinemodell mittels minimalinvasivem Verfahren zu testen, da hier eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen zu erwarten ist. Insbesondere in Bezug auf unsere Verfahrenstechnik, bei der der Wirkstoff periarteriell in den retroperitonealen Raum abgegeben wird, gibt es seitens Paclitaxel noch eine interessante Feststellung. Nach der Applikation in den intraperitonealen Raum und nicht wie sonst in die Vene, werden hohe Wirkstoffspiegel erreicht. Dieser wird nur sehr langsam abgebaut. Zurückzuführen ist dies auf das zugesetzte Cremophor® EL [85].

Hochmolare Natriumchloridlösung



Steinsalz [93]



Kristallstruktur NaCl [94]

Natriumchlorid (NaCl) bildet den Hauptbestandteil des Kochsalzes, das auch als Speisesalz oder Tafelsalz bekannt ist [93]. Natriumchlorid ist eine natürlich auftretende Verbindung aus

Natriumionen und Chloridionen, die je nach Art der Gewinnung entsprechend bezeichnet wird. Durch Verdunstung von Meerwasser gewonnenes Salz wird als Meersalz bezeichnet, durch Abbau unter Tage als Steinsalz und durch das Eindampfen von Sole als Siedesalz (Kochsalz). Es findet Verwendung in Industrie, Gewerbe und Ernährung [95]. Im Körper kommt NaCl in vielerlei Hinsicht eine wichtige Rolle zu. Es trägt dazu bei, den osmotischen Druck in den Zellen aufrecht zu erhalten, Salzsäure im Magen zu bilden sowie den physiologischen pH-Wert und die elektrische Leitfähigkeit der Nerven (Neuronen) aufrecht zu halten [93]. Für die physiologischen Mechanismen in einer Zelle sind Wasser und Salze in bestimmten Konzentrationen notwendig. Des Weiteren sind Natrium- und Chloridionen am Aufbau von Knochen und Knorpel beteiligt [95].

Natrium ist das häufigste extrazelluläre Ion und hat somit einen entscheidenden Einfluss auf den osmotischen Druck. Wenn der Druck im extrazellulären Raum steigt, strömt so lange aus dem interzellulären Raum Flüssigkeit nach bis das osmotische Gleichgewicht wiederhergestellt ist. Eine sogenannte hypertone Hyperhydratation tritt infolge einer übermäßigen Natriumzufuhr in den extrazellulären Raum auf. Als Folge kommt es zu einer Volumenverschiebung von intrazellulär nach extrazellulär. Dieses Bild tritt zum Beispiel nach einer Salzwasserintoxikation oder nach iatrogenen Gabe von hypertoner Infusionslösung auf [96].

Das Prinzip der Osmose besteht darin, dass zwischen zwei Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Konzentration eine semipermeable Membran liegt. Dementsprechend ist sie für einige Teilchen durchlässig, für andere hingegen nicht. Die Diffusion ist unter anderem vom Konzentrationsgradienten abhängig [97]. Je höher der Konzentrationsgradient zwischen zwei Lösungen ist, desto stärker ist die Osmose. Wenn man Erythrozyten in hypotone Flüssigkeit gibt, nehmen sie so lange Flüssigkeit auf, bis sie platzen [95]. Im Umkehrschluss bedeutet die Anwesenheit hypertoner NaCl-Lösung, dass solange Flüssigkeit aus den Zellen, die zu diesem Zeitpunkt hypoton sind, in ihre Umgebung ausströmt bis ein Gleichgewicht hergestellt wurde oder die Zelle stirbt. Die in der vorliegenden Arbeit verwendete 5M-Natriumchloridlösung wurde mit der Absicht eingesetzt, sich diesen natürlichen Mechanismus zu Nutze zu machen. Durch die vielfach erhöhte NaCl-Konzentration sollte eine drastische osmotische Reaktion hervorgerufen werden, bei der letztlich die betroffenen Zellen untergehen. Die Ionenzusammensetzung des Intra- und Extrazellulärtraumes unterscheidet sich deutlich voneinander. Im Extrazellulärtraum dominieren Natrium-, Kalzium- und Chloridionen, während intrazellulär Magnesium- und Phosphationen überwiegen. Die Osmolalität beider Kompartimente stimmt jedoch überein. Die extrazelluläre Flüssigkeit gleicht in ihrem

Salzgehalt der Kochsalzlösung, die 9g NaCl/l enthält [95]. Im tierischen sowie menschlichen Körper herrscht eine Salzkonzentration von 0,9%. In der Medizin wird dementsprechend 0,9%ige Kochsalzlösung zur Infusion genutzt [95]. In Bezug auf diese physiologische Gemeinsamkeit von Tier und Mensch, in unserem Fall Schwein und Mensch, lassen sich dementsprechend Rückschlüsse ziehen. Im Gesamtorganismus ist die Toleranz gegenüber Natriumchloridschwankungen limitiert und verschiedene Regulationsmechanismen sind bestrebt, die Konzentrationen im Lot zu halten. Das zentrale Nervensystem vernimmt Veränderungen in Volumen, Spannungszustand und extrazellulärer Zusammensetzung über periphere und zentrale Rezeptoren. Werden Veränderungen erkannt, steuert der Organismus zum Beispiel durch Verhaltensänderungen wie Durstempfinden oder Verlangen nach Salzigen entgegen. Die neurovegetativen Reaktionen basieren auf veränderten renalen Ausscheidungen von Wasser und Salzen. Hypertonizität reduziert die sympathische renale Nervenaktivität, verursacht renale Gefäßerweiterung und steigert die Ausschüttung von Vasopressin, atrialem natriuretischem Peptid und Oxytocin [98].

In der Vergangenheit wurde die Wirkung von erhöhten Natriumchloridkonzentrationen auf das Wachstum von Pflanzen hin untersucht und ergab unter anderem eine massive Wachstumsreduktion durch die Einschränkung verschiedener antioxidativer Enzyme und oxidativer Stressmarker. Ein erhöhter Gehalt an Natrium- und Chloridionen stören die Homöostase essentieller Nährstoffe, was zu hyperionischem und hyperosmotischem Stress führt. Als Folge treten unter anderem Membranschäden auf, die bis hin zum programmierten Zelltod führen [99]. Sowohl in Pflanzen, als auch in Säugetieren, ist der Zelltod ausschlaggebend für die Entwicklung und Reaktion auf Stresssituationen. Dem programmierten Zelltod von Pflanzen und Säugern ist gleich, dass es zu Dysfunktionen der Organellen, Chromosomenkondensation und letztlich der Kern- und DNA-Zerstörung kommt [100]. In der Humanmedizin wird hypertone Natriumchloridlösung neben der intravenösen Gabe z.B. zur Volumensubstitution auch in Form eines direkten Auftrags auf Hautwunden angewandt. Ein Beispiel ist die additive Versorgung eines Dekubitus oder von Ulcera mit 2-5%iger hypertoner Kochsalzlösung [101]. Eine klinische Nutzung im Sinne einer zielgerichteten lokalen retroperitonealen Anwendung hochmolarer Natriumchloridlösung ist nicht bekannt. Bereits 1969 wurde der Einsatz von hypertoner Natriumchloridlösung zur Behandlung von Schmerzen, die im Gesichtsbereich durch dort befindliche Karzinome verursacht werden beschrieben. Dabei wurde den Patienten 6-20 ml hypertoner NaCl-Lösung von 7,5% und mehr zwischen 4°C und 36°C in die Cisterna magna über einen Katheter verabreicht. Die Patienten blieben

zwischen 3-105 Tage nach dem Eingriff schmerzfrei [102]. In weiteren Versuchen wurde bei 9 Patienten 8%iges NaCl gemischt mit 0,4% Lidocain in den lumbalen subarachnoiden Raum appliziert. Durch die additive Gabe des Lokalanästhetikums konnten auftretende Nebenwirkungen während der Applikation reduziert werden [103]. Eine weitere therapeutische Bedeutung kommt hypertoner Natriumchloridlösung als Alternative zu Mannitol zum Zweck der Behandlung von erhöhtem intrakraniellen Druck (ICP) zu. Es kann als Bolus (7,2-10%) oder als Dauerinfusion (1,6 -3%) verwendet werden. Die hypertone NaCl-Lösung bewirkt, dass Wasser vom extravaskulären zum intravaskulären Raum transportiert wird. Es wird vermutet, dass es zudem die Mikrozirkulation fördert [104]. In der Veterinärmedizin wurde 20%ige hypertone Natriumchloridlösung bereits als Mittel zur chemischen Kastration bei Rindern eingesetzt. Dazu wurde NaCl (200mg/ml) in reinem Wasser gelöst. Die intratestikuläre Injektion dieser Lösung verursachte eine Koagulationsnekrose der Leydigzellen und führte zu einer ausgedehnten Fibrose der Samenkanälchen. Eine solche histologisch eindeutige Fibrose dient auch in unserer Studie als primärer Outcomeparameter. Bei den Rindern konnte eine Sterilität und komplette Unterdrückung der Testosteronsekretion erreicht werden, die vor dem 20. Lebensjahr behandelt wurden [105]. Eine Studie (2015), publiziert im American Journal of Hypertension, beschreibt eine Versuchsreihe an 6 Hunden, bei denen ein Katheter in die rechte Nierenarterie eingeführt wurde, der eine Salzlösung abgab und vergleichend dazu ein weiterer Katheter in die linke Nierenarterie, der thermisch abladierte. Der Behandlungserfolg hinsichtlich einer effizienten renalen Denervation zeigte sich nach 6 Monaten anhand einer Degeneration und Demyelinisierung der Nerven. Besonders bei dem Katheter der die Salzlösung abgab wurden interstitielle Hyperplasien vorgefunden. Es wurde ein 6 F Katheter (Aqua Sense micro-infusion Ablationskatheter; Synaptic Medical, Beijing, China) mit 44 um die Spitze herum positionierten Löchern eingesetzt. Die mit Heparin versetzte Salzlösung (2U/ml) wurde manuell ausgespült. Die Abgabe der Lösung begann 3-5 Sekunden bevor zeitgleich die Radiofrequenzablation eingeschaltet wurde und blieb weitere 5 Sekunden nach Abschalten der RF aufrecht erhalten. Nach 6 Monaten zeigten sich in der histologischen Begutachtung denaturierte Nervenfasern und Axone sowie Hyperplasie der Media der Arterienwand. Insgesamt wurden durch die chemische Denervation mehr Veränderungen beobachtet als durch die thermische Ablation. Die Auswertung der Blutdruckwerte ergab einen Abfall des systolischen Werts auf 179 ± 12 mmHg ausgehend von 197 ± 26 mmHg vor dem Eingriff. Diastolisch konnte eine Reduktion auf 97 ± 15 mmHg verzeichnet werden, ausgehend von 113 ± 17 mmHg vor der Intervention. Zwar konnten hier abnehmende Tendenzen festgestellt werden, diese wurden jedoch nicht als signifikant betrachtet [106]. Auch Consigny

et al. (2014) veröffentlichten eine tierexperimentelle Studie zum Thema der renalen Denervation durch periadventitiale Gabe hypertoner Saline (Kochsalze) bei Ratten. Dazu wurde 6 Tieren 150 µL einer 10%ige Lösung verabreicht (1.7 M, 100 mg/mL). Die Tiere wurden unilateral behandelt wodurch die kontralaterale Niere als Kontrolle diente. Die NA - Konzentration in den Nieren wurde signifikant reduziert. Eine histologische Untersuchung der Nierenarterien und umliegendem Gewebe wurde nicht unternommen [17]. Eine Aussage über die Sicherheit konnte daher nicht getroffen werden. Anhand der geschilderten Versuche konnten bereits positive Effekte hinsichtlich einer renalen Denervation durch den Einsatz hypertoner Natriumchloridlösung nachgewiesen werden. Diese präklinischen Versuche fanden an Hunden und Ratten statt. Durch unser Studiendesign, mit dem Schwein als Tiermodell, erhoffen wir uns eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen. Unseres Wissens sind es die ersten Versuche dieser Art zur Evaluation einer perkutanen periarteriellen Applikation von hypertoner Natriumchloridlösung im Schweinmodell.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign

Die vorliegende Dissertation ist Teil einer Studie, die die Beurteilung von 4 Wirkstoffen nach perkutaner periarterieller Applikation zum Ziel hat. Dieser Teil befasst sich mit der Evaluierung von Paclitaxel und hochmolarer Natriumchloridlösung. Je 6 Hausschweine pro Wirkstoff, in der Summe folglich 12 Tiere, wurden behandelt. Dabei wurde der jeweilige Wirkstoff unilateral an eine der Nierenarterien mittels perkutanem periarteriellen Verfahren appliziert. Die kontralaterale Nierenarterie verblieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Die Wartezeiten zwischen Behandlung und Euthanasie lagen bei Paclitaxel bei 14 Tagen und bei Natriumchlorid bei 28 Tagen. Das Behandlungsverfahren wurde anhand der Injektatverteilung im CT, Blutdruckmessungen, Bestimmung von Noradrenalin im Nierenparenchym und histologischer Auswertungen hinsichtlich technischer Durchführbarkeit, Effizienz und Sicherheit beurteilt.

4.2 Versuchstiere

Die Versuche wurden durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin, Postfach 310929, 10639 Berlin, unter der Genehmigungsnummer G 0169/13 geprüft und genehmigt.

Die Schweine der Deutschen Landrasse wurde aus einem Zuliefererbetrieb bezogen (H.G.E. Service GmbH Langerwisch, Kirschallee 32, 14552 Michendorf). Zum Zeitpunkt der Einstellung waren die männlichen Tiere ca. 3 Monate alt, kastriert und klinisch unauffällig. Sie wurden am Tag der Einstellung sowie im Verlauf bis zum Tag der Euthanasie regelmäßig gewogen und hinsichtlich Haltung, Verhalten, Appetit und Entwicklung kontrolliert.

4.3 Haltung und Fütterung der Versuchstiere sowie zeitlicher Versuchsablauf

Die Unterbringung der Tiere erfolgte in der tierexperimentellen Haltung der Charité, Campus-Virchow-Universitätsklinikum, Berlin. Je nach organisatorischem Hintergrund wurden zwei bis vier Tiere zeitgleich eingestallt, aus tierschutzrechtlichen Gründen jedoch niemals einzeln. Dabei handelte es sich um Geschwister aus einem Wurf, sodass der soziale Stressfaktor der Tiere untereinander reduziert werden konnte. Nach einer Akklimatisierungsphase von sieben Tagen fand die Intervention statt. Die Schweine wurden in Stallabteilen mit einer Fläche von 9,2 m² und Fenstern gehalten. Ergänzend wurde ein Lichtregime mit 80 Lux für 12 Stunden betrieben, bei dem eine Beleuchtungsdauer von 5-17 Uhr gegeben war. Die mit Fliesen ausgekleideten Stallungen waren mit einem spaltfreien Untergrund ausgestattet, der den Tieren einen sicheren Stand ermöglichte und somit ein Ausrutschen verhindern sollte. Als Einstreu dienten Hobelspäne (Allspan GmbH Spanverarbeitung, Karlsruhe, Deutschland) sowie ausreichend Stroh und Heu, das auch gleichzeitig der Beschäftigung der Tiere diente. Die Stallungen wurden täglich gesäubert und neu eingestreut. Weitere Beschäftigungsmöglichkeiten zum Environment Enrichment wurden durch Hartplastikbälle und Eisenketten sowie dem Sozialkontakt zu ihren Artgenossen gegeben. Der ständige Frischwasserzugang der Tiere wurde über Beckentränken Typ Suevia 370 (SUEVIA HAIGES GmbH, Kirchheim/Neckar, Deutschland) gewährleistet. Dem Bedarf entsprechend wurden die Tiere mit Fertigfutter in pelletierter Form (Mast Solo S1, AGRAVIS Raiffeisen AG, Münster), aufgeteilt auf zwei Portionen täglich, gefüttert. Zusätzlich bekamen sie in Maßen Äpfel und Möhren. Während des gesamten Zeitraumes, standen die Tiere unter adspektorischer Überwachung durch Tierpfleger und Veterinäre. Am Tag der Einstellung wurden die Tiere auf Entwicklungsstand und Verletzungen sowie Verhalten untersucht. Der zeitliche Versuchsablauf für die jeweilige Behandlungsgruppe mit Blutdruckmessung, CT – Kontrolle und Euthanasie ist schematisch in Abb. 6 dargestellt.

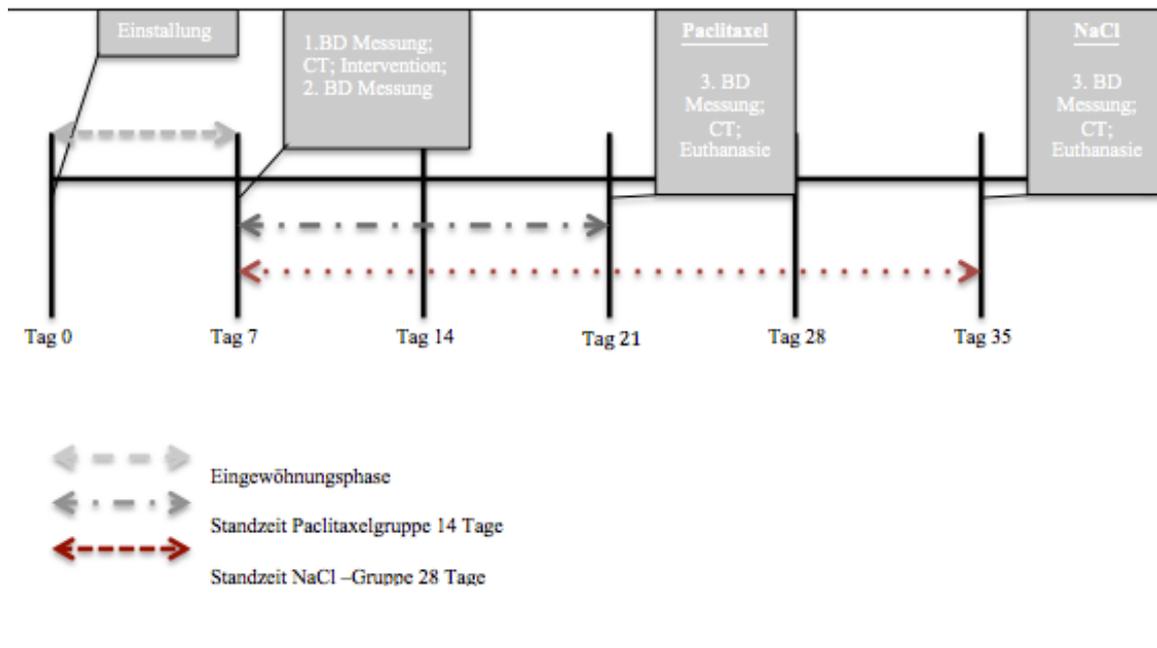


Abbildung 6: Übersicht über den zeitlichen Ablauf beider Versuchsgruppen vom Tag der Einstellung bis zur Euthanasie

4.4 Sedation, Schmerzausschaltung und Narkoseüberwachung

Um die Stresssituation für die Tiere möglichst gering zu halten, wurde auf einen behutsamen, ruhigen Umgang mit den Tieren und der Verzicht auf etwaige Zwangsmaßnahmen, wie Oberkieferschlingen zur Durchführung einer Betäubung Wert gelegt. Durch eine intramuskuläre Injektion in die seitliche Halsmuskulatur wurden die nüchternen Tiere sediert. Dazu wurde eine Mischspritze bestehend aus Midazolam in einer Dosis von 0,2 mg/kg (Dormicum®, 5mg/ml, Roche Pharma AG, Grenzach - Wyhlen, Schweiz) und Ketamin in einer Dosis von 10 mg/kg (Ketamin 10%®, 100mg/ml, Bela Pharm GmbH Co KG, Vechta, Deutschland) in gewichtsspezifischer Dosis hergestellt. Über eine Schlauchverlängerung (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurde der Inhalt der Spritze mittels Einwegkanüle (BD Microlance™, Becton Dickinson, S.A., Spanien) in die seitliche Halsmuskulatur appliziert. Nach einer Wartezeit von durchschnittlich 10-15 Minuten bestand eine ausreichend tiefe Sedation um einen Ohrvenenverweilkatheter legen zu können. Je nach Größe der Gefäße wurde dafür ein Venenkatheter passender Größe gewählt (BD Venflon Pro, BD Infusion Therapy AB, Helsingborg, Sweden). Dieser wurde mit Klebeband fixiert und zur Prüfung der Durchgängigkeit mittels 0,9% Natriumchloridlösung geprüft. Unter Verwendung von 2% Propofol (Propofol-Lipuro® 2%, 20mg/ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen,

Deutschland), das nun über die Ohrvene verabreicht wurde, konnte die Narkose durchgeführt werden. Zur Einleitung geschah dies unter Kontrolle der Reflexe und Vitalparameter manuell mittels Bolus von 1-3 ml. Zur weiteren Aufrechterhaltung der Narkose, wurde die Perfusorspritze (Original Perfusor® Syringe 50ml Luer lock, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in einen kompatiblen Perfusor (IVAC® P 4000 Anästhesie-Spritzenpumpe, Cardinal Health, Baesweiler, Deutschland) gespannt und dem individuellen Gewicht des Tieres entsprechend die Applikationsrate in ml/h (5mg/kg/h) eingestellt. Die Tiere erhielten Augensalbe zum Schutz der Hornhaut und Konjunktiven vor Austrocknung (Regepithel, Alcon Pharma GmbH, D-79108 Freiburg i. Breisgau). Vor der Lokalinzision mittels Skalpell erhielt das Tier additiv eine Betäubung mittels Lokalanästhesie mit ca. 10 ml (Lidoject 1%, Hexal, Holzkirchen, Germany) am Eintrittspunkt. Zeitgleich zur Wirkstoffapplikation an die A. renalis wurde Fentanyl (1-3µg/kg/h) über den Dreiwegehahn am Ohrvenenverweilkatheter verabreicht. Während der gesamten Dauer der Arbeit am Tier, folglich von der Sedation bis zur Aufwachphase wurden Reflexe (Lidreflex, Zwischenklauenreflex) und Vitalparameter (Atmung, Herzschlag, Sauerstoffsättigung, Temperatur) überwacht, um eine ausreichende Narkosetiefe bzw. Kreislaufstabilität zu gewährleisten. Neben der adspektorischen und manuellen Kontrolle der Reflexe fand auch eine digitale Überwachung der Tiere statt. Dazu wurde ein Pulsoximeter an dem Schwanz des Tieres befestigt (Abb. 7). Somit konnten Sauerstoffversorgung und Puls des Tieres kontinuierlich kontrolliert werden. Nach ersten Versuchen an den Klauen, stellte sich dazu der Schwanz des Tieres als verlässlichste Stelle heraus.

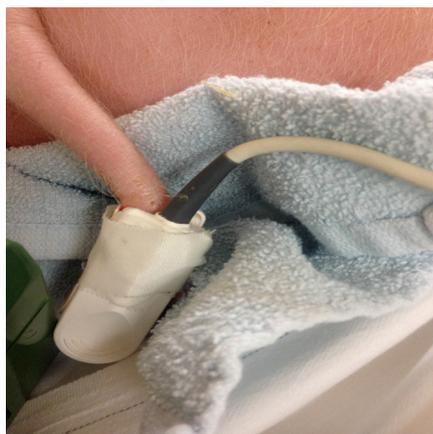


Abbildung 7 Fixierung eines Pulsoximeters am Schwanz des Tieres zur Überwachung der Vitalparameter (Puls, Sauerstoffsättigung, BD in mmHg) während der Intervention

4.5 Blutdruckmessungen

Mittels einer Blutdruckmanschette für Kinder (Philips M1573A), wurde der Blutdruck an den Hintergliedmaßen der Tiere gemessen (Abb. 8). Die Messung erfolgte oszillometrisch, also durch Übertragung von Schwingungen der Gefäßwand auf die Druckmanschette, die direkt ausgewertet und auf dem Gerät angezeigt werden [2]. Die Blutdruckmanschette wurde oberhalb der dorsalen Articulatio talocruralis angebracht, während sich das Tier narkotisiert in Seitenlage befand (Abb. 8) Die Messungen erfolgten zu drei Zeitpunkten, wobei diese stets an der gleichen Gliedmaße des Tieres durchgeführt wurden. Die erste Messung fand präinterventionell, wie auch die weiteren Blutdruckmessungen, am bereits narkotisierten Schwein statt. Eine zweite Messung erfolgte unmittelbar nach dem Eingriff, die Dritte am Tag der Euthanasie. Es wurden pro Erhebung der Blutdruckwerte jeweils drei Einzelmessungen in einminütigem Abstand durchgeführt, aus denen der arithmetische Mittelwert berechnet wurde.



Abbildung 8 Seitenlage des Schweines zur präinterventionellen Blutdruckmessung. Lokalisation der Blutdruckmanschette auf Höhe des Articulatio talocruralis (Abbildung rechts)

4.6 Vorbereitung des Tieres zur Intervention

Die Schweine wurden in Brust-Bauch-Lage positioniert. Die Vordergliedmaßen wurden nach vorne gestreckt, sodass die Klauen etwa auf Höhe der Rüsselscheibe (der Nase des Tieres) lagen. Die beiden Hintergliedmaßen lagen in gebeugter, angewinkelter Haltung dem Körper an, der beidseits durch Stoffstützen in seiner Position gehalten wurde. Über eine eigens angefertigte Bechermaskenkonstruktion wurde den Tieren Sauerstoff (3L/h) zugeführt. Der Ohrvenenzugang wurde durch einen Dreiwegehahn (Discofix® C 3SC, B. Braun Melsungen

AG, Melsungen, Germany) mit Rückschlagventilen ergänzt. Über die Zugänge konnte weiterhin Propofol (siehe Kapitel 4.4) sowie zusätzlich Kontrastmittel bzw. Fentanyl (siehe Kapitel 4.4) appliziert werden.



Abbildung 9 Position des narkotisierten Schweines im CT kurz vor der Behandlung



Abbildung 10 Vergrößerung aus Abb. 9; Brust-Bauchlage des Schweines im CT, grüner Pfeil: Bechermaskenkonstruktion zur periinterventionellen Sauerstoffversorgung; roter Pfeil: Dreiwegehahn über den Propofol und Fentanyl zeitgleich verabreicht werden; gelber Pfeil: Im Hintergrund sind die Perfusoren für Propofol und Fentanyl zu sehen

4.7 Verwendete Wirkstoffe

4.7.1 Hochmolare Natriumchloridlösung

Die verwendete Natriumchloridlösung hatte eine Konzentration von 5 M, entsprechend 292,21 mg/ml. Dazu wurde kristallines Natriumchlorid Pulver (bezogen über die Apotheke der Charité, Campus Virchow Klinikum (CVK)) mit einem Spatellöffel aus der Verpackung entnommen, mittels einer Analysewaage (Sartorius, TE214S, Sartorius AG, Weender Landstr. 94-108, 37075 Göttingen, Deutschland) genau abgewogen und in einem Gefäß mit destilliertem Wasser (Ampuwa®, Fresenius SE & Co KGaA, Bad Homburg, Deutschland) gelöst, bis sich unter leichtem Schwenken die kristalline Substanz vollständig gelöst hatte und eine klare, durchsichtige Lösung entstand. Während der Herstellung der Lösung wurden Mundschutz, Schutzkittel und Handschuhe getragen. In der Versuchsgruppe in der Natriumchlorid verwendet wurde, erhielten drei Tiere ein Gesamtvolumen von 10 ml (9ml NaCl + 1ml KM) und drei Tiere 18 ml (10ml NaCl + 8ml KM). Das jeweilige Gemisch setzte sich aus Wirkstofflösung und Kontrastmittel (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB) zusammen.

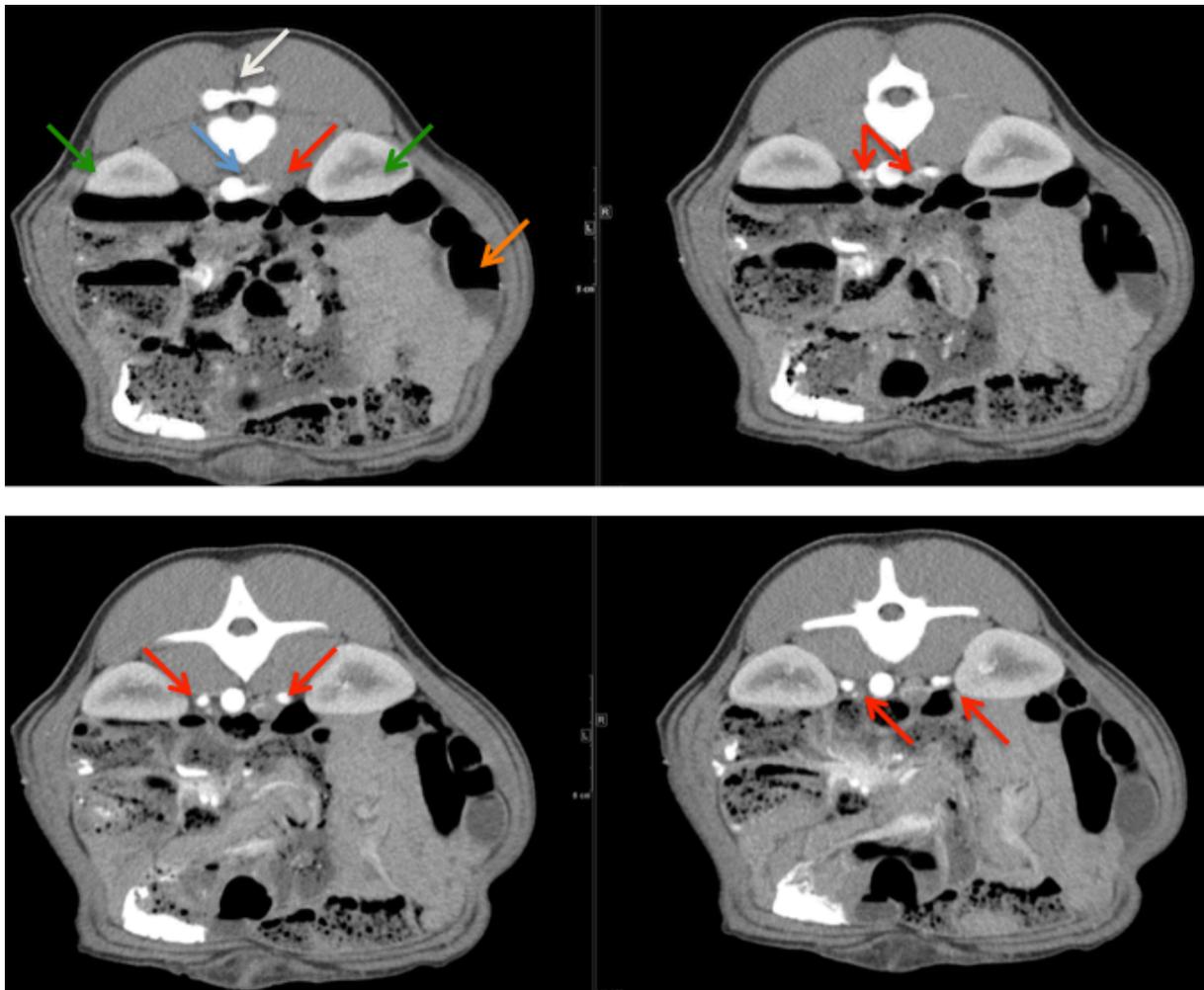
Die Menge des Wirkstoffes bei 5 M NaCl betrug 9-10 ml bei einem Gesamtvolumen von 10-18 ml. Im Gegensatz zur Intervention mit Paclitaxel bei dem direkt das Lokalanästhetikum zugegeben wurde, erfolgte die Injektion des Lokalanästhetikums in der NaCl-Gruppe kurz zuvor im Verhältnis 1:4 mit KM.

4.7.2 Paclitaxel

Paclitaxel wurde über die Apotheke der Charité, Campus Virchow Klinikum (CVK) bezogen. Es wurde in einer Konzentration von 6g/ml geliefert und verwendet. Dies entspricht der regulär erhältlichen Dosierung. Die 6 Tiere erhielten jeweils ein Gesamtvolumen von 10 ml. Die Menge setzte sich im Verhältnis 7:2:1 zusammen, entsprechend 7ml Wirkstoff, 2ml Lokalanästhetikum und 1ml Kontrastmittel. Als Lokalanästhetikum diente Carbostesin (0,5%, AstraZeneca, Wedel, Germany), als Kontrastmittel Accupaque (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB).

4.8 Planungs - CT und CT - gestützte Intervention

Die Bildgebung erfolgte mittels eines 64-Multislice Computertomographen (MSCT, Somatom Definition AS, Siemens, Erlangen, Deutschland). Unmittelbar vor der Intervention wurde ein Planungs-CT durchgeführt. Über den Dreiwegehahn in der Ohrvene konnte Kontrastmittel (50 ml Xenetix 350, Guerbet, Villepinte, Frankreich) intravenös mittels einer Kontrastmittelpumpe computergesteuert verabreicht und ein biphasischer arterieller und venöser CT-Scan gefahren werden. Der Scan delay (Verzögerung) für die arterielle Phase betrug 15 Sekunden, für die venöse Phase 40 Sekunden. Es wurden 50 ml KM und anschließend 30 ml Natriumchlorid mit einer Flussrate von 2,5 ml/s verabreicht. Die Schichtdicke der einzelnen Schnittebenen betrug 1mm.



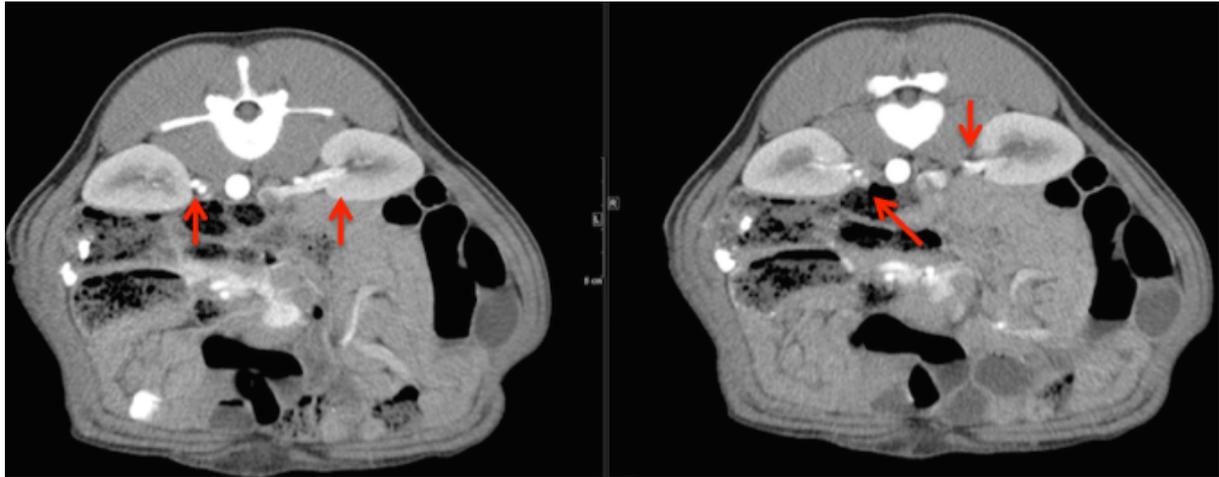


Abbildung 11: Abfolge axialer Schnittebenen in der arteriellen Phase. Von oben links nach unten rechts ist die A. renalis in ihrem Verlauf vom Ostium aortae bis zum Eintritt in die rechte bzw. linke Niere im Bereich des Nierenhilus durch Kontrastmittel verdeutlicht (rote Pfeile). Grüne Pfeile kennzeichnen die Nieren, oranger Pfeil weist auf Teile des Darms. Der Wirbelkörper wird durch den weißen Pfeil markiert, die Aorta abdominalis durch den blauen Pfeil.

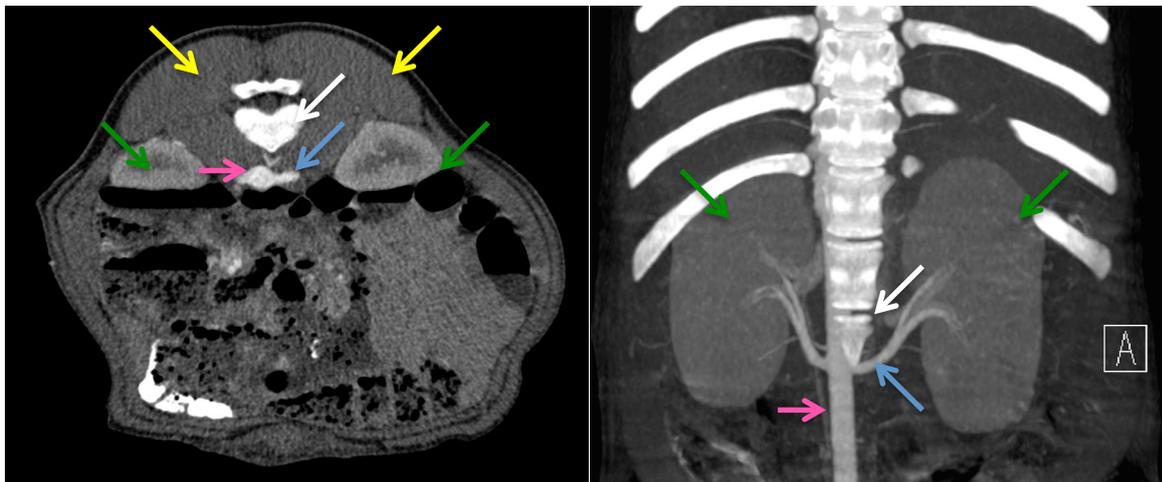


Abbildung 12: Planungs-CT (CT-Angiographie in arterieller KM-Phase). Schwein 1 der Paclitaxelgruppe (linke Abbildung in axialer Schichtebene) Sichtbar ist die arterielle Phase in der durch Kontrastmitteldgabe die Arteria renalis nach Abgang (Ostium) aus der Aorta abdominalis sichtbar wird. Grüne Pfeile: Nieren. Deutlich zu erkennen ist die Abgrenzung zwischen Nierenrinde und Nierenmark; gelber Pfeil M. longissimus dorsi; weißer Pfeil: Wirbelkörper, rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil: Abgang der A.renalis rechts. Die rechte Abbildung zeigt die korrespondierende koronare Schichtorientierung (MIP, Maximumintensitätsprojektion)

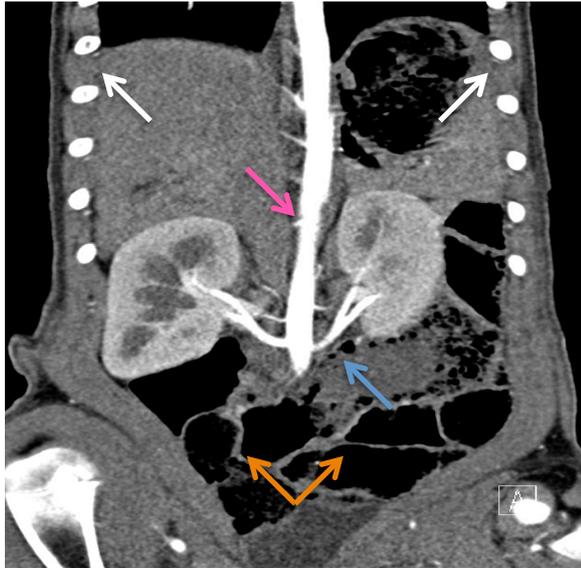


Abbildung 13: Schwein der Paclitaxelgruppe, arterielle Phase, koronare Schichtebene. Darstellung der Zielstruktur nach intravenöser Kontrastmittelgabe. Rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil: A.renalis rechts; weißer Pfeil: Rippenquerschnitte; oranger Pfeil: Darmschlingen

Die Anforderung an die Planung besteht darin, das Einführen der Punktionsnadel ohne Verletzung benachbarter Strukturen zu ermöglichen und den Wirkstoff genau an den Zielort um die Nierenarterien abgeben zu können. Parallel dazu gilt die Aufmerksamkeit eventueller anatomischer Besonderheiten wie Nierenzysten, Gefäßanomalien, additiven Gefäßen oder sonstiger Organbesonderheiten. Nachdem der Zugangspunkt gewählt und das Fadenkreuz zur optischen Hilfestellung für den Interventionalisten positioniert wurde, erfolgt die Lokalanästhesie mit ca.10 ml (Lidoject 1%, Hexal, Holzkirchen, Germany) am Eintrittspunkt. Der kutane Zugangsweg wird gesäubert, mit einer jodhaltigen Lösung desinfiziert und umliegend mit einem Abdecktuch abgedeckt um den Zugang steril zu halten. Auch bei der Vorbereitung der beteiligten Personen wurde auf Hygiene geachtet. Bereits bevor die Nadel durch die Haut, des Tieres geführt wird, erfolgte die additive, interventionsbegleitende Gabe von Fentanyl über einen Zugang am Dreiwegehahn des Ohrvenenverweilkatheters (1-3µg/kg/h). Anschließend wird die 20 G-Injektionskanüle (Becton Dickinson S.A., Madrid, Spain) nach minimalem Hautschnitt durch die Haut geführt.

Die Nadelposition konnte während der Intervention über das CT verfolgt und bei Bedarf entsprechend korrigiert werden. Dazu wird eine 1ml Mischung aus Kontrastmittel und Bupivacain appliziert (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB; Carbostesin 0.5%, Astra Zeneca, London, GB). Hat die Nadel ihre exakte Position erreicht, wird der Wirkstoff periarteriell an das Ostium der A. renalis appliziert und währenddessen ebenfalls unter einzelnen Fluoroscopy Scans (Durchleuchtung zur kontinuierlichen Betrachtung) im CT

kontrolliert. Nachdem sich die angestrebte Wirkstoffmenge periarteriell verteilen konnte, wurde 10 Minuten nach dem Eingriff eine CT-Nativaufnahme gefertigt und die Verteilung des hyperdens erscheinenden Injektats beurteilt. Die durchschnittliche Dauer der Prozedur zwischen den ersten CT-Aufnahmen und den abschließenden nativen Kontrollaufnahmen nach erfolgtem Eingriff wurden als Interventionszeit definiert.

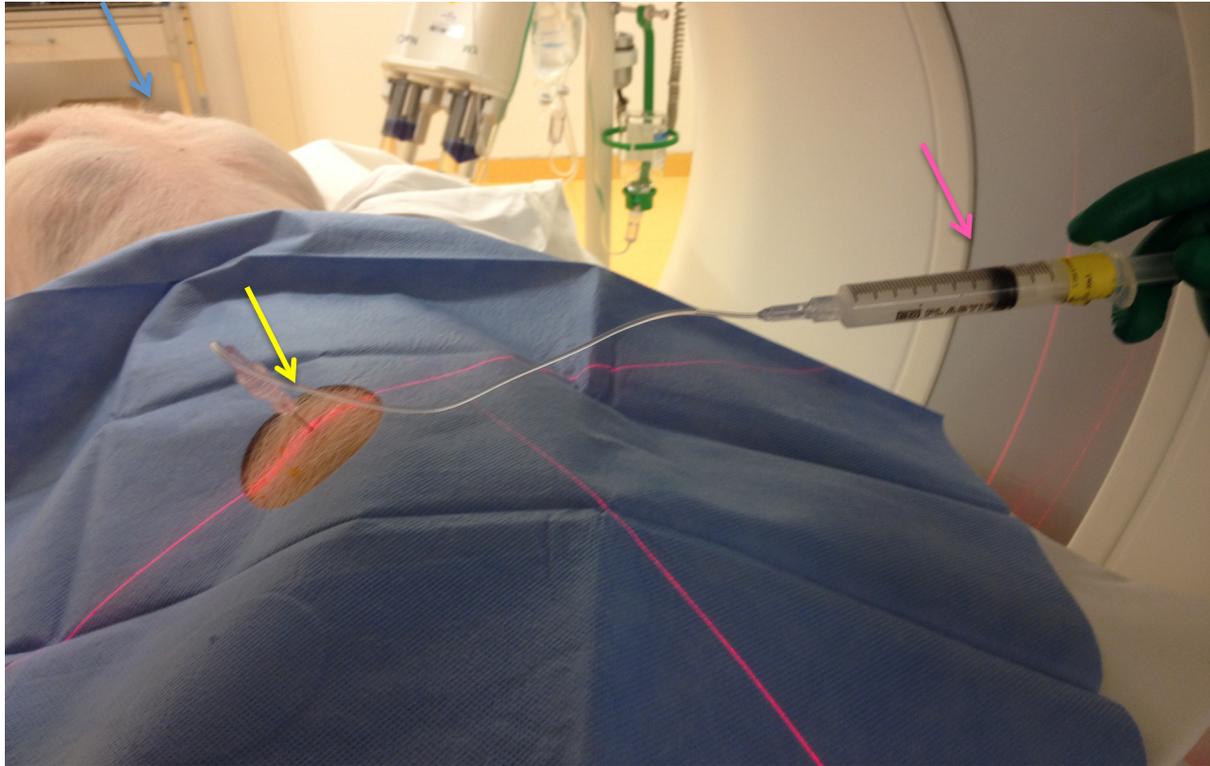


Abbildung 14: CT-gesteuerte perkutane periarterielle Sympathikolyse. Blauer Pfeil: cranialer Bereich des Schweines, Pfeil deutet auf Schulterpartie des in Brust-Bauchlage befindlichen Versuchstieres; gelber Pfeil: bereits positionierte Injektionsnadel im perkutanen Zugangsbereich zur linken Nierearterie des Tieres; rosa Pfeil: Injektionsgemisch bestehend aus Wirkstoff und Kontrastmittel

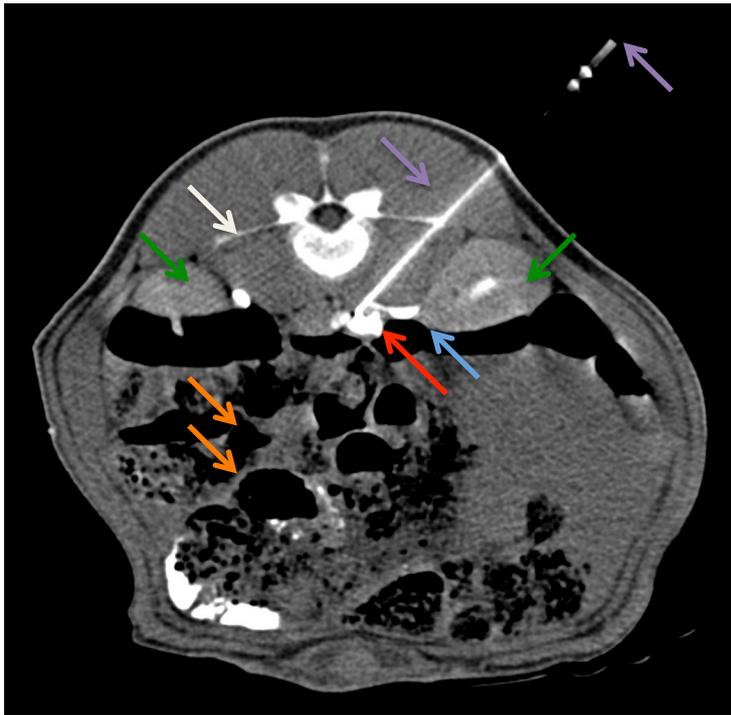


Abbildung 15: violette Pfeile: Injektionsnadel; roter Pfeil: Wirkstoff mit Kontrastmittel; blauer Pfeil: A. renalis rechts; weißer Pfeil: Proc. transversus, grüne Pfeile: Nieren, orange Pfeile: Darm

In Abb. 15 sieht man den Verlauf der Injektionsnadel durch Haut, subkutanes Fettgewebe, und Muskulatur, die ventral des Proc. transversus des Wirbelkörpers geführt wurde, um den mit Kontrastmittel versetzten Wirkstoff im perivaskulären Raum um die A. renalis zu applizieren.

4.9 Postinterventionelle Überwachung

Nachdem die behandelten Tiere mittels Rolltragen wieder in den Stall verbracht wurden, blieben sie unter ständiger Beobachtung bis sie ihre Geh- und Stehfähigkeit wiedererlangten. Da sie präinterventionell nicht gefüttert wurden, erhielten sie nun ihre Futterrationsration. In der Regel konnte auch bald nach Wiedererlangen des vollen Bewusstseins ein erster Harnabsatz beobachtet werden. Bis zum Versuchsende (Tag der Euthanasie) wurden die Tiere täglich hinsichtlich Appetit, Verhalten, Harn- und Kotabsatz sowie Wachstum kontrolliert.

4.10 Beurteilung Technischer Durchführbarkeit

1	ungenügend/insuffizient	Ostium der A.renalis und folgender Bereich ausgespart
2	gut	Ostium der A.renalis und Teile der A. renalis mit Injektat umspült
3	exzellent	Ostium der A. renalis und komplette Länge der A. renalis mit Injektat umspült

Tabelle 1: Tabelle der Scoreeinteilung zur Bestimmung des Interventionserfolges anhand der Injektatkontrolle um die Nierenarterien

Die Beurteilung des Interventionserfolges hinsichtlich einer optimalen Verteilung des Injektats um die A. renalis wurde durch zwei Radiologen durchgeführt. Anhand der Ziffern 1-3 wurde die Injektatdistribution eingestuft. 1 steht dabei für eine insuffiziente Injektatverteilung. Während 2 für eine gute und 3 für eine exzellente Verteilung, folglich eine komplette Umspülung des Ostiums der A. renalis und der gesamten A. renalis steht. Die Auswertung erfolgte postinterventionell.

4.11 Euthanasie

Zur Euthanasie erhielten die Tiere in narkotisiertem Zustand über den intravenösen Zugang Narcoren® (Pentobarbital-Natrium 16mg/100ml, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland). Der Wirkstoff wurde nach Wirkung dosiert. Der Tod des Tieres wurde über den Atem- und Herzstillstand auskultatorisch verifiziert. Es erfolgte umgehend die Sektion des Tieres für die Probenentnahme.

4.12 Probenentnahme

Das euthanasierte Tier wurde in Rückenlage mit nach hinten ausgebundenen Hinterbeinen fixiert (Abb. 16). Die Bauchhöhle wurde durch einen Schnitt entlang der Linea Alba vom Sternum bis kurz vor den Beckeneingang eröffnet. Beidseits wurden seitliche Entlastungsschnitte in bogenförmigem Verlauf caudal des letzten Rippenpaares angelegt, die dem besseren Zugang zur Bauchhöhle dienen. Das Darmpaket wurde vorverlagert, ebenso die Harnblase. Die so im Blickfeld liegenden retroperitoneal befindlichen Nieren wurden nach Entfernung des Peritoneums zugänglich und stumpf aus der Nierenkapsel befreit (Abb. 17). Nachdem beidseits die Organe von den umliegenden Strukturen freipräpariert wurden, folgte

das Abklemmen zuführender und abführender Gefäße. Beide Nieren wurden samt Nierenarterien und Anteilen der Ureteren sowie eines Abschnitts der Bauchaorta herausgelöst.

4.13 Makroskopische Untersuchung

Im Zuge der Entnahme der Nieren inklusive Nierenarterien und umgebenden Nerven sowie der Ureteren wurden insbesondere diese sowie die umliegenden Strukturen auf makroskopische Veränderungen hin untersucht. Zusätzlich wurde auf Form, Lage und Größe geachtet.

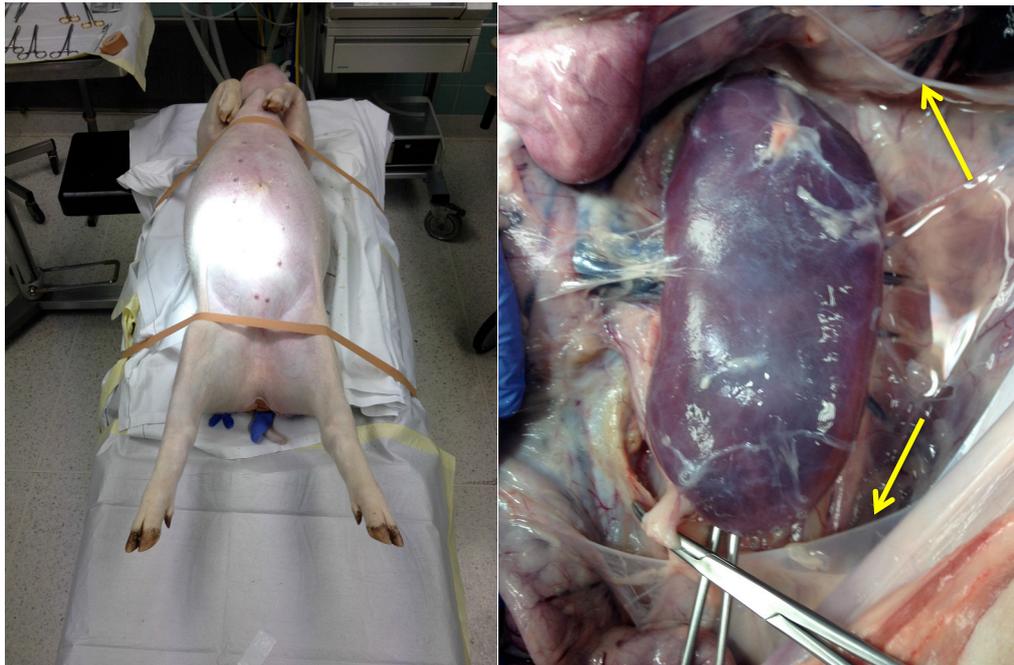


Abbildung 16 Euthanasiertes Schwein in fixierter Rückenlage

Abbildung 17 retroperitoneal freigelegte Niere; Peritoneum (gelber Pfeil)

4.14 Weitere Bearbeitung der Zielstrukturen

Für die histologische Auswertung wurde das entnommene Organpaket (Abb. 18) mittels eines Längsschnittes durch die Aorta geteilt. Die Nierenarterien wurden entsprechend ihrem anatomischem Verlauf samt Anteilen der Aorta abdominalis bis einschließlich ihrem Übergang in die Niere in toto separiert und zur Fixierung und Konservierung in 4% Formaldehydlösung (Formalin Solution 4%, Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) überführt. Für die weitere Analyse des Noradrenalinegehalts wurde das Gewicht der entnommenen Nieren mit einer digitalen Haushaltswaage ermittelt. Das Gewicht der Nieren in Gramm wurde mit dem Faktor 5 multipliziert um die benötigte Menge Ameisensäure in ml zu ermitteln (5ml/g 0,2 M Ameisensäure (Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande)). Diese wurde

den Nieren hinzugefügt und beides anschließend mit einem Handmixer zu einer homogenen Masse fein püriert. Je drei Falcons à 50 ml pro Seite, in der Summe 6 pro Tier, wurden mit dem Homogenisat befüllt. Die so gewonnenen Nierenproben wurden bei -18 bis -20°C tiefgefroren.



Abbildung 18 Entnommenes Organpaket mit Nieren (grüne Pfeile), Ureter (gelber Pfeil), Anteilen der Baucharota (craniale und caudale Schnittfläche durch Klammern dargestellt) sowie Arterien, Venen, teilw. Lymphknoten und umliegendes Gewebe (violette Pfeile)

4.15 Noradrenalinbestimmung im Nierenparenchym

Das vorbereitete Nierenhomogenisat wurde zur Noradrenalinwertbestimmung an das Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH, Robert-Koch-Platz 4, 10115 Berlin übergeben und mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographieverfahren (HPLC) der Noradrenalinwert ermittelt [107]. Dazu wird das Nierenhomogenisat zunächst abzentrifugiert. Anschließend werden 2ml des Überstandes mit 1ml der Lösung A (2 mol/l Ammoniumchlorid-/Ammoniumhydroxid; 8 mmol/l Diphenylborsäure-Ethanolaminkomplex; 13,4 mmol/l EDTA, pH 8,5 mit konzentrierter Salzsäure) und 5 ml der Lösung B (4,57 mmol/l Tetra-octyl-animoniumbromid in 25 % Chloroform und 75 % n-Heptan) vermischt. Das Gemisch wird anschließend dreimal für je 20 Sekunden auf den Vortexschüttler gestellt. Nach 15-minütiger Zentrifugation wird die obere organische Phase möglichst quantitativ abgenommen und in ein weiteres neues Gefäß überführt, in das zusätzlich 2 ml n-Oktanol und 0,5 ml einer 0,2 M Essigsäure gegeben werden. Dieses Gemisch wiederum wird erneut für je 20 Sekunden dreimal hintereinander durchmischt und erneut für 15 min zentrifugiert. Die so entstandene obere,

organische Phase wird abgenommen und verworfen wo hingegen die untere, wässrige Phase in ein Eppendorfgesäß überführt und erneut für 10 Minuten bei 14.000 UpM zentrifugiert wird. Bis zur Analyse wird das durch dieses Vorgehen um den Faktor 4 aufkonzentrierte Noradrenalin tiefgefroren. Die so vorbereiteten Analyseproben mit dem aufkonzentrierten Noradrenalin wurden in den Hochleistungsflüssigkeitschromatographen (HPLC) gegeben, bestehend aus einer Luna® C 18 Säule, 5 µm, 150 mm x 4.6 mm (Phenomenex®, Aschaffenburg, Deutschland), einer HPLC Pumpe (Waters 515, Waters Corporation, Milford, MA, USA) und einem Einspritzventil (Rheodyne® 7125 (Chromtech, Apple Valley, MN, USA) mit einer 50 µl Probenschlaufe. Des weiteren aus einem Chromosystems Detektor CLC100 mit einer Glas-Carbon-Arbeits Elektrode sowie einer Ag/AgCl-Referenzelektrode. Der Detektor wurde wie folgt eingestellt: Potential 0,8 V, Range 5 nA, Offset 0,01V, Rise Time 2 Sekunden. Folgende Fließmittel wurden als Gemisch zusammengesetzt verwandt: 62,43 mmol/l Methansulfonsäure; 29,59 mmol/l Phosphorsäure; 0,093 mmol/l Octansulfonsäure; 0,097 mmol/l EDTA (Titriplex III). Der pH-Wert von 2,1 wurde mittels 5M NaOH eingestellt. Die isokratische Fließrate liegt bei 1,3 ml/min. Der so erhaltene Wert wurde anhand eines Standards mit bekannter Konzentration ausgewertet.

4.16 Histologische Untersuchung

Nach Entnahme des Organpaketes, bestehend aus rechter und linker Niere, sowie davon abgehender Ureter und zuführenden sowie abführenden Gefäßen samt Anteilen der Aorta, und Lymphstrukturen wurde dies zur histologischen Aufarbeitung vorbereitet. Dies ist notwendig um das Gewebe möglichst im natürlichen anatomischen Zustand erhalten zu können. Somit konnten 5 µm dünnen Schnitte der Strukturen angefertigt und mikroskopisch auf pathologische Veränderungen hin untersucht werden. Neben der Noradrenalinwertbestimmung diente der histologische Nachweis einer neuronalen Schädigung als primärer Outcomeparameter. Die Schnitte wurden auf intra- und perineurale Fibrosierung, Bildung von Neointima und mögliche Hinweise auf Gefäßverletzungen oder entzündliche Prozesse hin untersucht. Die Ureter wurden ebenfalls beurteilt um eine mögliche schädigende Auswirkung auf die umliegenden Bereiche beurteilen zu können. Hauptaugenmerk der Auswertung galt dem Abschnitt der Nierenarterie vom Ostium bis zum Eintritt in die Niere.

4.16.1 Vorbereitung der Proben

Nachdem die in 4% Formaldehydlösung fixierten Gewebeproben für 48h darin belassen wurden, erfolgte die Unterteilung in einzelne Abschnitte mittels Pinzette und Skalpell. Dabei wurden Skizzen angefertigt, die die einzelnen Bestandteile den dementsprechend beschrifteten Histologiekassetten eindeutig zuordneten. Die Histologiekassetten wurde durch einen Kassettendrucker (Leica IPC V1.8 Deutsch 06/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) beschriftet. Die beschrifteten und bestückten Kassetten kamen zur weiteren Bearbeitung in eine Histokinette (Leica TP 1020), die vollautomatisiert arbeitete. Die standardisierte Einbettung in Paraffin erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe, dem das Gewebe ausgesetzt wird. Dadurch wird das im Gewebe enthaltene Wasser weitgehend durch Alkohol ersetzt. Paraffin mischt sich nur schlecht mit Alkohol, weshalb ein Zwischenschritt eingefügt wird, bei dem Alkohol durch Xylol, das als Lösungsmittel fungiert, ersetzt wird. Dieses wiederum wird im Folgeschritt durch Paraffin ersetzt, welches das Gewebe im Idealfall vollends durchtränken konnte [108].

4.16.2 Paraffineinbettung

Um von den in Paraffin eingebetteten Gewebeproben feinste Schnitte anfertigen zu können, mussten diese zunächst komplett in einem Paraffinbett positioniert werden (Paraffinenbettautomat: Leica EG 1150 H). Dazu wurde das Gewebestück aus der Histologiekassette entnommen und mittels Pinzette in einer rechteckigen Metallschale so positioniert, dass es der späteren Schnittfläche senkrecht aufliegt. Über einen Zufluss wurde das erwärmte und dadurch flüssige Paraffin zu den Proben gegeben bis diese vollständig damit umgeben waren. Der beschriftete Teil der Histologiekassette wurde der mit Paraffin aufgegossenen Metallform wieder aufgelegt, wodurch es in Kontakt mit dem Paraffin stand und somit nach dem Abkühlen an den Paraffinblock samt der darin befindlichen Gewebeprobe fixiert war. Dies diente der Probenzuordnung. Durch das Absinken der Temperatur auf der Kühlplatte (Leica EG 1140 C V1.3 Deutsch 03/2000, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) kühlte das Paraffin aus und die Probe wurde stabilisiert und schnittfähig.

4.16.3 Anfertigung histologischer Schnitte

Die Paraffinblöcke wurden in das Microtom (Leica RM 2125 RT, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) eingespannt und Schnitte mit einer Dicke von 5 μm

angefertigt. Die feinen Schnitte wurden in ein Wasserbad (Leica HI 1210) mit destilliertem Wasser, das auf 38°C erwärmt wurde übertragen. Die Schnitte schwimmen auf der Wasseroberfläche und werden dadurch geglättet, wodurch sie faltenfrei und möglichst blasenfrei auf die zuvor beschrifteten Objektträger (Super Frost® Plus Objektträger, R. Langenbrinck Labor- und Medizintechnik, Emmendingen, Deutschland) aufgebracht werden konnten. Die Objektträger wurden mit Stickern eines Aufkleberdruckers identisch der Bezeichnung in der Skizze und auf der Histologiekassette beschriftet (Cognitive Cxi Labelprinter, Cognitive TPG Headquarters, Lincolnshire, USA). Um die Schnitte am nächsten Tag weiter bearbeiten zu können, wurden die Objektträger über Nacht in einen Wärmeschrank (Heraeus Kendro Laboratory Products, Langenselbold, Deutschland) bei 37°C gelagert und getrocknet.

4.16.4 **Histologische Färbungen**

Nachdem die 5µm dünnen Schnitte auf die Objektträger überführt und über Nacht in einem Wärmeschrank bei 37°C getrocknet wurden, konnten sie angefärbt werden. Entsprechend der Kapazität des Färbeautomaten wurde eine Kassette mit Objektträgern bestückt, die nun vollautomatisch nach dem gewählten Programm die Objektträger nach vorgegebener Zeit in die verschiedenen Medien eintauchte (Leica Auto Stainer XL V2.2 Deutsch 03/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland). Abschließend und ebenfalls vollautomatisiert wurden den Objektträgern Deckel aufgelegt (Eindeckelautomat Leica CV 5030). Als primäre Färbung diente die Hämatoxylin-Eosin Färbung. Dabei handelt es sich um eine oft verwendete Routinefärbung [108]. Es wurde das Färbeprotokoll nach Romeis angewandt (Tabelle 2).

Hämatoxilin Eosin (HE) Färbung

Reagenz	Zeit in Minuten	Vorgang
Xylol	5:00 min.	Entparaffinieren
Xylol	5:00 min	
100% Ethanol	5:00 min	Rehydrieren über absteigende Ethanolreihe
100% Ethanol	5:00 min	
96% Ethanol	5:00 min	
96% Ethanol	5:00 min	
70% Ethanol	5:00 min	
Aqua dest.	5:00 min	Spülung
Hämalaun nach Mayer	5:00 min	Kernfärbung
Fließendes Leitungswasser	10:00 min	„bläuen“
Eosin wässrig 0,1%	5:00 min	Färben des Zytoplasmas
Aqua dest.	0:30 min	Spülung
Aqua dest.	0:30 min	
70% Ethanol	0:30 min	Dehydrieren in aufsteigender Ethanolreihe
96% Ethanol	1:00 min	
96% Ethanol	1:00 min	
100% Ethanol	2:00 min	
100% Ethanol	2:00 min	
Xylol	3:00 min	Vollständige Entfernung des Ethanols
Xylol	3:00 min	

Tabelle 2: HE Färbeprotokoll

Mittels der HE-Färbung werden viele Schnittpräparate routinemäßig eingefärbt. Hämalaun färbt anionische Biopolymere wie z.B. Zellkerne blau. Eosin dient als zweite färbende Komponente. Das anionische Eosin färbt kationische Strukturen wie Zytoplasma und Faserstrukturen rötlich [108] (Tab.2).

Elastica van Gieson (EvG) Färbung

Reagenz	
96% Alkohol	<p>Weigert'sches Hämatoxilin: Lösung A: 10% alkohol. Hämatoxylin aus 10% Hämatoxylin gereift (10ml) + 96% Alkohol (90 ml) Lösung B: 29% Eisen-III-Chlorid (4ml) + 25% HCL (1ml) + Aqua Dest. (95ml)</p> <p>Van Gieson-Gemisch: Wässrige, gesättigte Pikrinsäure (100ml) + 1% wässrige Säurefuchsinlösung (5-10ml) + 1-2% (10-20 Trpf.)</p>
Elastica-Lösung (Resorcin-Fuchsin)	
Aqua dest.	
Weigert'sches Hämatoxilin	
„Bläuen“ mit Leitungswasser	
Aqua dest.	
Van Gieson-Gemisch (Picrofuchsin)	
96% Alkohol	
96% Alkohol	
Entwässern und Eindecken	

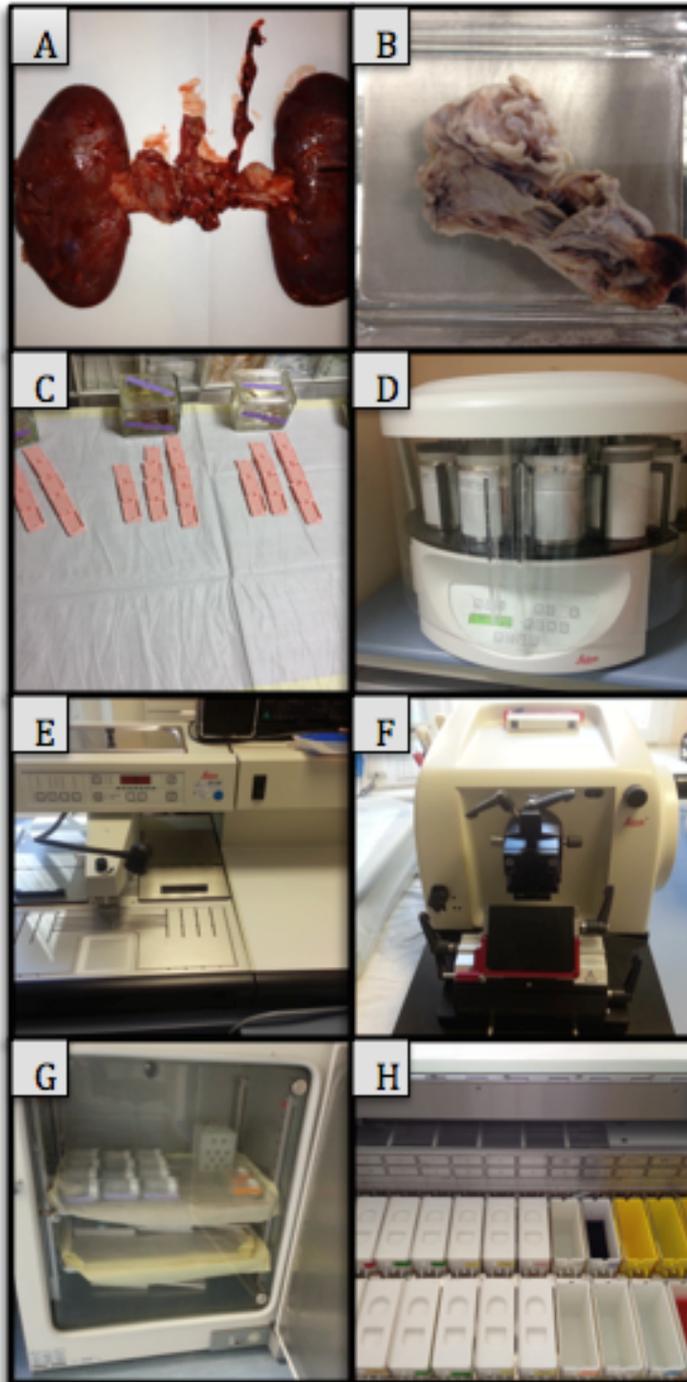
Tabelle 3: Protokoll der EvG-Färbung

In der EvG-Färbung werden elastische Fasern braun-schwarz (durch Orcein) eingefärbt. Kollagenfasern werden durch Pikrofuchsin nach van Gieson rötlich gefärbt [108]. Es wurde verwendet um bindegewebige Fasern darzustellen und eventuelle Fibrosierungen sichtbar zu machen. Unter anderem mittels eines Hochleistungsmikroskops (Carl Zeiss, Jena) konnten die gefärbten Schnitte beurteilt und fotografiert werden. Die Bilder wurden am gekoppelten Monitor betrachtet und über die passende Software verwaltet und ausgewertet.

Immunhistochemische Färbungen S100 und Neurofilamentfärbung

Die S100 Färbung ist eine immunhistochemische Färbung die dem Nachweis von Nervenfasern dient. Die peripheren Nervenfasern und Axone, die von Endoneurium und Perineurium umgeben sind [109], werden durch Anfärben der Schwann'schen Zellen sichtbar. [110]. Dabei werden S100-Proteine durch entsprechende S100-Antigene angefärbt. Somit dient S100 als neurogenes Markerprotein.

Mittels Neurofilamentfärbung werden insbesondere die Axone sichtbar, denen die zentrale Rolle der Reizweiterleitung zuzuschreiben ist [111]. Neurofilament ist ein Strukturprotein, das sich im Zytoplasma von Nervenzellen befindet und eine erhöhte Konzentration im Axon aufweist [112].



(A) Das Organpaket bestehend aus Nieren, Aorta, Nierenarterien und -Venen, sowie Ureteren und teilweise Lymphstrukturen nach der Entnahme.(B) in Formaldehyd befindliche Probe nach Trennung von der Niere; (C) Histologiekassetten vor den Proben; (D) Histokinette mit Behältern für die einzelnen Medien zur Entwässerung und Paraffineinbettung; (E) paraffinfixierte Proben werden im Einbettautomat in kompletten Paraffinblock eingebettet um Schnitte anzufertigen zu können; (F) Mikrotom zum Anfertigen von feinsten Schnitten zur histologischen Beurteilung; (G) Aufenthalt über Nacht bei 36°-37° C in einem Wärmeschrank nach Überführung der Schnitte auf einen Objektträger aus dem Wasserbad; (H) Übersicht über verschiedene Becken mit unterschiedlichen Medien zur Färbung der Präparate mittels HE-Färbung

Abbildung 19 Arbeitsschritte im Labor zur Anfertigung der histologischen Schnitte

4.17 Statistik

Zur Datenerhebung diente Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Die anschließende statistische Bearbeitung der Werte wurde durch das Programm Prism 6 von GraphPad (GraphPad Software, Inc., 7825 Fay Avenue, Suite 230, La Jolla, CA 92037

USA) durchgeführt. Zur Auswertung standen die Daten von insgesamt 12 Tieren zur Verfügung. Diese teilten sich in zwei Gruppen zu je 6 Tieren auf. Die Blutdruckwerte wurden zu drei festgelegten Zeitpunkten erhoben. Die letztendlich verwendeten Daten zur Anfertigung der Graphiken entsprechen dem arithmetischen Mittelwert drei aufeinanderfolgender Einzelmessungen. Die Blutdruckwerte werden in mmHg angegeben.

Aus den vorliegenden Messdaten wurden die absoluten sowie prozentualen Differenzwerte zwischen den präinterventionellen Messdaten und den Finaldaten ermittelt.

Der Noradrenalinwert liegt sowohl für die behandelte Niere als auch für die unbehandelte Niere eines jeden Tieres vor. Somit dient die jeweils unbehandelte Seite des Tieres als Vergleichswert. Der Noradrenalingehalt wird in ng/g angegeben.

Zur statistischen Auswertung der Gruppierungen werden nicht parametrische Tests angewandt. Für abhängige Vergleiche im Sinne eines vorher-nachher-Vergleiches dient der Wilcoxin-U-Test. Zur Bewertung unabhängiger Stichproben zum Vergleich prozentualer und absoluter Differenzen der Mann-Whitney-Test (U-Test) .

Das Signifikanzniveau wird bei $p < 0,05$ festgelegt. Der Boxplot dient zur graphischen Darstellung. Der Strich innerhalb der Box bezeichnet den Median. Die Boxbegrenzungen stellen das 25 % und 75 % Quartil dar. Die Antennen oberhalb und unterhalb der Box geben das 95 % und 5 % Quantil an, das noch keinen Extremwert oder Ausreißer darstellt.

5 Ergebnisse

5.1 Entwicklungs- und Gesundheitsstatus der Versuchstiere

Nach dem ersten Wiegen am Tag der Einstellung ergab sich ein Durchschnittsgewicht von $24,65 \text{ Kg} \pm 2,7 \text{ Kg}$ in der NaCl-Gruppe und $26,35 \text{ Kg} \pm 1,54 \text{ Kg}$ in der Paclitaxelgruppe. Nach vier Wochen Standzeit der Schweine der NaCl-Gruppe wogen sie durchschnittlich $38,93 \pm 5,64 \text{ Kg}$. Die Schweine der Paclitaxelgruppe wogen am Finaltag nach zweiwöchiger Standzeit $31,23 \text{ Kg} \pm 1,99 \text{ Kg}$. Vom Tag der Einstellung bis zum Finaltag konnten bei keinem der Tiere Auffälligkeiten beobachtet werden. Sie zeigten Appetit, gewöhnliches Sozialverhalten, unauffälligen Kotabsatz sowie uneingeschränktes Wachstum (regelmäßige Gewichtskontrollen). Ausgenommen oberflächlicher Abschürfungen im Bereich der Ohren, die auf kleinere Rangkämpfe untereinander zurückzuführen waren, konnten keine Verletzungen festgestellt werden. Besonderes Augenmerk galt der postinterventionellen Phase. Der Harnabsatz war

sowohl vor als auch kurzzeitig nach dem Eingriff sowie in den zwei (Paclitaxelgruppe) bis vier (5M NaCl) Wochen nach dem Eingriff unauffällig. Ebenso wiesen sie keine Hämatome an der Eintrittsstelle der Nadel auf.

5.2 Technische Durchführbarkeit der Intervention

Der Bezug der Wirkstoffe sowie die periarterielle Applikation über den perkutanen Zugang konnten ohne erwähnenswerte Vorkommnisse durchgeführt werden. Durch die periinterventionell durchgeführten Fluoroskopie-Scans, also der Röntgendurchleuchtung in Echtzeit, konnte die Injektionsnadel entsprechend ausgerichtet werden, um eine möglichst genaue Wirkstoffapplikation zu erzielen. Durch den Einsatz des Kontrastmittels im Planungs-CT wurden alle Nierenarterien ausreichend gut abgebildet. Die Auswertung der axialen sowie koronaren Schnittbilder konnte die anatomischen Gegebenheiten ausreichend gut darstellen.. Die Schichtdicke der einzelnen Schnittebenen betrug 1mm.

5.2.1 Injektatdistribution - Scoreeinteilung

Tier	Score 1	Score 2	Score 3
NaCl1			x
NaCl2			x
NaCl3			x
NaCl4			x
NaCl5		x	
NaCl6		x	
Pac1		x	
Pac2			x
Pac3			x
Pac4			x
Pac5		x	
Pac6			x

Tabelle 4: Scoreeinteilung von 1-3 für die Tiere beider Gruppen. Score 1: ungenügend/insuffizient, Score 2: gut, Score 3: exzellent

In Tabelle 4 wird der Erfolg der Injektatdistribution anhand der Scoreeinteilung dargestellt. Bei der Natriumchloridgruppe konnte bei 4 von 6 Tieren (NaCl1-NaCl4) eine exzellente Wirkstoffapplikation nachgewiesen werden (Score 3). Definitionsgemäß liegt hier also eine komplette Umspülung des Ostium der A. renalis sowie über die komplette Länge der A. renalis vor. Eine ebenfalls mit Score 3 bewertete Verteilung konnte auch bei 4 von 6 Tieren (Pac2 - Pac4 & Pac 6) der Paclitaxelgruppe nachgewiesen werden. Die restlichen Tiere beider Gruppen (NaCl5 & NaCl6 sowie Pac1 & Pac5) wurden mit Score 2, also als gut bewertet. Hierbei wurde

das Ostium der A. renalis und Teile der A. renalis mit Injektat umspült. Bei keinem der 12 Tiere lag eine ungenügende und insuffiziente Wirkstoffverteilung vor (Score 1).

Score 3

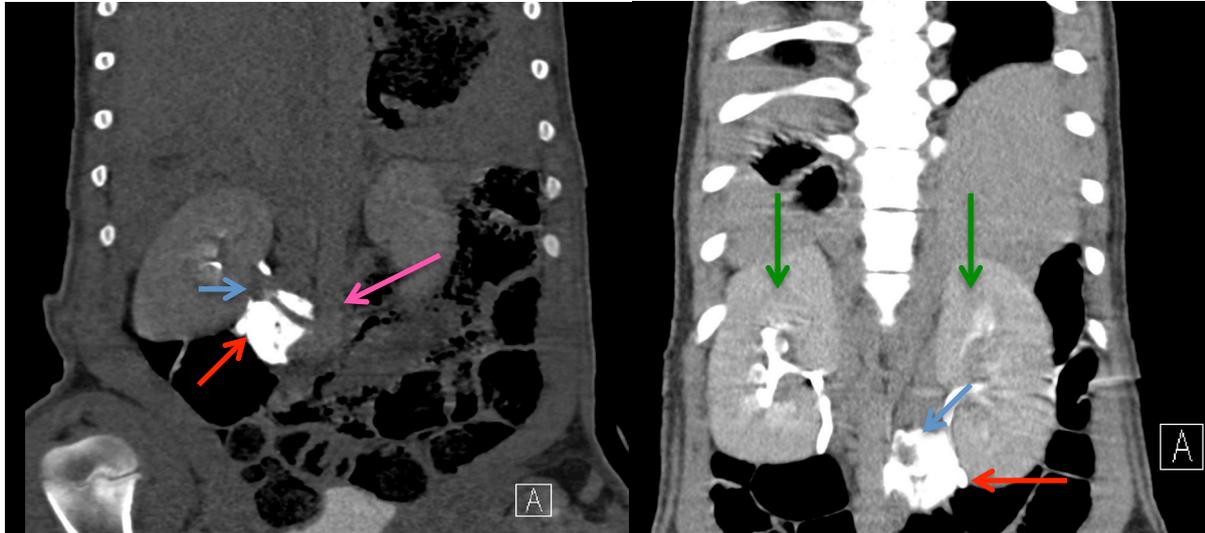


Abbildung 20 Score 3. Exemplarische Darstellung eines Schweines der Paclitaxelgruppe. Injektatverteilung (roter Pfeil) postintervention, Score 3. Sichtbar ist die komplett umspülte A. renalis (blauer Pfeil) vom Austritt aus der A. abdominalis (rosa Pfeil) bis zum Eingang in die Niere.

Abbildung 21 Schwein 1 Paclitaxel, koronare Orientierung. Sichtbar ist die Wirkstoffverteilung (roter Pfeil) entlang der A. renalis (blauer Pfeil); grüner Pfeil: Nieren im Längsschnitt. Zu sehen ist eine regelgerechte Kontrastmittelausscheidung über die Nieren und Ureteren beidseitig.

In Abbildung 20 und Abbildung 21 sind zwei koronare Schnittebenen zu erkennen. Abbildung 20 zeigt das hyperdens erscheinende Wirkstoff-Kontrastmittelgemisch, in dem die hypodens erscheinende A. renalis sichtbar wird. In Abbildung 20 ist eine Schnittebene gewählt, die das Ostium der A. renalis zeigt und den dorsal befindlichen Wirkstoff im Verlauf der A. renalis bis hin zum Eintritt in die Niere. Diese Intervention wurde mit Score 3 als exzellent beurteilt.

Score 2



Abbildung 22 Beispiele Score 2. Paclitaxelgruppe Schwein 1, koronare Ebene (links); Schwein 5 der NaCl-Gruppe, koronare Schnittbildebene (rechts). Roter Pfeil: Die Wirkstoffumspülung der rechten A. renalis (blauer Pfeil) ist nicht in ausreichendem Maße über die Gesamtlänge gegeben.

Bei der mit Score 2, gemäß unserer Definition als Umspülung des Ostium der A. renalis und Teile der A. renalis mit Injektat beschrieben, beurteilten Injektatdistribution verteilte sich der hyperdens erscheinende Wirkstoff nicht über die gesamte Länge der darin hypodens dargestellten A. renalis.

Score 1

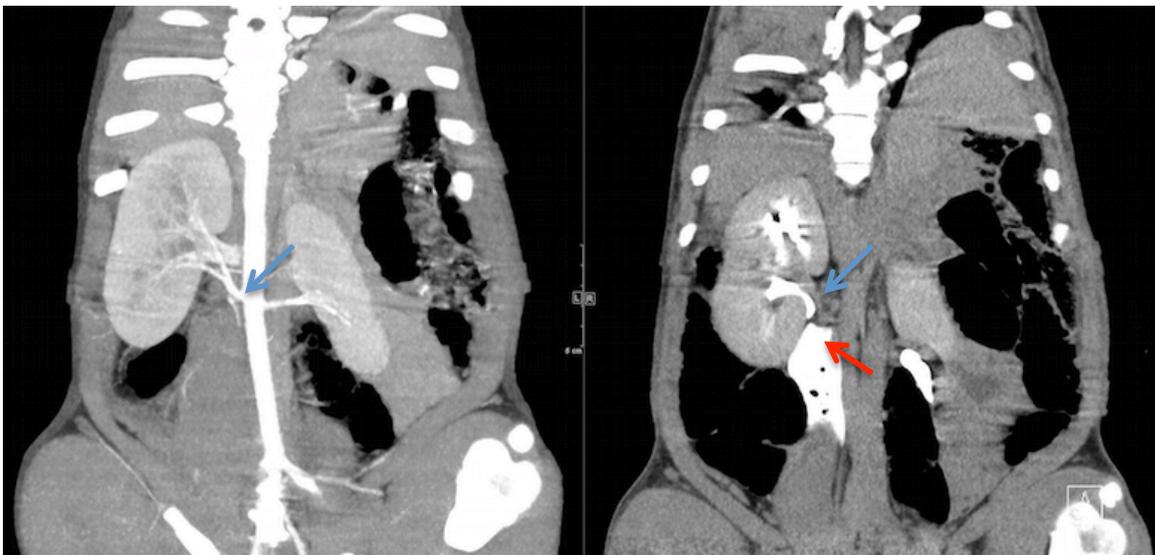


Abbildung 23 Score 1 eines Schweines unter Verwendung von Guanethidin. Links, coronares Schnittbild zur Darstellung der A. renalis (blauer Pfeil). Rechts, postinterventionelle Aufnahme. Der Wirkstoff (roter Pfeil) ist ausschließlich im caudalen Bereich von Ostium und A. renalis darstellbar. Zudem wird die A. renalis nicht gänzlich mit Injektat umschlossen. [113]

Aus dem Ergebnis des Parallelversuches unter Verwendung von Guanethidin soll die Injektatverteilung bei Score 1 dargestellt werden (Bilder mit Genehmigung von Herrn Ricardo Donners [113]; Abb. 23). Dies bedeutet, dass sowohl das Ostium der A. renalis als auch der folgende Bereich ausgespart wird. und folglich nur eine insuffiziente Wirkstoffverteilung von Guanethidin gegeben ist [113].

5.3 Sicherheit und Nebenwirkungen der Intervention

Die Intervention konnte bei allen 12 Tieren ohne Komplikationen regelgerecht durchgeführt werden. Alle Tiere überlebten sowohl den Eingriff als auch die postinterventionelle Standzeit von 2-4 Wochen. Auch die postinterventionelle Phase verlief ohne Probleme. Es mussten keinerlei Maßnahmen ergriffen werden um etwaigen Nebenwirkungen des Eingriffs entgegenzuwirken. Auch in der abschließenden computertomographischen Beurteilung des Interventionsgebietes wurden keine pathologischen, interventionsbedingten Komplikationen wie Stenosen, Hydronephrosen, Thrombosen oder ähnliches festgestellt.

5.4 Blutdruckmessung

Die Blutdruckwerte wurden je Tier zu drei festgelegten Zeitpunkten unter Vollnarkose erhoben. Dargestellte Werte stellen das arithmetische Mittel drei aufeinanderfolgender Messungen dar. Dabei wurde zwischen den Einzelmessungen eine kurze Pause von einer Minute eingehalten, um den durch die Manschette komprimierten Gefäßen eine Erholungsphase vor der folgenden Messung zu ermöglichen.

5.4.1 5M Natriumchlorid

Schwein	Blutdruck Prä in mmHg Systole/Diastole	Blutdruck Post in mmHg Systole/Diastole	Blutdruck Final in mmHg Systole/Diastole
NaCl1	141/73	139/65	149/79
NaCl2	145/43	118/60	127/29
NaCl3	131/50	128/47	139/52
NaCl4	133/57	137/69	114/51
NaCl5	142/58	123/61	136/63
NaCl6	122/43	157/73	90/47

Tabelle 5: Blutdruckwerte NaCl unter Narkose: Finalwerte niedriger als Ausgangswerte präinterventionell bei Schwein 2,4,5,6. Erhöhte Werte bei Schwein 1 & 3. (p = 0,194)

In der Natriumchloridgruppe zeigt sich bei den narkotisierten Schweinen kein einheitlicher Blutdruckverlauf von der präinterventionellen bis zur finalen Messung (Tab. 5). Bei der Auswertung der Blutdruckmessungen zeigt sich, dass in der Natriumchloridgruppe 4 Tiere (Tier 2, 4, 5, 6) einen gesenkten systolischen Wert am Finaltag im Vergleich zum Ausgangswert vor der Behandlung zeigen. Die Differenz beträgt dabei systolisch bei Schwein NaCl2 18 mmHg, Schwein NaCl4 19 mmHg, Schwein NaCl5 6 mmHg und Schwein NaCl6 32 mmHg. Die Mediane des systolischen und diastolischen BD unterscheiden sich präinterventionell (137/53,5 mmHg), postinterventionell (196,5/63 mmHg) und final (131,5/51,5 mmHg) jedoch nicht signifikant.

5.4.2 Paclitaxel

Schwein	Blutdruck Prä in mmHg Systole/Diastole	Blutdruck Post in mmHg Systole/Diastole	Blutdruck Final mmHg Systole/Diastole
P1	94/35	107/36	92/42
P2	89/36	101/33	99/43
P3	91/40	86/46	113/48
P4	85/45	117/66	105/55
P5	91/31	103/49	105/73
P6	105/42	153/69	89/43

Tabelle 6: Auswertung BD Paclitaxelgruppe unter Narkose: Senkung Final im Vergleich zum Ausgangswert bei Schwein P1 und P6. Keine Senkung bei P2, P3, P4 und P5. Erhöhte Blutdruckwerte unmittelbar nach der Intervention bei Schwein P1, P2, P4, P5, P6. Gepaarter T-Test bzgl syst. BD prä und Final ($p = 0,235$)

In der Paclitaxelgruppe zeigt der Blutdruckverlauf ebenfalls keine einheitliche Tendenz (Tab. 6). Von den 6 behandelten Tieren zeigten nur zwei Tiere einen Blutdruckabfall am Finaltag im Vergleich zum präinterventionellen Ausgangswert. Schwein P6 der Paclitaxelgruppe zeigt einen Abfall des systolischen Wertes um 16 mmHg, Schwein P1 um 2 mmHg. Fünf Tiere zeigen erhöhte Blutdruckwerte unmittelbar nach der Intervention. Bei zwei Drittel der Gruppe, also 4 Tieren (Schweine P2, P3, P4, P5) kann kein Abfall des Blutdrucks gemessen werden. Die Mediane des systolischen und diastolischen BD unterscheiden sich präinterventionell (91/38 mmHg), postinterventionell (105/47,5 mmHg) und final (102/45,5 mmHg) nicht signifikant.

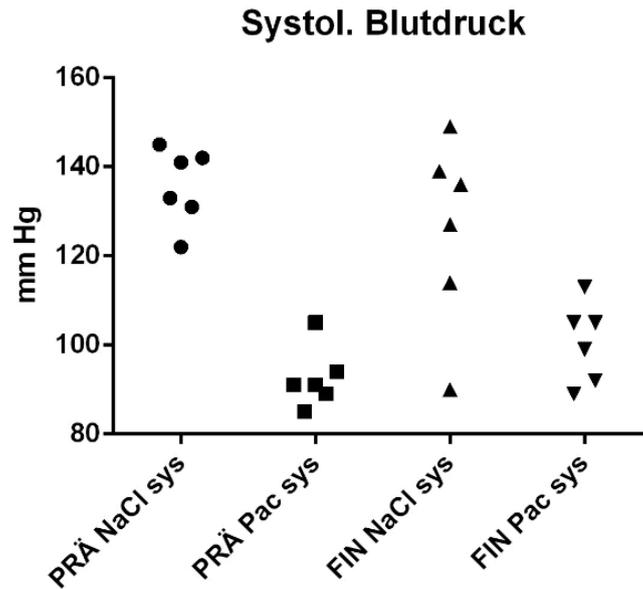


Abbildung 24: Punktediagramm der systolischen Blutdruckwerte vor dem Eingriff und am Tag der Euthanasie. Die Y-Achse gibt den Blutdruckwert in mmHg an. Die X-Achse kennzeichnet die zwei Versuchsgruppen, aufgeteilt nach Messzeitpunkt

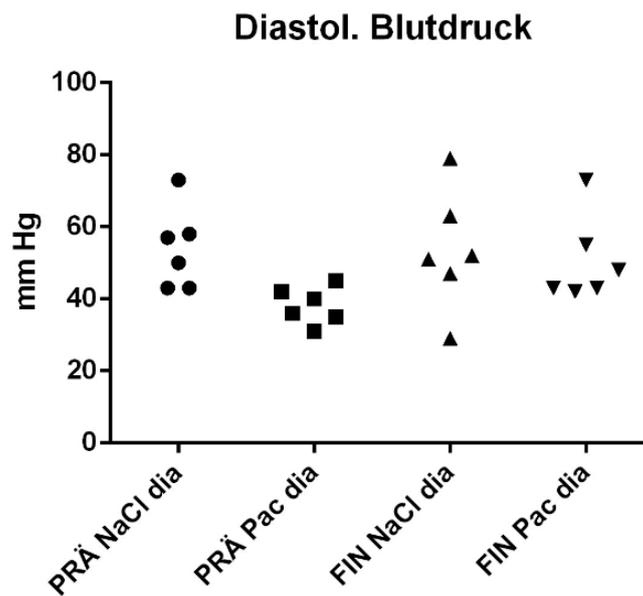


Abbildung 25: Punktediagramm der diastolischen Blutdruckwerte vor dem Eingriff und am Tag der Euthanasie. Die Y-Achse gibt den Blutdruckwert in mmHg an. Die X-Achse kennzeichnet die zwei Versuchsgruppen, aufgeteilt nach Messzeitpunkt

In Abbildung 24 und 25 zeigt sich in der 5 M NaCl – Gruppe ein p-Wert von $p = 0,1944$ für die systolischen und $p = 0,8828$ für die diastolischen Werte vergleichend für die erste und letzte Messung. Das Signifikanzniveau liegt bei $p = < 0,05$. Ähnlich verhält es sich auch mit der Paclitaxelgruppe. Hier wurde der Unterschied der systolischen Messwerte mit $p = 0,2354$ und die der diastolischen Werte mit $p = 0,0927$ bewertet.

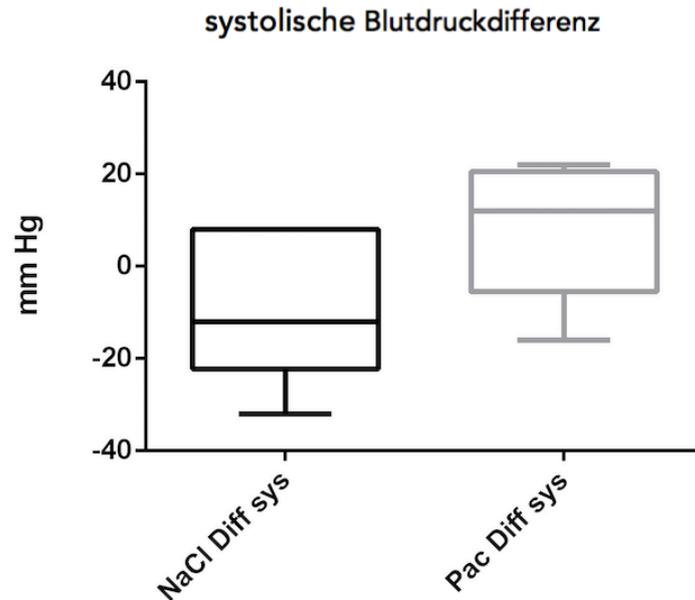


Abbildung 26: Boxplot zur Darstellung der systolischen Blutdruckdifferenz zwischen präinterventionalem und finalem Messwert.

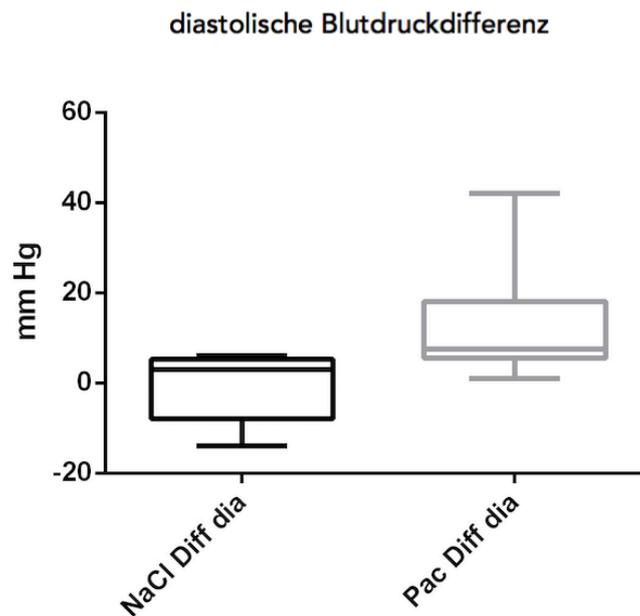


Abbildung 27: Boxplot zur Darstellung der diastolischen Blutdruckdifferenz zwischen präinterventionalem und finalem Messwert.

In Abbildung 26 und 27 wird die Differenz der präinterventionalen und finalen Blutdruckmesswerte mittels Boxplot dargestellt. Bei den systolischen Werten erfolgte in der 5M – NaCl Gruppe eine durchschnittliche systolische Blutdruckabsenkung um 12 mmHg, während in der Paclitaxelgruppe eine durchschnittliche Anhebung um 12 mmHg auftrat. Hier zeigt sich eine signifikante Differenz mit $p = 0,0368$. Auch in der Paclitaxelgruppe konnte ein signifikanter Unterschied mit $p = 0,0216$ beobachtet werden.

5.5 Noradrenalinmessung

In Tabelle 7 und 8 werden die Noradrenalinwerte der beiden Versuchsgruppen dargestellt. Es sind die Werte der behandelten und unbehandelten Seite sowie die relative Differenz beider Seiten dargestellt. Drei von 6 der untersuchten Tiere der Paclitaxelgruppe sowie 2 von 6 Tieren der Natriumchloridgruppe zeigten einen Abfall der NA-Konzentration der behandelten Seite, die restlichen Tiere jeweils einen Anstieg.

5.5.1 5M Natriumchlorid

Schwein	behandelte Seite	behandelte Niere (ng/g)	unbehandelte Niere (ng/g)	relative Differenz %
NaCl1	rechts	288,2	654,9	-55,8
NaCl2	rechts	253,5	107,5	57,6
NaCl3	rechts	193,5	153,0	20,9
NaCl4	rechts	300,0	262,0	12,7
NaCl5	links	153,0	187,5	-18,4
NaCl6	links	280,5	261,0	6,7

Tabelle 7: NoradrenalinKonzentration der behandelten und unbehandelten Seite im Vergleich. Differenz der Werte zueinander in Prozent. Gesenkter NA-Wert bei Schwein 1 und Schwein 5. Kein Erfolg bei Schwein 2,3,4 und 6.

5.5.2 Paclitaxel

Schwein	behandelte Seite	behandelte Niere ng/g	unbehandelte Niere ng/g	relative Differenz %
P1	rechts	195,0	537,0	-63,7
P2	links	793,5	607,5	23,4
P3	rechts	117,3	234,0	-49,9
P4	links	259,5	193,5	25,4
P5	links	598,5	453,0	24,3
P6	rechts	142,5	179,1	-20,4

Tabelle 8: NoradrenalinKonzentration der behandelten und unbehandelten Seite im Vergleich. Differenz der Werte zueinander in Prozent. Erfolgreiche Senkung des NA-Gehaltes bei Schwein P1, P3 und P6. Kein Erfolg bei Tier P2, P4, P5.

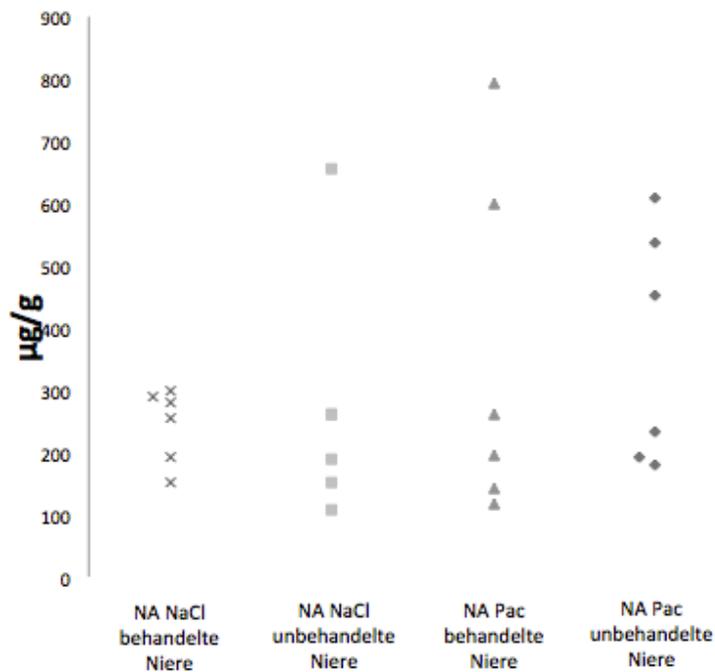


Abbildung 28 : Noradrenalinwerte der unbehandelten und behandelten Niere aller Tiere beider Gruppen

In Abbildung 28 sind die einzelnen Noradrenalinwerte der jeweiligen behandelten sowie unbehandelten Seite der Tiere beider Gruppen dargestellt.

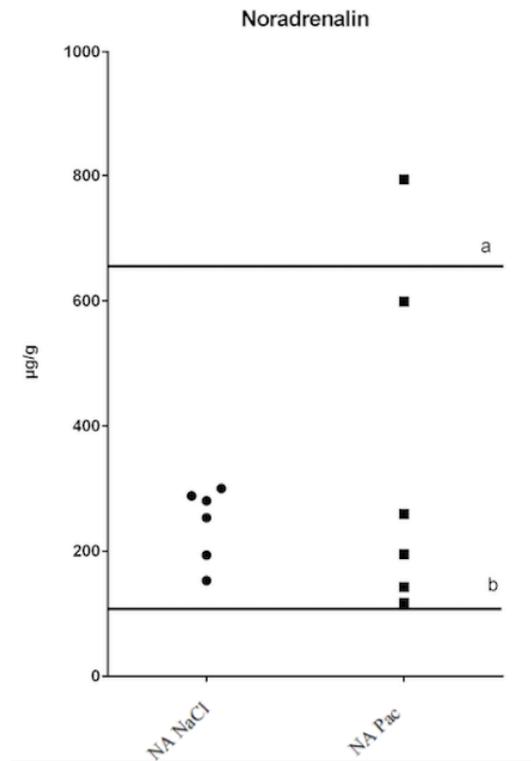


Abbildung 29 Noradrenalinwerte der behandelten Seiten beider Gruppen- Durch a und b (unbehandelte Nieren = Kontrollen) sind jeweils das obere (75) und untere (25) Percentil dargestellt

Abbildung 29 zeigt die Noradrenalinwerte der behandelten Seite beider Gruppen. Die Werte der unbehandelten Seiten legen den Referenzbereich, bestimmt durch a und b fest. Die Werte der behandelten Seiten liegen mit einer Ausnahme innerhalb des Referenzbereiches.

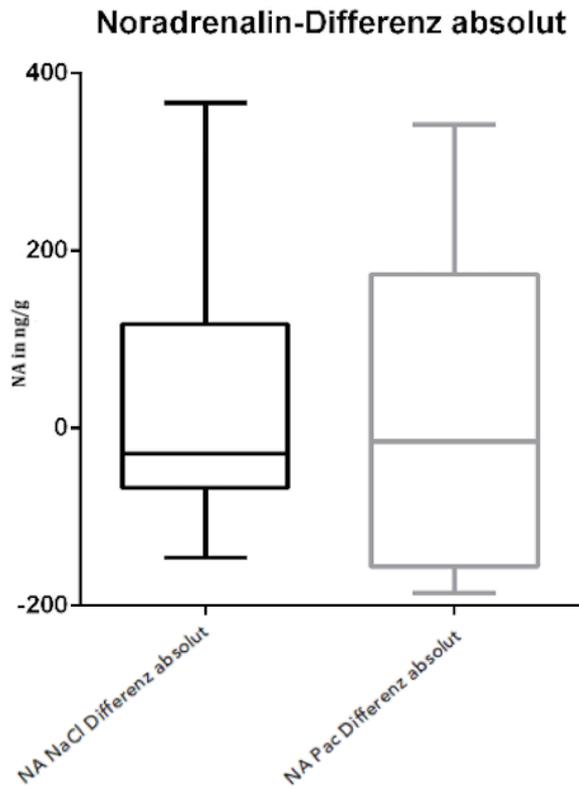


Abbildung 30: absolute Noradrenalinindifferenz der präinterventionellen und finalen Messung beider Gruppen im Vergleich

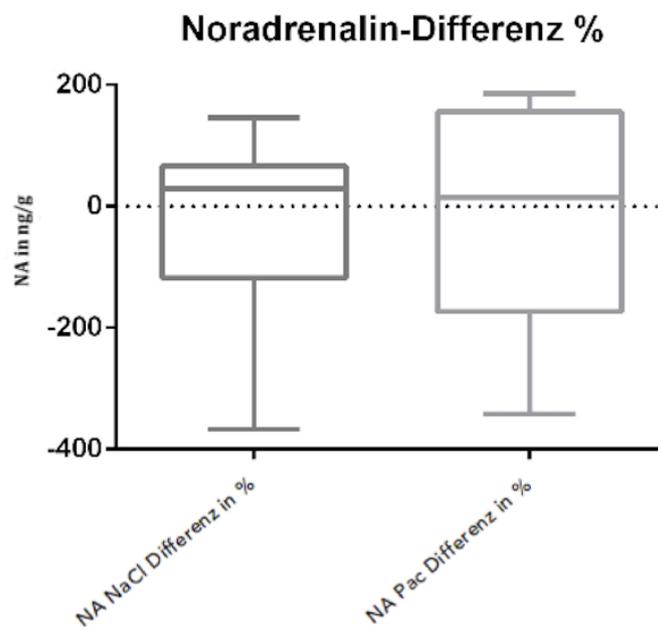


Abbildung 31: prozentuale Noradrenalinindifferenz beider Gruppen im Vergleich

Abbildung 30 und 31 stellen die Noradrenalinwerte mittels Boxplot dar. Es werden sowohl die absoluten als auch die prozentualen Differenzen dargestellt. Ein signifikanter Unterschied wurde nicht festgestellt.

5.6 Makroskopische Untersuchung

Nur ein Tier aus der Paclitaxelgruppe (Tier P1) zeigte eine Gewebeveränderung im Gebiet des Nierenhilus und der A. renalis auf der behandelten Seite (Abb. 32 und 33). In Abbildung 32 ist die retroperitoneal freigelegte und von der Nierenkapsel gelöste Niere zu sehen. Es handelt sich hierbei um die behandelte Seite des Tieres. Beim Entfernen der Nierenkapsel fiel eine deutlich derbere Masse im Bereich des Nierenhilus auf, die in direktem Kontakt zur Niere stand, wodurch die Differenzierung einzelner Strukturen erschwert wurde (Abb. 34).

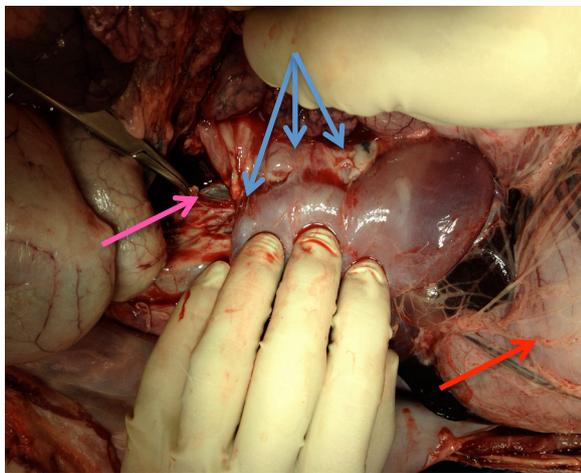


Abbildung 32 Zubildung (Tier 1 der Paclitaxelgruppe), roter Pfeil: Magen, darüber Anteile des Netzes; rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil deutet auf Bereich der Gewebereaktion hin.

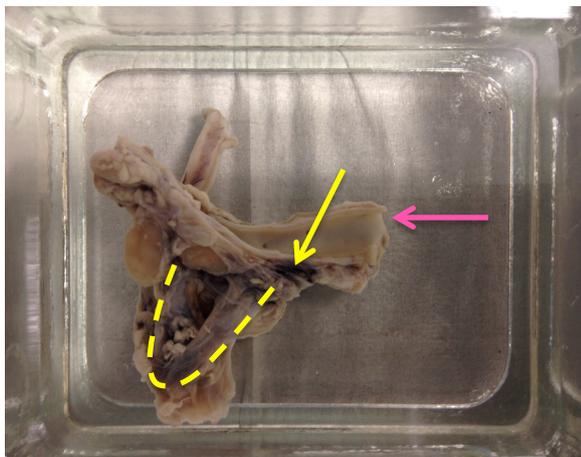


Abbildung 33 Makroskopisch unauffälliges Präparat in Formaldehyd (Vergleichend zum Präparat mit Veränderung in Abb 34); Aorta abdominalis (rosa Pfeil); gelber Pfeil deutet auf Ostium der A. renalis hin. Gelb gestrichelt deren Verlauf.

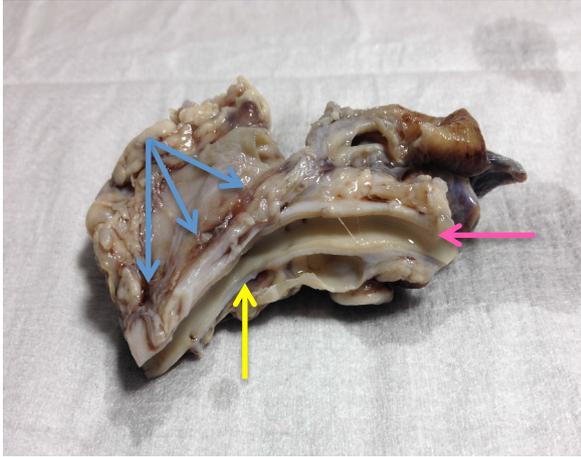


Abbildung 34 Veränderte Gewebemasse (Tier 1 der Paclitaxelgruppe), die die A.renalis komplett umgibt (blauer Pfeil). Makroskopisch kann der Verlauf der A. renalis nicht bestimmt werden. Rosa Pfeil zeigt auf das Lumen der Aorta. Gelber Pfeil deutet auf Lage des Ostiums.

5.7 Histologische Untersuchung

Bei der pathohistologischen Auswertung der Schnitte konnten weder bei der Versuchsreihe mit hochmolekularer Natriumchloridlösung noch unter Verwendung von Paclitaxel eine Schädigung der Nerven festgestellt werden (Abb. 35-37). Auch bei den Versuchstieren, deren Noradrenalinwerteveränderung einen Hinweis auf eine mögliche Denervation der sympathischen Nervenfasern zeigte, konnte dies nicht mikroskopisch belegt werden. Es konnten vereinzelt Ansammlungen von Lymphozyten beobachtet werden (Abb. 38)

5.7.1 Nerven

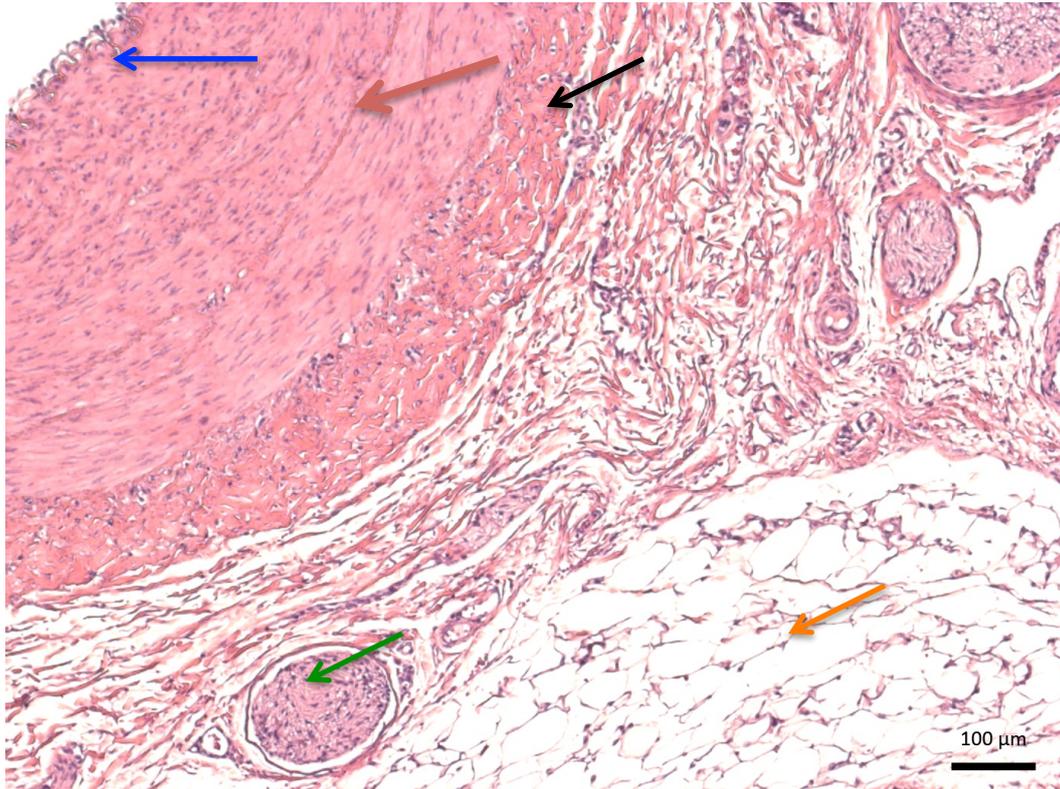


Abbildung 35: Präparat aus der Paclitaxelgruppe. Lage der Nerven um das Gefäß. Aufbau der A. renalis mit lumenseitigem Endothel auf der Intima (blauer Pfeil), Media (roter Pfeil), Adventitia (schwarzer Pfeil). Der orange Pfeil markiert Fettvakuolen; grüner Pfeil kennzeichnet intakten Nervenfaszikel

5.7.2 Intaktes Nervenfaszikel

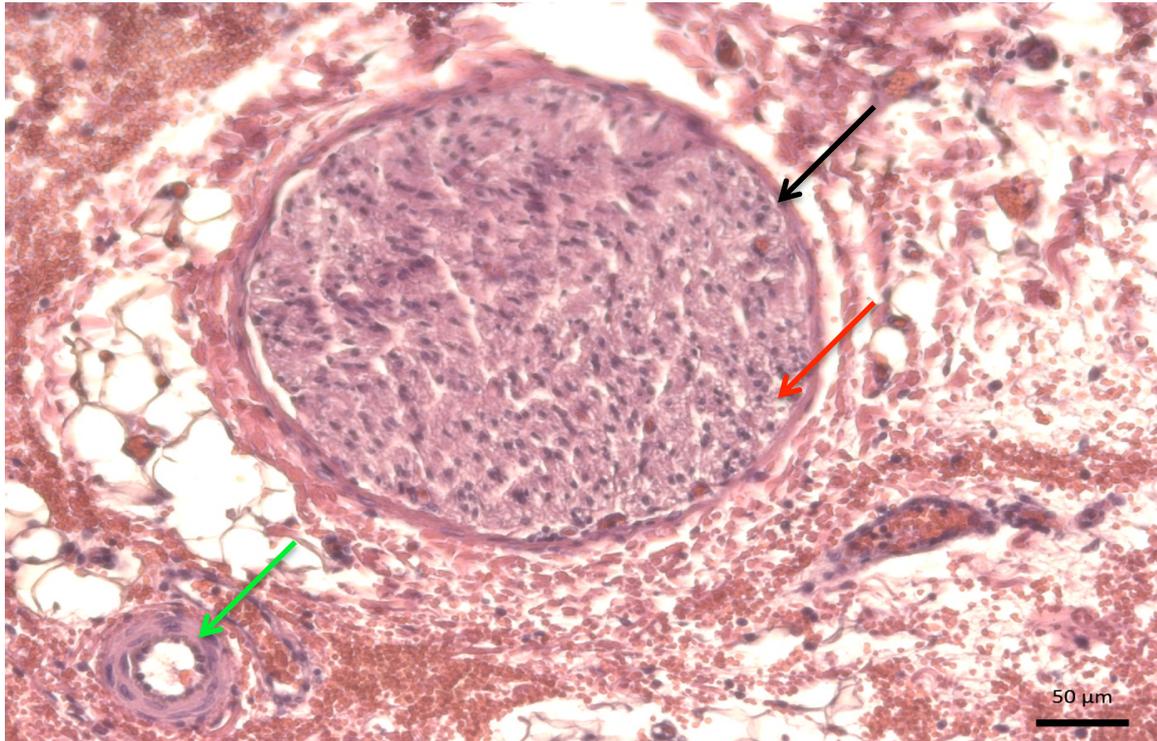


Abbildung 36: Präparat der 5M NaCl-Gruppe. HE-Färbung; Querschnitt durch ein intaktes Nervenfaszikel. Intaktes Perineurium (schwarzer Pfeil) umgibt Nerv vollständig. Grüner Pfeil kennzeichnet eine Arteriole; roter Pfeil deutet auf das Axon

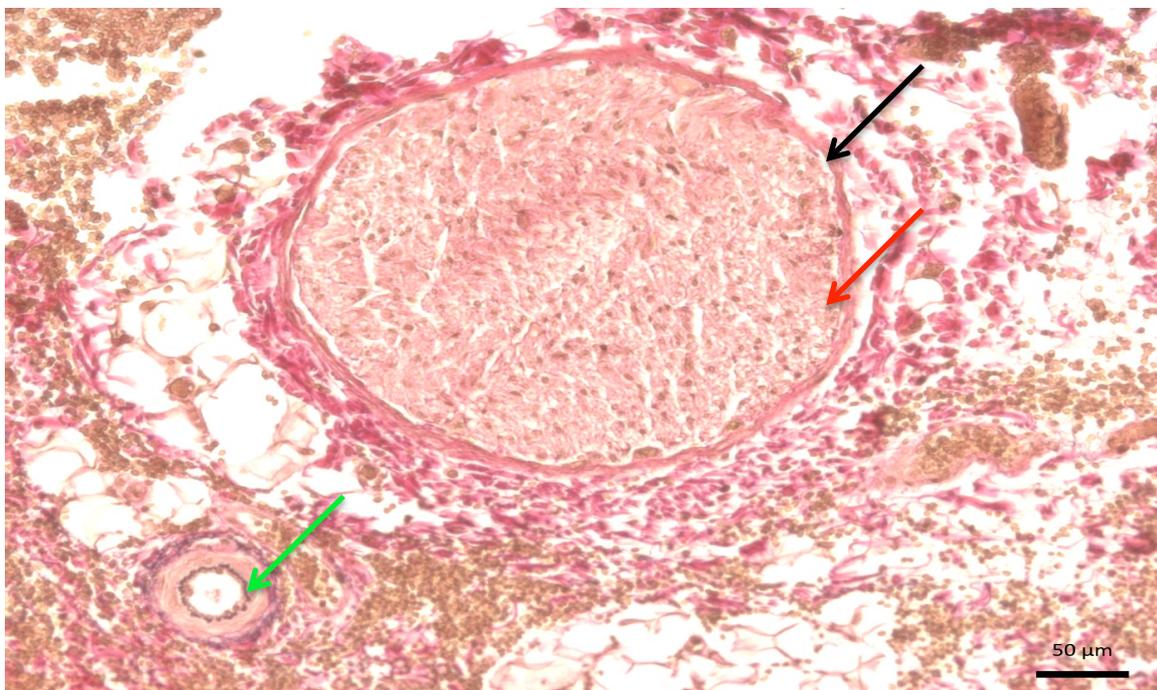


Abbildung 37: Gleiches Tier der 5M NaCl-Gruppe., EvG-Färbung; Querschnitt durch einen intakten Nerv. Intaktes Perineurium (schwarzer Pfeil) umgibt Nerv vollständig. Grüner Pfeil kennzeichnet eine Arteriole; roter Pfeil deutet auf das Axon

Die Abbildungen 36 und 37 zeigen einen Querschnitt durch eine intakte Nervenstruktur. Zum einen in der Hämatoxilin-Eosin Färbung, zum anderen in der Elastica van Gieson Färbung. Beide Schnitte zeigen das unbeschädigte Axon, das vollständig vom Perineurium umgeben ist.

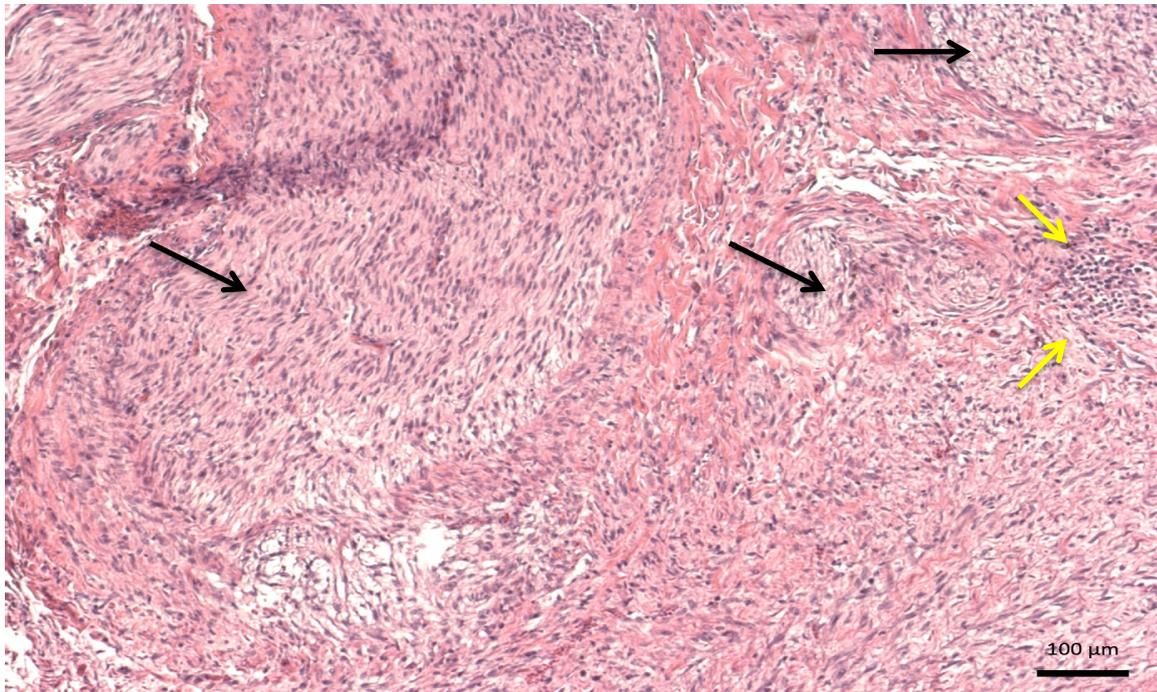


Abbildung 38: Paclitaxelgruppe. Lymphozyteninfiltrat (gelbe Pfeile) in der Umgebung der Nerven (schwarze Pfeile), HE Färbung

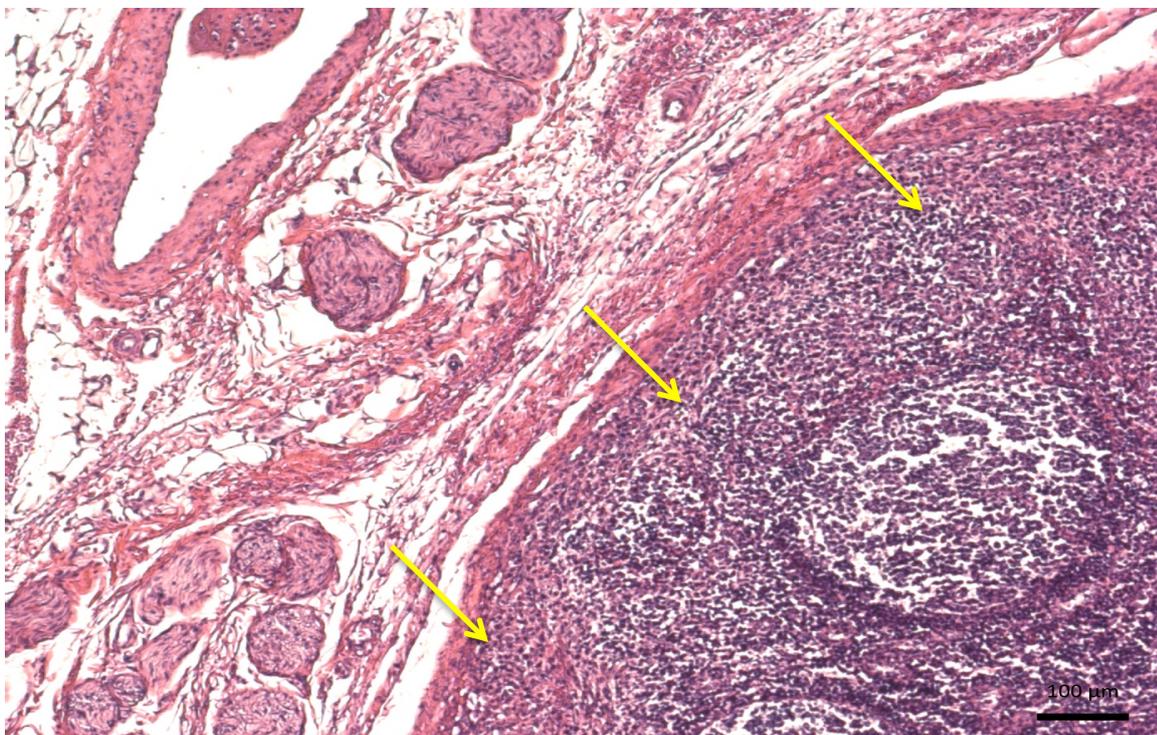


Abbildung 39: Paclitaxelgruppe. Lymphknoten mit gelbem Pfeil markiert

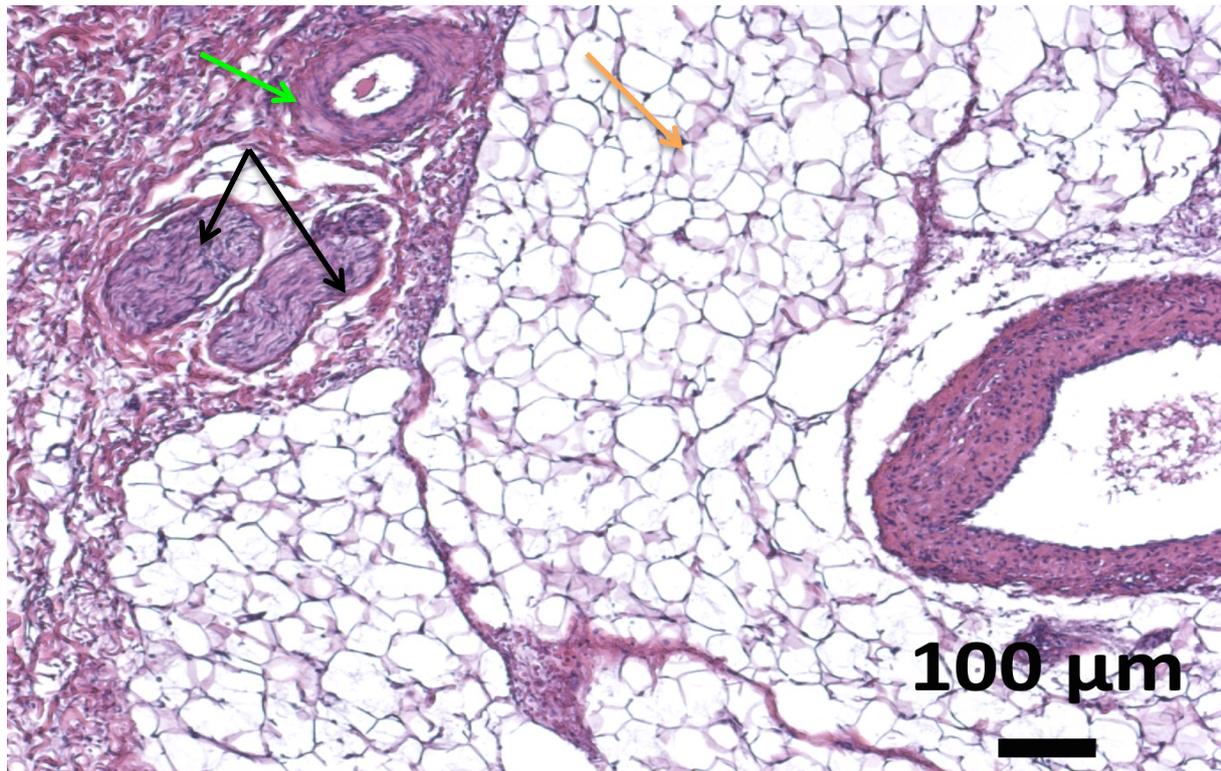


Abbildung 40: Schwein P1 der Paclitaxelgruppe. Intakte Nerven (schwarzer Pfeil), Arteriole (grüner Pfeil), und Fettvakuolen (oranger Pfeil). Das Präparat zeigt ein HE-angefärbtes Schnittbild der in Abbildung 34 makroskopisch veränderten Struktur.

Die Abbildung 40 zeigt das histologische Korrelat zu Abbildung 32 und 34 von Schwein P1 der Paclitaxelgruppe. Die Gewebsveränderung im Bereich der Nierenarterie wird histologisch als eine erhöhte Menge an Fettvakuolen identifiziert.

5.7.3 Veränderte Nervenstrukturen

In Abbildung 41 ist exemplarisch eine geschädigte Nervenstruktur einer anderen Versuchsreihe der gleichen Arbeitsgruppe (AG Streitparth – Renale Denervation) dargestellt, um den Unterschied zu den intakten Nerven dieser Dissertation darzustellen. Die Bilder sind aus der Studie zur renalen Denervation mittels Vincristin mit Genehmigung entnommen worden [113].

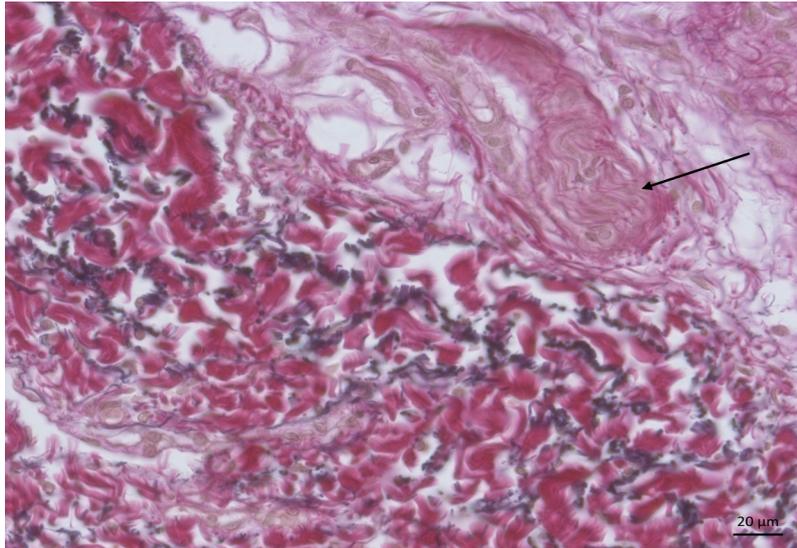


Abbildung 41 Beispiel für ein verändertes Nervenfaszikel (schwarzer Pfeil), Die Nervenstruktur ist nicht mehr eindeutig von der Umgebung abzugrenzen, das Perineurium ist nicht erkennbar. Das Bild zeigt das EvG-Präparat eines Schweines aus der Vincristingruppe nach perkutaner Behandlung [113].

5.7.4 Ureter

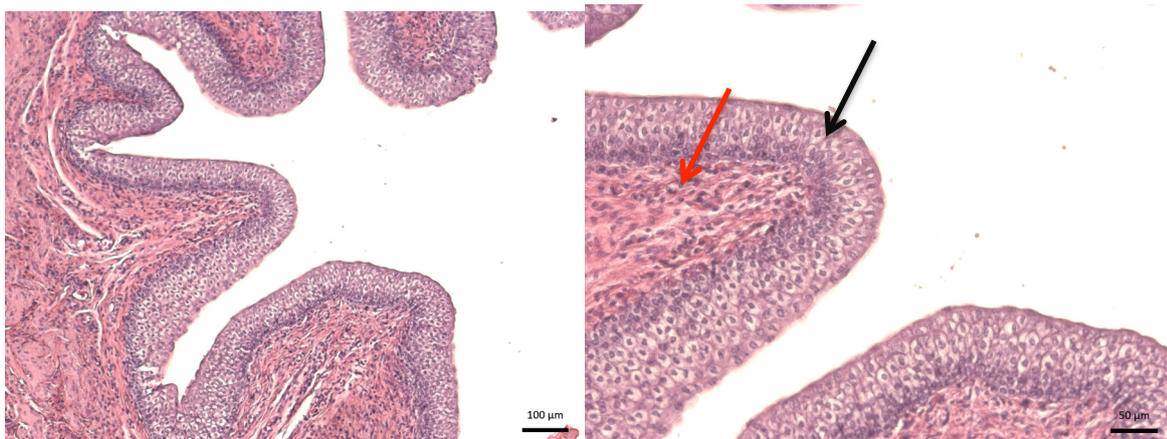


Abbildung 42 intaktes Uretergewebe, Schwein der 5 M NaCl -Gruppe

Abbildung 43 vergrößerter Ausschnitt (aus Abbildung 44) des Ureterepithels; roter Pfeil kennzeichnet die Lamina propria; schwarzer Pfeil deutet auf das lumenseitige Übergangsepithel des Ureters

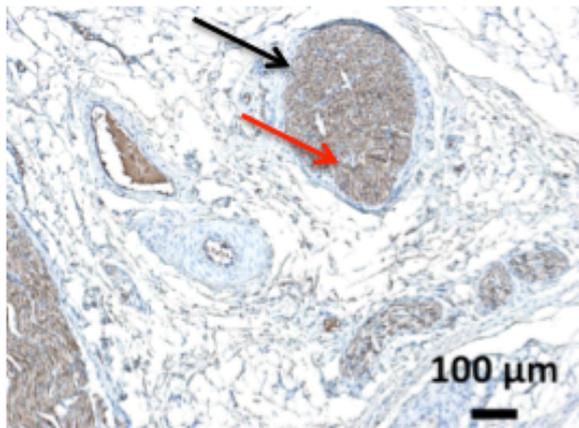
In Abbildung 42 und 43 ist der Ureter eines Schweines aus der NaCl-Versuchsgruppe stellvertretend dargestellt.

5.7.5 Immunhistochemische Färbungen

Immunhistochemische Färbungen

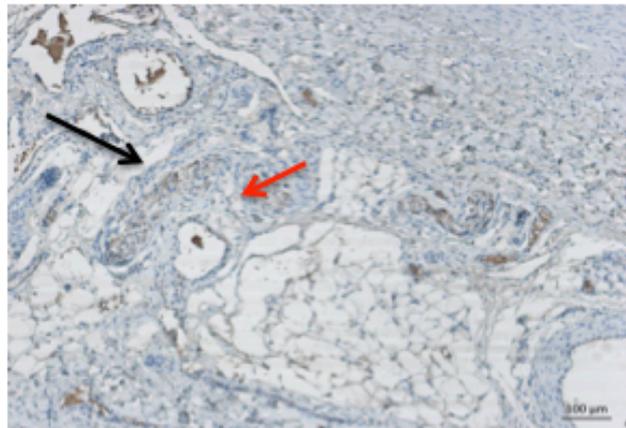
Schwein Natriumchloridgruppe

A

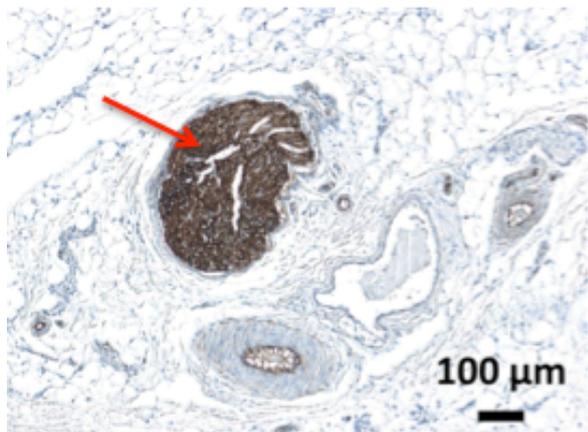


Schwein Vincristingruppe

B



C



D

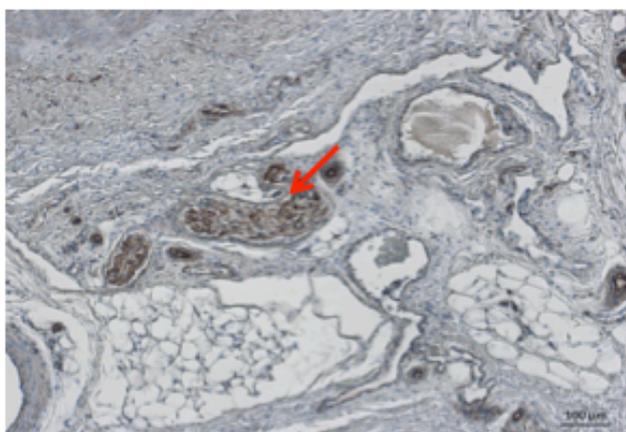


Abbildung 44 Immunhistochemische Färbungen Neurofilamentfärbung (A und B) und S100 (C und D). Linke Spalte mit histologischen Schnitten eines intakten Nerven eines Schweines der Natriumchloridgruppe (A und C) im Vergleich zu einem geschädigten Nerven eines Schweines der Vincristingruppe in der rechten Spalte (Bild B und D) [113] **zum direkten Vergleich**. In Bild A sieht man das intakte Perineurium (schwarzer Pfeil) mit den deutlich angefärbten Nervenfasern (roter Pfeil). Im Vergleich dazu in Bild B die Neurofilamentfärbung mit deutlich weniger gut angefärbten Nervenfasern (roter Pfeil) und teilweise undeutlichem Perineurium. Bild C zeigt die S100-Färbung eines intakten Nerven, der deutlich anfärbbar ist. Die Aufhellungen sind als Artefakte zu werten. Ein deutlicher Unterschied weist der geschädigte Nerv in Bild D auf [113]. Er zeigt eine aufgelockerte Struktur und eine wesentlich schwächere Anfärbung. Bilder aus der Vincristingruppe mit Genehmigung genutzt (B und D)

6 Diskussion

6.1 Studiendesign

Eine Fallzahlenbestimmung mit der Grundlage klinisch relevanter Differenzen bei den Zielgrößen dieser Studie ist in Ermangelung an Erkenntnissen vorausgegangener Studien zur chemischen Denervation im Schweinmodell nicht möglich. Die Ergebnisse bekannter Untersuchungen bei Ratten [17] sind daher nicht direkt übertragbar. Unter dem Gesichtspunkt der Effizienz einer neuen Therapiemethode, die wenigstens bei 2/3 der behandelten Tiere in den Parametern Blutdruck, Noradrenalin Gehalt des Nierenparenchyms und der Histologie des periarteriellen Nervengewebes übereinstimmt, wurde die Fallzahl von nur 6 Tieren pro Gruppe, auch aus ethischen Gründen als gerechtfertigt erachtet. Aus statistischer Sicht birgt die geringere Fallzahl das Risiko, dass einzelne weit vom Mittel abweichende Werte die Gesamtstatistik einzelner Parameter stärker beeinflussen. Eine geringere statistische Streuung erhielte man durch eine höhere Anzahl an Versuchstieren. Das Versuchstier Schwein ist auf der Grundlage anderer Studien [69, 71, 113] und wegen der anatomischen Vergleichbarkeit zum Menschen, insbesondere für die Durchführung und Sicherheit der Wirkstoffapplikation geeignet. [73] [15] [60]. Die Wahl der Wirkstoffe erschien sehr vielversprechend, da sowohl hochmolekulare Natriumchloridlösung als auch Paclitaxel im Rattenmodell bereits eine erfolgreiche Denervation verursachen konnten [17]. Wie auch in unseren Versuchen, wurden die Wirkstoffe nur einmalig lokal appliziert. Die Wahl fiel aus verschiedenen Gründen auf die letztlich getesteten Wirkstoffe. Zum einen sollten potentiell neurolytische Wirkstoffe verwendet werden, die zum Beispiel in Form ihrer beschriebenen Nebenwirkungen bereits einen neurolytischen oder neurotoxischen Charakter aufwiesen und zum anderen bereits humanmedizinisch angewandt wurden, wenn auch unter anderer Indikation. Ergänzend kam hinzu, dass diese Wirksubstanzen bereits im Rattenmodell mit gleicher Zielsetzung der erfolgreichen renalen Denervation verwendet wurden [17]. Auf diesen Erkenntnissen baute die vorliegende Studie auf, mit dem Ziel diese am Schweinmodell zu bestätigen und Ergebnisse hinsichtlich des Nutzens am Menschen gewinnen zu können. Die Verwendung eines bildgebenden Mediums ist unabdingbar zur Durchführung einer minimalinvasiven Intervention. Die Computertomographie ist fester Bestandteil des klinischen Alltags und ermöglicht durch Fluoroskopie periinterventionelle Aufnahmen in Echtzeit. Die verwendeten primären Outcomeparameter Noradrenalinwertveränderung und histologische Veränderung dienten

bereits als adäquate Messpunkte in anderen Versuchen zum Nachweis einer erfolgreichen Denervation.

Nach derzeitigem Kenntnisstand ist die beschriebene Studie die erste ihrer Art, die die perkutane periarterielle Wirkstoffapplikation der bereits beschriebenen Wirksubstanzen am Schwein zum Zweck der Denervation sympathischer Fasern der A. renalis beschreibt. Dementsprechend gab es für die Dosisfindung und Wirkstoffcharakteristika für diese Form der Applikation bzw. deren zu erwartende Wirkung keine wegweisende Literatur.

6.1.1 Versuchstiermodell

Das Schwein stellte in den vorliegenden Untersuchungen unser Versuchsmodell der Wahl dar. Vorhergehende Versuche zeigten, dass sich Schweine im Alter von ca. drei Monaten für die vorliegenden Versuche eigneten [69, 71, 113]. Unser Anliegen bestand darin die Intervention am Tier möglichst gleich dem Vorgehen beim Menschen durchzuführen. Das Ziel war es, die gewonnenen Erkenntnisse hinsichtlich Durchführbarkeit und Sicherheit auf den Menschen übertragen zu können. Das kardiovaskuläre System des Schweines, im engeren Sinne auch die Gefäßanatomie in Bezug auf Durchmesser und Morphologie [73] der Gefäße, weist große Ähnlichkeiten mit dem des Menschen (Punkt 3.4.3.1) auf wodurch die Versuche eine Prognose hinsichtlich Sicherheit und Effizienz beim Menschen erlauben.

6.1.2 Sedation und Narkose

Die Wirkstoffkombination aus Ketamin und Midazolam konnte in einer Mischspritze verabreicht werden. Dadurch musste man das Tier nur einmal spritzen und konnte den Stresslevel gering halten, um es zu sedieren. Einige erniedrigte Werte, die sich bei der Blutdruckmessung ergaben und die sich von den anderen erhobenen Werten unterschieden, könnten durch die Gabe des Benzodiazepins Midazolam erklärt werden [114]. Ketamin ist ein Anästhetikum mit analgetischem Effekt. Es besitzt eine initial blutdrucksenkende Wirkung, die dann jedoch durch Vasokonstriktion zu einem Blutdruckanstieg im Verlauf führen kann. Die Narkose wurde durch die intravenöse Gabe von Propofol aufrecht erhalten. Ein Injektionsanästhetikum wie Propofol eignet sich sehr gut zur Aufrechterhaltung der Narkose beim Schwein. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit ist es gut steuerbar und das Risiko einer etwaigen malignen Hyperthermie, zu der einige Schweinerassen unter Inhalationsanästhesie neigen, wird weitestgehend reduziert [115]. Ein maßgeblicher Vorteil von Propofol liegt in der exzitationsfreien Phase des Wirkungseintritts sowie während der Aufwachphase. Zudem

bewirkt Propofol eine ausreichende Muskelrelaxation für chirurgische Eingriffe. Da es jedoch nur unzureichend analgetisch wirkt, ist die zusätzliche Verwendung von Ketamin oder Fentanyl bei schmerzhaften Eingriffen unabdingbar [115]. Wie bereits erwähnt bietet Propofol den Vorteil einer schnellen Aufwachphase. Dadurch erlangen die herzkreislaufsensiblen Tiere schneller wieder ihre Geh- und Stehfähigkeit. Interventionsbegleitend wurde den Tieren Fentanyl über den Venenzugang appliziert. Fentanyl ist ein synthetisches Opiod mit einem vielfach höheren analgetischem Effekt im Vergleich zu Morphin. Es besitzt einen schnellen Wirkungseintritt, der jedoch nur von kurzer Dauer ist. Auch Fentanyl kann einen Blutdruckabfall bewirken. Ebenso können Atemdepressionen auftreten. In der Tiermedizin wird Fentanyl beim Schwein in Kombination mit dem bereits beschriebenen Propofol als Dauertropfinfusion angewandt [115].

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Bewertung der Blutdruckmessungen

Die Erhebung der Blutdruckwerte diente in dieser Studie als ein ergänzender Messwert, jedoch nicht als primärer Outcome-Parameter, da die Intervention nur unilateral durchgeführt wurde. Aufgrund dessen konnte nicht davon ausgegangen werden, dass der Blutdruck tatsächlich abfällt oder im Verlauf eine signifikante Veränderung aufweist. Als Versuchstiere dienten zudem ca. drei Monate alte, gesunde und normotone Hausschweine. Gemessen wurde der Blutdruck oszillometrisch zu den bereits beschriebenen drei Zeitpunkten unter Sedation. Da diese Einfluss auf den Blutdruck nimmt [114], wäre eine Erhebung am wachen Tier wünschenswert, ist jedoch am Schwein nicht durchführbar, da die Tiere trotz ihrer neugierigen und zutraulichen Art sehr stressempfindlich sind. Es ist bekannt, dass eine Narkose das Herz, Blutgefäße und die reflexgesteuerte Kontrolle des Blutkreislaufes beeinflusst. Dementsprechend ist die Aussagekraft einer Messung des arteriellen Blutdrucks unter Sedation zu werten [116]. Die Auswertung der Daten beider Gruppen ergab zum Teil (Abb. 26 und Abb. 27) zwar einen signifikanten Unterschied (Punkt 5.4), jedoch gilt zu beachten, dass im intakten Organismus eine Niere den Funktionsausfall der zweiten Niere übernehmen würde.

Ein bedeutender Unterschied zur Intervention am Menschen ist die unilaterale renale Denervation im Schweinmodell. Auf Grund dessen sind die Messungen unserer Versuche nicht mit denen am Menschen unmittelbar zu vergleichen.

6.2.2 Bewertung der Noradrenalinwerte

Die Messung des Katecholamins Noradrenalin im Nierenparenchym diente dem Nachweis einer erfolgreichen Denervation, da der Noradrenalingehalt die Aktivität des Sympathikus widerspiegelt. Wie in vorhergehenden Versuchen galt auch hier ein erniedrigter NA-Wert als Hinweis auf eine effektive und effiziente Intervention.

Insgesamt fällt auf, dass die Spannweite gemessener Werte recht groß ist. In der Natriumchloridgruppe liegt sie zwischen 153 – 300 ng/g der behandelten und 107,5 – 655 ng/g der unbehandelten Organseite. Die Spannweite der Messwerte der Paclitaxelgruppe stellt sich mit 117,3 – 598,5 ng/g in der Gruppe der behandelten Seite und Werten von 179 – 607,5 ng/g in der unbehandelten Seite, ähnlich dar. Im Vergleich dazu zeigten Tiere dieser Studie im Versuchsarm mit Vincristin Werte der behandelten Seite von 170 – 298,5 ng/g und der unbehandelten Seite von 390 – 696 ng/g. Ein weiterer Studienarm mit Guanethidin zeigt Werte von 121,05 – 362 ng/g der behandelten Seite bzw. 128,86 – 306,76 ng/g der unbehandelten Seite [113]. Eine vorherige Studie unter Verwendung hochfrequenter Ultraschallenergie (HIFUS), die Schweine des gleichen Zulieferers nutzte und deren Noradrenalinwerte im gleichen Institut unter identischer Methode bestimmt wurden, zeigte Werte von 267 – 575,8 ng/g der behandelten Seite und 270,5 – 658,5 der unbehandelten Seite der Tiere. Die Unterschiede sind möglicher Weise durch eine unterschiedliche Zeitspanne zwischen Euthanasie und Nierenentnahme sowie in der Lagerung zu vermuten [58]. Eine weitere Studie durch beschreibt die NA - Konzentration der mit 10 ml Ethanol behandelten Tiere mit 254 ± 176 ng/g gegenüber der unbehandelten Seite (536 ± 312 ng/g) mit einen Abfall um 53% [71]. Warum bei einigen Messgruppen die Werte eine bestimmte Streuweite haben, bzw. zum Teil grundsätzlich höhere Werte innerhalb einer Gruppe im Vergleich zu einer anderen Messgruppe aufweisen, bleibt fraglich. Die Prozedur der Entnahme, die verwendete Ameisensäure und genutzte Materialien, so zum Beispiel die Waage zur Ermittlung des Nierengewichtes und die Messeinheiten zur Bestimmung der nötigen Menge an Ameisensäure in ml blieben stets gleich. Auch das Messverfahren im externen Labor unterlag der selben Methodik sowie dem selben Analytiker. Eine Erhebung der NA-Werte im Nierenparenchym einer Versuchsgruppe (Versuchsanstalt Rottmersleben) bestehend aus elf unbehandelten Tiere ergab eine Streuung zwischen rechter und linker Niere. Die Differenz beider Seiten betrug 13,8 %. Die Abweichungen lagen zwischen 4,8% bis 34,6% (Mitteilung, U. Speck, InnoRa GmbH, Berlin) [113]. Die Messungen wurden ebenfalls mittels HPLC durchgeführt.

6.2.3 Bewertung histologischer Ergebnisse

Die Auswertung der histologischen Schnitte zeigte, dass die Anwendung von hochmolarer Natriumchloridlösung beziehungsweise Paclitaxel in den zuvor beschriebenen Dosen und nach bereits erläuterter Methode keine sichtbaren pathologischen Einflüsse auf die Nerven mit sich brachte. Einzig bei einem Tier (Tier P1) konnte eine makroskopische Veränderung beobachtet werden, die sich histologisch als eine Ansammlung von Fettzellen darstellte. Dieses Tier zeigte jedoch keinen Abfall des NA – Wertes. Bei der auffälligen Niere handelte es sich um die behandelte Seite. Worauf die Veränderung zurückzuführen ist, konnte nicht geklärt werden. In Abbildung 38 sind Lymphozyten zu sehen, die nah den Nerven zu finden sind. Dies könnte als Hinweis für eine körpereigene Reaktion auf den Untergang von Zellen zu verstehen sein. Eine sympathische Denervation konnte jedoch auch bei diesem Versuchstier nicht nachgewiesen werden. Die Präparate wurden mittels HE gefärbt. Da sich eine potentielle Nervenschädigung gut durch den Nachweis von Kollagenfasern darstellen lässt, wählten wir neben der HE - auch die EvG - Färbung. Da einige Tiere erniedrigte NA-Werte jedoch keine eindeutigen sichtbaren Veränderungen in den korrelierenden HE - und EvG - Färbungen zeigten, wurden stichprobenartig ergänzende Färbungen angefertigt. Dabei handelte es sich um die immunhistochemischen Färbungen S100 und die Neurofilamentfärbung. Die S100 Färbung macht die Schwann'schen Zellen kenntlich und zeigt einen deutlichen Kontrast zur Umgebung bei einem intakten Nerven. Ist der Nerv geschädigt, wird dieser deutlich weniger kontrastiert (Punkt 5.7.5). Laut Pathoneurologen korreliert eine visuell nachweisbare Veränderung jedoch nicht zwangsläufig mit einem funktionalem Ausfall. Dazu wäre eine weitere Färbung (Enzymfärbung) eine ergänzende Möglichkeit. Jedoch bedarf diese einer strikten Einhaltung von zeitlichen Abläufen, die durch die räumlichen Gegebenheiten nicht minutiös gewährleistet werden konnte. Zeitliche Verzögerungen können jedoch Artefakte hervorrufen, die eine vergleichbare Beurteilung erschweren würden. Eine Beurteilung von Frischgewebe kam daher für unsere Versuchsgruppe nicht in Frage, sodass die Entscheidung auf formalinfixierte und paraffinierte Proben mit anschließender Färbung fiel. Zudem sollte die Sensitivität der genannten Färbungen ausreichen um eine eventuelle Schädigung nachzuweisen. Dies konnte anhand des Wirkstoffes Vincristin, welcher dem gleichen Versuchsaufbau unterlag, gezeigt werden [113]. Auch nach der periarteriellen Applikation von 10 ml hochprozentigem Ethanol konnte in der histologischen Untersuchung festgestellt werden, dass eine Schädigung der Nerven stattgefunden hatte. Dies wurde anhand von peri- und endonuralen Fibrosen nachgewiesen. Es konnte gezeigt werden, dass durch die EvG-Färbung sichtbar gemachte

Kollagenfasern zum Teil aus dem umliegenden Gewebe in die Nervenstruktur selbst hineinzogen. Auch eine Verdickung des Perineuriums sowie eine milde Lymphozyteninfiltration als Reaktion auf ein entzündliches Geschehen konnten aufgezeigt werden [71]. Unter Verwendung von Paclitaxel und hochmolarer Natriumchloridlösung zeigten sich hingegen die untersuchten Nerven in intaktem Zustand. In vorangegangenen Publikationen galt als Kriterium einer erfolgreichen Denervation die histologische Abwesenheit sichtbarer Nervenfaszikel 28 Tage nach der Intervention [75]. Die Nervenfaszikel waren in der Regel durch ein gleichmäßiges und deutlich darstellbares Perineurium umgeben. Auch Gewebereaktionen oder fibrotische Veränderungen, wie sie durch die EvG-Färbung dargestellt werden könnten, blieben aus. Abweichungen waren auf Artefakte zurückzuführen. Auch die histologische Auswertung der Ureteren und der Aorten blieb ohne Anzeichen. Es konnten bei keinem Schwein bei der Untersuchung der Ureter im Rahmen der makroskopischen oder histologischen Untersuchung im Bereich der Lamina propria oder im Bereich des Übergangsepithels pathologische Veränderungen festgestellt werden.

In der Versuchsgruppe mit Paclitaxel wurden insgesamt 119 Präparate gefertigt, aus denen 316 histologische Schnittbilder angefertigt und beurteilt wurden. Im Fall der Natriumchloridgruppe wurden 171 Präparate gefertigt. Daraus gingen insgesamt 593 Feinschnitte hervor, die gefärbt und ausgewertet wurden. Aufgrund der angefertigten Menge und im Falle der EvG-Färbung spezifischen Anfärbung, ist eine unentdeckte wesentliche Schädigung eines Nerven unwahrscheinlich.

6.2.4 Technische Durchführbarkeit der CT-gestützten perkutanen, periarteriellen Intervention

Die Hilfestellung durch die Bildgebung ist essentiell für einen erfolgreichen minimalinvasiven Eingriff. Zwar sind sowohl der Patient als auch der behandelnde Arzt einer Strahlung ausgesetzt. Aus Sicht des Patienten überwiegt hier jedoch der Vorteil hinsichtlich Notwendigkeit und Sicherheit durch das CT. Bei allen 12 Tieren konnten die Nierenarterien sehr gut dargestellt und die Injektionsnadel entsprechend positioniert werden. Auch postinterventionell konnte die Wirkstoffverteilung gut beurteilt werden. Nach entsprechender Standzeit wurden letztmalig CT-Aufnahmen für eine Beurteilung hinsichtlich möglicher pathologischer Folgen des Eingriffs angefertigt. Das Hauptaugenmerk galt den Ureteren,

Veränderungen der Anatomie der Nieren und Nierengefäßen sowie möglicher Dissektionen, Stenosen-, oder Zystenbildung.

Aus anatomischer Perspektive haben Untersuchungen gezeigt, dass die Nervenfasern einem Verteilungsmuster folgen (Punkt 3.4.3.1). Die durch uns festgelegte Scoreeinteilung, die den Interventionserfolg beurteilt, orientiert sich an diesen Erkenntnissen. Da durch den perkutanen Zugangsweg der Wirkstoff von außen an des Gefäß abgegeben wird und die Nervenfasern am Ostium oberflächlicher verlaufen, ist dieser Bereich unser primärer Zielbereich und rückt dementsprechend in den Fokus bei der Festlegung der Scorepunkte. In beiden Gruppen wurden 4 der 6 Tiere mit Score 3 gewertet, die Verbliebenen mit Score 2. Daraus ergibt sich im Mittel ein Score von 2,7. Der Erfolg der Applikation wurde anhand einer Scoreeinteilung durch zwei Radiologen beurteilt.

6.3 Vergleich zu katheterbasierten Denervationsverfahren

Die Katheter werden über einen einzigen Zugang, der in der A. femoralis oder A. radialis liegt in den Körper des Menschen eingeleitet. Im Falle der perkutanen Wirkstoffapplikation erfolgt der Zugang von dorsal in den retroperitonealen Raum über eine starre Nadel und wird nicht durch die Arterienwand hindurch an die Nerven gebracht. In der Anwendung am Menschen würden entsprechend der Lage der Organe zwei Zugänge von Nöten sein. Im Vergleich benötigt man zur perkutanen Applikation ein höheres Wirkstoffvolumen.

Sicherheit und Patientenkollektiv

In Punkto Sicherheit zeigen sich Vorteile der perkutanen Applikation gegenüber dem endovaskulären Kathetereinsatz. Theoretisch kann durch eine lokale Applikation eine hohe Wirkstoffdosis ohne größere systemische Nebenwirkung direkt an den angedachten Zielort appliziert werden [83]. Den bisher eingesetzten Kathetern ist gleich, dass sie Endothelschäden verursachen können. Um das Thromboserisiko zu minimieren wird eine Heparinisierung und Verwendung eines Thrombozytenaggregationshemmers empfohlen [4]. Darauf kann bei perkutaner Applikation verzichtet werden.

In einer Studie wurden mögliche Komplikationen katheterbasierter RFA mittels Simplicity® Katheter und EnligHTN™ Katheter beurteilt. Über tomographiebasierte visuelle Beurteilung vor und nach dem Eingriff wurden mögliche verfahrensbedingte Veränderungen und Komplikationen erfasst. Es wurde auf Vasospasmus, Gefäßwandödeme, Gefäßeinschnitte sowie Thromben hin untersucht. Bei 42% der behandelten Gefäße konnten Vasospasmen nach

dem Eingriff beobachtet werden . Bei allen mit dem Simplicity® Katheter behandelten Patienten zeigten sich Endothel - Intima - Ödeme sowie bei 89% der mittels EnligHTN™ Katheter behandelten Patienten. Die Anwesenheit von Thromben war nach einer RFA um das achtfache erhöht, wobei der größere Anteil auf die Behandlung mit dem EnligHTN™ - Katheter zurückzuführen ist.. Zudem wurden Endothelablösungen und Gefäßwandunterbrechungen (Simplicity® Katheter) festgestellt. Aufgrund des erhöhten Thrombenaufkommens im Zuge der Behandlung mit den beschriebenen Systemen kommt eine prä- und postinterventionelle Antikoagulationstherapie in Betracht [63]. Desweiteren wurden periinterventionelle Bradykardie, postinterventionelle Pseudoaneurysmen der A. femoralis, Nierenarterien-dissektion, bedingt durch Einführen des Katheters, sowie Progression einer präexistenten Nierenarterienstenose [18] nachgewiesen. Nach der perkutanen Gabe von Ethanol wurde nach 4-wöchiger Standzeit in der postinterventionellen MRT-Kontrolle bei einem der Tiere eine Hydronephrose festgestellt. Diese wurde vermutlich durch eine Sklerosierung des entsprechenden Ureters bedingt [71]. Nebenwirkungen, die den lumenseitigen Bereich der Gefäße betreffen, sind durch das perkutane Verfahren nicht zu erwarten, da es keine unmittelbaren Verletzungen des Gefäßes provoziert und dadurch die Bildung von Neointima verhindert. Ebenso reduziert sich das Risiko einer Thrombenbildung [117]. Alle durchgeführten perkutanen Interventionen wurden seitens der Schweine sehr gut vertragen. Durch Paclitaxel könnte neben einer möglichen Histaminfreisetzung durch Cremophor® EL auch eine Gefäßerweiterung, Blutdruckabfall und Brustschmerzen verursacht werden. In der Humanmedizin wird insbesondere auf Grund der Histaminfreisetzung prophylaktisch ein Antihistaminikum verabreicht [85]. In der postinterventionellen Phase konnten keine Auffälligkeiten festgestellt werden, die Rückschlüsse auf verfahrensbedingte Komplikationen zuließen. Es ist denkbar, dass die Intervention am Menschen keiner Narkose sondern nur lokaler Anästhesie bedarf. Dadurch entfällt das Risiko einer Narkose und schließt gegebenenfalls auch Patienten ein, die sonst einem erhöhten Risiko unterliegen. Ein potentiell Risiko unter Verwendung der starren Nadel liegt in der Verletzung von Strukturen, die im Bereich des Applikationsfeldes liegen.

Medikamente

Im Fall des endovaskulären Ultraschalls wurde Heparin verabreicht um die Blutgerinnungszeit zu erhöhen. Zudem wurde während des Eingriffs ein Analgetikum sowie Sedativum verabreicht. Eine Anästhesie war nicht nötig. Zusätzlich erhielten die Patienten eine Injektion eines krampflösenden und gefäßerweiternden Mittels in jede der Arterien vor dem Einsatz des

Ultraschalls. Im Anschluß an die Behandlung erhielten die Studienteilnehmer täglich eine Dosis von 100 mg Aspirin [33]. Unter Verwendung der RFA ist ebenfalls der Einsatz von Schmerzmitteln nötig, da die Patienten periinterventionell ein deutliches Schmerzempfinden zeigen. Während des Eingriffs sowie über den Folgezeitraum von vier Wochen müssen die Patienten täglich Thrombozytenaggregationshemmer zu sich nehmen [118]. Eine Lokalanästhesie und periinterventionelle Schmerzmedikation sollte auch bei der perkutanen Methode beibehalten bleiben.

Interventionssdauer

Die Interventionsdauer wird in dem SIMPLICITY-Studien mit 40-60 Minuten für den bilateralen Eingriff angegeben [118]. Im Falle des endovaskulären Ultraschalls beträgt die durchschnittliche Dauer einer Energieabgabe bei 25 oder 30 Watt ca. 46 Sekunden. Zwischen erster und letzter Ultraschallemission lagen ca. 23 Minuten pro Patient [33]. Die Verwendung des EnligHTN-Katheters betrug 45 ± 8 Minuten [119]. Die genaue Definition der Interventionszeit unter den angeführten Denervationsregimen ist nicht bekannt. Wir definierten die durchschnittliche Dauer der Prozedur zwischen den ersten CT- Aufnahmen und den abschließenden nativen Kontrollaufnahmen nach erfolgreichem Eingriff als Interventionszeit. Diese lag in der NaCl-Gruppe bei durchschnittlich $36,5 \pm 8,73$ Minuten und bei der Paclitaxelgruppe bei durchschnittlich $22 \pm 4,5$ Minuten. Die Dauer der perkutanen Ethanolinjektion lag bei 28 ± 8 Minuten [71]. Im Gegensatz zur perkutanen renalen Denervation liegt die Interventionsdauer bei katheterbasierten Verfahren deutlich höher. In Anbetracht der Tatsache, dass wir nur unilateral behandelten, ist die Dauer im Vergleich zu SIMPLICITY nach den bisherigen Ergebnissen mit einer nahezu gleichen Interventionsdauer zu bewerten. Allerdings hat sich gezeigt, dass die benötigte Zeit im Laufe der Versuche deutlich abgenommen hat. Dies ist durch das zunehmend eingespielte Interventionsteam zu begründen. Eine weitere Abnahme der Eingriffsdauer erscheint durchaus realistisch, sodass eine verkürzte Dauer der perkutanen Intervention im Vergleich zu den derzeit gängigen katheterbasierten RFAs anzunehmen ist.

Kosten

Auch aus wirtschaftlicher Sicht ist die perkutane periarterielle Methode interessant, da sie eine günstigere Alternative zu den klinisch verwendeten Kathetern ist. Durch den Verzicht auf eine Vollnarkose kommen keine Kosten für Narkotika oder einen Anästhesisten auf. Ebenso entfallen die Kosten für Antikoagulantien. Im Falle von Natriumchlorid ist zudem der

Wirkstoff selbst sehr günstig. Unter Verwendung von Paclitaxel, sollte jedoch eine prophylaktische antiallergische Therapie stattfinden.

Limitationen

Entscheidend und unter Umständen auch limitierend für den Einsatz eines Katheters ist vor allem die individuelle Anatomie des Patienten. Als anatomische Besonderheit ist auf den Abgangswinkel der Nierenarterien zu achten, da hier, wie auch bereits beim Zugang über die A. femoralis ein erhöhtes Risiko für verfahrensbedingte Verletzungen besteht [13]. Auch der Durchmesser des Gefäßlumens spielt eine Rolle, sodass aufgrund der derzeit verwendeten Ablationskatheter, die bis zu einem Durchmesser von 4 mm eingesetzt werden können, eine mögliche Einschränkung gegeben ist [39]. Hier ist der Vorteil auf Seite der perkutanen Methode deutlich hervorzuheben. In Tierversuchen wurde gezeigt, dass die Anordnung und Anzahl der Ablationspunkte einen erheblichen Einfluss auf das Ergebnis der Behandlung hat [4]. Eine unvollständige Nervenschädigung durch die gängigen Kathetersysteme ist nicht auszuschließen, da die Nervenfasern den Nierenarterien nicht parallel sondern verschlungen aufliegen [15]. Studien zeigten, dass im proximalen Anteil der Nierenarterie die Nervenfasern in der Regel mehr als 5mm vom Lumen entfernt liegen, wobei die derzeitigen verwendeten Ablationskatheter eine Reichweite von ungefähr 3-4 mm haben [28]. Auch nach helikaler Ablation besteht die Möglichkeit, dass noch funktionstüchtige Fasern verbleiben [15]. Daher wird die Effektivität der renalen Denervation durch Kathetersysteme weiterhin kontrovers diskutiert. Mögliche Folge könnte die unzureichende Ausschaltung der Nerven sein [106]. Diese kann durch die perkutane, periarterielle Methode umgangen werden, da hier keine punktuelle sondern eine flächendeckende Denervation durch vollständige Umspülung mit dem Wirkstoff angestrebt wird. Die lokale Applikation eines Wirkstoffes an die A. renalis bietet den Vorteil, dass auch der weit distale Bereich umspült wird. Ebenso können zusätzliche Gefäße und dementsprechend dort befindliche Nervenfasern, die bisher als Ausschlußkriterium gelten, durch peripher arterielle Umspülung erreicht werden. Als mögliche Limitation einer perkutanen Intervention sind Verklebungen des retroperitonealen Raums zu sehen, da diese den Wirkstoff daran hindern am angedachten Wirkungsbereich zufriedenstellend appliziert werden zu können. Des Weiteren muss bedacht werden, dass je nach Volumen des Injektats eine mögliche Wirkstoffabspülung zu Nachbarstrukturen gegeben sein kann.

Histologie

In verschiedenen Studien wurden ebenfalls histologische Präparate angefertigt und ausgewertet, um eine Veränderung der Nerven als Beweis einer erfolgreichen Denervation zu belegen. Als Folge der Kryoablation zeigten sich histologisch 28d nach dem Eingriff komplette Schädigungen der Nerven [15]. Eine andere Versuchsgruppe fertigte nach der Anwendung von Vincristin zur renalen Denervation nach 28 Tagen Standzeit der Tiere ebenfalls histologische Präparate an. Diese wurden nach einer HE-Färbung und zusätzlicher immunohistochemischer Färbung beurteilt. Letztere galt der quantitativen Beurteilung der Nerven [75]. Neben der Beurteilung der Noradrenalinwerte zählten auch histopathologische Veränderungen als primärer Outcomeparameter in unseren Versuchen. Die HE-Färbung ist eine Standardfärbung und diente der Übersicht über eine mögliche Denervation. Durch die EvG-Färbung werden insbesondere Kollagenfasern dargestellt. Unser Augenmerk galt insbesondere dem Nachweis perineuraler Fibrosierungen als Nachweis einer erfolgreichen nervalen Degeneration. Es konnte bei keinem der Wirkstoffe ein histologischer Beweis für eine erfolgreiche Denervation erbracht werden, obwohl in einem in-vitro Modell mit Paclitaxel das enthaltene Cremophor® EL bei Neuroblastomzellen eine strukturelle Anomalie durch eine Hemmung der Sprossung von Neuriten bewirkte [85]. Unter Verwendung von Natriumchlorid konnte ebenfalls bei keinem der 6 Tiere eine histologisch nachweisbare Degeneration oder zumindest minimale Schädigung festgestellt werden, auch wenn bei 3 von 6 Schweinen ein deutlicher prozentualer Abfall des Noradrenalinwertes der behandelten Seite gegenüber der unbehandelten Seite nachgewiesen werden konnte, wodurch eine histologisch nachweisbare Schädigung zu erwarten gewesen wäre. Die Ergebnisse sind daher nach den von uns festgelegten Kriterien nicht als ausreichend zu werten, um von einer erfolgreichen Denervation sprechen zu können.

Noradrenalin

Nach der Kryoablation zeigten die behandelten Tiere verglichen mit der Kontrollgruppe einen Abfall des Noradrenalingehaltes in der Niere um 89,85% [15]. Die SIMPLICITY-HTN1 Studie zeigte eine signifikante Abnahme der renalen Noradrenalinspilloverrate um 47% [118]. Während hier die Spillover Technik zur Messung des NA-Gehalts angewandt wurde, erfolgte unsere Auswertung mittels HPLC. In der perkutanen Versuchsgruppe unter Verwendung von NaCl zeigten nur 2 Tiere einen Abfall des Noradrenalinwertes von behandelter zu unbehandelter Seite um 55,8% bzw. 18,4%. Die verbleibenden 4 Tiere hingegen zeigten einen durchschnittlich um 24,5% erhöhten Wert der behandelten Seite im Vergleich zur nicht

behandelten Seite. Die Messung ergab einen arithmetischen Mittelwert der behandelten Seite von 244,8 ng/g im Vergleich zur unbehandelten Seite mit 271 ng/g. Die Differenz liegt bei 9,7%. In der Paclitaxelgruppe lag die Differenz gar zu Ungunsten der behandelten Seite um 4,4% höher.

Blutdruck

Die Blutdruckwerte in dieser Studie sind als ein ergänzender Wert zu verstehen. Ihnen kommt nicht die gleiche Bedeutung zu, die in Studien am Menschen erhoben wurden. Dies liegt daran, dass die Tiere zum Messzeitpunkt in Narkose lagen und zudem eine Denervation im Schweinmodell nur unilateral an gesunden, normotonen Tieren praktiziert wurde. Beim Menschen hingegen würde die bilaterale Behandlung erfolgen.

Mittels endovaskulärer Ultraschallanwendung fiel der Blutdruck nach der Intervention um 43/34 mmHg. Auch nach drei Monaten konnte noch ein um 36/17 mmHg erniedrigter Wert im Vergleich zum präinterventionellen Ausgangswert gemessen werden. Diesen ersten Ergebnissen zufolge bietet der endovaskuläre eine weitere Alternative zur RFA [33]. Bei der Kryoablation lag der systolische Ausgangswert bei 145.50 ± 9.95 mmHg und erreichte Werte von 119.00 ± 14.09 mmHg ($P < 0.05$) am Ende der experimentellen Phase. Die SIMPLICITY-HTN1-Studie zeigte eine Blutdruckreduktion von -22/-12 mmHg nach 6 Monaten [118]. Die Simplicity - HTN 2 Studie ergab, 84% der Hypertoniker, die einer renalen Denervation unterzogen wurden, 6 Monate nach dem Eingriff einen Abfall des systolischen Blutdrucks von 10 mmHg oder mehr aufwiesen, verglichen mit der Kontrollgruppe, bei der 18 von 51 Personen diese Werte erreichten [13]. Klinische Studien zur renalen Denervation mit dem EnligHTN System zeigten einen durchschnittlichen Blutdruckabfall um 27/11 mmHg ein Jahr nach dem Eingriff. Eine weitere, umfangreiche Studie, die randomisierte Simplicity HTN-3, verfehlte das Ziel einer wesentlichen Blutdrucksenkung bei Patienten mit therapierefraktärer Hypertonie [57]. Die Auswertung der Blutdruckwerte der NaCl - und Paclitaxelgruppe, die sich als nicht signifikant herausstellen, wurde bereits im Ergebnisteil beschrieben.

6.4 Mögliche Ursachen der fehlenden Wirkstoffwirkung

Mögliche Ursachen für die ausbleibende Wirkung von 5M NaCl und Paclitaxel könnten in einer zu niedrigen Wirkstoffkonzentration liegen. Paclitaxel wurde in der vorliegenden Arbeit lokal in einer Konzentration von 42 mg in einem Volumen von 10 ml appliziert. In der Literatur finden sich Dosierungsempfehlungen für die Anwendung am Menschen von 100

mg/m² bzw. 175 mg/m² je nach Protokoll bei systemischer Gabe [120]. Da die Gabe von Paclitaxel in der Humanmedizin systemisch per Infusionslösung über 1-24 h verabreicht wird und dies in einem Zyklusintervall von u.a. 3 Wochen stattfindet, [85] ist die einmalige Gabe wie in unserer Versuchsreihe ein entscheidender Unterschied und möglicher Grund des ausbleibenden Erfolges. Dem entgegen steht jedoch eine Untersuchung durch Herdeg et al.. In den Versuchen wurde Paclitaxel zum Zweck der Restenoseprophylaxe beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass Paclitaxel sehr gut für eine lokale Applikation geeignet ist. Bei Zellkulturexperimenten an humanen Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen wurde nachgewiesen, dass Paclitaxel in einem Dosisbereich von 1-10µmol/l auch nach einer einmaligen Applikation von 20 Minuten Dauer zu einer fast vollständigen Wachstumshemmung führt [83]. Im Rattenmodell wurde Paclitaxel mit 10⁻⁵ - 10⁻² M entsprechend 0,128 µg – 1,28 mg je 150 µL pro Nierenarterie dosiert. Eine axonale Degeneration und progressive Mikrotubuliakkumulation des Nervus ischiadicus der Ratte nach lokaler Applikation von Taxol in Mengen von 0,01 – 0,02 mL einer Dosis von 10 µM Taxol, entsprechend 0,054 – 0,17 µg wurde beschrieben. Natriumchlorid wurde in der bereits beschriebenen Studie an Ratten in einer Dosis von 1,7 M verwendet [17]. In vorliegender Versuchsreihe wurde also eine rund 3-fach höhere Dosis verwendet. Im Kaninchenmodell konnten eine deutliche Hemmungen neointimaler Proliferation und Gefäßerweiterung nach lokaler Applikation von Paclitaxel nachgewiesen werden. Im Schweinemodell hingegen blieben vergleichbare Erfolge nach Stentimplantation aus [83]. Versucht man die Körperoberfläche eines Schweines nach DuBois zu berechnen, so ergibt sich bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 25 Kg und einer etwaigen Körpergröße (angenommen als Höhe in cm von der Klaue des Tieres bis zur Schulter in stehendem Zustand) von etwa 40 cm in unseren Versuchen, eine Körperoberfläche von etwa 0,41 m². Greift man nun exemplarisch die intravenöse Standarddosis von 175mg Paclitaxel/m² (in anderen Studien und je nach Protokoll werden in der Literatur auch niedrigere Dosen beschrieben) auf, müsste ein Tier ca. 72 mg Paclitaxel erhalten. In unseren Versuchen erhielten die Tiere wie bereits beschrieben 42 mg. Dies erschien uns in Anbetracht der Tatsache, dass der intraperitoneale Wirkstoffspiegel von Paclitaxel nur langsam abgebaut wird, als ausreichend. Ebenso spricht dafür, dass die Halbwertszeit von Paclitaxel nach einer Gabe von 60 mg/m² mit 73,4h beschrieben wurde. Dementsprechend ist die Wirkstoffexposition im peritonealen Raum um ein vielfaches höher als nach einer systemischen Gabe [85]. Eine weitere Ursache könnte der Umstand sein, dass die Menge des Injektats nicht ausreicht um die Zielstruktur ausreichend lang und rundherum zu umspülen um die Zellen überhaupt erst in den Zustand zu versetzen,

dass sie durch die einsetzende erzwungene Diffusion (im Falle von 5M NaCl) irreparabel geschädigt werden. Aufnahmen, die die Verteilung des Injektats z.B. 30 Min, 1h oder auch 1d nach der Intervention zeigen liegen nicht vor. Das Penetrationsvermögen unserer Injektate nach topischer Applikation ist nicht bekannt. Es wäre sicherlich von Nutzen, könnte man die Verteilung des Wirkstoffes über einen längeren Zeitraum verfolgen. Diese Erkenntnis gäbe einen Hinweis auf die Dauer, die unser Wirkstoff zur Verfügung hat, um an dem von uns angedachten Zielort seine Wirkung entfalten zu können. Daraus könnten Schlüsse gezogen werden, ob zum Beispiel dem KM-Wirkstoffgemisch eine zusätzliche Komponente hinzugefügt werden sollte, wodurch die Viskosität des Gemisches erhöht und somit die Verweildauer verlängert werden würde. Es ist bekannt, dass Wirkstoffe nach Aufnahme in den Körper durch verschiedene physiologische Mechanismen an Wirkpotenz verlieren. Dabei gibt es Unterschiede zwischen parenteraler, oraler, intramuskulärer, subkutaner oder anderweitiger Applikation. Über die Verfügbarkeit retroperitoneal verabreichter Wirkstoffe sind nur sehr wenige verwertbare Ergebnisse bekannt. Dies mag wohl auf die im klinischen Alltag eher unübliche Applikationsform zurückzuführen sein. Die derzeitige katheterbasierte Denervation ist zirkumferentiell möglich. Die perkutane Applikation erfolgt in Anbetracht der anatomischen Gegebenheiten von dorsal. Daher ist man auf die Verteilungseigenschaft der applizierten Menge angewiesen. Da sich die Verteilung der Nerven sowohl in der Menge als auch in der individuellen Verteilung unterscheidet, kann dies den Erfolg der Intervention beeinflussen. Die unterschiedliche Standdauer der zwei Versuchsgruppen von 2 und 4 Wochen nach dem Eingriff sollten hingegen keine Rolle spielen, da im Verlauf ein Noradrenalinabfall auch nach 2 Wochen bereits erkennbar sein sollte.

6.5 Sicherheit der Intervention

Wie bereits unter Punkt 6.2.4 beschrieben, stellt die CT – gestützte perkutane, periarterielle Wirkstoffapplikation ein sicheres Verfahren dar. Sowohl während des Eingriffs als auch in der postinterventionellen Phase konnten keine Komplikationen bei den 12 behandelten Tieren festgestellt werden. Auch hinsichtlich möglicher Nebenwirkungen, wie zum Beispiel einer allergischen Reaktion auf das dem Paclitaxel beigemischten Cremophor® EL blieben aus. Anders als in der humanmedizinischen Anwendung wurde den Tieren der Versuchsreihe kein prophylaktisches Antihistaminikum gegeben. Anhand der CT-Kontrollen sowie im Rahmen der Organentnahme und folgender histologischer Aufarbeitungen konnten keine Schäden an Nieren,

umliegenden Gefäßen oder Ureteren festgestellt werden. Bisherige Quellen belegen die Sicherheit einer minimalinvasiven Intervention [69, 71, 113].

Die perkutane Applikationstechnik erlaubt gegenüber der katheterbasierten Methode auch einen Eingriff, wenn anatomische Gegebenheiten den Einsatz eines Katheters auf Grund von additiven Gefäßen, zu geringem Gefäßdurchmesser oder bestehender Stenosen ausschließt. Dies stellt einen der größten Vorteile dar. Jedoch muss auch bei der Wahl des perkutanen Zugangspunktes auf die anatomischen Umstände Rücksicht genommen werden. Ein Risikofaktor unter Verwendung eines Katheters besteht in der Verletzung der Intima des Gefäßes. Bei korrekter Durchführung der perkutanen Applikation kann dieses Risiko gänzlich ausgeschlossen werden. Eine Verletzung der Intima oder ihr anliegender Gefäßschichten mit Bildung von Stenosen oder Thromben können folglich nahezu ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zur punktuell injizierten Applikation mittels Katheter, benötigt eine periarterielle Applikation ein höheres Wirkstoffvolumen, da die Zielstruktur vollständig umspült sein muss. Dadurch ergibt sich ein möglicher Nachteil hinsichtlich einer Schädigung benachbarter Strukturen wie Nieren und Uretern durch das vom Zielort abfließende oder möglicherweise falsch applizierte Injektat. Belegt werden konnte dieses theoretische Risiko mit den hier verwendeten Wirkstoffen jedoch nicht. Allen minimalinvasiven, insbesondere den perkutanen Verfahren ist jedoch gleich, dass es keine verfügbaren Daten hinsichtlich des Langzeiteffektes gibt. Die perkutane Methode benötigt eine kürzere Interventionsdauer und ist am Menschen gegenüber der Verwendung eines Katheters auch ohne eine Vollnarkose durchführbar. Dadurch können auch Patientengruppen eingeschlossen werden, die sonst auf Grund eines erhöhten Narkoserisikos nicht für eine Behandlung in Frage kommen.

6.6 Übertragbarkeit der renalen Denervation auf den Menschen

Als Tiermodell eignet sich das Schwein am Besten um eine möglichst gute Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen zu erreichen, da es die meisten Parallelen zum Kreislaufsystem und zur Anatomie des Menschen aufweist [73]. In der Literatur sind die durchschnittlichen Gewichte der beiden Nieren in der Altersklasse von 20-60 Jahre von Männern mit ca. 300g und Frauen mit ca. 255g angegeben. Einzelgewichte werden mit 110-170g beschrieben [121]. Das durchschnittliche Nassgewicht der einzelnen Organe der Tiere in der NaCl-Gruppe lag bei 109g sowie bei 93g in der Paclitaxel-Gruppe. Die Abweichungen beider Gruppen untereinander sind zum einen dadurch zu erklären, dass die Trennung der Gefäße und Ureteren von der Niere selbst manuell erfolgte. Es wurde darauf geachtet bei allen Organen

gleichermaßen nah am Hilus zu trennen. Geringgradige Abweichungen sind jedoch nicht auszuschließen. Zum anderen sind die Tiere der Natriumchloridgruppe am Tag der Euthanasie 14 Tage älter gewesen als die Schweine der Paclitaxelgruppe. Auf die Vergleichbarkeit der Gefäße zwischen Mensch und Schwein wurde bereits eingegangen. Die großen Ähnlichkeiten erlauben eine Prognose hinsichtlich Sicherheit und Effizienz beim Menschen [15]. Unter dem Aspekt der Sicherheit haben die Versuche gezeigt, dass diese bei dem perkutanen, periarteriellen Verfahren gegeben ist. Die technische Machbarkeit wurde anhand des Schweinemodells bewiesen. Da die Proc. transversi des Menschen im Vergleich zum Schwein kürzer ausgeprägt sind sollte der Zugang noch einfacher sein [113]. Der zeitliche Rahmen der Intervention ist kurz und somit gut in den klinischen Alltag einzubinden. Im Gegensatz zum Menschen mussten die Tiere narkotisiert werden. Beim Menschen wäre eine Behandlung unter Lokalanästhetika denkbar. Da mittels der hier verwendeten Wirkstoffe kein eindeutiger Erfolg erzielt werden konnte, gilt es weitere Wirkstoffe oder Wirkstoffkonzentrationen zu beurteilen. Aus technischer Sicht ist es jedoch ein durchaus alltagstaugliches Verfahren.

7 Schlussfolgerung

Die Versuchsreihen am Schwein mit den Wirkstoffen Paclitaxel und 5M Natriumchloridlösung zeigten, dass die CT-gesteuerte perkutane, periarterielle Wirkstoffapplikation an die Zielstruktur mittels Nadel technisch gut durchführbar ist. Im Rahmen dieser Arbeit konnten keine Sicherheitsbedenken bzgl. der Methodik festgestellt werden. Das Verfahren als solches wird somit als sicher eingestuft. Das der Wirkstoff, wie geplant, die Gefäße vom Ursprung bis zur Bifurkation bzw. Eintritt in die Niere umspült, konnte mittels CT deutlich belegt werden. Im Hinblick auf die fehlende Wirkstoffeffizienz sollten die Folgestudien mit höheren Dosierungen von Paclitaxel und Natriumchlorid stattfinden. Es würde sich ebenso anbieten, das bereits bestehende Verfahren mit anderen Wirkstoffen zu testen.

Die perkutane periarterielle Technik gilt als vielversprechend und könnte sich als eine gute Alternativmethode zur katheterbasierten Form der renalen Denervation erweisen. Sie ermöglicht einem größeren Patientenpool (Narkoserisiko bei Vollnarkose, anatomische Hindernisse etc.) einer renalen Denervation unterzogen werden zu können. Zudem birgt sie ein geringeres verfahrensbedingtes Verletzungsrisiko. Auch die niedrigeren Kosten des Verfahrens und eine kürzere Interventionsdauer stellen gegenüber der RFA einen Vorteil dar.

8 Ausblick

Aus demographischer Sicht wird in den nächsten Jahren die Gesamtbevölkerung zunehmend altern. Es ist zu vermuten, dass es zu einer gehäuften Prävalenz an Bluthochdruck kommen wird. Somit wird es auch in Zukunft ein gesteigertes Interesse hinsichtlich einer adäquaten Therapie geben. Auch die Kosten für das Gesundheitssystem werden ansteigen. Die Erforschung effektiver und effizienter Therapieformen zur langzeitigen Senkung des Bluthochdrucks liegt also nicht nur im medizinischen Sektor, sondern auch im Interesse der Sozialversicherung. Diverse Versuchsreihen rund um die renale Denervation haben erste wegweisende Erkenntnisse zu klinischer Tauglichkeit und Effizienz der Methoden aufgezeigt. Da diese Verfahren speziell mit dem Ziel einer renalen Denervation noch ein recht junger Zweig der wissenschaftlichen Forschung ist, sind hier weitere Studien unabdingbar. Des Weiteren sind Langzeiterfolge bisher auf Grund der kurzen Anwendungsdauer noch nicht verfügbar. Hier gilt es die nächsten Jahre abzuwarten. Das langfristige Ziel der Denervationsmethoden ist es, in Zukunft den betroffenen Patienten eine Behandlung mit Antihypertensiva zu ersparen, zumindest aber deren Menge zu minimieren. Bisher stellt die renale Denervation jedoch noch keinen Ersatz für den Einsatz von Medikamenten dar, ist jedoch bei ausgewählten Patienten Bestandteil eines multimodalen Behandlungsplanes [4].

Derzeit liegt das Hauptaugenmerk noch auf der Entwicklung der katheterbasierten Verfahren, zumeist auf thermaler Basis, einschließlich der dazu benötigten Materialien. Aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse im Rahmen dieser Arbeit, stellt sich das perkutane periarterielle Verfahren jedoch als eine Alternative dar. Zukünftig sollten weitere Versuche die Entwicklung dieser Methode vorantreiben. Es gilt für potenzielle Wirksubstanzen eine geeignete Dosis zu finden und mögliche Zusätze zu testen, die die Wirksubstanzen und deren Wirkdauer vor Ort erhöhen. Da jedoch wie bereits beschrieben dieses Forschungsgebiet insgesamt noch jung ist, müssen sich zukünftig sowohl die thermischen als auch chemischen Verfahren in Langzeitstudien beweisen.

9 Zusammenfassung

Die arterielle Hypertonie zählt zu den häufigsten Erkrankungen in den Industrienationen. Sie birgt ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Bluthochdruck stellt sich als ein globales und weit verbreitetes Problem dar, dessen genaue Ursachen nach wie vor nicht vollständig geklärt worden sind. Ein hoher Anteil der an Hypertonie erkrankten Patienten gilt

als therapierefraktär. Dies bedeutet, dass auch eine Behandlung mit drei oder mehr Antihypertensiva unter Verwendung eines Diuretikums nicht zu einer erfolgreichen Reduktion des Bluthochdrucks führt. Da eine erfolgreiche Behandlung unter Umständen nicht alleine durch die Gabe von Medikamenten erreicht werden kann, gilt es weitere Therapiemöglichkeiten zu beurteilen. In den letzten Jahren rückte die Methodik der renalen Denervation in den Fokus. Dabei wird der Grundgedanke einer Unterbrechung des sympathischen Systems, das eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer Hypertonie spielt und vor einigen Jahrzehnten bereits auf chirurgischer Ebene stattfand, ins Auge gefasst.

Ziel ist es dabei die Nervenfasern, die Teil des sympathischen Systems sind und sich in der Adventitia der Nierenarterien befinden, zu schädigen ohne umliegende Strukturen in Mitleidenschaft zu ziehen. Inzwischen hat sich dazu die katheterbasierte Radiofrequenzablation als technisch geeignet gezeigt und klinisch etabliert. Bei dieser Methode wird ein Katheter über einen Zugang in der Arteria femoralis bis in die Nierenarterie vorgeschoben, um dort an verschiedenen Punkten über die Abgabe von Hitze die Nerven selektiv zu schädigen und deren Funktion zu unterbinden. Dieses Verfahren ist jedoch nicht für alle Patienten mit therapierefraktärer Hypertonie geeignet. So stellen zum Beispiel zusätzliche Gefäße oder Arterien die zu kurz sind oder einen zu kleinen Durchmesser besitzen ein Ausschlusskriterium dar. Inzwischen hat sich jedoch gezeigt, dass die Effektivität hinsichtlich einer langfristigen Senkung des Blutdrucks vorerst nicht den zunächst geweckten Erwartungen entspricht. Daher gilt das Interesse nun der Erforschung alternativer Methoden und Wirkstoffe zur renalen Denervation.

Das Ziel dieser Arbeit war die Evaluierung der CT-gesteuerten perkutanen, periarteriellen Applikation eines potentiellen Wirkstoffes zur renalen Denervation hinsichtlich technischer Durchführbarkeit, Sicherheit und Effizienz. Dazu wurde hochmolare (5M) Kochsalzlösung und Paclitaxel bei je 6 betäubten Schweinen unilateral appliziert. Zur Vermeidung von interventionsbedingten Schmerzen wurde systemisch Fentanyl über einen intravenösen Zugang verabreicht. Die kontralaterale Niere diente als Kontrolle. Nach einer Standdauer von 4 Wochen bei Natriumchlorid bzw. 2 Wochen bei Paclitaxel wurde zur Evaluierung der Intervention der Noradrenalinwert im Nierenparenchym der behandelten und unbehandelten Seite mittels Hochflüssigkeitschromatografie gemessen. Zusätzlich diente eine histopathologische Auswertung der Zielstruktur, sowie die Messung des Blutdrucks zu drei festgelegten Zeitpunkten zur Beurteilung des Therapieerfolges. Auf histologischer Ebene konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden. Auch die Auswertung der

Noradrenalinwerte ergab keine signifikanten Ergebnisse, die Rückschlüsse auf eine erfolgreiche renale Denervation zuließen. Gleiches galt für die Messung der Blutdruckwerte. Sowohl die Intervention, als auch die postinterventionelle Phase wurden von den Schweinen durchweg gut vertragen. Es zeigten sich während der Standzeiten bis zum Tage der Euthanasie keine Abnormalitäten in Habitus und Entwicklung. Die Summe der Ergebnisse dieser Studie konnte eine gute technische Durchführbarkeit und Sicherheit der Therapiemethode zeigen. Es zeigte sich jedoch keine signifikante Effektivität im Sinne einer erfolgreichen renalen Denervation.

10 Summary

Computer tomography supported periarterial injection of Paclitaxel and hypertonic saline solution for renal denervation in a swine model.

Arterial Hypertension is one of the most common diseases in developing countries. It comes along with an increased risk for cardiovascular morbidity. A high ratio of hypertonic patients suffer from resistant hypertension defined as uncontrolled elevated blood pressure despite intake of more than 3 antihypertensives or controlled blood pressure reached by use of more than 3 drugs. Because of being a global and widely spread health issue, resistant hypertension is a very relevant topic of today's internal medicine. The account is still not entirely cleared, maybe one reason for the inefficiency of some medical treatment. Due to this problem, other treatment options should be evaluated. In recent years the method of renal denervation became more common. For this procedure a catheter is pushed towards and into the renal artery through a transfemoral access. Once being in position the catheter discharges a high energy heat. With this energy it is possible to ablate nervous fibres in the vessels adventitia without harming too much of surrounding tissue. Meanwhile this method reveals a lack of efficiency of decreasing systolic blood pressure, even though it is technically feasible and safe. It is not possible to treat every patient with resistant hypertension by undergoing a catheter based renal denervation, e.g. because of anatomic characteristics. Now, the focus is on alternative methods and agents for performing renal denervation. Aim of this trial was to evaluate a percutaneous, periarterial application of an agent in consideration of safety, efficacy and feasibility. This trial embraced the evaluation of hypertone (5M) saline and Paclitaxel by percutaneous, periarterial application. Both were tested on 6 pigs each. The intervention has been done unilateral so that the second

kidney served as control. The pigs have been under propofol anaesthesia plus systemic periinterventional fentanyl application and local anaesthesia. After 2 weeks in the Paclitaxel group and 4 weeks in the hypertonic saline group, the animals have been killed by euthanasia. To evaluate the intervention, a measurement of norepinephrin of both kidneys has been done by high pressure liquid chromatography. Additionally blood pressure measurements at three points of time and a histological examination were done. In this trial neither blood pressure or norepinephrin data nor the histological examination revealed a comprehensible succesful Intervention. None of the pigs showed any sign of complication during the procedure or in the postinterventional phase. Combining the results of this trial it has been shown, that this way of treatment in combination with the agents did fail to be succesful for renal denervation.

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Tabelle der Scoreeinteilung zur Bestimmung des Interventionserfolges anhand der Injektatkontrolle um die Nierenarterien.....	45
Tabelle 2: HE Färbeprotokoll	51
Tabelle 3: Protokoll der EvG-Färbung	51
Tabelle 4: Scoreeinteilung von 1-3 für die Tiere beider Gruppen. Score 1: ungenügend/insuffizient, Score 2: gut, Score 3: exzellent	55
Tabelle 5: Blutdruckwerte NaCl unter Narkose: Finalwerte niedriger als Ausgangswerte präinterventionell bei Schwein 2,4,5,6. Erhöhte Werte bei Schwein 1 & 3. ($p = 0,194$)....	58
Tabelle 6: Auswertung BD Paclitaxelgruppe unter Narkose: Senkung Final im Vergleich zum Ausgangswert bei Schwein P1 und P6. Keine Senkung bei P2, P3, P4 und P5. Erhöhte Blutdruckwerte unmittelbar nach der Intervention bei Schwein P1, P2, P4, P5, P6. Gepaarter T-Test bzgl syst. BD prä und Final ($p = 0,235$).....	59
Tabelle 7: NoradrenalinKonzentration der behandelten und unbehandelten Seite im Vergleich. Differenz der Werte zueinander in Prozent. Gesenkter NA-Wert bei Schwein1 und Schwein 5. Kein Erfolg bei Schwein 2,3,4 und 6.	62
Tabelle 8: NoradrenalinKonzentration der behandelten und unbehandelten Seite im Vergleich. Differenz der Werte zueinander in Prozent. Erfolgreiche Senkung des NA-Gehaltes bei Schwein P1, P3 und P6. Kein Erfolg bei Tier P2, P4, P5.	63

12 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System [25].....	5
Abbildung 2: Prozedere im Falle einer unkontrollierten Hypertonie [37].....	8
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Verteilung der Nerven im Verlauf der Nierenarterie. Von proximal nach distal abnehmende Anzahl und abnehmender Abstand der Nerven vom Gefäßlumen (Eigenanfertigung).	15
Abbildung 4: Verschiedene minimal-invasive Methoden der renalen Denervation. Mit * gekennzeichnete Kathetersysteme sind CE zertifiziert (Die Abbildung ist eine Eigenanfertigung).....	16
Abbildung 5: Verschiedene Kathetermodelle zur renalen Denervation. Von links nach rechts: Simplicity (Single Point Ablation); EnligHTN (Multi Point Ablation 4); Vessix (Multi Point Ablation 8); OneShot (Spiral Ablation) [4]	19
Abbildung 6: Übersicht über den zeitlichen Ablauf beider Versuchsgruppen vom Tag der Einnistung bis zur Euthanasie	35
Abbildung 7 Fixierung eines Pulsoximeters am Schwanz des Tieres zur Überwachung der Vitalparameter (Puls, Sauerstoffsättigung, BD in mmHg) während der Intervention.....	36
Abbildung 8 Seitenlage des Schweines zur präinterventionellen Blutdruckmessung. Lokalisation der Blutdruckmanschette auf Höhe des Articulatio talocruralis (Abbildung rechts).....	37
Abbildung 9 Position des narkotisierten Schweines im CT kurz vor der Behandlung.....	38
Abbildung 10 Vergrößerung aus Abb. 9; Brust-Bauchlage des Schweines im CT, grüner Pfeil: Bechermaskenkonstruktion zur periinterventionellen Sauerstoffversorgung; roter Pfeil: Dreiwegehahn über den Propofol und Fentanyl zeitgleich verabreicht werden; gelber Pfeil: Im Hintergrund sind die Perfusoren für Propofol und Fentanyl zu sehen.....	38
Abbildung 11: Abfolge axialer Schnittebenen in der arteriellen Phase. Von oben links nach unten rechts ist die A. renalis in ihrem Verlauf vom Ostium aortae bis zum Eintritt in die rechte bzw. linke Niere im Bereich des Nierenhilus durch Kontrastmittel verdeutlicht (rote Pfeile). Grüne Pfeile kennzeichnen die Nieren, oranger Pfeil weist auf Teile des Darms. Der Wirbelkörper wird durch den weißen Pfeil markiert, die Aorta abdominalis durch den blauen Pfeil.	41
Abbildung 12: Planungs-CT (CT-Angiographie in arterieller KM-Phase). Schwein 1 der Paclitaxelgruppe (linke Abbildung in axialer Schichtebene) Sichtbar ist die arterielle Phase in der durch Kontrastmittelgabe die Arteria renalis nach Abgang (Ostium) aus der Aorta abdominalis sichtbar wird. Grüne Pfeile: Nieren. Deutlich zu erkennen ist die Abgrenzung zwischen Nierenrinde und Nierenmark; gelber Pfeil M. longissimus dorsi; weißer Pfeil: Wirbelkörper, rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil: Abgang der	

A.renalis rechts. Die rechte Abbildung zeigt die korrespondierende koronare Schichtorientierung (MIP, Maximumintensitätsprojektion).....	41
Abbildung 13: Schwein der Paclitaxelgruppe, arterielle Phase, koronare Schichtebene. Darstellung der Zielstruktur nach intravenöser Kontrastmittelgabe. Rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil: A.renalis rechts; weißer Pfeil: Rippenquerschnitte; oranger Pfeil: Darmschlingen	42
Abbildung 14: CT-gesteuerte perkutane periarterielle Sympathikolyse. Blauer Pfeil: cranialer Bereich des Schweines, Pfeil deutet auf Schulterpartie des in Brust-Bauchlage befindlichen Versuchstieres; gelber Pfeil: bereits positionierte Injektionsnadel im perkutanen Zugangsbereich zur linken Nierearterie des Tieres; rosa Pfeil: Injektionsgemisch bestehend aus Wirkstoff und Kontrastmittel.....	43
Abbildung 15: violette Pfeile: Injektionsnadel; roter Pfeil: Wirkstoff mit Kontrastmittel; blauer Pfeil: A.renalis rechts; weißer Pfeil: Proc. transversus, grüne Pfeile: Nieren, orange Pfeile: Darm.....	44
Abbildung 16 Euthanasiertes Schwein in fixierter Rückenlage	46
Abbildung 17 retroperitoneal freigelegte Niere; Peritoneum (gelber Pfeil).....	46
Abbildung 18 Entnommenes Organpaket mit Nieren (grüne Pfeile), Ureter (gelber Pfeil), Anteilen der Baucharota (craniale und caudale Schnittfläche durch Klammern dargestellt) sowie Arterien, Venen, teilw. Lymphknoten und umliegenden Gewebe (violette Pfeile) .	47
Abbildung 19 Arbeitsschritte im Labor zur Anfertigung der histologischen Schnitte.....	53
Abbildung 20 Score 3. Exemplarische Darstellung eines Schweines der Paclitaxelgruppe. Injektatverteilung (roter Pfeil) postintervention, Score 3. Sichtbar ist die komplett umspülte A. renalis (blauer Pfeil) vom Austritt aus der A. abdominalis (rosa Pfeil) bis zum Eingang in die Niere.	56
Abbildung 21 Schwein 1 Paclitaxel, koronare Orientierung. Sichtbar ist die Wirkstoffverteilung (roter Pfeil) entlang der A. renalis (blauer Pfeil); grüner Pfeil: Nieren im Längsschnitt. Zu sehen ist eine regelgerechte Kontrastmittelausscheidung über die Nieren und Ureteren beidseitig	56
Abbildung 22 Beispiele Score 2. Paclitaxelgruppe Schwein 1, koronare Ebene (links); Schwein 5 der NaCl-Gruppe, koronare Schnittbildebene (rechts). Roter Pfeil: Die Wirkstoffumspülung der rechten A. renalis (blauer Pfeil) ist nicht in ausreichendem Maße über die Gesamtlänge gegeben.....	57
Abbildung 23 Score 1 eines Schweines unter Verwendung von Guanethidin. Links, coronares Schnittbild zur Darstellung der A.renalis (blauer Pfeil). Rechts, postinterventionelle Aufnahme. Der Wirkstoff (roter Pfeil) ist ausschließlich im caudalen Bereich von Ostium und A. renalis darstellbar. Zudem wird die A. renalis nicht gänzlich mit Injektat umschlossen. [113].....	57
Abbildung 24: Punktediagramm der systolischen Blutdruckwerte vor dem Eingriff und am Tag der Euthanasie. Die Y-Achse gibt den Blutdruckwert in mmHg an. Die X-Achse kennzeichnet die zwei Versuchsgruppen, aufgeteilt nach Messzeitpunkt.....	60

Abbildung 25: Punktediagramm der diastolischen Blutdruckwerte vor dem Eingriff und am Tag der Euthanasie. Die Y-Achse gibt den Blutdruckwert in mmHg an. Die X-Achse kennzeichnet die zwei Versuchsgruppen, aufgeteilt nach Messzeitpunkt.....	60
Abbildung 26: Boxplot zur Darstellung der systolischen Blutdruckdifferenz zwischen präinterventionalem und finalem Messwert.	61
Abbildung 27: Boxplot zur Darstellung der diastolischen Blutdruckdifferenz zwischen präinterventionalem und finalem Messwert.	61
Abbildung 28 : Noradrenalinwerte der unbehandelten und behandelten Niere aller Tiere beider Gruppen	63
Abbildung 29 Noradrenalinwerte der behandelten Seiten beider Gruppen- Durch a und b (unbehandelte Nieren = Kontrollen) sind jeweils das obere (75) und untere (25) Perzentil dargestellt.....	64
Abbildung 30: absolute Noradrenalinindifferenz der präinterventionellen und finalen Messung beider Gruppen im Vergleich.....	65
Abbildung 31: prozentuale Noradrenalinindifferenz beider Gruppen im Vergleich.....	65
Abbildung 32 Zubildung (Tier 1 der Paclitaxelgruppe), roter Pfeil: Magen, darüber Anteile des Netzes; rosa Pfeil: Aorta abdominalis; blauer Pfeil deutet auf Bereich der Gewebereaktion hin.....	66
Abbildung 33 Makroskopisch unauffälliges Präparat in Formaldehyd (Vergleichend zum Präparat mit Veränderung in Abb 34); Aorta abdominalis (rosa Pfeil); gelber Pfeil deutet auf Ostium der A. renalis hin. Gelb gestrichelt deren Verlauf.	66
Abbildung 34 Veränderte Gewebemasse (Tier 1 der Paclitaxelgruppe), die die A.renalis komplett umgibt (blauer Pfeil). Makroskopisch kann der Verlauf der A. renalis nicht bestimmt werden. Rosa Pfeil zeigt auf das Lumen der Aorta. Gelber Pfeil deutet auf Lage des Ostiums.	67
Abbildung 35: Präparat aus der Paclitaxelgruppe. Lage der Nerven um das Gefäß. Aufbau der A.renalis mit lumenseitigem Endothel auf der Intima (blauer Pfeil), Media (roter Pfeil), Adventitia (schwarzer Pfeil). Der orange Pfeil markiert Fettvakuolen; grüner Pfeil kennzeichnet intakten Nervenfaszikel.....	68
Abbildung 36: Präparat der 5M NaCl-Gruppe. HE-Färbung; Querschnitt durch ein intaktes Nervenfaszikel. Intaktes Perineurium (schwarzer Pfeil) umgibt Nerv vollständig. Grüner Pfeil kennzeichnet eine Arteriole; roter Pfeil deutet auf das Axon	69
Abbildung 37: Gleiches Tier der 5M NaCl-Gruppe.,EvG-Färbung; Querschnitt durch einen intakten Nerv. Intaktes Perineurium (schwarzer Pfeil) umgibt Nerv vollständig. Grüner Pfeil kennzeichnet eine Arteriole; roter Pfeil deutet auf das Axon	69
Abbildung 38: Paclitaxelgruppe. Lymphozyteninfiltrat (gelbe Pfeile) in der Umgebung der Nerven (schwarze Pfeile), HE Färbung.....	70
Abbildung 39: Paclitaxelgruppe. Lymphknoten mit gelbem Pfeil markiert.....	70

Abbildung 40: Schwein P1 der Paclitaxelgruppe. Intakte Nerven (schwarzer Pfeil), Arteriole (grüner Pfeil), und Fettvakuolen (oranger Pfeil). Das Präparat zeigt ein HE-angefärbtes Schnittbild der in Abbildung 34 makroskopisch veränderten Struktur.....	71
Abbildung 41 Beispiel für ein verändertes Nervenfaszikel (schwarzer Pfeil), Die Nervenstruktur ist nicht mehr eindeutig von der Umgebung abzugrenzen, das Perineurium ist nicht erkennbar. Das Bild zeigt das EvG-Präparat eines Schweines aus der Vincristingruppe nach perkutaner Behandlung [113].....	72
Abbildung 42 intaktes Uretergewebe, Schwein der 5 M NaCl -Gruppe	72
Abbildung 43 vergrößerter Ausschnitt (aus Abbildung 44) des Ureterepithels; roter Pfeil kennzeichnet die Lamina propria; schwarzer Pfeil deutet auf das lumenseitige Übergangsepithel des Ureters	72
Abbildung 44 Immunhistochemische Färbungen Neurofilamentfärbung (A und B) und S100 (C und D). Linke Spalte mit histologischen Schnitten eines intakten Nerven eines Schweines der Natriumchloridgruppe (A und C) im Vergleich zu einem geschädigten Nerven eines Schweines der Vincristingruppe in der rechten Spalte (Bild B und D) [113] zum direkten Vergleich. In Bild A sieht man das intakte Perineurium (schwarzer Pfeil) mit den deutlich angefärbten Nervenfasern (roter Pfeil). Im Vergleich dazu in Bild B die Neurofilamentfärbung mit deutlich weniger gut angefärbten Nervenfasern (roter Pfeil) und teilweise undeutlichem Perineurium. Bild C zeigt die S100-Färbung eines intakten Nerven, der deutlich anfärbbar ist. Die Aufhellungen sind als Artefakte zu werten. Ein deutlicher Unterschied weist der geschädigte Nerv in Bild D auf [113]. Er zeigt eine aufgelockerte Struktur und eine wesentlich schwächere Anfärbung. Bilder aus der Vincristingruppe mit Genehmigung genutzt (B und D).....	73

13 Literaturverzeichnis

1. Kearney, P.M., et al., *Global burden of hypertension: analysis of worldwide data*. Lancet, 2005. **365**(9455): p. 217-23.
2. Neuhauser, H., M. Thamm, and U. Ellert, *[Blood pressure in Germany 2008-2011: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2013. **56**(5-6): p. 795-801.
3. Rosenthal, J. and R. Kolloch, *Arterielle Hypertonie*. 2013: Springer-Verlag.
4. Saleh, A., *[Renal denervation. Current developments]*. Radiologe, 2013. **53**(3): p. 216-22.
5. Wolf-Maier, K., et al., *Hypertension treatment and control in five European countries, Canada, and the United States*. Hypertension, 2004. **43**(1): p. 10-7.
6. Tocci, G., et al., *Calcium channel blockers and hypertension*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2015. **20**(2): p. 121-30.

7. DiNicolantonio, J.J., et al., *beta-Blockers in hypertension, diabetes, heart failure and acute myocardial infarction: a review of the literature*. *Open Heart*, 2015. **2**(1): p. e000230.
8. Chobanian, A.V., et al., *The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report*. *JAMA*, 2003. **289**(19): p. 2560-72.
9. Lewington, S., et al., *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**(9349): p. 1903-13.
10. Judd, E. and D.A. Calhoun, *Apparent and true resistant hypertension: definition, prevalence and outcomes*. *J Hum Hypertens*, 2014. **28**(8): p. 463-8.
11. Tölle, P.D.M., C. Scheurig-Münkler, and M. van der Giet, *Der ROX-Coupler zur Therapie des therapieresistenten arteriellen Hypertonus*. *CardioVasc*, 2014. **14**(1): p. 46-49.
12. Wolf-Maier, K., et al., *Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States*. *JAMA*, 2003. **289**(18): p. 2363-9.
13. Bhamra-Ariza, P., S. Rao, and D.W. Muller, *Renal artery stenosis following renal percutaneous denervation*. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2014. **84**(7): p. 1180-3.
14. Briasoulis, A. and G. Bakris, *Renal Denervation After SYMPPLICITY HTN-3: Where Do We Go?* *Can J Cardiol*, 2015. **31**(5): p. 642-648.
15. Ji, M., et al., *Short-term safety and efficiency of cryoablation for renal sympathetic denervation in a swine model*. *Chin Med J (Engl)*, 2015. **128**(6): p. 790-4.
16. Stefanadis, 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**(4): p. 318-21.
17. Consigny, P.M., et al., *Chemical renal denervation in the rat*. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2014. **37**(1): p. 218-23.
18. Mahfoud, F., D. Linz, and M. Bohm, *[Heart and kidneys. Renal denervation as therapy for hypertension]*. *Herz*, 2013. **38**(1): p. 67-75; quiz 76-8.
19. Azizi, M., 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*. *The Lancet*, 2015. **385**(9981): p. 1957-1965.
20. Peiper, U., *Physiologie der Blutdruckregulation*, in *Hypertonie*. 1973, Springer. p. 1-9.
21. Silbernagl, S., *Taschenatlas Physiologie*. 2012: Georg Thieme Verlag.
22. Raven, P.B. and M.W. Chapleau, *Blood pressure regulation XI: overview and future research directions*. *Eur J Appl Physiol*, 2014. **114**(3): p. 579-86.
23. Masuo, K., et al., *The role of sympathetic nervous activity in renal injury and end-stage renal disease*. *Hypertens Res*, 2010. **33**(6): p. 521-8.
24. Mangieri, A., *Renin-angiotensin system blockers in cardiac surgery*. *J Crit Care*, 2015. **30**(3): p. 613-618.
25. Keller, C.K. and S.K. Geberth, *Praxis der Nephrologie*. 2007: Springer.
26. Volpe, M. and G. Tocci, *Rationale for triple fixed-dose combination therapy with an angiotensin II receptor blocker, a calcium channel blocker, and a thiazide diuretic*. *Vasc Health Risk Manag*, 2012. **8**: p. 371-80.
27. Waldeyer, A.J., et al., *Waldeyer-anatomie des menschen*. 2009: walter de Gruyter.
28. Briasoulis, A. and G.L. Bakris, *A clinician's perspective of the role of renal sympathetic nerves in hypertension*. *Front Physiol*, 2015. **6**: p. 75.

29. Ukena, C., et al., *Effects of renal sympathetic denervation on heart rate and atrioventricular conduction in patients with resistant hypertension*. Int J Cardiol, 2013. **167**(6): p. 2846-51.
30. Brandt, M., et al., *Renale Sympathikusdenervation*. Herz, 2011. **36**(1): p. 8-11.
31. Eisenhofer, G., I.J. Kopin, and D.S. Goldstein, *Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine*. Pharmacol Rev, 2004. **56**(3): p. 331-49.
32. Middeke, M., *Epidemiologie und Behandlungsstatus der Hypertonie in Deutschland, in Prävention und Versorgungsforschung*. 2008, Springer. p. 869-881.
33. Mabin, T., et al., *First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension*. EuroIntervention, 2012. **8**(1): p. 57-61.
34. Pacak, K., et al., *Overview of Endocrine Hypertension*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000: South Dartmouth (MA).
35. Middeke, M., *Arterielle Hypertonie: Empfohlen von der Deutschen Hochdruckliga/Deutsche Hypertonie Gesellschaft*. 2004: Georg Thieme Verlag.
36. Kreutz, R. and R. Kolloch, *Arterielle Hypertonie*. Pharmakotherapie: Klinische Pharmakologie, 2007: p. 209-230.
37. Mahfoud, F., D. Linz, and M. Böhm, *Herz und Niere*. Herz, 2013. **38**(1): p. 67-78.
38. Urban, D., et al., *Treating resistant hypertension: role of renal denervation*. Integr Blood Press Control, 2013. **6**: p. 119-28.
39. Shaw, J.A. and J.L. Warren, *Resistant hypertension and renal denervation where to now?* Cardiovasc Ther, 2015. **33**(1): p. 9-14.
40. Vonend, P.D.O., I. Quack, and L. Rump, *Differenzialdiagnostik der schwer einstellbaren Hypertonie*. Der Nephrologe, 2012. **7**(5): p. 374-384.
41. Battegay, E. and B. Martina, *Arterielle Hypertonie*. Empfehlungen praktisch und Evidenz-basiert. Basel: Evimed, 2004.
42. Palm, F. and L. Nordquist, *Renal oxidative stress, oxygenation, and hypertension*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011. **301**(5): p. R1229-41.
43. Schirmer, S.H., et al., *Improvements in left ventricular hypertrophy and diastolic function following renal denervation: effects beyond blood pressure and heart rate reduction*. J Am Coll Cardiol, 2014. **63**(18): p. 1916-23.
44. Zhou, T., et al., *Relationship between Serum Bilirubin and Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Essential Hypertension*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0125275.
45. Pahigiannis, K., M. Mott, and W. Koroshetz, *Hypertension and Brain Health: Setting Limits: National Institute of Neurological Disorders and Stroke Organizational Update*. Stroke, 2015.
46. Li, Y., et al., *Cerebral angiography, blood flow and vascular reactivity in progressive hypertension*. Neuroimage, 2015. **111**: p. 329-37.
47. Messerli, F.H., B. Williams, and E. Ritz, *Essential hypertension*. Lancet, 2007. **370**(9587): p. 591-603.
48. Göbel, P.D.W. and J. Matlach, *Hypertone Veränderungen des Fundus*. Der Ophthalmologe, 2013. **110**(10): p. 995-1007.
49. Middeke, M., *[Antihypertensive drug therapy : Where do we stand?]*. Internist (Berl), 2015. **56**(3): p. 230-9.
50. Mahfoud, F., et al., *Treatment strategies for resistant arterial hypertension*. Dtsch Arztebl Int, 2011. **108**(43): p. 725-31.
51. Ishii, N., et al., *Anti-atherosclerotic potential of dihydropyridine calcium channel blockers*. J Atheroscler Thromb, 2012. **19**(8): p. 693-704.

52. Reilly, R.F., A.J. Peixoto, and G.V. Desir, *The evidence-based use of thiazide diuretics in hypertension and nephrolithiasis*. Clin J Am Soc Nephrol, 2010. **5**(10): p. 1893-903.
53. Wang, L., et al., *Thiazide-sensitive Na⁺-Cl⁻ cotransporter: genetic polymorphisms and human diseases*. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2015. **47**(5): p. 325-334.
54. Esler, M., *The sympathetic nervous system in hypertension: back to the future?* Curr Hypertens Rep, 2015. **17**(2): p. 11.
55. Jordan, J., *Pathophysiologie der Hypertonie*. Der Internist, 2015. **56**(3): p. 219-223.
56. Huang, B., et al., *Renal denervation for the treatment of atrial fibrillation in hypertensive patients or beyond?* Int J Cardiol, 2015. **189**: p. 59-60.
57. Henegar, J.R., et al., *Catheter-Based Radiofrequency Renal Denervation: Location Effects on Renal Norepinephrine*. Am J Hypertens, 2015.
58. Freyhardt, P., et al., *MR-guided high-focused ultrasound for renal sympathetic denervation—a feasibility study in pigs*. Journal of therapeutic ultrasound, 2014. **2**(1): p. 12.
59. Kniemeyer, H.-W., A. Soliman, and J. Schulte-Herbrüggen, *Nierenarterien. Techniken der offenen Gefäßchirurgie: Standards, Taktiken, Tricks*, 2014: p. 223-242.
60. Sakakura, K., et al., *Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man*. Journal of the American College of Cardiology, 2014. **64**(7): p. 635-643.
61. Streitparth, F., et al., *Percutaneous computer tomography-guided ethanol sympathectomy for the treatment of resistant arterial hypertension*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2014. **37**(2): p. 513-8.
62. Worthley, S.G., 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**(28): p. 2132-40.
63. Templin, C., 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**(28): p. 2141-8, 2148b.
64. Honton, B., et al., *First report of transradial renal denervation with the dedicated radiofrequency Iberis™ catheter*. EuroIntervention: journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology, 2013. **9**(12): p. 1385-1388.
65. de Sousa Almeida, M., et al., *Renal denervation for resistant hypertension*. Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition), 2015. **34**(2): p. 125-135.
66. Wienemann, H., et al., *Treating resistant hypertension with new devices*. Minerva Cardioangiol, 2014. **62**(3): p. 235-241.
67. Gulati, V. and W.B. White, *Novel approaches for the treatment of the patient with resistant hypertension: renal nerve ablation*. Current cardiovascular risk reports, 2013. **7**(5): p. 401-408.
68. Isfort, P., T. Penzkofer, and A.H. Mahnken, *[Cryoablation - back again?]*. Radiologe, 2012. **52**(1): p. 29-37.
69. Freyhardt, P., et al., *MR-guided high-focused ultrasound for renal sympathetic denervation—a feasibility study in pigs*. J Ther Ultrasound, 2014. **2**: p. 12.
70. Nizard, J., et al., *High-intensity focused ultrasound in the treatment of postpartum hemorrhage: an animal model*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2004. **23**(3): p. 262-6.

71. Streitparth, F., et al., *MR-guided periarterial ethanol injection for renal sympathetic denervation: a feasibility study in pigs*. Cardiovascular and interventional radiology, 2013. **36**(3): p. 791-796.
72. Layer, G., T. Kirchhof, and G. Berger, *Embolisationen*, in *Regionale Tumorthherapie*. 2003, Springer. p. 19-33.
73. Streitparth, F., et al., *MR-guided periarterial ethanol injection for renal sympathetic denervation: a feasibility study in pigs*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013. **36**(3): p. 791-6.
74. Dorchin, M., et al., *Evaluation of neuropathy during intensive vincristine chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma and Acute Lymphoblastic Leukemia*. Iran J Ped Hematol Oncol, 2013. **3**(4): p. 138-42.
75. Stefanadis, C., et al., *Chemical denervation of the renal artery by vincristine in swine. A new catheter based technique*. International journal of cardiology, 2013. **167**(2): p. 421-425.
76. Rokseth, R., et al., *Circulatory and respiratory effects of guanethidin*. Br Heart J, 1962. **24**: p. 195-200.
77. Waldvogel, H.H., *Guanethidin*, in *Analgetika Antinozizeptiva Adjuvanzien*. 2001, Springer. p. 644-645.
78. Althaus, F.R., *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin: 131 Tabellen*. 2007: Georg Thieme Verlag.
79. zwischen Antihypertensiva, I., in *der medikamentösen Hochdrucktherapie*. Arterielle Hypertonie: Ätiopathogenese Diagnostik Therapie, 2013: p. 451.
80. Lara, H.E., et al., *Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats*. Endocrinology, 1990. **127**(5): p. 2199-209.
81. Schäfer, B., *Taxol®. Hoffnung gegen Krebs*. Chemie in unserer Zeit, 2011. **45**(1): p. 32-46.
82. Nicolaou, K.C., W.M. Dai, and R.K. Guy, *Chemie und Biologie von Taxol*. Angewandte Chemie, 1994. **106**(1): p. 38-69.
83. Herdeg, C., et al., *Paclitaxel: Ein Chemotherapeutikum zur Restenoseprophylaxe? Experimentelle Untersuchungen in vitro und in vivo*. Zeitschrift für Kardiologie, 2000. **89**(5): p. 390-397.
84. Openshaw, H., et al., *Neurophysiological study of peripheral neuropathy after high-dose Paclitaxel: lack of neuroprotective effect of amifostine*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(2): p. 461-7.
85. Bartsch, V., *Das Taxol-Buch: 55 Tabellen*. 2004: Georg Thieme Verlag.
86. Zeimet, A. and C. Marth, *Intraperitoneale Chemotherapie in der Behandlung des Ovarial-und Tubenkarzinoms*, in *Praxisbuch Gynäkologische Onkologie*. 2014, Springer. p. 135-142.
87. Bennett, M.R., *In-stent stenosis: pathology and implications for the development of drug eluting stents*. Heart, 2003. **89**(2): p. 218-24.
88. Heldman, A.W., et al., *Paclitaxel stent coating inhibits neointimal hyperplasia at 4 weeks in a porcine model of coronary restenosis*. Circulation, 2001. **103**(18): p. 2289-95.
89. Waksman, R. and R. Pakala, *Drug-Eluting Balloon The Comeback Kid?* Circulation: Cardiovascular Interventions, 2009. **2**(4): p. 352-358.
90. De Iuliis, F., et al., *Taxane induced neuropathy in patients affected by breast cancer: Literature review*. Crit Rev Oncol Hematol, 2015.

91. Persohn, E., et al., *Morphological and morphometric analysis of paclitaxel and docetaxel-induced peripheral neuropathy in rats*. Eur J Cancer, 2005. **41**(10): p. 1460-6.
92. Peters, C.M., et al., *An evolving cellular pathology occurs in dorsal root ganglia, peripheral nerve and spinal cord following intravenous administration of paclitaxel in the rat*. Brain Res, 2007. **1168**: p. 46-59.
93. Graf, E., *Salze: Lernen an Stationen im Chemieunterricht (7. bis 9. Klasse)*. 2014: Auer Verlag.
94. Bergmann, L., et al., *Lehrbuch der Experimentalphysik: Festkörper/Hrsg. Rainer Kassing. Autoren Stefan Blügel*. Vol. 6. 2005: Walter de Gruyter.
95. Budde, W. and W. Weg, " *Mehr als das Salz in der Suppe*."
96. Renner, R. and M. Haller, *Wasser- und Elektrolythaushalt*, in *Die Anästhesiologie*. 2012, Springer. p. 115-128.
97. van den Berg, F., *Angewandte Physiologie*. Vol. 1. 2003: Georg Thieme Verlag.
98. Amaral, N.O., et al., *Efferent pathways in sodium overload-induced renal vasodilation in rats*. PLoS One, 2014. **9**(10): p. e109620.
99. Ghosh, S., S. Mitra, and A. Paul, *Physiochemical studies of sodium chloride on mungbean (Vigna radiata L. Wilczek) and its possible recovery with spermine and gibberellic acid*. ScientificWorldJournal, 2015. **2015**: p. 858016.
100. Li, Z., et al., *Some aspects of salinity responses in peppermint (Mentha x piperita L.) to NaCl treatment*. Protoplasma, 2015. **252**(3): p. 885-99.
101. Deutschmann, G., *Wundbehandlungen—Wundheilung*. Die Haut und ihre Anhangsgebilde: Lehrbuch für Krankenpflegepersonal und andere Gesundheitsberufe, 2005: p. 137-157.
102. Hitchcock, E., *Osmolytic neurolysis for intractable facial pain*. The Lancet, 1969. **293**(7592): p. 434-436.
103. Squire, A., O. Calvillo, and P. Bromage, *Painless intrathecal hypertonic saline*. Canadian Anaesthetists' Society Journal, 1974. **21**(3): p. 308-314.
104. Diedler, J., N. Henninger, and H. Huttner, *Erhöhter intrakranieller Druck*, in *NeuroIntensiv*. 2015, Springer. p. 185-199.
105. Neto, O.A., et al., *Intratesticular hypertonic sodium chloride solution treatment as a method of chemical castration in cattle*. Theriogenology, 2014. **82**(7): p. 1007-1011 e1.
106. Wang, Z., et al., *Comparison of Saline-Irrigated Catheter vs. Temperature-Controlled Catheter for Renal Denervation in a Canine Model*. Am J Hypertens, 2015.
107. Bauch, H.J., U. Kelsch, and W.H. Hauss, [*A single, rapid, selective and quantitative determination of adrenaline and noradrenaline in the plasma by a combination of solvent extraction, HPLC separation and electrochemical detection*]. J Clin Chem Clin Biochem, 1986. **24**(9): p. 651-8.
108. Lever, W.F., *Histopathologie der Haut*. 1958: Fischer.
109. Kaddua, S. and R. Kokolb, *Nerventumoren der Haut*. 2015.
110. Rewerk, S., et al. XXIV. *Gefäßchirurgie*. in *Chirurgisches Forum 2006 für experimentelle und klinische Forschung: 123. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie Berlin, 02.05.-05.05. 2006*. 2006. Springer-Verlag.
111. Allmeling, C., et al. *Spinnenseide als peripherer Nervenersatz—Erfolgreicher Einsatz eines biologischen Materials*. in *Chirurgisches Forum 2008*. 2008. Springer.
112. Allmeling, C., K. Reimers - Fadhlou, and P.M. Vogt, *Spinnenseide in der plastischen Chirurgie. Wunderwerkstoff der Natur*. Chemie in unserer Zeit, 2007. **41**(6): p. 428-434.

113. Donners, R., *Renale Sympathikolyse durch CT-gesteuerte periarterielle Applikation von Vincristin und Guanethidin im Schwein zur Evaluation innovativer Therapieoptionen bei therapierefraktärer arterieller Hypertonie*. 2016, Freie Universität Berlin.
114. Goodrich, J.A., et al., *Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation*. *Comp Med*, 2001. **51**(1): p. 13-5.
115. Aydinlandi, Ö., *Herz-Kreislauf-Untersuchungen im Rahmen einer interventionellen Koronar-Angioplastie mit Unterstützung durch die photodynamische Therapie unter Injektionsanästhesie mit Azaperon/Ketamin/Propofol/Fentanyl beim Schwein*. 2004, lmu.
116. Zhao, X., et al., *Arterial Pressure Monitoring in Mice*. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2011. **1**: p. 105-122.
117. Tian, W., et al., *Paclitaxel delivered to adventitia attenuates neointima formation without compromising re-endothelialization after angioplasty in a porcine restenosis model*. *J Endovasc Ther*, 2006. **13**(5): p. 616-29.
118. Mahfoud, F., et al., *Interventionelle renale Sympathikusdenervation zur Behandlung der therapieresistenten Hypertonie*. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2011. **136**(47): p. 2418-2418.
119. Sudanoa, I., et al., *Klinische Effekte der katheterbasierten Nieren nervenablation bei therapieresistenter Hypertonie*. *Kalium (mmol/l)*, 2014. **3**(7): p. 0-7.
120. Kreienberg, R., et al., *Praxistipps. Management des MAMMAKARZINOMS*, 2006: p. 419-456.
121. Krause, W., *Makroskopische Anatomie der Nieren und der Nebennieren*, in *Anatomie und Embryologie*. 1969, Springer. p. 55-145.

14 Publikationen

Frau A. Riemert 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

Publikation 3: Renal denervation by CT-guided periarterial injection of hyperosmolar saline, vincristine, paclitaxel and guanethidine in a pig model

Patrick Freyhardt^{1*}, MD; Ricardo Donners¹, MD; Alex Riemert¹, DVM; Jörg Schnorr¹, DVM; Nicola Stolzenburg¹, DVM; Jan L. Rinnenthal², MD; Ulrich Bernhardt³, PhD; Bernd Hamm¹, MD; Rolf W. Günther¹, MD; Florian Streitparth¹, MD

1. Department of Radiology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany; 2.

Department of Neuropathology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany; 3.

InnoRa GmbH, Berlin, Germany, veröffentlicht in Eurointervention 07.April 2017

15 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Florian Streitparth (ehem. Augustenburger Pl. 1, 13353 Berlin, Charité Campus Virchow-Klinikum, jetzt Klinikum der LMU München, Klinik und Poliklinik für Radiologie) bedanken, der mir ermöglichte, Teil seiner wichtigen wissenschaftlichen Arbeit auf dem Gebiet der renalen Denervation zu sein und im Rahmen dieser meine Doktorarbeit anzufertigen.

Bei Herrn Prof. Dr. med. vet K.H. Lahrman, Leiter der Schweineklinik an der Klinik für Klauentiere der FU Berlin, bedanke ich mich ebenfalls für die Unterstützung bei der Versuchsplanung und Auswertung.

Weiterer Dank gilt Herrn Dr. med. Freyhardt (Augustenburger Pl. 1, 13353 Berlin, Charité Campus Virchow-Klinikum). Ebenso bedanke ich mich bei Frau Dr. med. vet. Stolzenburg und Janni Breinl für eine sorgfältige und geduldige Einarbeitung in die diversen Laborgeräte und Techniken im Labor des Institutes für Radiologie des Virchow Klinikums, Berlin. Auch Herrn Dr. Rinnenthal (Institut für Neuropathologie, Charité Mitte, Berlin) gilt mein Dank für die unterstützende und kompetente Hilfestellung zur Auswertung vieler histologischer Schnitte, weit nach Feierabend. Herrn Dr. Bernhard (Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH, Robert-Koch-Platz 4, 10115 Berlin) danke ich vielmals für die Arbeit zur Bestimmung der Noradrenalinwerte. Herrn Dr. Ricardo Donners, meinem Mitdoktoranden, danke ich für die viele gemeinsame Arbeit mit den Tieren und im Labor, wo wir uns stetig gut ergänzten. Ein weiterer Dank gilt den MTAs am Virchowklinikum, die unsere Forschung durch ihre Arbeit am CT unterstützten.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meiner Schwester, die schon immer unterstützend hinter mir standen. Durch ihre vielen aufbauenden Worte und Unterstützung zu jeder Zeit und jeder Art stärkten sie mir unerlässlich den Rücken. Dafür danke ich ihnen von ganzem Herzen. Auch meinem Onkel Siegfried möchte ich für seine Unterstützung danken. Ein großer Dank gilt an dieser Stelle auch Marlene, die viel zu früh starb, der ich aber sehr viele schöne und prägende Momente meiner Kindheit und Jugend zu verdanken habe. Ebenso danke ich Vera, die mir viel Arbeit abnahm, damit ich meine freie Zeit der Doktorarbeit widmen konnte. An dieser Stelle möchte ich auch meinem verstorbenem Onkel Volkmar danken,

dessen Leidenschaft der Vogelzucht galt und der seine Begeisterung für Tiere stets mit mir teilte.

Mein weiterer Dank gilt meinen Freunden Philip, Caro, Manu, Resa, Kathi und Manila. Freunde auf die man zählen kann.

Letztlich gilt ein gewisser Dank auch den Schweinen, die wir zur wissenschaftlichen Forschung nutzten und mit denen wir viel Zeit verbrachten. Dadurch wurden mir diese Tiere mit ihrer neugierigen, liebenswerten und sensiblen Art noch näher gebracht und zeigten mir einmal mehr, wie wichtig es ist, den Tieren, gleich welcher Art wir sie nutzen, mit Respekt gegenüber zu treten!

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Des Weiteren versichere ich, dass von mir ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen wurden.

Berlin, den 24.03.2018 Alexandra Riemert



9 783863 878993

mbvberlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-86387-899-3