

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

---

## DISSERTATION

# **MRT-gesteuerte periarterielle Alkohol-Injektion zur renalen Sympathikusdenervierung - Machbarkeitsstudie im Schweinemodell**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Anna Walter

aus Berlin

Datum der Promotion: 04.06.2021

**Meinen lieben Eltern  
in tiefer Dankbarkeit gewidmet**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b> .....	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>VI</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>VII</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>IX</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Epidemiologie .....	1
1.2 Definition und Diagnostik .....	2
1.3 Primäre und sekundäre Hypertonie .....	3
1.4 Therapieresistente arterielle Hypertonie .....	4
1.5 Hypertensive Endorganschäden .....	5
1.6 Pathophysiologie - die Rolle des sympathischen Nervensystems.....	5
1.7 Autonome Innervation der Niere.....	12
1.8 Therapie.....	13
1.8.1 Konventionelle Therapie .....	13
1.8.2 Medikamentöse Therapie .....	14
1.8.3 Schrittmacherimplantation .....	14
1.8.4 Renale Denervation .....	15
1.9 Effekte von Ethanol auf Nervenzellen .....	25
1.10 Bisherige Einsatzgebiete von Ethanol zur Denervation .....	26
1.10.1 Anwendungen außerhalb der Hypertonie.....	26
1.10.2 Einsatz von Ethanol zur renalen Denervation bei resistenter Hypertonie.....	26
1.11 Zielstellung.....	29
<b>2 Methoden</b> .....	<b>30</b>
2.1 Versuchstiere und Tierhaltung .....	30
2.2 Vorbereitung der Intervention .....	30
2.3 Ablauf der Intervention .....	32
2.4 MR-Untersuchungsprotokoll und MRT-Bildsteuerung .....	33
2.4.1 Quantitative und Qualitative Bildanalyse .....	33
2.4.2 Interventionszeiten und technische Durchführbarkeit.....	34
2.4.3 MR-Angiographie und -Urographie.....	35
2.5 Euthanasie .....	35
2.6 Histologische Aufarbeitung.....	36
2.6.1 Herstellung der Gewebeschnitte: .....	36
2.6.2 Histologische Färbungen.....	38
2.6.3 Histologische Auswertung .....	39
2.7 Noradrenalin-Bestimmung .....	41

<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>44</b>
3.1 Allgemeine Daten.....	44
3.2 Auswertung der MR-Bildqualität.....	44
3.3 Interventionszeiten .....	49
3.4 Technische Durchführbarkeit.....	49
3.5 Sicherheit und unerwünschte Ereignisse.....	54
3.5.1 Nierenkapselverletzung.....	54
3.5.2 Hydronephrose .....	55
3.5.3 Vaskuläre Komplikationen.....	58
3.6 Noradrenalin-Auswertung.....	59
3.7 Histopathologische Auswertung .....	61
3.8 Blutdruckwerte .....	77
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>79</b>
4.1 Allgemeines.....	79
4.2 Das Schweinemodell .....	79
4.3 Interventionszeiten .....	80
4.4 Technische Durchführbarkeit.....	80
4.5 Sicherheit der Intervention .....	81
4.6 Noradrenalin.....	86
4.7 Histologische Auswertung .....	93
4.8 Blutdruck.....	99
4.9 Prozedurale Parameter, Wirtschaftlichkeit und Kontraindikationen.....	101
4.10 Limitationen .....	106
4.11 Schlussfolgerungen .....	108
4.12 Ausblick .....	109
<b>5 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>111</b>
<b>6 Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>122</b>
<b>7 Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>124</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>125</b>
<b>Lebenslauf.....</b>	<b>126</b>
<b>Publikationsliste .....</b>	<b>127</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>128</b>

## **Vorwort**

Diese Dissertation basiert auf folgender Veröffentlichung:

F. Streitparth, A. Walter, N. Stolzenburg, L. Heckmann, J. Breinl, J. L. Rinnenthal, A. Beck, M. De Bucourt, J. Schnorr, U. Bernhardt, B. Gebauer, B. Hamm, R. W. Günther, MR-guided Periar-terial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013;36(3):791-6.

## Abkürzungsverzeichnis

ABDM	ambulante 24-h-Blutdruckmessung		MEE	Membrana elastica externa
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon		MRA	Magnetresonanzangiographie
Ang II	Angiotensin II		MRT	Magnetresonanztomographie
BD	Blutdruck		MSNA	muscle sympathetic-nerve activity
BDSM	Blutdruck-Selbstmessung		NA	Noradrenalin
BMI	Body-Maß-Index		NBKS	Nierenbeckenkelchsystem
CGRP	calcitonin gene-related peptid		NTS	Nucleus tractus solitarius
CNR	contrast-to-noise ratio		OCT	optische Kohärenztomographie
CRH	Corticotropin-releasing Hormon		PNS	peripheres Nervensystem
CT	Computertomographie		PVN	paraventriculärer Nukleus
DMSO	Dimethylsulfoxid		RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ENaC	epithelialen Natriumkanal		RBF	renaler Blutflusses
EvG-Färbung	Elastica van Gießon-Färbung		RFA	Radiofrequenzablation
FDA	Food and Drug Administration		ROI	regions of interest
FSE	Fast-Spin-Echo-Sequenzen		RSNA	renale sympathische Nervenaktivität
GBDM	Gelegenheitsmessung		RVC	vaskulärer Widerstand
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate		RVLM	rostromedulläre Medulla oblongata
HE-Färbung	Hämatotoxylin-Eosin-Färbung		SI	Signalintensität
HF	Herzfrequenz		SNS	Sympathisches Nervensystem
HIFUS	high intensive focusses ultrasound surgery		SV	Schlagvolumen
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie		TE	Echozeit
HZV	Herzzeitvolumen		TH	Tyrosin-Hydroxylase
IML	intermediolaterale Kolumne		TPR	totaler peripherer Widerstand
IQR	interquartile range		TR	Repetitionszeit
KHK	koronare Herzerkrankungen		UE	unerwünschte Ereignisse
KM	Kontrastmittel		ZNS	zentrales Nervensystem
MAP	mittlerer arterieller Druck			

## **Zusammenfassung**

*Einleitung:* Mit mehr als 1,39 Milliarden Erkrankten im Jahr 2010 und 7,6 Millionen Toten jährlich stellt die Hypertonie den bedeutendsten kardiovaskulären Risikofaktor und eine der führenden Ursachen für Morbidität und Mortalität weltweit dar. Bei etwa 10-35% der Patienten liegt eine therapieresistente Hypertonie vor, der eine Überaktivität des sympathischen Nervensystems zu Grunde gelegt wird. Die renale Denervation durch Radiofrequenzablation (RFA) soll durch Verödung der renalen sympathischen Fasern zu einer Senkung des Blutdrucks in dieser Zielgruppe führen. Im Zuge der Kostenreduktion und einiger prozeduraler Einschränkungen der RFA wurden in jüngster Vergangenheit weitere Verfahren zur renalen Denervation untersucht. Eines dieser Verfahren ist die hier vorgestellte perkutane periarterielle Injektion von Alkohol. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die genannte Therapie hinsichtlich Machbarkeit, Effektivität und Sicherheit zu evaluieren.

*Material und Methoden:* An 15 anästhesierten Hausschweinen erfolgte eine unilaterale, MRT-gesteuerte Injektion reinen Alkohols oder eines Alkohol-Polyacrylgemisches von 5 oder 10 ml um die Nierenarterien. Die kontralaterale Seite verblieb zur internen Kontrolle unbehandelt. In beiden Nieren wurde die Noradrenalin(NA)-Konzentration als ein Marker sympathischer Aktivität und damit des Behandlungserfolgs bestimmt. Messungen des Blutdrucks wurden prä- und postinterventionell sowie präfinal durchgeführt. Eine histologische Untersuchung der Nierenarterien und des angrenzenden Gewebes diente dem Nachweis neuraler Degenerationen und dem Ausschluss möglicher Begleitschäden der Therapie.

*Ergebnisse und Diskussion:* Für die Gesamtheit der untersuchten Tiere konnte ein nicht-signifikanter, medianer Abfall des NA von 7,49% gegenüber der unbehandelten Niere festgestellt werden. In der besten Subgruppe (Tiere 7-10) mit Applikation von 10 ml Alkohol ohne Polyacrylzusatz wurde eine nicht-signifikante NA-Reduktion von 54,86% erzielt. Die beobachteten Blutdruckveränderungen erwiesen sich ebenfalls als nicht signifikant (+5/-5 mmHg). Histologisch ließen sich bei 7 Tieren nervale Schädigungen nachweisen, ferner zeigte sich die Nervenanzahl der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite der Tiere 7-16 signifikant vermindert. Mögliche Ursachen für die teils geringen Unterschiede in den Messungen sind eine zu schnelle Abdiffusion der Substanz, eine nicht ausreichende Wirkstoffmenge, eine zu kleine Gruppengröße und bei den Tieren mit Polyacrylzusatz eine zu geringe Konzentration des Alkohols. Bei insgesamt 4 Tieren konnten Nebenwirkungen der Therapie beobachtet werden, bei einem Tier kam es zu einer intraprozeduralen Komplikation.

*Schlussfolgerung:* In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine renale Denervation durch die periarterielle Applikation von Alkohol technisch möglich ist und Vorteile gegenüber der

RFA aufweisen kann. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der Wirksamkeitsoptimierung und der Senkung der Nebenwirkungsrate sind erforderlich.

## **Abstract**

*Introduction:* With more than 1,39 billion patients in 2010 and 7.6 million deaths annually, the hypertension is the most important cardiovascular risk factor and one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide. Approximately 10-35% of patients are affected by resistant hypertension, which is - to our knowledge - caused by an overactivity of the sympathetic nervous system. Renal denervation by radiofrequency ablation (RFA) is attended to ablate the renal sympathetic fibers and thereby leading to a blood pressure lowering in this target group. For the purpose of cost reduction and the given procedural limitations of the RFA, further procedures for renal denervation were examined in the recent past. One of these methods is the percutaneous periarterial injection of alcohol. The aim of this study was to evaluate the feasibility, efficacy and safety of the abovementioned therapy.

*Materials and Methods:* 15 anesthetized domestic swine underwent an unilateral, MR-guided injection of pure alcohol or a mixture of alcohol and polyacrylic acid of 5 or 10 ml to the renal arteries. The contralateral side remained untreated serving as an internal control. In both kidneys, the norepinephrine (NA) concentration was determined as a marker of sympathetic activity and thus the success of treatment. Measurements of blood pressure were performed pre- and postinterventional and shortly before euthanasia. Histological examination of the renal arteries and the adjacent tissue served the detection of neural degeneration and the exclusion of possible collateral damage of the therapy.

*Results and discussion:* For all of the animals studied, a non-significant, median decrease of NA of 7.49% was found compared to the untreated kidney. In the best subgroup (animals 7-10) with application of 10 ml alcohol but without the addition of polyacrylic acid, a non-significant decrease of NA of 54.86% was achieved. The observed changes in blood pressure came out to be not significant (+5/-5 mmHg), too. The microscopic examination was able to prove neural lesions in 7 animals, further more the number of nerves from treated versus untreated side of the animals 7-16 was significantly reduced. Possible causes for the few significant results include a rapid diffusion of alcohol, an insufficient amount of active ingredient, a small group size and - in animals with injection of the mixture of alcohol and polyacryl acid - a low concentration of alcohol. A total of 4 animals revealed side effects of the therapy and in one animal, there was an intra-procedural complication.

*Conclusion:* This study demonstrates that renal denervation can be performed using the percutaneous periarterial alcohol injection and may have advantages over the RFA. Further studies concerning the optimization of the procedural effectiveness and the reduction of side effects are required.

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie

Aus einer Untersuchung von Daten aus 2001 geht die arterielle Hypertonie als die weltweit führende Sterblichkeitsursache hervor und stellt darüber hinaus nach der Unterernährung den zweithäufigsten Grund für eingeschränkte Lebensqualität dar.<sup>1</sup> 7,6 Millionen Menschen sterben jährlich an den Folgeschäden des Bluthochdrucks. Dies entspricht 13,5% der Todesursachen weltweit.<sup>2</sup> In Deutschland beträgt der Anteil der Hypertonie an der Gesamtmortalität mehr als 25%.<sup>3</sup> 1,39 Milliarden Menschen, 31,1% der Bevölkerung, waren im Jahr 2010 an Bluthochdruck erkrankt.<sup>4</sup> Bis zum Jahr 2025 wird ein Anstieg auf 1,56 Milliarden Menschen erwartet (29,2% der Bevölkerung).<sup>5</sup> Die Prävalenz der Hypertonie liegt in Deutschland in 2014 mit 31,5% (34,9% unter den Männern und 28,4% unter den Frauen) sogar noch höher.<sup>6</sup>

Trotz eines größeren prozentualen Anteils an Bluthochdruckpatienten in den Industrienationen mit 37,3% gegenüber den Entwicklungsländern mit 22,9%, überwiegt die absolute Anzahl Betroffener in den Entwicklungsländern durch die dort deutliche höhere Bevölkerungsdichte bei Weitem: Mehr als 2/3 der Bluthochdruckpatienten leben derzeit in Entwicklungsländern, in 2025 werden es voraussichtlich 3/4 der Bluthochdruckpatienten sein.<sup>5</sup> Die Mortalität der arteriellen Hypertonie ist jedoch durch die insgesamt immer noch schlechte medizinische Versorgung in Entwicklungsländern um 30% höher im Vergleich zu den westlichen Ländern.<sup>1</sup>

Der deutliche Anstieg kardiovaskulärer Erkrankungen und ihrer Risikofaktoren, insbesondere in den letzten Jahrzehnten, hat seinen Ursprung in den veränderten Lebensgewohnheiten durch den sozioökonomischen Umbruch des 20. Jahrhunderts und der zunehmend nach westlichem Vorbild ausgerichteten kulturellen Anpassung der Länder der Dritten Welt.<sup>7,8</sup> Damit konform zeigt sich die Prävalenz der Hypertonie in städtischen Gebieten gegenüber ruralen Gegenden signifikant erhöht.<sup>8</sup> Eine mindestens ebenso entscheidende Rolle spielt die demographische Entwicklung mit einer kontinuierlich alternden Gesellschaft. So betrug die Lebenserwartung in den meisten asiatischen Ländern in den 50er Jahren lediglich um 40 Jahre und stieg im Laufe der 90er Jahre auf mehr als 60 Jahre an.<sup>9</sup> Gerade durch das Erreichen eines höheren Lebensalters werden Krankheiten der kardiovaskulären Risikogruppe begünstigt, die sich v. a. in der zweiten Lebenshälfte manifestieren.<sup>9,10</sup> Andererseits wirken chronische Erkrankungen, wie die Hypertonie, der in den letzten Jahrzehnten gewonnenen Lebenserwartung entgegen.<sup>9</sup>

Insgesamt stellt die Hypertonie eine globale gesundheitliche Bedrohung dar, welche nach neuen Lösungsansätzen in der Behandlung drängt.

## 1.2 Definition und Diagnostik

Nach den Leitlinien der European Society of Hypertension (ESH) und der European Society of Cardiology (ESC) von 2013 ist die Diagnose Hypertonie zu stellen, wenn der systolische Blutdruck 140 mmHg und/oder der diastolische 90 mmHg überschreitet (siehe Tab. 1).<sup>11</sup> Oberhalb dieses Grenzwertes ist die kardiovaskuläre und renale Morbidität und Mortalität deutlich erhöht, sodass eine Behandlung für jeden Patienten, unabhängig von Begleiterkrankungen und Risikofaktoren, anzuraten ist. Bei einer Hypertonie Grad I nimmt das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen im Vergleich zum hochnormalen Blutdruck bereits um 50% zu.<sup>12</sup> Hypertensive Endorganschäden können jedoch auch bei deutlich niedrigeren Blutdruckwerten auftreten. In den Ende 2015 veröffentlichten Daten der SPRINT-Studie (Systolic Blood Pressure Intervention Trial) konnte eine 46% niedrigere kardiovaskuläre Sterblichkeit bei Hypertonikern mit Einstellung des Blutdrucks auf < 120 gegenüber < 140 mmHg nachgewiesen werden.<sup>13</sup> Darüber hinaus führt, Untersuchungen des US-amerikanischen Bluthochdruck-Komitees zu Folge, jede Erhöhung des systolischen bzw. diastolischen Blutdrucks um 20 bzw. 10 mmHg, ausgehend von 115/75 mmHg, zu einer Verdopplung der hypertoniebedingten Mortalität.<sup>14-16</sup> In der INVEST-Studie (International Verapamil-Trandolapril Study) konnten jedoch auch gegenteilige Effekte beobachtet werden. Eine Senkung des Blutdrucks < 130 mmHg bei hypertonen Diabetikern brachte keinen weiteren Vorteil bezüglich des kardiovaskulären Risikos, im Gegenteil wurde sogar ein Anstieg der Gesamtmortalität bei niedrigeren Blutdruckwerten verzeichnet.<sup>17</sup> Nach Empfehlung der ESH und ESC sollte die Festlegung eines Blutdruckzielwerts daher individuell anhand des kardiovaskulären Risikoprofils getroffen werden.<sup>11,18</sup>

Der Blutdruck unterliegt kurz- und langfristigen Fluktuationen, welche extrinsischen umweltbedingten Faktoren und intrinsischen hormonellen, psychischen und physischen Regulationsmechanismen unterworfen sind.<sup>19</sup> Eine einmalige Messung erlaubt daher keine zuverlässige Aussage über den Blutdruck. Der Hypertonie wird erst als manifest angesehen, wenn der Blutdruck über o.g. Grenzwert bei mindestens zwei Messungen an unterschiedlichen Tagen oder Uhrzeiten liegt.<sup>20,21</sup> Die nach der ESC und ESH erfolgte Einteilung des Bluthochdrucks basiert auf der Praxismessung oder Gelegenheitsmessung (GBDM) durch den Arzt. Weitere Messverfahren sind die Blutdruck-Selbstmessung (BDSM) in der häuslichen Umgebung des Patienten, die ambulante 24-h-Blutdruckmessung (ABDM) und die Blutdruckmessung unter standardisierter Belastung.<sup>18</sup> Die GBDM ist das wichtigste Verfahren zum Hypertonie-Screening, weist jedoch auch eine Reihe von Limitationen, wie die oben erwähnte Beeinflussung durch spontane Blutdruckschwankungen und einen nicht abschätzbaren Weißkitteleffekt, auf.<sup>22</sup> Die ABDM stellt den Goldstan-

dard in der Diagnostik der Hypertonie dar. Durch die große Messdichte von ca. 70 Messungen/Tag wird eine hohe Validität gewährleistet. Weiterhin korreliert die ABDM besser als die GBDM mit allen Arten von hypertensiven Endorganschäden.<sup>23</sup> Ein erhöhter Blutdruckwert in der GBDM sollte durch eine ABDM oder BDSM verifiziert werden.<sup>21</sup>

**Tab. 1: Definition und Klassifikation des Bluthochdrucks für Erwachsene nach der ESH und ESC 2013<sup>11</sup>**

<b>Kategorie</b>	<b>systolisch [mmHg]</b>		<b>diastolisch [mmHg]</b>
Optimal	< 120	und	< 80
Normal	120-129	und/oder	80-84
Hoch-normal	130-139	und/oder	85-89
Hypertonie Grad 1	140-159	und/oder	90-99
Subgruppe Borderline	140-149	und/oder	90-94
Hypertonie Grad 2	160-179	und/oder	100-109
Hypertonie Grad 3	≥ 180	und/oder	> 110
Isolierte systolische Hypertonie	≥ 140	und	< 90
Subgruppe Borderline	140-149	und	< 90

Die Hypertonie kann weiterhin, neben der obigen Klassifikation, nach der Ätiologie eingeteilt werden, wobei zwischen primärer und sekundärer Hypertonie differenziert wird.

### **1.3 Primäre und sekundäre Hypertonie**

Die sekundäre Hypertonie (< 10% der Bluthochdruckpatienten) soll im Rahmen der Vollständigkeit an dieser Stelle kurz erläutert werden. Es handelt sich um eine monokausale, in der Regel auf ein Organsystem begrenzte, häufig renale oder endokrine Erkrankung, deren Leitsymptom der erhöhte Blutdruck ist. Im Gegensatz zur nachfolgend erläuterten primären Hypertonie ist die sekundäre Hypertonie somit potentiell kurativ behandelbar. Mögliche dem Bluthochdruck zu Grunde liegende Ursachen sind ein primärer Hyperaldosteronismus, ein obstruktives Schlaf-Apnoe-Syndrom, ein Cushing-Syndrom, ein Phäochromozytom, eine Nierenarterienstenose oder die Einnahme von Medikamenten wie Kortison, Antikontrazeptiva oder nicht-steroidale Antiphlogistika.

Die primäre Hypertonie stellt eine multifaktorielle Erkrankung mit ausgeprägter hereditärer Komponente und Einflüssen aus Umgebung und Lebensstil des Patienten dar.<sup>22</sup> Sie betrifft etwa 90% der Hypertoniker.<sup>18</sup> Die Pathogenese der primären Hypertonie ist vielschichtig. Zwillingsstudien konnten nachweisen, dass ein erhöhter Blutdruck in ca. 30% auf eine genetische Disposition und zu etwa 70% auf exogene, umweltbedingte Einflüsse zurückzuführen ist, die durch komplexe Interaktionen untereinander zur Manifestation des Hypertonus beitragen.<sup>24</sup> Die ehemals synonym verwendeten Bezeichnungen essentielle oder idiopathische Hypertonie beschreiben den Sachverhalt, dass die Ursache als unbekannt galt. Inzwischen konnten jedoch zahlreiche

## Einleitung

auslösende, sog. hypertensinogene Faktoren, identifiziert werden. Adipositas, hohe Kochsalzzufuhr, Insulinresistenz, Bewegungsmangel, Stress, Nikotinabusus, regelmäßiger Alkoholkonsum sowie, als nicht beeinflussbare Variable, das fortschreitende Patientenalter sind einige von ihnen.<sup>21</sup> Sie unterliegen einem additiven blutdrucksteigernden Effekt.<sup>25</sup> Eine ganz entscheidende Rolle wird ferner der Überaktivität des sympathischen Nervensystems zugeschrieben.

In dieser Arbeit wird unter dem Terminus Hypertonie die primäre Hypertonie verstanden.

### **1.4 Therapieresistente arterielle Hypertonie**

Eine therapieresistente Hypertonie liegt vor, wenn trotz der Einnahme von mindestens 3 Medikamenten in größtmöglicher Dosierung, der Zielblutdruck ( $< 140/90$  mmHg) nicht erreicht werden kann.<sup>26</sup> Unter den eingenommenen Medikamenten muss sich wenigstens ein Diuretikum befinden. Per definitionem schließt die resistente Hypertonie auch die Patientengruppe mit ein, deren Blutdruck sich mit 4 oder mehr Medikamenten auf den Sollwert einstellen lässt.<sup>26</sup>

Der genaue Anteil der resistenten Hypertonie an der Gesamtheit aller Bluthochdruckpatienten ist nicht bekannt. Einer Auswertung der Daten des National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) von 2003-2008 zu Folge liegt die Häufigkeit der therapieresistenten Hypertonie bei etwa 13%.<sup>27</sup> Untersuchungen der ALLHAT- (Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial), ACCOMPILISH- (Avoiding Cardiovascular Events in Combination Therapy in Patients Living with Systolic Hypertension) und ASCOT-Studie (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial) ergaben hingegen deutlich höhere Prävalenzen von 25-35%.<sup>28-31</sup> Insgesamt zeichnet sich, analog zur arteriellen Hypertonie, eine Zunahme therapieresistenter Hypertoniker ab. Während nach den Daten der NHANES von 1998-2004 nur etwa 16% der Bluthochdruckpatienten eine Therapieresistenz aufwiesen, wurden für die Jahre 2005-2008 Prävalenzen um 28% ermittelt.<sup>32</sup>

Abzugrenzen ist die unkontrollierte Hypertonie, zu der neben der medikamentenresistenten Hypertonie auch die Pseudoresistenz zählt. Letztere umfasst Patienten mit fehlender Einstellbarkeit des Blutdrucks auf Grund einer Non-Compliance, inadäquater Therapie, fehlerhafter Blutdruckmessungen, z.B. durch Verwendung zu kleiner Blutdruckmanschetten, oder eines Weißkitteleffekts.<sup>26</sup> Die Prävalenz der unkontrollierten Hypertonie liegt entsprechend höher. Aus den Daten der NHANES von 1999-2000 geht ein Anteil von 46,9% der unkontrollierten Hypertonie hervor, nach einer Auswertung von Framingham Heart-Teilnehmern zwischen 1990 und 1995 beträgt dieser sogar 52,2%.<sup>33,34</sup> Die Häufigkeit der unkontrollierten und vermutlich auch der resistenten Hypertonie nimmt mit steigendem Alter zu. Für die Altersklasse der  $\geq 60$ -Jährigen bzw. der  $> 75$ -Jährigen der beiden letztgenannten Untersuchungen ergab sich eine Prävalenz der unkontrol-

lierten Hypertonie von 56,3 bzw. mehr als 60%.<sup>33,34</sup> Darüber hinaus korreliert die Kontrollrate invers mit dem Ausgangsblutdruck. Unter den Patienten mit einem Blutdruck von  $\geq 160$  mmHg zu Beginn der Therapie erreichen nur etwa 25% im Verlauf den Zielwert.<sup>35</sup> Das Risiko, eine resistente Hypertonie zu entwickeln, steigt bei bestehender linksventrikulärer Hypertrophie, Adipositas, chronischen Nierenerkrankungen oder Diabetes nachweislich an.<sup>36</sup> Weiterhin ist im Vergleich zur kontrollierten Hypertonie die Anzahl kardiovaskulärer Komplikationen und Organschäden deutlich erhöht.<sup>37</sup>

### 1.5 Hypertensive Endorganschäden

Die Hypertonie stellt die wichtigste Ursache für Schlaganfälle und KHK dar. Weltweit ereignen sich etwa 15 Millionen Schlaganfälle und 7,3 Millionen Myokardinfarkte pro Jahr.<sup>38,39</sup> Mehr als 2/3 der Schlaganfallpatienten weisen einen erhöhten Blutdruck auf.<sup>21</sup> Der wichtigste prädiktive Wert für Schlaganfall und KHK ist der systolische Blutdruck, der wichtigste Vorhersagewert für Herzinsuffizienz und Gesamtmortalität ist der Pulsdruck.<sup>18</sup> Darüber hinaus ist das Risiko hypertoner gegenüber normotonen Patienten für eine Herzinsuffizienz vierfach, für eine Niereninsuffizienz sechsfach, für eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) zwei- bis dreifach und für Herzrhythmusstörungen anderthalbfach erhöht.<sup>40-42</sup> Weitere wichtige Folgeerkrankungen sind die Gefäßdissektion, zerebrovaskuläre Schädigungen, z. B. der M. Binswanger, und die Retinopathie.<sup>43</sup> Problematisch stellt sich die lange Beschwerdefreiheit dar, die zum einen zu einem mangelnden Verständnis vieler Patienten für eine konsequente medikamentöse Therapie und zum anderen häufig zu einer erst späten Diagnose bei bereits bestehenden Endorganschäden führt.

### 1.6 Pathophysiologie - die Rolle des sympathischen Nervensystems

Der Blutdruck (BD) im Herzkreislaufsystem verhält sich proportional zum Herzzeitvolumen (HZV) und dem totalen peripheren Widerstand (TPR), siehe Gleichung (1). Einer Blutdruckerhöhung geht demzufolge entweder eine Zunahme des Gefäßwiderstandes in Form einer Vasokonstriktion und/oder eine Erhöhung des Herzzeitvolumens voraus.

Das HZV selbst ist abhängig von der Herzfrequenz (HF) und dem Schlagvolumen (SV), vgl. Gleichung (2). Daraus folgend, ergeben sich als wichtige Größen der Blutdruckregulation die HF, das SV und der TPR, ersichtlich aus Gleichung (3). Alle physiologischen und pathophysiologischen Prozesse, die sich letztlich auf mindestens eine dieser Größen auswirken, sind an der Modulation des Blutdrucks beteiligt.

$$(1) \quad BD = HZV \times TPR$$

$$(2) \quad HZV = HF \times SV$$

## Einleitung

$$(3) \quad BD = HF \times SV \times TPR$$

Jeder der 3 Parameter wird entscheidend durch das vegetative Nervensystem beeinflusst: Der Sympathikus wirkt über Stimulation kardialer  $\alpha_{1,2}$  und  $\beta_1$ -Rezeptoren positiv ino- und chronotrop, d.h. die Kontraktilität des Herzens sowie die Erregungsbildung im Sinusknoten nehmen bei sympathischer Aktivitätssteigerung zu. Dies mündet in einer Erhöhung von SV bzw. HF und damit des Blutdrucks (siehe Abb. 1). An der Niere besitzt das sympathische Nervensystem (SNS) drei weitere Angriffspunkte: Über  $\alpha_{1B}$ -Rezeptoren wird eine verstärkte Natrium- und Wasser-Rückresorption und dadurch Antidiurese und über  $\alpha_{1A}$ -Rezeptoren eine Vasokonstriktion der afferenten renalen Gefäße vermittelt. Letzteres führt via Drosselung des renalen Blutflusses (RBF) und dem daraus resultierenden verminderten Perfusionsdruck zu einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Auf die Reninfreisetzung wird weiter unten näher eingegangen. Die beiden erstgenannten Prozesse tragen über Erhöhung des zirkulierenden Blutvolumens zu einer Vorlastzunahme und im Rahmen des Frank-Starling-Mechanismus damit zu einer weiteren Steigerung des SV und des Blutdrucks bei. Ferner wird bei erhöhter Sympathikusaktivität über  $\alpha_1$ -Rezeptoren eine Abnahme des Arterioldurchmessers erzielt. Der Radius eines Gefäßes verhält sich in der 4. Potenz reziprok zum TPR. Letztlich resultiert auch hierüber eine Zunahme des Blutdrucks.

Weiterhin werden HF, SV und TPR auch über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) reguliert. Das RAAS selbst steht ebenfalls unter dem Einfluss renaler sympathischer Efferenzen. Zum besseren Verständnis nachgenannter Zusammenhänge zwischen SNS und RAAS erfolgt eine kurze Erläuterung wesentlicher zentraler Strukturen: Die rostrale ventrolaterale Medulla (RVLM) gilt als primäres Kontrollzentrum des sympathischen Ruhetonus und damit der Langzeitblutdruckregulation.<sup>44</sup> In der C<sub>1</sub>-Subregion liegen Zellkörper adrenerger sympathischer Neurone, die in Verbindung mit zahlreichen weiteren Kernregionen stehen und über efferente Neurone in die intermediolaterale Kolumne (IML) jedes Rückenmarksegments projizieren. Die dort gelegenen präsynaptischen sympathischen Neurone ziehen nach Umschaltung auf postganglionäre Fasern zu den jeweiligen Erfolgsorganen wie Herz, Gefäßen und Niere. Die Aktivität der RVLM-Neurone wird über die kaudale ventrolaterale Medulla (CVLM) durch den Nucleus tractus solitarii (NTS) inhibiert.

Die Wirkweise von RVLM und NTS wird anhand von präklinischen Studien deutlich: Bilaterale elektrolytische Läsionen des NTS in Katzen bzw. Ratten führten zu einer Steigerung des Sympathikotonus mit ausgeprägter Labilität des Blutdrucks bzw. einer fulminanten Hypertonie und schweren Organschäden.<sup>36,45,46</sup> Eine simultane Ablation des NTS und der ipsi- oder kontralatera-



## Einleitung

vermutlich über AP-abhängige Aktivierung von RVLM-Neuronen, gemindert werden.<sup>48</sup> Im Tiermodell ließ sich der Blutdruck durch elektrolytische Ablation der AP bei Steroid-induzierter Hypertonie nachweislich senken.<sup>48</sup> Der Vorhofdehnungs-, der Baro- und der Chemoreflex sind drei weitere Mechanismen, die der Modulation des Sympathikotonus dienen. Während bei Anstieg der Vorhoffüllung über die atrialen Dehnungsrezeptoren und bei hohen Blutdruckwerten über die in Aorta und Karotissinus gelegenen Barorezeptoren eine negative Rückkopplung und eine Senkung der SNS-Aktivität erzielt wird, wirkt der Chemoreflex stimulatorisch. Bei Reizung der volumensensitiven Dehnungsrezeptoren im Vorhof depolarisieren diese und leiten die afferenten Impulse über vagale sensible Fasern zum NTS. Die weitere Verschaltung erfolgt vermutlich wie beim Baroreflex. Die Folge ist eine Hemmung der hypothalamischen ADH-Sekretion (für Wirkung siehe unten), eine Vasodilatation der Nierengefäße und eine Suppression des sympathischen Nervenaktivität, insbesondere zur Niere, mit verminderter Reninfreisetzung.<sup>49</sup> Auf den Baroreflex wird an anderer Stelle näher eingegangen (siehe Kapitel 1.8.3), dennoch soll erwähnt werden, dass er in seiner Funktion durch die anteroventrale Region des 3. Ventrikels beeinflusst wird. Chemorezeptoren befinden sich im Glomus caroticum und der Aorta, aber auch in Niere und Muskel und erfassen den pH-Wert, den Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck. Die Informationen werden über afferente Fasern, im Falle der Chemorezeptoren der Niere über sensorische renale Fasern, an den NTS weitergeleitet. Von dort aus ziehen sympathoexzitatorische Bahnen zum paraventriculären Nucleus (PVN) im Hypothalamus und anschließend weiter zur RVLM.<sup>50</sup>

Im Folgenden werden die Wechselwirkungen von SNS und RAAS dargestellt. Es handelt sich um ein bidirektionales Geschehen, d. h. das SNS trägt zur Aktivierung des RAAS bei und umgekehrt führt das RAAS zu einer Erhöhung des Sympathikotonus.<sup>51</sup> Letzteres findet sowohl auf Ebene des ZNS als auch des peripheren Nervensystems statt.

Über efferente sympathische Fasern wird eine Stimulation von  $\beta_1$ -Rezeptoren der juxtaglomerulären Zellen der Niere mit folgender Reninausschüttung bewirkt und damit die RAAS-Kaskade initiiert. Renin erhöht über einige Zwischenschritte die Konzentration des zirkulierenden Angiotensins II (Ang II), welches seinerseits wiederum über zahlreiche Schaltstellen die sympathische Aktivität steigert.<sup>36,51,52</sup>

1. Durch Anregung mehrerer Kerngebiete des ZNS, u.a. der AP, führt Ang II zu einer Zunahme der SNS-Aktivität.
2. Via Stimulation präsynaptischer angiotensinogener Rezeptoren zentraler und peripherer Neurone wird die Menge an Noradrenalin (NA), die bei jedem Nervenimpuls freigesetzt wird, potenziert. Ferner wird die präsynaptische Wiederaufnahme des NA gesteigert.

## Einleitung

3. Die Aktivierung von  $AT_1$ -Rezeptoren in der Nebenniere bewirkt eine verstärkte Sekretion von Adrenalin und NA.
4. Weiterhin wird über Inositid-abhängige Signaltransduktion ein erhöhter Calcium-Einstrom erzielt, der die Wirkung des NA verstärkt.
5. Über eine Desensibilisierung der Barorezeptoren wird die druckabhängige Sympathoinhibition verringert.

Darüber hinaus verfügt Ang II über weitere, blutdrucksteigernde Effekte, vornehmlich via  $AT_1$ -Rezeptor-Stimulation:<sup>36,49,51-53</sup>

1. Durch Vasokonstriktion der Arteriolen und teilweise auch der venösen Gefäße des Körpers wird eine Erhöhung des TPR und damit des systemischen Blutdrucks bewirkt.
2. Zusätzlich erfolgt über Ang II lokal eine Vasokonstriktion der renalen Gefäße sowie der afferenten und efferenten glomerulären Arteriolen. Da der vasokonstriktorische Effekt auf die afferenten Gefäße überwiegt, wird die GFR durch den entstehenden verminderten RBF erniedrigt. Höhere Konzentrationen an Ang II können ferner über eine Konstriktion mesangialer Zellen die filtrative Leistung der Niere weiter senken.
3. Über Ang II wird zudem eine Freisetzung von Aldosteron aus der Nebenniere vermittelt. Die Aktivierung der Mineralkortikoidrezeptoren durch Aldosteron führt zu einem vermehrten Einbau von epithelialen Natriumkanälen (ENaC) und der Natrium-Kalium-ATPase im distalen Nephron, über die eine Rückresorption von Natrium und damit einhergehend auch Wasser gefördert wird.
4. Weiterhin wird eine Ausschüttung von ADH aus dem Hypophysenhinterlappen veranlasst. Über den  $V_2$ -Rezeptor reguliert ADH die Wasserpermeabilität im distalen Konvolut und den Sammelrohren durch Einbau von Aquaporinen und erzielt so einen antidiuretischen Effekt. In hohen Konzentrationen, welche allerdings eher in akuten Volumenmangelzuständen zum Tragen kommen, wirkt ADH über den  $V_1$ -Rezeptor v.a. auf die Kapazitätsgefäße vasokonstriktorisch und trägt damit zusätzlich zur Erhöhung der TPR bei. Zudem führt eine Stimulation von  $V_3$ -Rezeptoren im Hypophysenvorderlappen zu einer Sekretion von CRH (Corticotropin-releasing Hormon) und ACTH (Adrenocorticotropes Hormon). ACTH wiederum setzt aus der Nebenniere Cortisol frei, welches ebenfalls zu einer Blutdruckerhöhung beisteuert.
5. Überdies ist Ang II für ein vermehrtes Durstgefühl, vermittelt über eine Stimulation des Hypothalamus, ursächlich.
6. Letztlich führt Ang II zu einer inadäquat hohen renalen Nervenaktivität, die eine Salz- und Wasserretention sowie, über Vasokonstriktion der zuführenden glomerulären Gefäße, eben-

## Einleitung

falls eine Abnahme der GFR begünstigt.

Alle der oben genannten Mechanismen, die zur Erhöhung des Blutvolumens beitragen, führen analog zu den durch adrenerge  $\alpha_{1A}$ - und  $\alpha_{1B}$ -Rezeptoren vermittelten sympathischen Effekten über eine Vorlaststeigerung zu einer Zunahme von SV und Blutdruck.

Die Effekte des SNS an der Niere sind abhängig von der Impulsfrequenz der renalen sympathischen Nervenaktivität (RSNA) und steuern damit die kurz- und langfristige Blutdruckänderung. Bei niedrigen Frequenzen resultiert die Stimulation efferenter Fasern in einer alleinigen Reninsekretion, die Natriumrückresorption, die GFR und der RBF bleiben unverändert. Bei einer weiteren Zunahme der RSNA wird darüber hinaus die Natrium- und Wasserretention angekurbelt. Sehr hohe Impulsfrequenzen haben eine Reninausschüttung, eine Antinatriurese, -diurese und über die direkten vasokonstriktorischen Effekte auf die zuführenden renalen Gefäße eine Verminderung von RBF und GFR zur Folge.<sup>54</sup>

Unter physiologischen Bedingungen wird die SNS-Aktivität neben dem bereits erwähnten Baro- und Vorhofdehnungsreflex durch Rückkopplung afferenter renaler Fasern über den sog. renorenalen Reflex inhibiert. Dieser hat die Aufgabe, eine Balance in der Salz- und Wasserausscheidung zwischen beiden Nieren zu gewährleisten. Ein erhöhter renal-venöser Druck sowie eine Druckzunahme im Harnleiter oder Nierenbecken, beispielsweise auf Grund vermehrter Natriumzufuhr oder einer uretralen Obstruktion, führen zu einer Reizung der renalen Mechanorezeptoren und einer ipsilateral gesteigerten afferenten renalen Nervenaktivität.<sup>55</sup> Dies resultiert in einer inhibitorischen Reflexantwort der kontralateralen Niere: Die RSNA der nicht-stimulierten Niere sinkt, im Gegenzug steigen die Natriurese sowie über Erhöhung von RBF und GFR die Diurese dieser Niere. Die Folge ist ein systemischer Blutdruckabfall und dadurch eine Reduktion von RBF und GFR der ipsilateralen Niere. Auf diese Weise wird eine nahezu gleiche Arbeitslast in der Aufrechterhaltung von Blutdruck- und volumen für beide Nieren erzielt.<sup>56</sup> Tierexperimentelle Studien unterstützen vorgenannte Zusammenhänge: Die unilaterale totale renale Denervation (Durchtrennung der afferenten als auch efferenten Fasern) führt zu einer ipsilateral erhöhten und kontralateral erniedrigten Diurese und Natriumexkretion. Die Effekte an der kontralateralen Niere sind auf eine erhöhte RSNA zurückzuführen.<sup>55</sup> Weiter zeigt sich durch selektive afferente Denervation via dorsaler Rhizotomie an Ratten ein im Vergleich zur Sham-Gruppe höherer arterieller Druck nach Verabreichung natriumreicher Kost.<sup>57,58</sup> Es ist folglich anzunehmen, dass afferente renale Fasern tonisch inhibierend auf kontralaterale renal sympathische Fasern wirken und so zu einer niedrigen RSNA beitragen. Umgekehrt bewirkt ein Anstieg der RSNA eine Zunahme der basalen afferenten renalen Nervenaktivität und der ipsilateralen Reflexantwort afferenter renaler Fasern auf eine Stimulation der Mechanorezeptoren.<sup>59</sup>

## Einleitung

Unter pathophysiologischen Gesichtspunkten kann allerdings eine Entkopplung des inhibitorischen Reflexbogens über afferente renale Fasern erfolgen oder dieser sogar in eine exzitatorische Reflexantwort umschlagen.<sup>60</sup> In spontan-hypertensiven Ratten ließ sich eine Beeinträchtigung von blutdrucksenkendem renorenalem-, Baro- und kardialem Dehnungsreflex nachweisen. Die Stimulation renaler Mechanorezeptoren in diesen Tieren zeigt keine Wirkung auf die kontralaterale RSNA, Diurese oder Natriurese.<sup>61</sup> Ähnliches ergibt sich für die Reizung von Baro- und kardialen Dehnungsrezeptoren. Eine inadäquate und exzessive Stimulation renal sensorischer Rezeptoren kann überdies zu einer gesteigerten Sympathikusaktivität führen. Die Injektion kleiner Mengen Phenol in den unteren Nierenpol hat einen Anstieg des arteriellen Blutdrucks, des Plasma-NA, der afferenten ipsilateralen Nervenaktivität und der kontralateralen RSNA zur Folge. Eine zuvor durchgeführte dorsale Rhizotomie oder totale renale Denervation verhindert die genannte Reaktion auf Phenol.<sup>62</sup> Als ursächlich wird eine verminderte neuronale Aktivität des PVN, nachstehend auch der RVLM-Neurone sowie der efferenten sympathischen Fasern in Folge einer ausbleibenden Stimulation durch sensorische renale Nerven angesehen. Umgekehrt konnte durch Stimulation afferenter renaler Nerven in Ratten eine 84%ige Aktivierung der Neuronen in der PVN- und RVLM-Region erreicht werden.<sup>63</sup> Diese Studien demonstrieren, dass eine wesentliche Kontrolle des Sympathikotonus durch sensorische Nerven aus der Niere erfolgt. Inzwischen wurden eine Reihe von Erkrankungen beschrieben, darunter chronische Nierenerkrankungen, Kardiomyopathien und Diabetes, die die afferenten renalen Fasern in ihrer Funktion modulieren und somit zu einer erhöhten sympathischen Aktivität beitragen können.<sup>60</sup>

Zusammenfassend beeinflusst das SNS über zahlreiche Schaltstellen, direkt wie indirekt, den Blutfluss. Eine Dysregulation dieses dynamischen Systems, hervorgerufen durch eine sympathische Überaktivität, kann zu einem Ungleichgewicht zu Gunsten blutdrucksteigernder Faktoren und dementsprechend zu einer Hypertonie führen. Diese Annahme unterstützend, konnten in Patienten mit Hypertonie erhöhte NA-Spiegel, als Ausdruck eines gesteigerten Sympathikotonus, nachgewiesen werden. Darüber hinaus scheinen bei der arteriellen Hypertonie wichtige regulierende Mechanismen außer Kraft gesetzt zu sein, die einem Circulus vitiosus aus afferenter und efferenter renaler Nervenaktivität sowie aus SNS und RAAS Einhalt gebieten.

Die Unterbrechung afferenter und efferenter sympathischer Bahnen zur Wiederherstellung einer Homöostase scheint ein vielversprechender Ansatz. Bereits vor Einführung der modernen Pharmakotherapie konnte eine beeindruckende Wirksamkeit in der Blutdrucksenkung durch radikale chirurgische Sympathektomien erzielt werden. Die erste Operation dieser Art wurde 1916 durch Jonnescu an einem Patienten mit wiederholten schwersten Angina Pectoris-Anfällen durchgeführt, der sich nach Exstirpation des unteren Hals- und des oberen Brustganglions, schmerzfrei

## Einleitung

zeigte.<sup>64</sup> Das Verfahren wurde später von den amerikanischen Chirurgen Peet<sup>65</sup> und Smithwick<sup>66</sup> übernommen und zur subdiaphragmalen sympathischen Splanchniektomie abgewandelt, mit der Blutdruckreduktionen, je nach Ausgangswert, bis zu 100 mmHg erreicht werden konnten. Entscheidende Limitationen des Eingriffs stellten allerdings die häufigen und teils schweren prozedurassoziierten Nebenwirkungen, wie orthostatische Hypotonie, Gangunsicherheit, Impotenz, Inkontinenz und gastrointestinale Beschwerden sowie die hohe Mortalitätsrate von bis 11% dar, sodass die Therapie mit Entwicklung der Antihypertensiva in den 50er Jahren wieder verlassen wurde.<sup>66</sup>

Durch die Verfügbarkeit der minimalinvasiven Therapie und die damit verbundene Möglichkeit eines selektiveren und folglich nebenwirkungsärmeren Vorgehens wurde der sympathischen Denervation in den letzten Jahren erneut Beachtung geschenkt. Die Niere als zentrales Organ in der Blutdruckregulation und der leichte Zugang für Katheter als auch perkutane Verfahren zur Nierenarterie machen die renalen sympathischen Nerven zu einem geeigneten Zielobjekt der Sympathikolyse. Insbesondere für Patienten, bei denen eine medikamentöse Behandlung keinen Erfolg zeigt, scheint die renale Denervation eine aussichtsreiche Therapieoption.

### 1.7 Autonome Innervation der Niere

Die Niere verfügt über eine dichte afferente und efferente sympathische Innervation und kann sowohl Ziel als auch Ursprung gesteigerter Sympathikusaktivität sein.<sup>67</sup> Eine parasympathische Innervation der Nierenarterien ist strittig.<sup>68</sup> Präganglionäre sympathische Fasern ziehen von der IML der thorakalen Rückenmarkssegmente 9-12 über den sympathischen Grenzstrang als N. splanchnicus major und minor zum Plexus coeliacus und werden dort auf die postsynaptischen Fasern umgeschaltet. Die postganglionären Fasern passieren den Plexus renalis am Abgang der Nierenarterie ohne ein weiteres Mal umgeschaltet zu werden und verlaufen anschließend mit der A. renalis bis zur Niere.<sup>69</sup> Postganglionäre sympathische sind unmyelinisiert und der Gruppe der C-Fasern nach Erlanger und Gasser zuzuordnen.<sup>53</sup> In Hinblick auf die später durchgeführte anti-S100-Färbung ist es wichtig zu erwähnen, dass auch markscheidenfreie Axone im Bereich des Internodiums von einer Schwannzelle umhüllt werden.

Die Nervenfasern verlaufen in der Tunica adventitia der A. renalis, wobei die Distanz zum Lumen im proximalen Bereich des Gefäßes am größten ist und nach distal abnimmt. Über die Hälfte aller Nerven befinden sich in einem Abstand von 2 mm oder mehr von der Intima-Oberfläche entfernt.<sup>70</sup> Abb. 2 demonstriert, dass direkt periarteriell nur wenig Nerven vorzufinden sind. Die Nervendichte zeigt sowohl Unterschiede von proximal nach distal als auch in der zirkumferentiellen Lokalisation im ventralen, dorsalen, inferioren oder superioren Segment. Die höchste Ner-

venanzahl befindet sich proximal und ventral, die niedrigste distal und dorsal.<sup>70</sup> Insgesamt über-

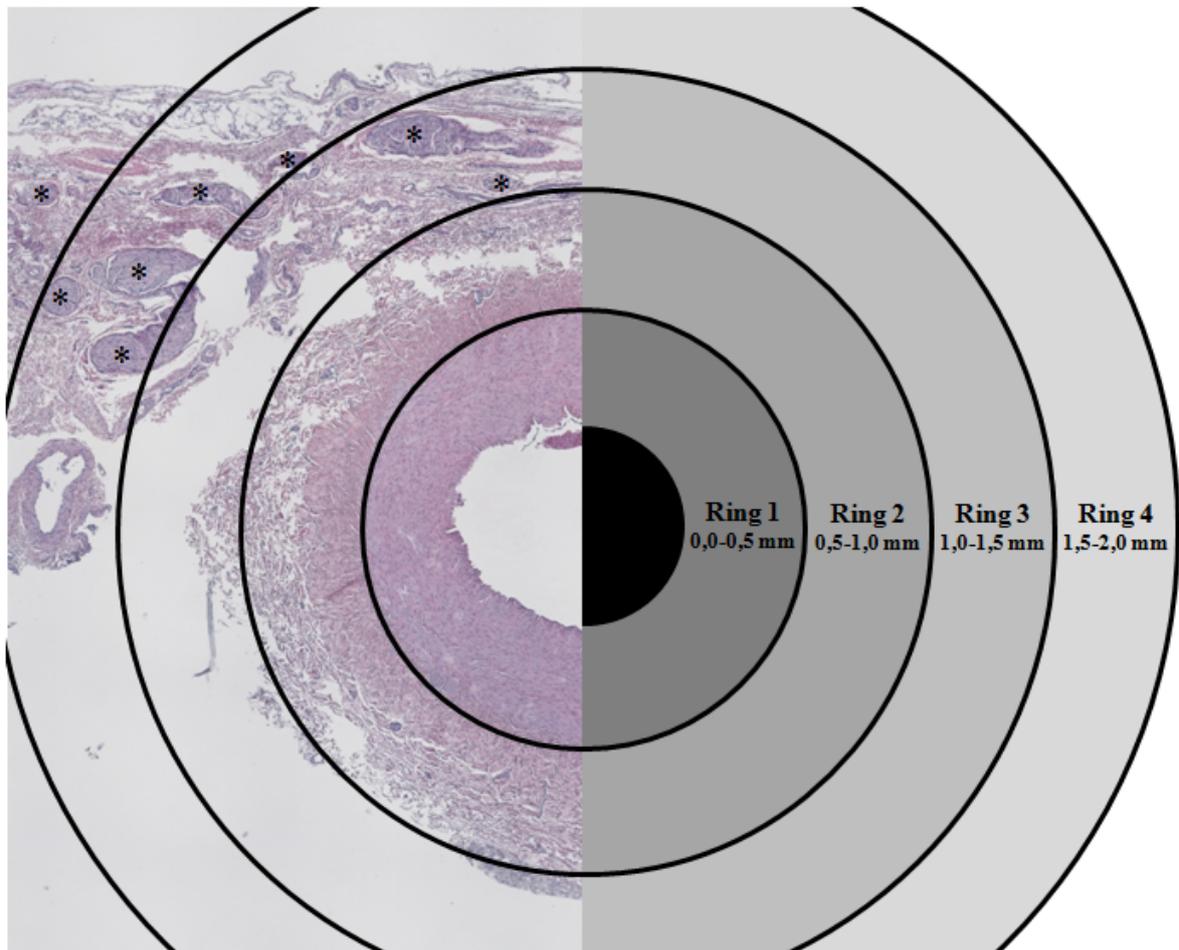


Abb. 2: Darstellung der Nervendichte in Abhängigkeit von der Distanz zum Lumen anhand einer Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarterienabschnitts von Schwein 14. Der innerste Ring reicht von der Intimaoberfläche des abgebildeten Gefäßes bis zu einer Entfernung von 0,5 mm. Der Großteil der Nerven (mit \* gekennzeichnet) befindet sich erst in einer Distanz von 1,5 mm oder mehr zum Lumen, direkt an die Nierenarterie angrenzend befinden sich nur wenige Nerven. Der entfernteste, hier nicht mehr dargestellte Nerv, weist eine Entfernung von 9,9 mm zur Intima auf. Die Abbildung ist angelehnt an Atherton et al.<sup>71</sup>

wiegen efferente gegenüber afferenten Fasern. Es konnten bisher keine anatomischen Unterschiede in der Innervation der Niere zwischen Hypertonikern und normotonen Patienten festgestellt werden.<sup>72</sup>

## 1.8 Therapie

### 1.8.1 Konventionelle Therapie

Bei noch fehlenden Anzeichen von Organschäden, insbesondere bei Blutdruckwerten im hochnormalen Bereich (130-140 mmHg systolisch bzw. 85 mmHg diastolisch) sollte mit einer nicht-medikamentösen Therapie begonnen werden. Eine wichtige Säule in der konventionellen Therapie ist die körperliche Bewegung. Durch Integration von leichter sportlicher Aktivität in den Arbeitsalltag konnte eine Reduktion des systolischen Blutdrucks um 4-9 mmHg nachgewiesen werden.<sup>16,21</sup> Weitere wichtige Angriffspunkte der konventionellen Therapie sind eine Normali-

## Einleitung

sierung des Körpergewichts sowie eine kochsalzarme Diät. Eine Abnahme des Körpergewichts um 5 bis 10 kg bewirkt eine durchschnittliche Blutdrucksenkung von 15/10 mmHg, eine Kochsalzrestriktion von etwa 7/4 mmHg.<sup>14</sup> Weiterhin kann eine Reduktion des Alkoholkonsums dazu beitragen, den Blutdruck zu senken (im Mittel um 2-4 mmHg systolisch).<sup>16</sup> Durch Hypertonieschulungen kann ferner das Verständnis des Patienten für die Erkrankung verbessert und die Therapietreue erhöht werden.

### 1.8.2 Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie kommt zum Einsatz, wenn konventionelle Therapieverfahren versagt haben und/oder Organschäden bereits nachzuweisen sind. In Abhängigkeit vom Lebensalter und den Begleiterkrankungen des Patienten (z.B. Herzinsuffizienz oder chronisches Nierenversagen) wird ein Medikament festgelegt. Für eine Monotherapie stehen zur Zeit fünf Medikamente der ersten Wahl zur Verfügung. Dies sind ACE-Hemmer, AT<sub>1</sub>-Antagonisten, Betablocker, Thiazid-Diuretika und Kalziumantagonisten. Als Mittel der zweiten Wahl können  $\alpha_1$ -Antagonisten,  $\alpha_2$ -Agonisten, Renininhibitoren, Kaliumkanalöffner und NO-Donatoren verwendet werden. Bei 2/3 der Patienten ist der Blutdruck mit einer Monotherapie nicht ausreichend eingestellt.<sup>21</sup> 5-10% der Bluthochdruckpatienten nehmen mehr als drei und 1-3% sogar mehr als 4 Medikamente ein.<sup>43</sup> Die Patientencompliance korreliert ihrerseits invers mit der Medikamentenanzahl pro Tag. Die Therapietreue beträgt bei Einnahme eines Medikaments annähernd 80% im Vergleich zu etwa 50% bei 4 Tabletten.<sup>73</sup> Ein Nichtbefolgen des Therapieregimes ist wiederum der häufigste Grund für eine vermeintliche Therapieresistenz.<sup>74</sup> Dennoch existiert auch ein nicht zu verachtender Anteil echter medikamentenresistenter Hypertoniker, auf den, mit Vorstellung der nachfolgenden Therapieverfahren, näher eingegangen werden soll.

### 1.8.3 Schrittmacherimplantation

Durch Barorezeptoren in der Gefäßwand des Sinus caroticus wird der Blutdruck fortwährend kontrolliert und ggf. optimiert. Die Barorezeptoren werden vom Ramus sinus carotici des 9. Hirnnervs innerviert. Bei Sollwertüberschreitung des Blutdrucks wird die Information über den N. glossopharyngeus an den NTS in der Medulla oblongata weitergeleitet.<sup>75</sup> Vom NTS ziehen exzitatorische Interneurone zu den kardiainhibitorischen Arealen in der CVLM.<sup>75</sup> Von dort aus projizieren hemmende GABAerge ( $\gamma$ -Aminobuttersäure) Neurone zur RVLM und erreichen schließlich über präganglionäre sympathische Nerven die IML des Rückenmarks. Durch die Inhibierung des Sympathikus werden eine Dämpfung der Herztätigkeit, eine Vasodilatation und eine Abnahme der Reninausschüttung bewirkt. Die Erregung parasymphatischer Efferenzen durch den NTS resultiert in einer Erhöhung des Vagotonus, über den die Herztätigkeit ebenfalls

## Einleitung

negativ beeinflusst und ferner eine Diurese erzielt wird. Der beschriebene Ablauf wird auch als Baroreflex bezeichnet.

Der seit 2003 eingesetzte Karotisschrittmacher bedient sich dieses physiologischen Regelkreislaufs, um den Blutdruck zu senken. In der DEBuT-HT-Studie (Device Based Therapy in Hypertension Trial) konnte bei 37 von 45 Patienten durch Schrittmacherimplantation nach 2 Jahren ein Blutdruckabfall von 33 mmHg systolisch und 22 mmHg diastolisch gezeigt werden, nach Abschluss des 4-jährigen Follow-ups betrug die Blutdrucksenkung 53/30 mmHg.<sup>76,77</sup> Die randomisiert-doppelblinde und prospektive Rheos Pivotal Studie erzielte ähnlich gute Ergebnisse, allerdings wurden von den 5 primären Endpunkten nur Langzeiteffizienz, Aggregatsicherheit und Therapiesicherheit erreicht, die prozedurale Sicherheit und die Kurzzeiteffizienz hingegen nicht.<sup>43,78</sup> Insgesamt ereigneten sich bei 68 von 265 Patienten implantationsabhängige Komplikationen ( $\approx$  Komplikationsrate von 26%).

In einzelnen Fällen konnte darüber hinaus nach einiger Zeit eine Wirkungsabnahme hinsichtlich der Blutdruckreduktion beobachtet werden. Als Ursache hierfür wird eine Adaption an die kontinuierliche Stimulation des Barorezeptors vermutet. Des Weiteren stellt die bisher kurze Batterielaufzeit bei ständiger Stimulation und hohen Spannungen und Frequenzen ein Problem dar.<sup>43</sup>

### **1.8.4 Renale Denervation**

Seit 2007 ist neben der Schrittmachertherapie eine weitere, innovative Therapieoption zur Behandlung therapieresistenter Hypertonie verfügbar. Dem Eingriff zu Grunde liegen die im Kapitel 1.6 beschriebenen pathophysiologischen Vorgänge. Die ersten Versuche wurden als minimal-invasives Verfahren durch kathetergestützte Thermoablation der sympathischen Nervenfasern in den Nierenarterien durchgeführt. Inzwischen gibt es zahlreiche weitere Verfahren, die sich auch anderer endovaskulärer, perkutaner und nicht invasiver Methoden bedienen. Die perkutanen Verfahren stellen neben den endovaskulären die wichtigsten Therapieansätze zur renalen Denervation dar. Sie umfassen eine Reihe neurolytischer Substanzen, die zur chemischen renalen Sympathikolyse an das Nierenarterienostium appliziert werden.

#### *1.8.4.1 Radiofrequenzablation*

Die RFA mittels Simplicity Katheter stellt das erste interventionelle Verfahren dar, das zur renalen Denervation im Menschen eingesetzt wurde. Dabei wird ein Katheter in die A. femoralis eingeführt und bis zur Nierenarterie vorgeschoben. Die Platzierung der Katheterspitze erfolgt so weit distal wie möglich, jedoch vor der Aufteilung in die beiden Hauptäste.<sup>43</sup> Durch Anwendung von hochfrequentem Wechselstrom im Radiofrequenzbereich für jeweils ca. 2 Minuten sollen die der Gefäßwand anliegenden sympathischen Nervenfasern durch Hitzenekrose zerstört wer-

## Einleitung

den.<sup>79</sup> Dieser Vorgang wird ca. 4-6 Mal spiralförmig entlang der Nierenarterie wiederholt. Anschließend erfolgt die Behandlung der anderen Seite in gleicher Weise.<sup>79</sup>

Wie in Kapitel 1.7 erwähnt, befinden sich die meisten renalen Nervenfasern erst in größerer Entfernung zum Lumen. Man geht davon aus, dass die bei der Thermoablation entstehende Hitze in der Lage ist, diese Distanz zu überwinden und die adventitialen Nervenfasern zu schädigen. Das Endothel und die Gefäßmuskulatur werden bei dem Eingriff ebenfalls verletzt, besitzen jedoch ein größeres Regenerationspotential als die sympathischen Fasern.<sup>43</sup>

Zur Zeit sind vier RFA-Systeme für Phase III-Studien zugelassen. Zu diesen gehören Medtronic Symplicity Flex, St. Judes EnligHTN, Boston Scientific Vessix V2 und Covidien OneShot.<sup>80</sup> Die erste größere klinische Anwendung erfolgte mit dem Symplicity Flex Katheter (Medtronic, Minneapolis, Minnesota, USA) im Rahmen der HTN-1-Studie an 45 Patienten in einer Open-Label-Studie ohne Kontrollgruppe.<sup>81</sup> Ein Jahr nach Denervation wurde ein Blutdruckabfall von 27 mmHg systolisch und 17 mmHg diastolisch registriert. Zur Evaluierung des Erfolgs der renalen Denervation kann neben der Blutdruckmessung die Bestimmung des NA-Spillovers in der Niere oder des gesamten Körpers herangezogen werden. Aus den Endigungen der postganglionären Fasern wird NA in den synaptischen Spalt freigesetzt und durch Wiederaufnahme in die Synapse sowie neuronalen und extraneuronalen Metabolismus nach einer gewissen Zeit aus dem synaptischen Spalt wieder entfernt.<sup>82</sup> Der Überschuss an NA im synaptischen Spalt gelangt als NA-Spillover in den Körperkreislauf bzw. das Plasma. Durch renale Denervation wird die sympathische Aktivität reduziert, was zu einer verminderten Ausschüttung des NA an den synaptischen Endigungen und dadurch zu einer geringeren NA-Plasma-Konzentration führt. In der gängigen Literatur wird zur Bestimmung der Menge des NA im Plasma anhand der Isotopenverdünnungsanalyse durch Infusion von Tritium-markiertem NA bekannter Konzentration die Verteilung des NA im Plasma verändert. Durch Messung dieser Verteilung mit Hilfe der Massenspektrometrie lässt sich die ursprüngliche NA-Konzentration errechnen.<sup>82</sup> Mittels vorgenannter Methode wurde in der HTN-1-Studie zusätzlich bei 10 Patienten eine Messung des bilateralen renalen NA-Spillover vor und 15-30 Tage nach der Intervention vorgenommen. Hierbei ergab sich eine mittlere Reduktion von 47%. In einem 36-Monats-Follow-up der Symplicity-HTN-1 konnte ein Langzeiteffekt der Blutdruckreduktion bestätigt werden. Zum Ende der Studie betrug die Blutdrucksenkung durchschnittlich 33/14 mmHg.<sup>83</sup>

Ähnlich gute Resultate zeigte die prospektive randomisierte Open-Label-Studie Symplicity HTN-2, in der 52 Patienten der renalen Denervation unterzogen und 54 Patienten der Kontrollgruppe zugeordnet wurden.<sup>84</sup> Im Behandlungsarm konnte ein Abfall des Praxisblutdrucks von 32/12 mmHg und in der ABDM ein mittlerer Abfall von 11/7 mmHg nachgewiesen werden. In

## Einleitung

der Kontrollgruppe zeigte sich hingegen kein Unterschied zum Studienbeginn. Ein Follow-up bis 36 Monate nach Behandlung bestätigte auch hier den gewünschten Langzeiteffekt mit anhaltender Blutdrucksenkung (33/14 mmHg nach 36 Monaten).<sup>85</sup>

Von den Symplicity-HTN-1-Investigatoren wurde 2011 eine weitere Open-Label-Studie veröffentlicht, die die Machbarkeit der Methode in 153 Patienten und 19 beteiligten Rekrutierungszentren über einen Zeitraum von 24 Monaten untersuchte.<sup>86</sup> Nach 12 Monaten betrug die Blutdrucksenkung 23/11 mmHg, nach 24 Monaten 32/14 mmHg. Insgesamt erreichten 39% der Patienten am Ende der Studie den Zielblutdruck von < 140 mmHg.

In 2014 wurden die Ergebnisse der ersten RFA-Studie unter Verwendung einer Scheinprozedur in der Kontrollgruppe publiziert: Die Symplicity-HTN-3-Studie stellt eine prospektive, einfach verblindete, randomisiert-kontrollierte Untersuchung von 535 Patienten über 6 Monate dar.<sup>87</sup> 364 Patienten wurden der Denervationsgruppe zugeteilt, 171 der Kontrollgruppe. Letztere erhielten eine Nierenangiographie als Scheinbehandlung. Am Ende der Studie wurde in der Praxisblutdruckmessung eine nicht signifikante Blutdruckreduktion von durchschnittlich 14 mmHg systolisch in der Interventionsgruppe gegenüber 12 mmHg systolisch in der Kontrollgruppe verzeichnet. Die Blutdrucksenkung in der ABDM fiel mit 7 mmHg in der Denervationsgruppe zu 5 mmHg systolisch in der Sham-Gruppe noch geringer aus. Bezüglich der Sicherheit zeigten sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Die geforderte Differenz von mindestens 5 mmHg zwischen Interventions- und Kontrollarm für die Zulassung durch die US-Arzneimittelbehörde FDA (Food and Drug Administration) wurde nicht erreicht.<sup>88</sup>

Eine neuere Studie zur renalen Denervation ist die Ablation mit dem EnligHTN-System (St. Jude Medical, St. Paul, Minnesota, USA). Der Katheter besitzt einen expandierbaren Korb mit vier Platin-Iridium-Elektroden. Jede Elektrode hat einen Temperatursensor, um eine Überhitzung zu verhindern. Nach Positionierung im Gefäß wird der Korb aufgeklappt und durch jede der vier Elektroden ein mechanischer Reiz gesetzt.<sup>89</sup> Durch Einsatz des Vier-Elektroden-Systems ist eine simultane Ablation an mehreren Stellen der Gefäßwand möglich, wodurch die Behandlungszeit gegenüber dem von Medtronic verwendeten Katheter verkürzt wird. In der EnligHTN I-Studie wurde die Anwendung dieses Verfahrens bei 46 Patienten untersucht. Nach einem Jahr betrug die mittlere Blutdruckreduktion des Praxis-Blutdrucks 27 mmHg systolisch und 11 mmHg diastolisch.<sup>90</sup>

Das Vessix Katheter System (Boston Scientific, Laguna Hills, Kalifornien, USA) besteht aus einem Ballon, auf dessen Oberfläche mehrere bipolare Elektrodenpaare helikal angebracht sind. Vorteile gegenüber dem Medtronic System sind die ebenfalls kürzere Behandlungszeit, einhergehend mit einer geringeren Expositionsdauer gegenüber Röntgenstrahlen und niedrigeren benö-

## Einleitung

tigen Mengen Kontrastmittels sowie die Anwendbarkeit in schmalen Nierenarterien bis zu einem Durchmesser von 3 mm.<sup>80</sup> Das Vessix Kathetersystem wurde in der prospektiven, nicht-randomisierten Open-Label Studie REDUCE-HTN an 146 Patienten von Februar 2012 bis April 2013 untersucht. Zum Zeitpunkt von 6 Monaten lag der Praxisblutdruck um 25/10 mmHg und der Blutdruck in der ambulanten Messung um 8/6 mmHg niedriger als zu Beginn.<sup>91</sup>

Der OneShot Katheter (Covidien, Maya Medical Inc., Campbell, Kalifornien, USA) besitzt einen bewässerten Ballon, auf dem nur eine monopolare Elektrode helikal angeordnet ist. Eine Kochsalzabgabe des Ballons während der Prozedur soll eine Schädigung umliegendes Gewebe verhindern.<sup>92</sup> Der Einsatz nur einer Elektrode statt mehrerer einzelner kleiner Elektroden ermöglicht eine zirkumferentielle Ablation des Gefäßes. Weiterhin wird durch die gleichmäßige Ablation entlang des Gefäßes einer Entwicklung von Stenosen vorgebeugt. Der aufgeblähte Ballon stabilisiert den Kontakt der Elektrode mit der Gefäßwand und erlaubt damit eine kontrollierte Energieabgabe.<sup>80</sup> Die ersten Ergebnisse des Verfahrens wurden in der RHAS-Studie veröffentlicht, bei dem die mittlere Blutdrucksenkung nach 12 Monaten 31/10 mmHg betrug.<sup>93</sup> In der darauffolgenden RAPID-Studie betrug die Reduktion nach 12 Monaten 22/8 mmHg in der Praxisblutdruckmessung und 9/5 mmHg in der ABDM.<sup>94</sup>

Ein weiteres Verfahren, das bisher an 10 Patienten in einer Pilotstudie erprobt wurde, ist die Denervation mit dem RFA-Katheter ThermoCool (Biosense Webster Inc., Diamond Bar, Kalifornien, USA). Ähnlich zum OneShot-Katheter besteht der Vorteil in einer Freisetzung von Salzlösung und einer dadurch verminderten Thrombogenität und Narbenbildung des behandelten Areals. Der Aufbau unterscheidet sich allerdings durch den fehlenden Ballonaufsatz. Die Ergebnisse der Pilotstudie erscheinen vielversprechend (Tab. 2).<sup>23</sup>

Die Firma Medtronic brachte mit dem Symplicity Spyral kürzlich einen weiteren RFA-Katheter zur renalen Denervation auf den Markt. Das Spyral System besitzt eine selbstexpandierende, helikale Katheterspitze mit 4 Elektroden, die sich einem Gefäßdurchmesser von 3-8 mm anpassen kann. Gegenüber dem bisherigen Symplicity Flex Katheter besteht der Nutzen in einer verkürzten Ablationszeit durch simultane Stimulation der Elektroden. Von Medtronic wurden erste positive Ergebnisse auf die Blutdrucksenkung bekanntgegeben (siehe Tab. 2).<sup>95,96</sup>

In der präklinischen Phase befindet sich derzeit ein von Verve Medical eingesetzter nicht-vaskulärer RFA-Katheter, der über den Ureter bis zum Nierenbecken vorgeschoben wird. Im Nierenbecken besteht eine hohe Innervationsdichte sowohl efferenter sympathischer als auch sensorischer Nervenfasern, wodurch dieses einen idealen Angriffspunkt der renalen Denervation darstellt. Vorteile bestehen in einer geringen Invasivität gegenüber bisherigen RFA-Verfahren, einer fehlenden Behinderung durch anatomische Anomalitäten, wie es bei der A. renalis der Fall

## Einleitung

sein kann, und die Möglichkeit einer ambulanten Durchführung. In einer Untersuchung an 16 Schweinen wurde die Denervation mit dem Verve Medical Katheter mittels Histologie und NA-Konzentration überprüft.<sup>97</sup> Die mittlere NA-Reduktion betrug 60,4%. Ferner ließen sich in der histopathologischen Untersuchung schwere neurale Schäden nachweisen.

### *1.8.4.2 Renale Denervation mit Ultraschall*

Eine neuere Methode ist die Verwendung von Ultraschall zur renalen Denervation. Es werden minimal-invasive bzw. endovaskuläre und nicht-invasive bzw. extrakorporale Verfahren unterschieden. Die Schallwellen durchdringen je nach Verfahren die Gefäß- oder Bauchwand und führen dort zu einem Temperaturanstieg, welcher in einer Schädigung der renalen Nervenfasern resultiert.

Zum endovaskulären Ultraschall zählen der PARADISE- (Percutaneous Renal Denervation System, ReCor Medical Inc., Ronkonkoma, New York, USA), der Sound Interventions- (Sound Interventions, Stony Brook, NY) und der TIVUS-Katheter (Therapeutic Intravascular Ultrasound, Cardiosonic Ltd., Tel Aviv, Israel). Alle drei Systeme befinden sich bereits in klinischer Erprobung. Der PARADISE- und der Sound Intervention-Katheter verfügen über eine zirkumferentielle Energieabgabe, während die Schallwellen bei dem TIVUS-Katheter gerichtet von einem Sender abgegeben werden. Über Drehung des Katheters ist bei dem TIVUS-System jedoch ebenfalls eine multidirektionale Schallwellenabgabe möglich. Die Ergebnisse des PARADISE-Katheters werden aktuell in der REDUCE- und REALISE-Studie, die des Sound Interventions-Katheters in der SOUND-ITV-Studie und die des TIVUS-Katheters in der TIVUS I-Studie untersucht. Für alle Untersuchungen liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt keine abschließenden Ergebnisse vor. Aus Tab. 2 sind allerdings erste Resultate ersichtlich.

Die nicht-invasiven Verfahren zur renalen Denervation befinden sich derzeit noch in der präklinischen Phase der Untersuchung. In einer Studie von Wang et al.<sup>98</sup> wurden 18 Kaninchen durch Anwendung eines extrakorporalen hochfokussierten Ultraschalls (High-Intensity Focused Ultrasound = HIFUS) denerviert. Nach 28 Tagen betrug die Blutdruckreduktion in der Denervationsgruppe 16/14 mmHg und in der Kontrollgruppe 1/1 mmHg. Der NA-Abfall zum gleichen Zeitpunkt betrug 55% gegenüber 9% in der Kontrollgruppe. In einer neueren Studie von Freyhardt et al.<sup>99</sup> wurden 10 Schweine mit dem MR-gesteuerten HIFUS einseitig behandelt. Nach einem Zeitraum von 4 Wochen konnte jedoch keine signifikante NA-Reduktion der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite festgestellt werden, ebenfalls war kein signifikanter Unterschied im Blutdruck gegenüber der Ausgangsuntersuchung nachzuweisen. Weiterhin zeigten sich in nur einem Tier histopathologisch Nervendegenerationen.

# Einleitung

**Tab. 2: Übersicht über bisherige klinische Studien zur renalen Denervation**<sup>23,81,84,86,89,91,93-95,100-108</sup>

Katheter	Firma	Klin. Studienprogramme	Jahr	Ablationsverfahren	Typ der Studie	Anzahl der Patienten	Länge der Studie/ Zeitpunkt der BD-Messung	Mittl. Blutdrucksenkung [mmHg]	Energie-/ Effektor- Abgabezeit pro Läsion	Gesamte Energie-/ Effektor- Abgabezeit	Anordnung der Elektroden/ Sender	Elektroden-/ Senderanzahl	Aufbau
Symplicity Flex	Medtronic	Symplicity HTN-1	2009	monopolare RFA	keine Kontrolle, open-label	50	12 m	Praxis-BD: 27/17 (n=9)	2 min	16-24 min	Einfach	1	flexible Spitze
		Symplicity HTN-2	2010		rand., Kontrolle, open-label	106 (52 IG)	6 m	Praxis-BD: 31/12 (n=49) ABDM: 11/7 (n=20)					
		/	2011		keine Kontrolle, open-label	153	24 m	Praxis-BD: 32/14 (n=18)					
		Symplicity HTN3	2014		rand., einfach-verblindet	530 (364 IG)	6 m	Praxis-BD: 14 SBD (n=353) ABDM: 7 SBD (n=329)					
Symplicity Spyral		/	2014		keine Kontrolle, open-label	50	12 m	Praxis-BD: 19/7 (n=48) ABDM: 8/5 (n=41)	1 min	2 min	Multi-array	4	helikale Spitze
		Global Symplicity Spyral HTN Trial	2016			201	12	Praxis-BD: 13 SBD (n=94) ABDM: 10 SBD (n=66)					
EnligHTN	St. Judes Medical	EnligHTN I (ARSENAL)	2014	monopolare RFA	keine Kontrolle, open-label	46	12 m	Praxis-BD: 27/11 (n=45)	90 sec	24 min	Multi-array	4	Korb
Vessix	Boston Scientific	REDUCE-HTN	2015	bipolare RFA	keine Kontrolle, open-label	146	6 m	Praxis-BD: 25/22 (n=142) ABDM: 8/6 (n=69)	30 sec	2 min	Multi-array	8	Ballon
One Shot	Covidien-Maya	RHAS	2013	monopolare RFA	keine Kontrolle, open-label	9	12 m	Praxis-BD: 31/10 (n=6)	2 min	4 min	Multi-array	1 (spiralförmig)	Ballon
		RAPID	2015		keine Kontrolle, open-label	50	12 m	Praxis-BD: 22/8 (n=41) ABDM: 9/5 (n=26)					

## Einleitung

Katheter	Firma	Klin. Studienprogramme	Jahr	Ablationsverfahren	Typ der Studie	Anzahl der Patienten	Länge der Studie/ Zeitpunkt der BD-Messung	Mittl. Blutdrucksenkung [mmHg]	Energie-/ Effektor- Abgabezeit pro Läsion	Gesamte Energie-/ Effektor- Abgabezeit	Anordnung der Elektroden/ Sender	Elektroden-/ Senderanzahl	Aufbau
ThermoCool	Biosense Webster	/	2012	monopolare RFA	keine Kontrolle, open-label	10	6 m	Praxis-BD: 21/11 (n=10)	unbekannt	unbekannt	Multi-array	5	helikale Spitze
TIVUS	Cardiosonic	TIVUS I	2014	Ultraschall	keine Kontrolle, open-label	18	12 m	Praxis-BD: 26/12	40 sec	10 min	Undiiktional und multidirektional	1	Katheter
PARADISE	ReCor Medical	REDUCE	2012	Ultraschall	keine Kontrolle, open-label	15	3 m	Praxis-BD: 32/16 (n=11)	30 sec	3 min	Zirkumferentiell	1	Ballon
		REALISE	2014			20	12 m	Praxis-BD: 14 SBD (n=6) ABDM: 12 SBD (n=7)					
Sound Intervention	Sound Interventions	SOUND-ITV	2012	Ultraschall	keine Kontrolle, open-label	10	3 m	Praxis-BP: 26/13 (n=10) ABDM: 23/12 (n=10)	unbekannt	80 sec	Zirkumferentiell	1	Ballon
Surround Sound	Kona Medical	WAVE I	2013	extrakorporaler Ultraschall	keine Kontrolle, open-label	24	6 m	Praxis-BD: 29/12 (n=14)	unbekannt	unbekannt	Unidirektional	1	externer Schallkopf
		WAVE II	2013			17	3 m	Praxis-BD: 19/7					
Freezor Xtra	Medtronic	/	2014	Kryoablation	keine Kontrolle, open-label	10	12 m	Praxis-BD: 61/34 (n=6) ABDM: 52/18 (n=6)	4 min	32 min	Zirkumferentiell	1	flexible Spitze
Peregrine	Ablative Solutions	/	2015	Ethanol-Injektion	keine Kontrolle, open-label	18	6 m	Praxis-BD: 27/12 (n=16)	90 sec	180 sec	/	/	Spitze mit 3 Nadeln

Bei Studien, die das Follow-up noch nicht abgeschlossen haben, ist statt der Länge der Studie der Zeitpunkt der aktuellsten BD-Messung vermerkt. Das angegebene Jahr bezieht sich auf die Erstveröffentlichung der dargestellten BD-Werte. Die Abbildung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. BD = Blutdruck, SBD = systolischer Blutdruck, IG = Interventionsgruppe, rand. = randomisiert

## Einleitung

Von Kona Medical wurde in der WAVE I und II-Studie die Denervation mit dem niedrig-energetischen Ultraschall Surround Sound untersucht. Die Resultate beider Studien zusammengekommen, erreichten 81% der Patienten einen Blutdruckabfall von 10 mmHg oder mehr nach einem Zeitraum von 6 Monaten.<sup>103,104</sup>

### *1.8.4.3 Chemische Denervationsverfahren*

Die chemischen Denervationsverfahren fassen eine Gruppe von Behandlungen zusammen, bei denen die Sympathikolyse mittels Applikation neurotoxischer Substanzen, häufig mit Hilfe eines Kathetersystems, entweder in die A. renalis oder direkt in die Tunica adventitia bzw. den periarteriellen Raum erreicht werden soll. Derzeit finden die meisten dieser Untersuchungen noch im präklinischen Rahmen statt.

Vincristin ist ein vielfach in der hämatologischen Onkologie eingesetztes Alkaloid, welches in der Lage ist, die Mitose zu inhibieren und zudem eine potente Neurotoxizität besitzt, die sich durch Axonschwellung und Demyelinisierung peripherer Nerven manifestiert.<sup>58</sup> In einer Studie von Stefanadis et al.<sup>109</sup> wurden 14 Schweine mit einem Ballonkatheter, der in die A. renalis vorgeschoben wurde und aus dessen Öffnungen 0,1 mg Vincristin freigesetzt wurde, einseitig denerviert. Auf der kontralateralen Seite wurde die Prozedur mit Salzlösung wiederholt. Die Tiere wurden 28 Tage nach der Prozedur euthanasiert. In den histologischen Schnitten der behandelten Seite zeigte sich eine deutlich geringere Anzahl intakter renaler Nerven gegenüber der Kontrollseite. In einer neueren Arbeit von Stefanadis et al.<sup>110</sup> wurde die Denervation mit Vincristin durch einen Doppel-Ballon-Katheter bei einseitiger Behandlung von 16 Schweinen untersucht. Das Ballonsystem bestand aus einem inneren Ballon, der für die Befestigung in der Arterie sorgt, und einem äußeren Ballon, über den das Zytostatikum freigesetzt wurde. Der Vorteil gegenüber dem zuvor verwendeten Katheter besteht nach Meinung der Autoren darin, dass eine konstantere Flussrate erzeugt wird, was sich positiv auf die Denervierung auswirkt. In den histopathologischen Untersuchungen konnte die Wirksamkeit der Methode und die Überlegenheit gegenüber dem Einzel-Ballon-Kathetersystem bewiesen werden.<sup>110,111</sup>

Guanethidin gehört zur Klasse der Antisymphotonika und wird zur Behandlung des Bluthochdrucks eingesetzt. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnte eine selektive Akkumulation von Guanethidin in sympathischen Nervenzellen bewiesen werden.<sup>112</sup> Der Mechanismus, der letztlich in einer Zerstörung der sympathischen Nerven resultiert, ist noch nicht vollends verstanden. Diskutiert wird eine Guanethidin-bedingte Exposition bestimmter Proteine an der Zelloberfläche, die sich normalerweise nur im Zellinneren befinden, und zum Angriffspunkt der Immunzellen werden. Ein weiterer Ansatz ist, dass Guanethidin selbst an der Zelloberfläche

## Einleitung

als Antigen präsentiert wird und die Immunkaskade auf diesem Weg einleitet.<sup>112</sup> In einer Studie von Owens et al.<sup>113</sup> wurde die renale Denervation mit Guanethidin an 11 Schweinen mit einem Mikroinfusionskatheter durchgeführt. Insgesamt wurden 18 Arterien mit 20 bis 30 mg Guanethidin und 4 Arterien mit einem Placebopräparat behandelt wurden. Die Messung der NA-Konzentration erbrachte eine dosierungsabhängige Reduktion des NA gegenüber der Kontrollseite. Darüber hinaus konnten in der Adventitia der Guanethidin-behandelten Arterien neurale Degeneration nachgewiesen werden.

In einer Untersuchung an 48 Ratten wurde die Wirksamkeit von hypertoner Kochsalzlösung, Salicylsäure, Guanethidin und Paclitaxel zur renalen Denervation in einer vorher festgelegten Dosierung getestet.<sup>114</sup> Bei Paclitaxel wurden mehrere Konzentrationen von  $10^{-6}$  bis  $10^{-2}$  M geprüft. In einem Vorversuch erfolgte die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs des NA-Abfalls über Denervation von 12 Ratten mit Phenol an Tag 3 (n=6) oder 7 (n=6), siehe Tab. 3. Nach Laparotomie und Freilegung der Nierenarterien wurde jeweils eine Seite mit dem entsprechenden Agens beträufelt, die andere Seite blieb unbehandelt als Kontrolle. Bei allen getesteten Agenzien zeigte sich ein NA-Abfall gegenüber der unbehandelten Seite. Bei Paclitaxel konnte zudem eine positive Korrelation zwischen der verwendeten Konzentration und der NA-Reduktion nachgewiesen werden.

### *1.8.4.4 Andere Denervationsverfahren*

Kryoablation:

In einer First-in-man-Studie von Prochnau et al.<sup>115</sup> wurde die Kryoablation erstmalig als Zweitlinientherapie zur renalen Denervation bei 3 Non-Respondern (Abnahme des Praxis-Blutdrucks um weniger als 10 mmHg) untersucht. Als Erstlinientherapie erfolgte bei allen Patienten eine RFA, die entweder keinen oder nur einen kurz anhaltenden Effekt auf den Blutdruck hatte. Der Katheter (Freezor Xtra) wird zur Denervation in die A. renalis vorgeschoben und erzeugt pro Nierenarterie vier Mal für jeweils 4 Minuten einen Temperaturabfall auf  $-75^{\circ}\text{C}$ . 3 Monate nach Anwendung der Kryoablation betrug der mittlere Blutdruckabfall 44/22 mmHg. In einer weiteren Studie der gleichen Autoren wurden 10 weitere Patienten einer Kryoablation als Zweitlinientherapie nach RFA unterzogen.<sup>102</sup> Der mittlere Blutdruckabfall der Praxismessung betrug nach 12 Monaten 61/34 und in der ABDM 52/18 mmHg (siehe Tab. 2).

## Einleitung

**Tab. 3: Übersicht über aktuelle präklinische Studien zur chemischen Denervation**<sup>101,109,111,113,114,116,117</sup>

Name der Lösung	Konzentration der Lösung	Menge der Lösung	Art der Anwendung	Behandlung ein-/beidseitig	angewendet in	Anzahl der Tiere	Euthanasie nach	mittl. NA-Abfall	Histopath. Ergebnisse	BD-Änderung	Anwendung im Menschen erfolgt	Komplikationen
Ethanol	98%	0,3 ml; 0,6 ml	Peregrine-Katheter	beidseitig	Schwein	20 (3= Kontrolle)	3 m	68; 91%	pos.	nicht gemessen im Tier; -27/-12 mmHg im Menschen	ja	nein
Ethanol	98%	0,15 ml; 0,3 ml; 0,6 ml	Peregrine-Katheter	beidseitig	Schwein	19 (10= Kontrolle)	14 d	54%; 78%; 88%	pos.			
Ethanol	99,60%	10 ml	Perkutane Injektion	einseitig	Schaf	6	1 m	40%	pos. (in allen Tieren)	/	/	
Guanethidin	20; 30 mg	2 ml; 3 ml	Bullfrog-Katheter	ein- und beidseitig (Guanethidin: 18 Art.; Placebo: 4 Art.)	Schwein	11	unbekannt	34%; 46%	pos. (in allen Tieren)	/	/	
Guanethidin	6,7 mg/mL	75 µL	Laparatomie	einseitig	Ratte	6	3 d	98%	/	/	/	
Hypertone NaCl-Lösung	10%	150 µL	Laparatomie	einseitig	Ratte	6	3 d	100%	/	/	/	
Paclitaxel	10 <sup>-6</sup> M; 10 <sup>-5</sup> M; 10 <sup>-4</sup> M; 10 <sup>-3</sup> M; 10 <sup>-2</sup> M	150 µL	Laparatomie	einseitig	Ratte	30	4 d	25%; 58%; 65%; 71%; 88%	/	/	/	
Phenol	10%	unbekannt	Laparatomie	einseitig	Ratte	6	3 d	100%	/	/	/	
Phenol	10%	unbekannt	Laparatomie	einseitig	Ratte	6	7 d	86%	/	/	/	
Salicylsäure	10%	300 µL	Laparatomie	einseitig	Ratte	6	5 d	100%	/	/	/	
Vincristin	0,1 mg	4 ml	Einzel-Ballon-Katheter	einseitig	Schwein	14	28 d	/	pos.	/	/	
Vincristin	0,1 mg	4 ml	Doppel-Ballon-Katheter	einseitig	Schwein	16	28 d	/	pos.	/	/	

Für Agenzien, bei denen mehrere Konzentrationen oder Volumina verwendet wurden, sind die jeweils entsprechenden NA-Reduktionen angegeben. Die Abbildung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

## Einleitung

### Brachytherapie:

Ein weiterer Ansatz ist die Denervation über lokal-begrenzte radioaktive Strahlung. In einer Forschungsgruppe von Waksman et al.<sup>118</sup> wurde dazu die Brachytherapie an 10 Schweinen getestet. Verwendet wurde der Katheter Beta-Cath, der mit einer Strontium/Yttrium-Quelle ausgestattet ist. Die Euthanasie erfolgte nach einem oder zwei Monaten und die Bestrahlungstherapie bestand aus 25 oder 50 Gy. Histopathologisch ließen sich in allen Fällen nervale Schädigungen feststellen. Bei den Tieren, die nach 2 Monaten euthanasiert wurden, konnte darüber hinaus eine Korrelation zwischen der Strahlendosis und der Anzahl geschädigter Nerven beobachtet werden.

## 1.9 Effekte von Ethanol auf Nervenzellen

Ethanol ist ein durch die FDA anerkanntes potentes Neurolytikum, welches insbesondere in der Behandlung von Trauma-, Schmerz- und Palliativpatienten Anwendung findet.<sup>58</sup> Alkohol bewirkt eine nicht-selektive neuronale Affektion. Die Wirkung basiert nach heutigem Kenntnisstand auf einer Dehydratation des Nervengewebes, einer Denaturierung essenzieller Proteine sowie einer Schädigung der Zellmembran durch Extraktion von Phospholipiden, Cholesterol und Cerebrosiden.<sup>119</sup> Weiterhin wird eine Zerstörung der Myelinscheiden und eine Präzipitation von Muko- und Lipoproteinen erzielt. Histologisch sind als Folge der Alkoholinjektion eine inflammatorische Reaktion mit Einwanderung von Leukozyten und Makrophagen, eine Zellschwellung, hervorgerufen durch ein intrazelluläres Ödem, gefolgt von einer Chromatolyse, Demyelinsierung und zuletzt der Wallerschen Degeneration des Nerven zu beobachten.<sup>119</sup>

In der Schmerztherapie werden standardmäßig Konzentrationen zwischen 40 und 100% verwendet, die minimale Dosis zur Erzeugung einer Nervendegeneration ist allerdings unbekannt.<sup>120</sup> Da Ethanol irritierend auf Muskelgewebe und andere Organe wirken kann, ist eine Präinjektion mit einem Anästhetikum ratsam.<sup>119</sup> Durch seine gute Löslichkeit in Körperflüssigkeiten wird eine schnelle und weite Diffusion des Ethanols von der Injektionsstelle aus erreicht, was eine präzise Applikation jedoch erschwert. 90 bis 98% des injizierten Alkohols werden in der Leber durch die Alkohol-Dehydrogenase oxidiert, sodass keine Gefahr von systemischen Nebenwirkungen besteht.<sup>120</sup> Die Einsatzgebiete umfassen vorrangig die intrathekale Neurolyse, Sympathikusblockaden, insbesondere die Blockade des Plexus coeliacus und die chemische Hypophysektomie.<sup>119</sup>

## **1.10 Bisherige Einsatzgebiete von Ethanol zur Denervation**

### **1.10.1 Anwendungen außerhalb der Hypertonie**

#### *1.10.1.1 Subarachnoidaler Block*

Zur Behandlung von chronischen Schmerzzuständen bei Tumorpatienten führte Dogliotti als Alternative zur bisher verwendeten chirurgischen Rhizotomie im Jahr 1931 die Injektion von Alkohol in den Subarachnoidalraum ein.<sup>121</sup> Die Injektion bewirkt am Ort der Applikation eine Axondegeneration der Hinterwurzel.<sup>119</sup> Insgesamt erwies sich die Alkohol-Intervention als gleichwertiges Verfahren zur chirurgischen Rhizotomie hinsichtlich der Schmerzlinderung, jedoch mit dem entscheidenden Vorteil einer deutlich geringeren Mortalität. Prozedurbedingte Komplikationen treten in etwa 15% der Fälle auf und beinhalten neben einer Schwäche der unteren Extremität eine Blasen- sowie Darmstörung.<sup>122</sup>

#### *1.10.1.2 Sympathikusblockaden*

Zu den Sympathikusblockaden allgemein zählen, die Blockade des Ganglion cervicale superius, des Ganglion pterygopalatinum, des Ganglion cervicothoracicum, die lumbale Grenzstrangblockade, die des Plexus brachialis und coeliacus. Die Anwendungsgebiete umfassen Schmerzen durch Trauma, pAVK, das komplexe regionale Schmerzsyndrom und viszerale Erkrankungen, nicht zuletzt durch maligne Prozesse. Bridenbough, Moore und Campbell führten bereits 1964 die ersten Blockaden des Plexus coeliacus mit Ethanol nur unter Orientierung an anatomischen Leitstrukturen durch.<sup>123</sup> Im Rahmen dieser anfänglichen Untersuchungen konnte in einer Studie mit 100 Patienten bei 94% eine Schmerzreduktion erreichen, bei 11% traten jedoch prozedurbedingte Nebenwirkungen auf.<sup>124</sup> Durch Verbesserung der Zugangswege und Durchführung des Eingriffs unter CT-Kontrolle liegt der Anteil an Major-Komplikationen heutzutage unter 2%.<sup>125</sup>

#### *1.10.1.3 Chemische Hypophysektomie*

Moricca beschrieb 1976 erstmals die hypophysäre Injektion von Ethanol zur Schmerzbehandlung von Patienten mit hormonabhängigen Tumoren. Die Ergebnisse waren vielversprechend und zeigten einen Schmerzurückgang bei 85% der Patienten.<sup>122,126</sup> Zur Durchführung des Eingriffs wird die Sella turcica unter Röntgenkontrolle transnasal und –sphenoidal sondiert und nach korrekter Positionierung der Kanüle 0,6 bis 2 ml absoluten Ethanols appliziert.<sup>122,127</sup>

### **1.10.2 Einsatz von Ethanol zur renalen Denervation bei resistenter Hypertonie**

Durch den langjährigen erfolgreichen Einsatz von Alkohol als Neurolytikum im Rahmen der Schmerztherapie ist eine Anwendung zur chemischen renalen Denervation als vielversprechend

## Einleitung

anzusehen. Im Zuge dieser Arbeit publizierten bereits einige Forschungsgruppen erste positive Ergebnisse zu verschiedenen vaskulären und nicht-vaskulären Denervationsverfahren mit Ethanol, auch Daten zweier First-in-man-Studien liegen inzwischen vor.<sup>101,128</sup>

### *1.10.2.1 Renale Denervation durch Ethanol unter Verwendung des 3-Nadel-Kathetersystems Peregrine im Schwein*

In einer Studie von Fischell et al.<sup>116</sup> wurde die bilaterale renale Denervation durch Ethanol an normotensiven Schweinen mit dem Peregrine-Katheter untersucht. 9 Tiere wurden der Injektion mit Ethanol unterzogen und 3 Tiere der Kontrollgruppe mit Applikation einer Salzlösung zugeordnet. Weiter wurden NA-Werte von 7 unbehandelten Tieren zum Vergleich herangezogen. Der Katheter verfügt über 3 radial im Abstand von 120° angeordnete röntgendichte Nadeln mit einem Durchmesser von 0,008'', die jeweils ein eigenes Führungsrohr besitzen und bei Aktivierung die Arterienwand simultan bis zu einer Tiefe von  $3,5 \pm 0,25$  mm durchdringen. Zum einen wird der Katheter durch die Führungsrohre und die Nadeln im Gefäß verankert, zum anderen eine Ethanolabgabe direkt in die Adventitia und den perivaskulären Raum ermöglicht. Die Menge des Ethanols wurde zwischen 0,15 ml, 0,3 ml und 0,6ml pro Gefäß variiert, die Menge der Salzlösung lag bei 0,4 ml. Die Euthanasie erfolgte 14 Tage nach der Intervention. Der NA-Abfall verhielt sich linear zur eingesetzten Alkohol-Menge. Durchschnittlich wurden NA-Reduktionen von 54%, 78% und 88% gegenüber den unbehandelten Tieren erreicht. Die histopathologische Untersuchung der Ethanol behandelten Tiere zeigte zirkumferentielle nervale Schäden mit einer Tiefe von 2-8 mm von der Intima-Oberfläche aus.

In einer neueren Veröffentlichung der gleichen Arbeitsgruppe wurden 8 Tiere mit 0,3 ml Ethanol, 9 mit 0,6 ml Ethanol und 3 mit 0,4 ml Salzlösung (Kontrolle) behandelt. Die Euthanasie erfolgte zum Zeitpunkt von 90 Tagen nach Denervation. Die NA-Messung wies eine Reduktion von 68% (mit 0,3ml Ethanol) und 88% (mit 0,6ml Ethanol) gegenüber unbehandelten Tieren nach.<sup>101</sup> Die histopathologische Untersuchung der Ethanol-Gruppe zeigte nervale Verletzungen bis zu einer Tiefe von 13,4 mm.

### *1.10.2.2 Renale Denervation durch Ethanol mit dem Peregrine-Katheter im Menschen*

In einer kürzlich publizierten Pilotstudie konnten 18 Patienten mit resistenter Hypertonie für die erste Anwendung des Peregrine-Systems im Menschen rekrutiert werden.<sup>101</sup> Es fand eine beidseitige Behandlung der Nierenarterien mit jeweils 0,3 ml Ethanol statt. Eine Kontroll-Gruppe existierte nicht. Schmerzen während der Injektion waren in den meisten Fällen mild bis moderat. Die Messung des Kreatinin-Spiegels und der eGFR nach 3 sowie 6 Monaten ergaben keine Veränderungen im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung. Die Angiographie zum Zeitpunkt von 6

## Einleitung

Monaten stellte sich regelrecht dar. Die Blutdruckreduktion nach 6 Monaten betrug im Mittel 27 mmHg systolisch und 12 mmHg diastolisch.

### *1.10.2.3 Renale Denervation im Schaf durch perkutane Injektion von Ethanol*

In einer von Firouznia et al.<sup>117</sup> im Mai 2015 veröffentlichten Arbeit wurde die unilaterale renale Denervation in Schafen durch periarterielle Ethanolapplikation untersucht. Dazu wurde 6 normotensiven Tieren 10 ml 99,6%iger Alkohol über die Punktion der Flanke in Nähe des Nierenarterienostiums injiziert. Die Vorgehensweise während der Intervention ist mit der in dieser Arbeit identisch. Die Euthanasie erfolgte 30 Tage post interventionem. Die kurz vor der Euthanasie durchgeführte MR-Bildgebung, inklusive MR-Angiographie und -Urographie, zeigte bei allen Tieren keine Auffälligkeiten. Die Bestimmung des NA-Gehalts ergab eine deutlich geringere Konzentration auf der behandelten Seite mit einer Differenz zur unbehandelten Niere von durchschnittlich 40%. Die histopathologische Auswertung bestätigte in allen 6 Fällen die gewünschte nervale Destruktion durch Nachweis von peri- und endoneuralen Fibrosierungen und Entzündungen. Es fanden sich keine Verletzungen der Nierenarterie, des Nierenparenchyms oder des Ureters.

### *1.10.2.4 Renale Denervation im Menschen durch perkutane Injektion von Ethanol*

Die erste Anwendung der perkutanen periarteriellen Injektion von Ethanol zur renalen Denervation erfolgte in einem dialysepflichtigen 50-jährigen Patienten mit therapieresistenter Hypertonie, einer chronischen Pankreatitis, Hepatitis und zurückliegendem Alkoholabusus.<sup>128</sup> Die Denervation wurde nach oben beschriebener Technik durchgeführt. Die Applikation des Alkohols erfolgte bilateral. Die Prozedur wurde gut vom Patienten toleriert, Schmerzen traten während des Eingriffs nicht auf. Zum Zeitpunkt von 4 Wochen nach der Intervention betrug die mittlere Blutdrucksenkung des Praxis-BD 29/14 mmHg und die der ABDM 15/8 mmHg während des Tages und 22/14 mmHg während der Nacht. Eine CT-Untersuchung, ebenfalls nach 4 Wochen, konnte eine Nierenarterienstenose sowie Schädigungen der Niere, der Nebennieren sowie des Ureters ausschließen.

Ricke et al. untersuchten in einer nicht-randomisierten Phase II-Studie die CT-gesteuerte perkutane Ethanolinjektion zur renalen Denervation an elf Patienten mit einem signifikanten Blutdruckabfall nach 3 Monaten in der Praxis- als auch in der 24h-Blutdruckmessung von 41,2 bzw. 9,7 mmHg.<sup>129</sup> Drei Patienten entwickelten eine Verschlechterung der Nierenfunktion, die restlichen Patienten zeigten keinen relevanten Nebenwirkungen der Therapie.

### **1.11 Zielstellung**

Dies stellt unserem Kenntnisstand zu Folge zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung die erste Studie dar, die die MRT-gesteuerte perkutane periarterielle renale Denervation durch Ethanol im Schweinmodell untersuchte. Wie die positiven Ergebnisse weiterer präklinischer sowie klinischer Untersuchungen belegen, ist die renale Sympathikolyse durch Alkohol ein aussichtsreiches Verfahren für Patienten mit therapieresistenter Hypertonie. In dieser Arbeit sollen Machbarkeit, Sicherheit und Effektivität des oben genannten Verfahrens unter Verwendung unterschiedlicher Mengen und Viskositäten der Wirkstofflösung aufgezeigt und ein Vergleich zum derzeitigen Goldstandard der renalen Denervation, der RFA, dargestellt werden. Als primäre Outcome Parameter wurden ein Abfall der renoparenchymatösen NA-Konzentration der behandelten Seite und der Nachweis pathologisch veränderter Nerven definiert. Als sekundärer Outcome Parameter galt eine Reduktion des arteriellen Blutdrucks.

## 2 Methoden

### 2.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Die Untersuchung der Denervation erfolgte an 16 Hausschweinen der ‚Deutschen Landrasse‘ aus dem Betrieb H.G.E Service GmbH Langerwisch, Kirschallee 32, 14552 Michendorf. Alle Tiere waren männlichen Geschlechts, kastriert und normoton. Vor Beginn der Intervention lag das Körpergewicht zwischen 20 und 30 kg und das Alter bei ca. 3 Monaten. Die Haltung der Tiere erfolgte in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte. Alle Versuche wurden nach gestelltem Tierantrag von der Lageso begutachtet und bewilligt.

### 2.2 Vorbereitung der Intervention

Um das Tier transportieren zu können, wurde im Stall ein Gemisch aus 5ml Ketamin (Ketamin 10%®, 100mg/ml, Bela Pharm GmbH Co KG; Vechta, Deutschland), 1 ml Midazolam (Dormicum®, 5 mg/ml, Roche Pharma AG; Grenzach-Wyhlen, Schweiz) und 1 ml Droperidol (Xomolix®, 2,5 mg/ml, ProStrakan Pharma GmbH, Düsseldorf, Deutschland) in die



**Abb. 3:** Blutdruckmessung an der hinteren linken Extremität über der A. femoralis mit einer Blutdruckmanschette, im Bildhintergrund Monitoring

Halsmuskulatur injiziert. Über eine in die Ohrvene gelegte Kanüle (BD Venflon Pro 22 GA, BD Infusion Therapy AB, Helsingborg, Sweden) wurden anschließend ca. 2 ml 2%iges Propofol (Propofol-Lipuro® 2%, 20 mg/ml, B. Braun Melsungen AG; Melsungen, Deutschland) verab-

## Methoden

reicht. Anschließend wurde das Gewicht bestimmt und das Tier auf einer Trage vom Stall in den Interventionsraum transportiert. Hier wurde der Blutdruck gemessen und das Tier an einen Perfusor (IVAC® P 4000 Anästhesie- Spritzenpumpe, Cardinal Health; Baesweiler, Deutschland) mit Propofol und Fentanyl ((Fentanyl-Janssen®, 0,5 mg/ml, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) angeschlossen. Bei dem ersten Tier erfolgte die Blutdruckmessung invasiv durch Vorschieben eines Katheters in die A. femoralis. Bei allen weiteren Tieren wurde der Blutdruck nicht-invasiv mittels des Blutdruckmessgeräts Precess 3160 MRI Monitor (Invivo Research Inc., Gainesville, Florida) über eine Manschette an der hinteren linken Extremität in Seitenlage des Tiers gemessen, siehe Abb. 3. Es erfolgte eine mindestens dreimalige Messung des Blutdrucks.



**Abb. 4:** a) Tier nach Positionierung in Bauchlage im offenen 1,0 T MRT mit Pulsoxymeter an der Phalanx distalis des Os metacarpale V links (Pfeil) b) Darstellung der Sauerstoffversorgung über einen Plastikbecher sowie der an der Ohrvene befestigten Venenverweilkanüle mit Zufuhr von Propofol und Fentanyl c) Punktionsgebiet nach steriler Abdeckung und Desinfizierung; unter der Abdeckung befindet sich die angelegte Oberflächenspule

Anschließend wurde das Tier in das offene 1,0 Tesla MRT der Firma Philips (Panorama, HFO; Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) gelegt. Die Sauerstoffversorgung erfolgte

## Methoden

te durch einen über den Rüssel gestülpten Plastikbecher (Abb. 4b). Dieser wurde perforiert und durch einen hierüber eingeführten Schlauch an ein Sauerstoffgerät mit ca. 3 l/min eingestellt. Zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung wurde ein Pulsoxymeter (7500 fiber optic pulse oxymeter, Nonin Medical; Plymouth, Minnesota, USA) an der Vorderklaue fixiert (Abb. 4a). Die Tiere wurden für die Intervention in Bauchlage gebracht. Alle Tiere wurden an der linken Nierenarterie behandelt und die Spule entsprechend über der linken Flanke positioniert. Bei der ersten Intervention wurde eine Kopfspule (ST SENSE Head, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands), bei allen weiteren Eingriffen eine flexible Oberflächenspule (ST Multipurpose L, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) genutzt. Die zuerst eingesetzte Kopfspule wurde trotz guter Ergebnisse im MRT aufgrund der eingeschränkten Führung der Punktionsnadel durch die Oberflächenspule ersetzt. Nach Fixierung der Spule wurde das nicht zu behandelnde Gebiet mit einem sterilen Tuch abgedeckt. Die Punktionsstelle wurde anschließend mit einem iodhaltigen Wundantiseptikum (Braunol®, B.Braun Melsungen GmbH, Melsungen, Deutschland) desinfiziert (Abb. 4c).

### 2.3 Ablauf der Intervention

Nach Durchführung von T2-gewichteten Turbo-Spin-Echo-Sequenzen (T2w TSE; für das vollständige MRT-Protokoll inklusive Scanzeiten siehe Tab. 4 in Kapitel 2.4.2) in axialer und/ oder koronarer Schnittebene, um einen Überblick über die anatomischen Verhältnisse zu erhalten, wurde unter einer Echtzeit T1w-Sequenz eine geeignete Punktionsstelle ausfindig gemacht und diese mit 2 ml Lidocain (Xylonest® 1%, AstraZeneca; Wedel, Deutschland) örtlich betäubt. Anschließend erfolgte eine kleine Hautinzision, über die die Punktionsnadel von links posterolateral bis zur Nierenarterie vorgeschoben wurde. Nach initialer Aspiration, um eine versehentliche arterielle Punktion auszuschließen, erfolgte die Applikation von 1 ml eines Bupivacain-Gadobutrol-Gemisches (Carbostesin® 0,5%, AstraZeneca; Wedel, Deutschland; Gadovist®, Bayer Healthcare; Berlin, Deutschland), um einerseits die Verteilung des Injektats beurteilen zu können und andererseits eine Betäubung des Alkohol-exponierten Areals zu erreichen. Bei den ersten 6 Tieren wurden 5 ml eines Gemisches aus 95%igem Alkohol (B. Braun; Melsungen, Deutschland) und Gadobutrol in einem Verhältnis von 600:1 injiziert. Den folgenden vier Tieren wurden, bei gleichbleibendem Alkohol-Kontrastmittel-Verhältnis, 10 ml des Gemisches appliziert. Um eine bessere Haftung des Alkohols an der Nierenarterie zu erreichen, erfolgten alle weiteren Injektionen als Polyacryl-Alkohol-Gemisch. Bei den Tieren 11, 12 und 14 wurde ein Verhältnis von 70% absolutem Alkohol zu 30% Polyacryl (2%ig) gewählt. Bei den Tieren 15 und 16 betrug das Verhältnis von Alkohol zu Polyacryl (2%ig) 80:20. Das Tier 13 erlitt vor der

## Methoden

Intervention auf dem Weg vom Tierstall in den Interventionsraum einen Atemstillstand, eine Reanimation blieb erfolglos. Bei den Tieren 1-10 wurde für die Alkohol-Injektion eine 20 Gauge Chiba-Nadel (Cook Medical; Bloomington, IN, USA) verwendet. Durch die höhere Viskosität des Injektats bei der Mischung mit Polyacryl wurde bei den Tieren 11-16 die größere 18 Gauge Punktionsnadel (Cook Medical; Bloomington, IN, USA) eingesetzt. 15-20 Minuten nach der Applikation des Alkohols wurde eine T2w SPIR (Spectral Presaturation with Inversion Recovery) TSE- oder alternativ eine T1w TSE-Sequenz durchgeführt, um die bis dahin erfolgte Verteilung des Alkohols um die Nierenarterie beurteilen zu können.

## 2.4 MR-Untersuchungsprotokoll und MRT-Bildsteuerung

### 2.4.1 Quantitative und Qualitative Bildanalyse

Zur Auswertung der MRT-Aufnahmen wurden Repetitionszeit (TR) und Echozeit (TE) variiert, um die ideale Bilddarstellung für Therapieplanung, Interventions- und Kontrollaufnahmen zu erhalten, bei denen jeweils verschiedene Aspekte von Interesse waren:

Bei der Therapieplanung wurde auf eine gute Darstellung der Nierenarterien und angrenzender Organe geachtet, um die anschließende Punktion sicher durchführen zu können. Für die Wahl der Einstellungen der Interventionsaufnahmen waren das Nadelartefakt sowie die Kontrastierung der Nadel gegenüber dem umliegenden Gewebe ausschlaggebend. Die Kontrollaufnahmen dienten der Beurteilung der Wirkstoffverteilung entlang der Nierenarterien. Weiterhin wurde die Ausdehnung des Alkohols in Richtung anderer Organe, z.B. der Ureteren, beurteilt. Eine gute Alkohol-Gewebekontrastierung war daher wünschenswert.

Zur Auswertung der Interventions- und Kontrollaufnahmen wurde das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (Contrast-to-Noise Ratio = CNR) herangezogen. Die CNR ist ein Maß zur Beurteilung der Bildqualität. Für die Berechnung der CNR wurden definierte Regionen (Regions of Interest = ROI) ausgewählt. Die ROI dienen der Messung von ortsabhängigen Signalintensitäten (SI). Jede ROI beinhaltet je nach Größe eine Vielzahl von Pixeln. Die ROI wurden so platziert, dass jeweils nur eine anatomische Struktur erfasst wurde, z.B. Muskel- oder Fettgewebe. Bei der Wahl der Bereiche wurde darauf geachtet, dass diese artefaktfrei und homogen waren. Durch die Anwendung von ROI wird die Vergleichbarkeit von MRT-Aufnahmen vereinfacht. Für Berechnung der CNR wurde folgende Formel verwendet:

$$CNR = \frac{|SI_A - SI_B|}{\sigma SI_{Bildrauschen}}$$

$SI_A$  entspricht der SI einer der folgenden anatomischen Strukturen: Fett, Muskel, Nierenarterie, Niere oder Knochen.  $SI_B$  stellt die SI der Punktionsnadel in den Interventionsaufnahmen oder die

SI des Ethanols in den Kontrollaufnahmen dar. Das Bildrauschen ist eine Störgröße, die die Qualität des MR-Signals überlagert und dadurch beeinträchtigt. Zur Ermittlung der CNR wurden jeweils 6 ROI in die oben erwähnten Areale gelegt, um daraus die mittlere SI zu bestimmen. Als weiteres Kriterium wurde die Größe und Geometrie des Nadelartefakt bestimmt.

#### 2.4.2 Interventionszeiten und technische Durchführbarkeit

Bei jedem Versuch wurde die Interventionsdauer, definiert als das Zeitintervall zwischen erster Planungs- und letzter Kontrollsequenz, bestimmt. Das zu Grunde liegende und aus der obigen Auswertung hervorgehende Standardprotokoll wird in Tab. 4 dargestellt. Der zeitliche Aufwand für Transport und Lagerung der Tiere wurde nicht in die Berechnung mit eingeschlossen.

**Tab. 4: MRT-Standardprotokoll für die perkutane periarterielle Ethanol-Injektion**

<b>MR-Therapieplanung</b>	T2w TSE axial und/ oder koronar TE: 120 ms; TR: 3237,7 ms; Echo train length (ETL): 20; Number of phase-encoding steps (NPE): 170; Flip angle (FA): 90°, Matrix: 248 x 170; Field of view (FOV): 113 cm, Bandwidth: 241 Hz/Pixel; Number of signal averages (NSA): 6; Slice thickness (SL): 2 mm, Scanzeit: 5 min
<b>MR- Intervention, Echtzeitsequenz</b>	T1w TSE TE: 5,4 ms; TR: 200 ms; ETL: 7; NPE: 126; FA: 90°; Matrix: 140 x 126; FOV: 100 cm; Bandwidth: 421 HZ/Pixel; NSA: 1 ; SL: 5 mm, Scanzeit: 19 min
<b>MR-Kontrollaufnahmen</b>	T2w TSE SPIR axial, koronar, sagittal TE: 100 ms; TR: 1500 ms; ETL: 24; NPE: 228; FA: 90°; Matrix: 232 x 228; FOV: 90 cm; Bandwidth: 214 HZ/Pixel; NSA: 6; SL: 4 mm, Scanzeit: 3 min <i>oder</i> T1w TSE axial, koronar, sagittal TE: 10 ms; TR: 450,4 ms; ETL: 5; NPE: 165; FA: 90°; Matrix: 232 x 165; FOV: 90 cm; Bandwidth: 152 HZ/Pixel; NSA: 4; SL: 4 mm, Scanzeit: 3 min

In den postinterventionellen Spätaufnahmen wurde die Effizienz der Intervention anhand der Injektatdistribution entlang der Nierenarterie evaluiert. Die Einteilung erfolgte anhand eines semiquantitativen Scores in insuffizient mit partieller proximaler (insbesondere des Ostiums) und unvollständiger oder fehlender distaler sowie zirkumferentieller Umspülung des Gefäßes (Grad 1), in suffizient mit gegebener proximaler, jedoch nur teilweiser Darstellbarkeit des Alkohols in den nierennahen Bereichen der Nierenarterie und/oder unvollständiger zirkumferentieller Umspülung (Grad 2) und in optimal durch allseitige Nachweisbarkeit des Alkohols über den gesamten Verlauf der Nierenarterie (Grad 3). Als Grad 0 wurde eine vollständig fehlende Umspülung der proximalen als auch distalen A. renalis definiert (siehe Tab. 5).

Ferner wurde das Injektatverhalten unter Verwendung verschiedener Mengen und Viskositäten

## Methoden

durch Zumischung von Polyacryl und die Ausbreitung des Alkohols in Richtung umliegender Organe beurteilt.

**Tab. 5: Injektatdistribution**

<b>Grad 0 (fehlende Umspülung)</b>	weder proximale noch distale Anteile der Nierenarterie werden vom Alkohol erreicht
<b>Grad 1 (insuffizient)</b>	partielle Umspülung des Ostiums, fehlende oder unvollständige Umspülung des distalen Nierenarterienanteils
<b>Grad 2 (suffizient)</b>	Ostium vollständig umspült bei fehlender oder unvollständiger Umspülung des distalen Anteils
<b>Grad 3 (optimal)</b>	vollständige Umspülung proximaler sowie distaler Anteile der Nierenarterie

### 2.4.3 MR-Angiographie und -Urographie

Im Zuge der Arbeit stellte sich heraus, dass weitere Untersuchungen zur Evaluierung des Erfolges sowie der Sicherheit der Methode nötig sind. Zu diesem Zwecke wurden bei den Tieren 7-16 zusätzlich eine Angiographie der Nierengefäße (MRA) sowie eine MR-Urographie (MRU) am Tag der Euthanasie (ca. 4 Wochen post interventionem) durchgeführt (siehe Tab. 6). Die Tiere wurden nach dem oben erwähnten Narkoseprotokoll anästhesiert. Die weiteren Aufnahmen dienten vor allem dazu, eventuelle Schäden der Arterien, des Ureters sowie der Nieren durch den Alkohol auszuschließen. Für die MRA und MRU erfolgte eine Applikation von 15 ml Gadolinium (Dotarem®, 0,5mmol/ml, Guerbet GmbH, Sulzbach, Deutschland) in die Ohrvene. Bei den Tieren 7-16 fand ebenfalls eine Blutdruckmessung am gleichen Tag statt.

**Tab. 6: Standardprotokoll für MRA und MRU**

<b>MR Angiographie und Urographie</b>	kontrastmittelverstärkte T1w FFE axial und koronar TE: 1,8 ms; TR: 6,2 ms; ETL: 1; NPE: 254; FA: 40°, Matrix: 452 x 254; FOV: 85 cm, Bandwidth: 193 Hz/Pixel; NSA: 1; SL: 3 mm
---------------------------------------	---

## 2.5 Euthanasie

Der Zeitraum von der Durchführung der Intervention bis zur Euthanasie variierte zwischen 2 Stunden und ca. 6 Wochen. Die genauen Daten sind Tab. 7 zu entnehmen. Am Tag der Euthanasie wurde das Gewicht des Tieres bestimmt, um die Medikamente für Anästhesie und Euthanasie optimal dosieren zu können. Das Narkoseschema entspricht dem von Intervention und MRA. Das Tier wurde im Stall in Narkose gelegt und ins Tierlabor transportiert, in dem die Euthanasie erfolgte. Für die Euthanasie wurde Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, 16g/100ml,

**Tab. 7: Zeit zwischen Intervention und Euthanasie. d = Tage, h = Stunden**

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12	Tier 14	Tier 15	Tier 16
<b>Zeit bis zur Euthanasie</b>	42 d	41 d	2 h	2 h	28 d	28 d	31 d	31 d	30 d	30 d	27 d	27 d	28 d	29 d	29 d

## Methoden

Merial GmbH; Hallbergmoos, Deutschland) verwendet. Zur Überprüfung des Todes erfolgte eine Herzauskultation. Anschließend wurde der Bauchraum entlang der Linea alba eröffnet und eine makroskopische Untersuchung der Organe auf mögliche Schäden durch die Intervention durchgeführt (siehe Abb. 5).

Beide Nieren einschließlich der Nierenarterien, des angrenzenden Teils der Aorta abdominalis

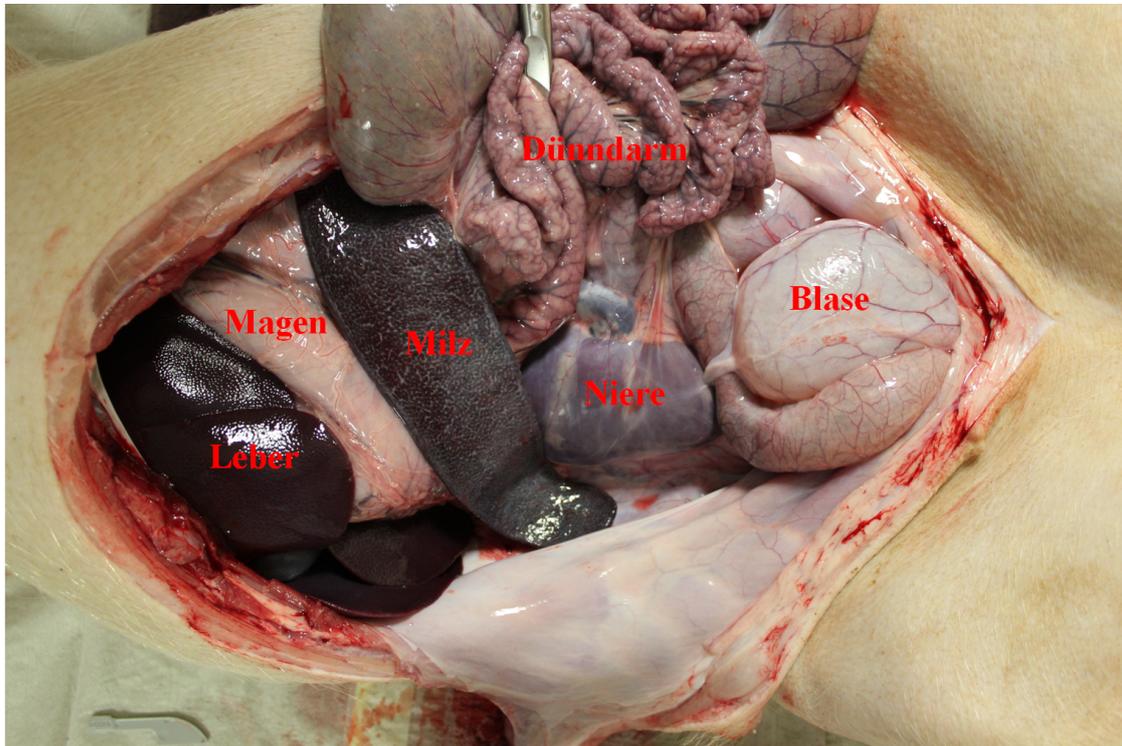


Abb. 5: Sicht auf den eröffneten Bauchraum von Schwein 7 kurz vor Organentnahme. Bei der abgebildeten Niere handelt es sich um die rechte, die linke Niere ist von den Darmschlingen verdeckt. Es sind makroskopisch keine Zeichen einer Organschädigung erkennbar.

und der Ureteren wurden freigelegt und entnommen. Die Nierenarterien wurden von den Nieren getrennt und das Gewicht der Nieren bestimmt. Alle Gewebestücke, exklusive der Nieren, wurden in einem 4%igen phosphatgepufferten Formaldehyd-Bad (HCHO) für mindestens 8 Stunden bei Raumtemperatur fixiert, um sie später histologisch aufarbeiten zu können. Durch das Formaldehyd (Formalin Solution 4%, Avantor Performance Materials B.V; Deventer, Niederlande) kommt es zu einer Methylenbrückenbildung zwischen freien Aminogruppen, wodurch diese vernetzt werden und der Verwesungsprozess verzögert wird.

## 2.6 Histologische Aufarbeitung

### 2.6.1 Herstellung der Gewebeschnitte:

Die Präparate wurden aus dem Formaldehyd-Bad entnommen und so zurechtgeschnitten, dass sie in Histologiekassetten gelagert werden konnten. Diese wurden mit Hilfe eines Druckers (Lei-

## Methoden

ca IPC V1.8 Deutsch 06/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) für Histologiekassetten beschriftet.

Um die formalinfixierten Präparate in das nicht-wasserlösliche Paraffin einbetten zu können, mussten die Präparate zunächst über eine aufsteigende Alkoholreihe in einer Histokinette (Leica TP 1020, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) dehydratisiert werden. Für die Entwässerung in der Histokinette galt folgender Ablauf: 1x 70%iges, 1x 80%iges, 2x 96%iges und 3x 100%iges Ethanol für jeweils eine Stunde. Anschließend wurden die Präparate 2x für je eine Stunde in Xylol überführt, um den Alkohol zu entfernen. In dem letzten Schritt der Histokinette wurde das Xylol durch geschmolzenes, 56°C heißes Paraffin ersetzt, wobei auch dieser Prozess ein weiteres Mal wiederholt wurde.

Die von Paraffin durchtränkten Präparate wurden anschließend aus der Histologiekassette entfernt und falls sie noch nicht die entsprechende Größe hatten, auf eine Länge von ca. 1-1,5 cm zugeschnitten, in eine Universaleinbettkassette (Tissue Tek® 3 Uni-Cassette, Sakura Finetek Europe B.V. Zoeterwoude, The Netherlands) gegeben und mit Paraffin von 60°C durch ein modulares individuell kombinierbares Einbettssystem (Leica EG 1150 H V 2.0 Deutsch 10/2002, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) übergossen. Die Deckel der zuvor verwendeten und beschrifteten Histologiekassetten wurden dabei auf das noch flüssige Paraffin gedrückt, um die Paraffinblöcke zu kennzeichnen. Die Unikassetten wurden im Folgenden auf eine Kühlplatte (Leica EG 1140 C V1.3 Deutsch 03/2000, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) gestellt. Nach der Aushärtung konnten die Paraffinblöcke aus den Unikassetten entnommen werden. Pro Nierenarterie ergaben sich, je nach Länge, etwa 3-8 Paraffinblöcke. Mit dem Rotationsmikrotom (Leica RM 2125 V1.0 Deutsch 07/97, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) wurden aus den Paraffinblöcken 5µm dicke Gewebeschnitte angefertigt. Zur Entfaltung wurden die Schnitte in ein 40°C warmes Wasserbad gelegt (Leica HI 1210, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland). Anschließend wurden die Schnitte auf einen Objektträger (Super Frost® Plus Objektträger, R. Langenbrick Labor- und Medizintechnik; Emmendingen, Deutschland) übertragen. Zur Kennzeichnung wurden die Objektträger mit einem Aufkleber durch einen Etikettendrucker (Cognitive Cxi Labelprinter, Cognitive TPG Headquarters, Lincolnshire, USA) versehen. Die Präparate wurden auf den beheizten Rand des Wasserbades gelegt und nach kurzer Antrocknungszeit in einen Heizschrank bei 37°C (Heraeus Kendro Laboratory Products; Langenselbold, Deutschland) für mindestens 24 Stunden oder in einen Heizschrank bei 60°C für 2-4 Stunden gegeben.

## 2.6.2 Histologische Färbungen

In Zusammenarbeit mit dem Neuropathologischen Institut der Charité, Universitätsmedizin Berlin wurden diverse Färbungen getestet, u.a. CNPase (Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase), MNP (Myelin Basic Protein) und Neurofilament. Letztlich wurden die Hämatotoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) und die Elastika van Gieson-Färbung (EvG-Färbung) als Standard festgelegt. Zusätzlich wurde bei den meisten Präparaten die anti-S100-Färbung durchgeführt.

### HE-Färbung:

Die Färbung wurde mit Hilfe eines Färbeautomaten (Leica Auto Stainer XL V2.2 Deutsch 03/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH; Nussloch, Deutschland) durchgeführt. Der Ablauf erfolgte nach dem in Tab. 8 angegebenen Protokoll nach Romeis.

Hämalaun (entstanden durch oxidiertes Hämotoxylin, welches eine Chelatbildung mit Aluminium-Ionen eingegangen ist) ist positiv geladen und bindet an die sauren Zellkomponenten, wie die DNS, wodurch die Kerne blau gefärbt werden. Eosin ist negativ geladen und färbt als Zytoplasmafarbstoff eiweißhaltige Zellbestandteile, wie Mitochondrien und Granula rot. Die HE-Färbung wurde als Übersichtsfärbung zur Untersuchung von morphologischen Auffälligkeiten angewandt. Sie eignet sich insbesondere vor Anfertigung immunhistochemischer Färbungen, um einen Eindruck von den Gewebestrukturen und möglichen Verletzungen zu erhalten.

**Tab. 8: Verkürztes H&E-Färbeprotokoll nach Romeis**

<b>Lösung</b>	<b>Dauer [min]</b>
Xylol	10
absteigende Alkoholreihe	25
Aqua dest.	5
Hämalaun nach Mayer	5
Leitungswasser	10
0,1%iges Eosin	5
Aqua dest.	1
aufsteigende Alkoholreihe	6,5
Xylol	6

### EvG-Färbung:

Die Färbung erfolgte mit oben erwähnten Färbeautomaten und wurde nach dem Protokoll in Tab. 9 durchgeführt. Die Kerne werden braun-schwarz, das Zytoplasma gelb, Kollagenfasern rot und elastische Fasern dunkel-violett eingefärbt. Die Färbung lässt eine gute Differenzierung zwischen Kernen, Bindegewebe, Muskulatur und elastischen Fasern zu und findet daher insbesondere zum Nachweis eines erhöhten Kollagenfaseranteils im Sinne einer Fibrosierung Anwendung.

Tab. 9: Verkürztes Elastica van Gieson-Färbeprotokoll

Lösung	Dauer [min]
Xylol	10
absteigende Alkoholreihe	6
Resorcin-Fuchsin	20
Aqua dest.	1
Weigerts Eisenhämatoxylin	5
Leitungswasser	10
Aqua dest.	0,5
van Gieson Pikrofuchsin-Lösung	3
aufsteigende Alkoholreihe	6
Xylol	10

Anti-S100-Färbung:

Die Färbung wurde nach einem Standardprotokoll im o. g. neuropathologischen Institut durchgeführt. Zur Familie der S100-Proteine gehören eine Reihe von Kalzium-bindenden Proteinen, die von verschiedenen Zelltypen exprimiert werden und über vielfältigste Funktionen verfügen. Das S-100-Protein wird vom S100-Antikörper erkannt und gebunden. Je nach Subtyp des S100-Proteins und eingesetztem Antikörper können unterschiedliche Strukturen markiert werden. Dazu gehören u. a. gliale Zellen des zentralen Nervensystems (ZNS) und des peripheren Nervensystems (PNS), Melanozyten, Speicheldrüsen, Schweißdrüsen, Skelett- und Herzmuskelzellen. Bisher wurde die anti-S100-Färbung z. B. zur Diagnostik von Schwannomen, Ependymomen, Astroglomen und Melanomen sowie deren Metastasen eingesetzt. Bei Antikörperfärbungen wird das jeweilige Antigen durch Kopplung mit einem Markermolekül selektiv sichtbar gemacht.<sup>130</sup> Bei einer Anwendung auf Stützzellen des Nervensystems werden die Glia durch die anti-S100-Färbung braun gefärbt, wohingegen die Nervenzellen ungefärbt bleiben. Postganglionäre sympathische Neurone sind unmyelinisiert (siehe Kapitel 1.7). Ebenso wie markhaltige Fasern werden diese, wenn auch in geringerer Zahl, von Stützzellen des PNS, den Schwannschen Zellen, umgeben und können daher durch die S100-Antikörper markiert werden. Werden die Schwannzellen und damit das S100-Protein geschädigt, z.B. durch den Einsatz von Alkohol, nimmt die Anfärbbarkeit der antigenen Strukturen je nach Schädigung ab. Die anti-S100-Färbung ermöglicht somit einerseits, selbst kleinste afferente und sympathische Nerven in der Adventitia der Nierenarterien durch die gefärbten Gliazellen detektieren zu können und andererseits eine Beurteilung des Schädigungsgrads.

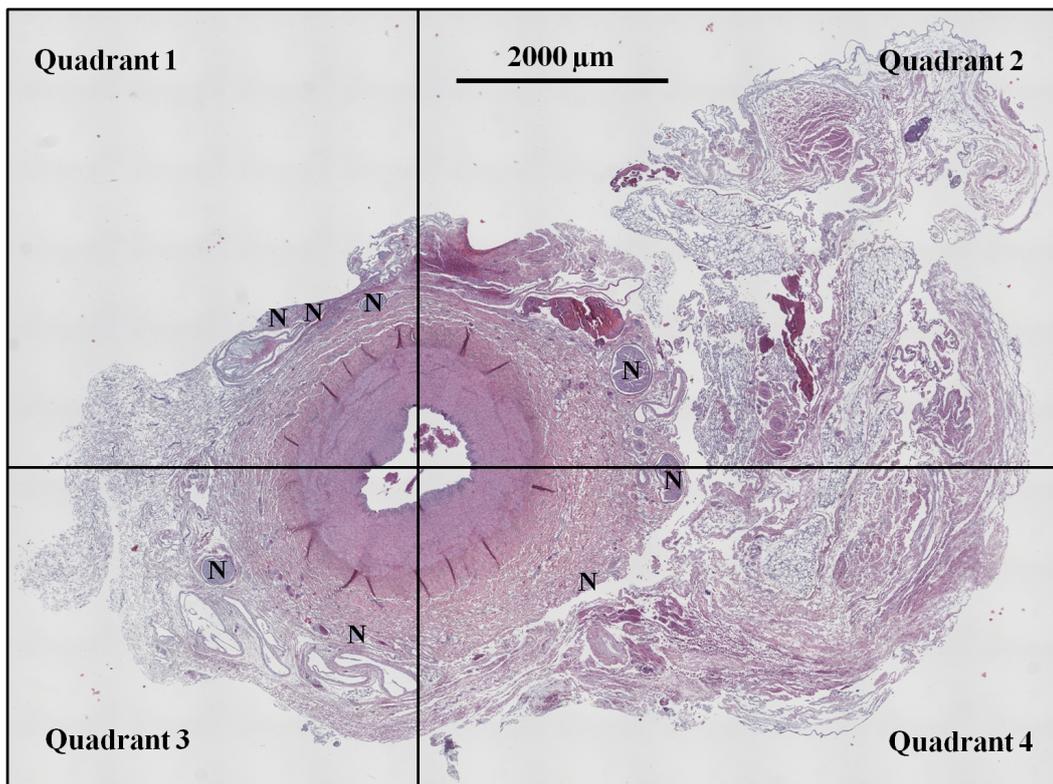
**2.6.3 Histologische Auswertung**

Im Anschluss an die Färbungen erfolgte die Auswertung der histologischen Schnitte mit Hilfe

## Methoden

eines Facharztes für Neuropathologie des neuropathologischen Instituts der Charité, Universitätsmedizin Berlin. Ziel der Auswertung war einerseits der Nachweis von Nervendegenerationen als histopathologisches Korrelat einer erfolgreichen Denervation durch die Alkoholapplikation, andererseits der Ausschluss substanzbedingter Schädigungen des umliegenden Gewebes und angrenzender Organe wie der Niere, der Nierenarterie, der Aorta und des Ureters.

Die Beurteilung der Nervendegenerationen erfolgte anhand der methodischen Standardisierung für präklinische Evaluation der renalen sympathischen Denervation von Sakakura et al.<sup>131</sup> Zur semiquantitativen Auswertung der neuralen Schädigungen wurde ein ordinales Graduierungs-



**Abb. 6:** Übersichtsaufnahme der unbehandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung. Zur Beurteilung der zirkumferentiellen Verteilung degenerierter Nerven wurde jeder histologische Schnitt in 4 Quadranten unterteilt und anschließend die Anzahl der Quadranten mit neuralen Veränderungen bestimmt. Die Nerven ("N") stellen sich auf diesem Bild intakt dar.

system mit folgenden fünf Schweregraden herangezogen: keine (Grad 0), minimale (Grad 1), milde (Grad 2), moderate (Grad 3) und schwere (Grad 4) Destruktion (siehe Tab. 10). Wie oben bereits erwähnt, ist eine schwache oder fehlende Färbung der Nerven in der anti-S100-Färbung ein Hinweis auf eine fortgeschrittene Degeneration. Die Intensität der Färbung periarterieller Nerven wurde daher anhand eines weiteren Scoring-Systems in stark (Grad 2), moderat bis schwach (Grad 1) oder fehlend (Grad 0) eingeteilt (Tab. 10). Neben dem Ausmaß der Schädigung ist nach Sakakura et al. eine Bestimmung der Verteilung der degenerierten Nerven essentiell. Zu diesem Zweck wurde das Gewebe um die Nierenarterie in vier Quadranten unterteilt, siehe Abb. 6. Als weiteres wichtiges Kriterium dieses Bewertungsschemas wurde die Distanz der

## Methoden

geschädigten Nerven zur Intimaoberfläche ermittelt. Ferner wurde die Anzahl der Nerven jedes histologischen Schnittes bestimmt und zwischen behandelter und unbehandelter Seite verglichen. Zur Evaluation möglicher Verletzungen benachbarten Gewebes erfolgte die Einteilung in keine (Grad 0), minimale (Grad 1), milde (Grad 2), moderate (Grad 3) oder schwere (Grad 4) Schädigung (Tab. 10).

**Tab. 10: Zusammenfassende Darstellung der Scores für Nervendegeneration, Gewebedestruktion sowie Intensität der anti-S100-Färbung**

<b>Gradeinteilung</b>	<b>Nervendegeneration</b>	<b>Gewebeschädigung</b>	<b>Anfärbbarkeit durch die anti-S100-Färbung</b>
<b>Grad 0</b>	fehlend	fehlend	fehlend
<b>Grad 1</b>	minimal	minimal	moderat bis schwach
<b>Grad 2</b>	mild	mild	stark
<b>Grad 3</b>	moderat	moderat	/
<b>Grad 4</b>	schwer	schwer	/

### 2.7 Noradrenalin-Bestimmung

Jede der beiden Nieren wurde mit dem jeweils fünffachen des Eigengewichts eines Extraktionsvolumens (1%ige Ameisensäure, Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) mit Hilfe eines Pürierstabs (MSM 7402, 750 W, Bosch; München, Deutschland) vermischt. Das Homogenisat wurde in 50 ml Probengefäße (BD Falcon 50 ml Polypropylene Conical Tube, BD Biosciences, Franklin Lakes, USA) abgefüllt und im Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH, Robert- Koch-Platz 4, 10115 Berlin, abgegeben. Dort erfolgte die Bestimmung des NA-Spiegels. Falls das Homogenisat nicht mehr am gleichen Tag in das o. g. Labor gebracht werden konnte, wurde es in einem Gefrierschrank bei -18°C aufbewahrt.

Bei der Probenvorbereitung wurde das Nierenhomogenisat nach Bauch et al. ausgeschüttelt.<sup>132</sup> Dazu wurden folgende zwei Lösungen verwendet:

Lösung A: 2 mol/l Ammoniumchlorid-/Ammoniumhydroxid (Merck);  
8 mmol/l Diphenylborsäure-Ethanolaminkomplex (ICN Pharmaceuticals);  
13,4 mmol/l EDTA (Titriplex III, Merck);  
pH 8,5 mit konzentrierter Salzsäure einstellen.

Lösung B: 4,57 mmol/l Tetra-octyl-ammoniumbromid (Fluka) werden in 250 ml Chloroform p.A. gelöst und mit 750 ml n-Heptan p.A. versetzt.

Lösung C: n-Octanol (Merck)

Lösung D: 0,2 mol/l Essigsäure (Merck)

Das Nierenhomogenisat wurde abzentrifugiert und 2 ml des Überstandes mit 1 ml der Lösung A und 5 ml der Lösung B versetzt. Diese Lösung wurde dreimal für 20 Sekunden auf dem Vortexer

## Methoden

gemischt. Zur besseren Phasentrennung erfolgte eine Zentrifugation über 15 Minuten. Anschließend wurde die obere, organische Phase in ein neues Gefäß überführt und dort mit 2 ml von Lösung C und 0,5 ml von Lösung D vermischt. Dieses Gemisch wurde auf dem Vortexer 3 Mal für je 20 Sekunden durchmischt und für 15 Minuten zentrifugiert. Danach wurde die obere, organische Phase abgenommen und verworfen. Die untere, wässrige Phase wurde in ein Eppendorfgefäß umgefüllt und für 10 Minuten zentrifugiert (bei 14.000 UpM). Dieses Gemisch wurde bei -18°C bis zur Analyse eingefroren. Durch das beschriebene Vorgehen konnte das NA in der Probe um den Faktor 4 aufkonzentriert werden.

Zur Messung des NA mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurden zwei verschiedene Detektoren verwendet. Bei den Tieren 1-7 kam ein elektrochemischer Detektor (Chromsystem, Methode 1), bei den 11-16 ein Tandem-Massenspektrometer (Methode 2) und bei den Tieren 7-10 sowohl Methode 1 als auch 2 zum Einsatz.

Methode 1: Die aufkonzentrierte Probe wurde in die HPLC gegeben. Die HPLC setzt sich zusammen aus der Säule Phenomenex Luna® C18, 5µm, 150 x 4,6 mm (Aschaffenburg, Deutschland), einer HPLC Pumpe (Waters 515, Waters Corporation; Mildford, MA, USA) und einem Einspritzventil (Rheodyne® 7125 Chromtech; Apple Valley, MN, USA) mit einer 50µm Proben-schleife und einem elektrochemischen Detektor (Chromsystem CLC 100, Gräfelting, Deutschland) mit einer Glas-Carbon-Arbeits Elektrode und einer Ag/AgCl-Referenzelektrode. Der Detektor wurde wie folgt eingestellt: Potential 0,8V, Range 5 nA, Offset 0,01V, Rise Time 2 Sekunden. Als Fließmittel wurde ein Gemisch aus 62,43 mmol/l Methansulfon, 29,59 mmol/l Phosphorsäure, 0,093 Octansulfonsäure und 0,097 mmol/l EDTA (Titriplex III) verwendet. Die Fließrate war isokratisch und betrug 1,3 ml/min. Der pH wurde mit Hilfe von 5 mol/l NaOH auf 2,1 eingestellt. Der erhaltene Messwert der untersuchten Probe wurde mit einer bekannten NAKonzentration verglichen.

Methode 2: Das HPLC-System war bis auf den verwendeten Detektor identisch zu Methode 1 aufgebaut. Bei diesem Verfahren wurde als Detektor das Massenspektrometer API 2000 (Applied Biosystems; Darmstadt, Deutschland) eingesetzt. Durch Nacheinanderschalten von mehreren Massenspektrometereinheiten ergibt sich eine Kopplungsmöglichkeit, die als HPLC-MS-MS oder als HPLC-Tandem-MS bezeichnet wird. Die Proben wurden wie oben an der Säule getrennt. Das Fließmittel bestand zu 95% aus einer 0,2%igen Ameisensäure und zu 5% aus Methanol. Die Flussrate betrug 0,2 ml/min isokratisch. Im Anschluss an jede Analyse erfolgte eine Spülung mit 100% Methanol mit einer Flussrate von 0,5 ml/min.

Das Massenspektrometer besteht aus zwei Quadrupol-Massenfiltern (Q1 und Q3) und einer Kollisionszelle (Q2). NA wird im Q1 bei einer Masse von 170,05 AMU (Average Mass Unit) detek-

## Methoden

tiert. Im Q3 findet ein Übergang auf eine Masse von 107,1 AMU statt. Bei dem internen Standard von sechsfach deuteriertem NA (NA(d6)) findet ein Übergang von 176,166 AMU auf 111,2 AMU statt. Für die Auswertung wurde das Integral des Peaks der Probe ermittelt und durch die Peakfläche von NA(d6) geteilt. Zur Berechnung der Konzentration wird dieses Verhältnis auf einen Standard bezogen. Die Kalibrierung erfolgt mit einem Standard, der 100ng/ml NA und 200ng/ml NA(d6) enthält. Um eine gute Vergleichbarkeit zu haben, sollte die Konzentration des Standards ungefähr der zu erwartenden Konzentration in den Proben entsprechen.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Allgemeine Daten**

Die Tiere wurden am Tag der Intervention sowie am Tag der Euthanasie gewogen. Das durchschnittliche Gewicht für den Tag der Intervention lag bei  $26,5 \pm 2,7$  kg und das mittlere Gewicht für den Euthanasetag bei  $30,8 \pm 5,2$  kg. Die Gewichtszunahme in diesem Zeitraum entspricht durchschnittlich 4,3 kg. Bei den Tieren 3 und 4 erfolgten Intervention und Euthanasie am gleichen Tag, sodass hier keine weitere Messung stattfand. Die Zeitspanne zwischen Intervention und Euthanasie betrug, ausgenommen der Euthanasiezeitpunkte von Tiere 3 und 4, durchschnittlich  $31 \pm 5$  Tage.

#### **3.2 Auswertung der MR-Bildqualität**

Zur Ermittlung des Nadel- bzw. Injektat-Gewebekontrasts wurden 546 bzw. 798 Signalwerte aus MR-Bilddatensätzen erhoben und daraus 91 respektive 133 Mittelwerte errechnet. Tab. 11 gibt das Contrast-to-Noise Ratio (CNR) der Punktionsnadel zu den fünf untersuchten Geweben wieder. Insgesamt wurden 13 fluoroskopische MR-Aufnahmen mit jeweils unterschiedlich eingestellten Bildparametern evaluiert. Ferner sind in Abb. 7 die Nadelartefakte graphisch dargestellt. Die angegebenen Nadeldurchmesser sind nur als Richtwerte zu betrachten, da der Punktionswinkel variierte (siehe Tab. 11).

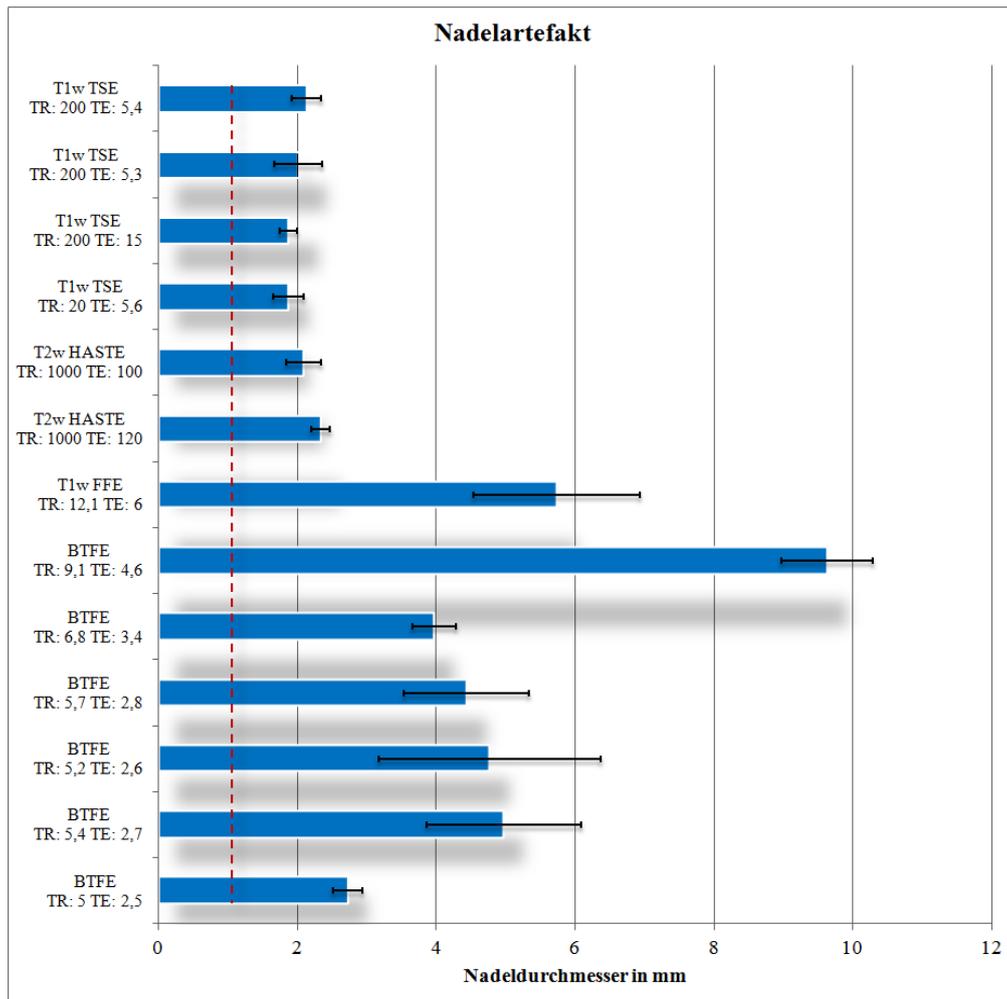
## Ergebnisse

Tab. 11: Übersicht über die MR-Parameter der verwendeten fluoroskopischen Sequenzen und den Nadel-Gewebe-Kontrast

Sequenz	TR [ms]	TE [ms]	Flip angle [°]	Acquisition time [s]	NSA	NPE	ETL	Schicht -dicke [mm]	CNR Nadel/Fett	CNR Nadel/Muskel	CNR Nadel/Knochen	CNR Nadel/Niere	CNR Nadel/Nierenarterie	Nadelartefakt [mm]	Punktionswinkel ggü. B0 [°]	Artefakte	Bildqualität
T1w TSE	200	5,4	90	25,2	1	126	7	5	35,69 ± 3,40	27,70 ± 6,32	28,75 ± 4,69	27,96 ± 4,60	8,45 ± 1,50	2,13 ± 0,21	41,2	2	3
T1w TSE	200	5,3	90	25,2	1	126	7	8	46,08 ± 4,31	8,00 ± 3,45	25,31 ± 5,78	14,95 ± 1,93	10,41 ± 3,36	2,01 ± 0,34	37,3	2	3
T1w TSE	200	15	90	25,2	1	126	7	8	34,16 ± 9,84	14,19 ± 4,1	30,44 ± 3,98	17,41 ± 3,4	2,92 ± 2,62	1,87 ± 0,12	36,7	2	3
T1w TSE	200	5,6	90	25,2	1	126	7	4	41,18 ± 14,42	11,92 ± 2,24	24,07 ± 9,41	15,18 ± 4,72	5,04 ± 0,88	1,87 ± 0,22	28,5	2	3
T2w HASTE	1000	100	90	104	1	104	67	8	94,62 ± 14,33	5,65 ± 5,40	77,82 ± 5,59	83,89 ± 18,86	3,52 ± 3,23	2,09 ± 0,25	43,1	2	2
T2w HASTE	1000	120	90	104	1	104	67	5	107,72 ± 23,20	5,73 ± 3,70	104,47 ± 19,53	97,32 ± 9,32	1,88 ± 2,75	2,33 ± 0,13	39,6	2	2
T1w FFE	12,1	6	20	2,4	1	198	1	5	81,39 ± 12,43	56,21 ± 5,29	33,04 ± 7,08	60,51 ± 5,61	6,23 ± 3,05	5,74 ± 1,2	40,1	2	2
BTFE	9,1	4,6	60	2,31	1	254	254	5	56,34 ± 13,69	9,2 ± 5,27	20,37 ± 10,36	18,15 ± 6	40,75 ± 10,76	9,63 ± 0,66	33	3	2
BTFE	6,8	3,4	60	1,15	1	169	169	5	41,06 ± 12,2	19,09 ± 7,87	35,31 ± 8,31	26,63 ± 6,71	83,35 ± 19,58	3,97 ± 0,31	31,4	3	1
BTFE	5,7	2,8	40	0,71	1	125	125	5	30,19 ± 2,65	15,34 ± 5,22	21,1 ± 6,66	18,67 ± 7,29	26,64 ± 5,45	4,44 ± 0,9	27,5	3	1
BTFE	5,2	2,6	40	0,59	1	113	113	6	26,33 ± 14,31	15,62 ± 11,55	26,62 ± 12,68	27,75 ± 6,92	50,32 ± 14,17	4,77 ± 1,6	29,1	3	1
BTFE	5,4	2,7	40	0,61	1	113	113	5	19,59 ± 3,94	15,87 ± 4,7	17,9 ± 1,13	18,56 ± 3,96	17,75 ± 2,6	4,97 ± 1,11	41	3	1
BTFE	5	2,5	40	0,57	1	113	113	8	46,78 ± 9,71	25,18 ± 6,05	49,74 ± 10,27	50,33 ± 10,99	35,44 ± 7,09	2,72 ± 0,21	34,5	2	1

TR = repetition time, TE = echo time, NSA = number of signal averages, NPE = number of phase-encoding steps, ETL = echo train length, CNR = Contrast-to-noise ratio, HASTE = half-fourier-acquisition single-shot turbo spin-echo, FFE = fast field echo, BTFE = balanced turbo field echo, Artefakte wurden anhand einer 4-Punkte-Skala mit 0 (fehlend), 1 (gering), 2 (moderat) oder 3 (hochgradig) bewertet, die Beurteilung der Bildqualität erfolgte ebenfalls anhand einer 4-Punkte-Skala mit 0 (kein sichtbares Bild), 1 (schlecht), 2 (passabel) oder 3 (sehr gut)

## Ergebnisse



**Abb. 7: Durchmesser der Punktionsnadel unter Variation von Wichtung, TE und TR mit Standardabweichung. Die rote Linie markiert den tatsächlichen Nadeldurchmesser der eingesetzten 20 G Nadel von 0,9 mm.**

Von den untersuchten fluoroskopischen Sequenzen erzielte die T1w TSE mit einer TR von 200 ms und einer TE von 5,4 unter Berücksichtigung der CNR-Werte, des qualitativem Bildeindrucks und der Nadelartefakte das beste Gesamtergebnis und wurde daher für die Nadelpositionierung bei allen Versuchen eingesetzt (in Tab. 11 hervorgehoben). Abb. 8 zeigt einen axialen und coronaren Schnitt der genannten Sequenz vor Applikation des Alkohols.

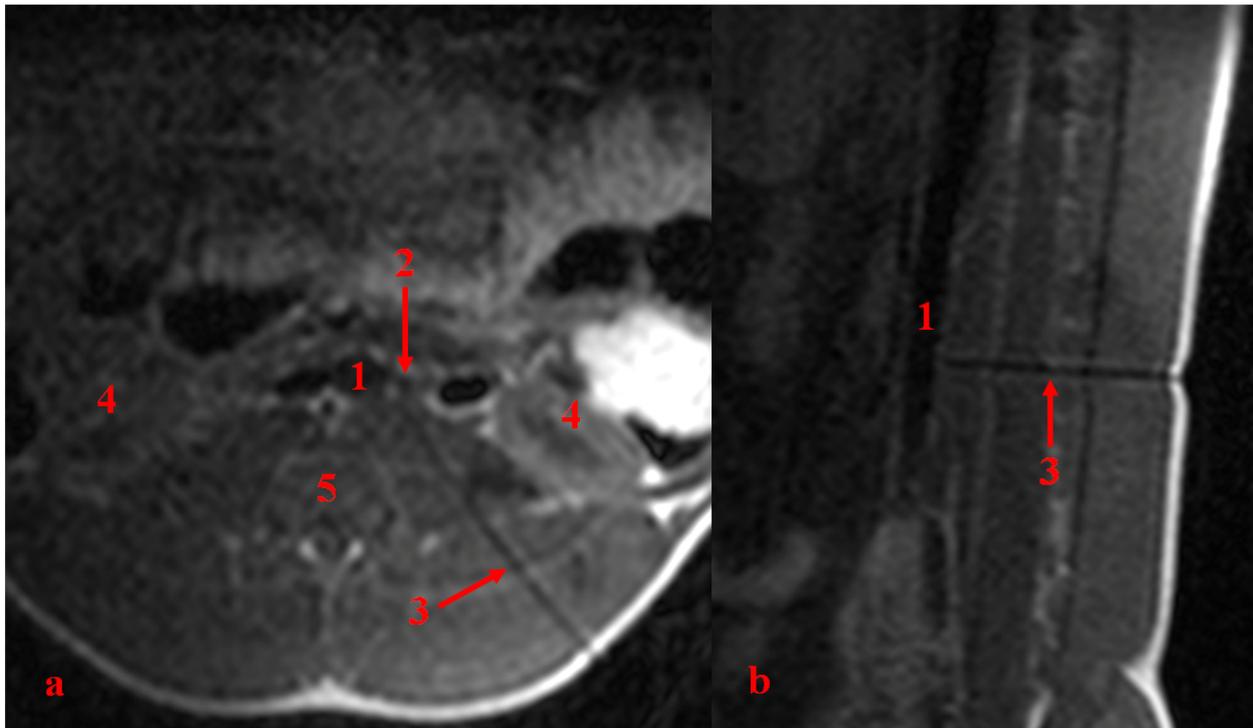


Abb. 8: Axiale (a) und coronare (b) T1w TSE von Schwein 10 prä injectionem. Die Punktionsnadel lässt sich gut gegenüber dem angrenzenden Fett- und Muskelgewebe sowie den benachbarten Organen abgrenzen. Das Nadelartefakt fällt mit  $2,13 \pm 0,21$  mm gegenüber den meisten anderen fluoroskopischen Sequenzen eher gering aus und erwies sich daher als besonders geeignet für die Versuche. 1 = Aorta, 2 = linke A. renalis, 3 = Nadel, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule,

Analog zu Tab. 11 sind in Tab. 12 die MR-Parameter und die CNR-Verhältnisse der 19 untersuchten postinterventionellen Aufnahmen zur Injektatkontrolle aufgeführt.

Der durchschnittlich beste Alkohol-Gewebekontrast konnte durch die T2w TSE mit einer TR von 3000 ms und einer TE von 120 ms und die T2w TSE SPIR mit einer TR von 1500 ms und einer TE von 100 ms erreicht werden. Auf Grund eines besseren Bildeindrucks wurde die T2w TSE SPIR zur Beurteilung der Injektatdistribution bevorzugt. Ein zusätzlicher Vorteil der T2w-Messungen besteht darin, dass kein Kontrastmittel erforderlich ist. Von den T1w-Sequenzen zeigt die T1w TSE fs (fat-saturated) mit einer TR von 450,4 ms und einer TE von 10 ms das beste Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis und wurde alternativ zur T2w TSE SPIR durchgeführt (beide in Tab. 12 markiert). Die T2w TSE SPIR und die T1w TSE fs sind in Abb. 9 dargestellt.

## Ergebnisse

**Tab. 12: Übersicht über die MR-Parameter der postinterventionellen diagnostischen Sequenzen und den Alkohol-Gewebe-Kontrast**

Sequenz	TR [ms]	TE [ms]	Flip angle [°]	Acquisition time [s]	NSA	NPE	ETL	Schichtdicke [mm]	CNR Alkohol/Fett	CNR Alkohol/Muskel	CNR Alkohol/Knochen	CNR Alkohol/Niere	CNR Alkohol/Nierenarterie	Artefakte	Bildqualität
T1w TSE fs	451,9	10	90	260,2944	4	144	5	3	143,01 ± 20,45	71,04 ± 27	134 ± 16,86	54,21 ± 22,58	196,76 ± 15,94	2	3
T1w TSE fs	450,2	10	90	297,132	4	165	5	4	115,13 ± 12,08	88,52 ± 15,37	115,35 ± 21,89	55,30 ± 10,73	163,33 ± 11,47	1	3
<b>T1w TSE fs</b>	<b>450,4</b>	<b>10</b>	<b>90</b>	<b>297,264</b>	<b>4</b>	<b>165</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>169,93 ± 23,37</b>	<b>130,44 ± 19,68</b>	<b>172,47 ± 10,68</b>	<b>84,06 ± 22,74</b>	<b>220,18 ± 18,44</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
T1w TSE fs	599,6	10	90	462,8912	4	193	5	2,4	60,25 ± 16,05	33,99 ± 23,49	83,28 ± 23,34	21,93 ± 10,53	138,01 ± 21,28	1	3
T1w TSE fs	516,1	10	90	402,558	4	195	5	2,4	151,55 ± 16,38	91,20 ± 23,46	166,43 ± 18,14	18,40 ± 18,80	152,94 ± 39,79	1	3
T1w TSE fs	430,1	10	90	335,478	4	195	5	2,4	113,38 ± 7,04	88,47 ± 15,44	137,51 ± 26,59	27,28 ± 23,85	187,19 ± 12,98	2	3
T1w TSE fs	428,3	10	90	330,6476	4	193	5	2,4	96,83 ± 10,08	57,27 ± 5,8	87,12 ± 8,52	9,41 ± 6,3	117,31 ± 11,93	1	3
T1w TSE fs	430,3	10	90	335,634	4	195	5	3,4	107,83 ± 26,94	75,64 ± 10,31	124,37 ± 14,84	27,09 ± 18,05	152,58 ± 12,6	1	3
T1w TSE fs	200	10	90	156	4	195	5	2,4	117,87 ± 6,59	96,46 ± 7,41	107,74 ± 5,9	55,98 ± 12,93	112,56 ± 8,37	2	2
T1w TSE fs	400	10	90	380,8	4	238	5	4	144,35 ± 25,71	79,60 ± 20,52	178,14 ± 23,44	61,01 ± 27,46	196,76 ± 23,88	1	2
T1w TSE fs	449,9	10	90	347,3228	4	193	5	2,4	117,3 ± 23,92	105,74 ± 25,73	127,19 ± 22,36	92,7 ± 30,55	155,05 ± 19,96	2	2
T1w TSE fs	453,2	10	90	489,456	4	270	5	2,4	83,04 ± 5,19	57,55 ± 11,77	98,75 ± 6,94	66,82 ± 8,31	110,12 ± 10,7	2	2
T1w TSE fs	452	10	90	298,32	4	165	5	4	116,47 ± 10,11	77,14 ± 17,04	143,07 ± 18,85	40,18 ± 21,74	169,41 ± 19,36	3	1
<b>T2w TSE SPIR</b>	<b>1500</b>	<b>100</b>	<b>90</b>	<b>2052</b>	<b>6</b>	<b>228</b>	<b>24</b>	<b>4</b>	<b>174,41 ± 12,44</b>	<b>192,72 ± 16,85</b>	<b>133,07 ± 12,89</b>	<b>108,92 ± 17,13</b>	<b>190,05 ± 18,73</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
T2w TSE	3735,8	120	90	3810,516	6	170	20	3	104,28 ± 17,79	167,32 ± 15,17	109,06 ± 16,02	86,7 ± 14,49	166,3 ± 15,88	2	2
T2w TSE	3237,7	120	90	3302,454	6	170	20	2,4	140,65 ± 39,75	249,80 ± 46,54	99,49 ± 53,82	78,87 ± 37,46	152,38 ± 56,91	2	2
T2w TSE	3000	120	90	3060	6	170	20	2	116,55 ± 22,44	275,47 ± 24,1	170,05 ± 19,3	170,38 ± 28,78	288,28 ± 23,24	2	2
T1w TSE	433,5	10	90	338,13	4	195	5	2,4	10,87 ± 7,27	41,65 ± 5,11	48,84 ± 6	25,31 ± 10,28	59,10 ± 6,08	1	3
T1w TSE	200	10	90	156	4	195	5	2,4	31,72 ± 21,02	85,09 ± 15,97	107,34 ± 13	61,06 ± 12,29	105,82 ± 13,82	2	3

TR = repetition time, TE = echo time, NSA = number of signal averages, NPE = number of phase-encoding steps, ETL = echo train length, CNR = Contrast-to-noise ratio, SPIR = spectral presaturation with inversion recovery, fs = fat-saturated

Artefakte wurden anhand einer 4-Punkte-Skala mit 0 (fehlend), 1 (gering), 2 (moderat) oder 3 (hochgradig) bewertet, die Beurteilung der Bildqualität erfolgte ebenfalls anhand einer 4-Punkte-Skala mit 0 (kein sichtbares Bild), 1 (schlecht), 2 (passabel) oder 3 (sehr gut)

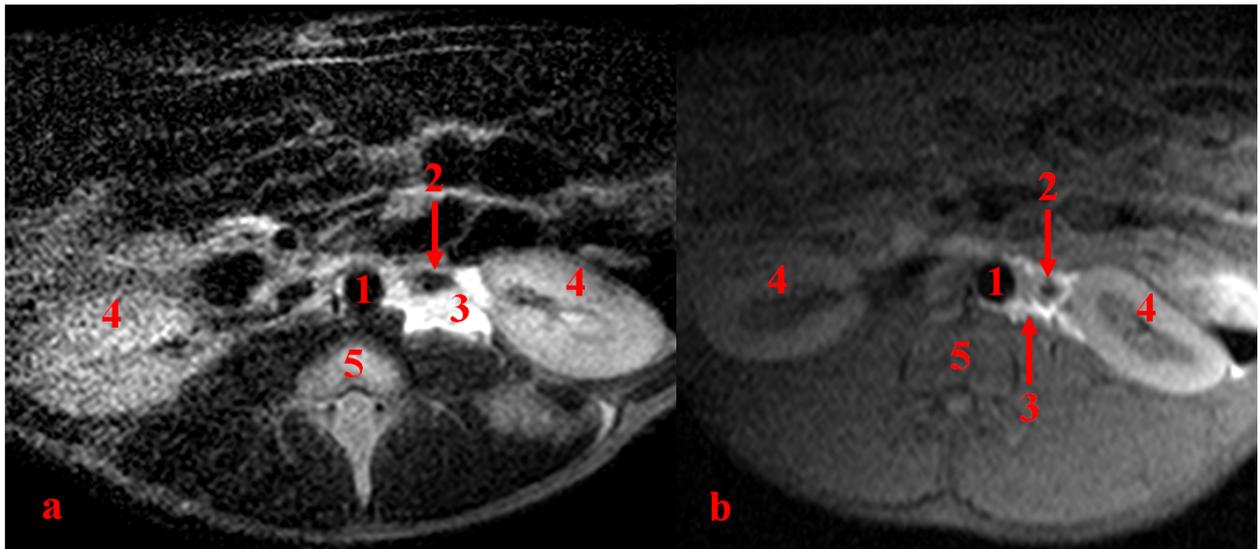


Abb. 9: Postinterventionell durchgeführte T2w TSE SPIR (a) und T1w TSE fs (b). Auf Grund des guten Alkohol-Gewebekontrasts, insbesondere der T2w TSE SPIR, sind diese Sequenzen zur Injektatkontrolle besonders geeignet. Das deutlich schlechtere Bildsignal auf der rechten im Vergleich zu linken Seite ist dadurch bedingt, dass die Oberflächenspule auf der zu behandelnden, linken Seite angebracht wurde. 1 = Aorta, 2 = linke A. renalis, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule

### 3.3 Interventionszeiten

Die Interventionszeit wurde aus den durchschnittlichen Zeiten der für das Standardprotokoll verwendeten Sequenzen errechnet, bestehend aus einer präinterventionellen T2w TSE, gefolgt von einer interaktiven T1w TSE, einer postinterventionellen T2w SPIR TSE oder einer T1w TSE fs ohne Berücksichtigung der Zeiten für die Narkoseeinleitung des Tiers, der Raumvorbereitung sowie postinterventionellen Spätaufnahmen 15-20 min nach der Intervention. Die Interventionszeit lag im Mittel bei  $29 \pm 10$  min (Median = 27 min, IQR (interquartile range) = 7 min), wobei die Dauer im Verlauf der Versuchsreihe tendenziell eher abnahm. Die kürzeste Interventionszeit betrug 18 min, die längste 55 min. Die reine Interventionszeit von der Lokalanästhesie bis zur Injektion des Alkohols betrug im Mittel  $19 \pm 9$  min.

### 3.4 Technische Durchführbarkeit

Bei allen Tieren gestaltete sich die MR-kontrollierte Punktion und die Injektion des Alkohols nach entsprechender Positionierung der Nadel nahe des Nierenarterienostiums erfolgreich. Zur Beurteilung des technischen Erfolgs der Alkoholapplikation wurde die Injektatdistribution bewertet. Ziel war eine möglichst langstreckige und zirkumferentielle Umspülung der Nierenarterie durch den Alkohol. Ferner wurde die Diffusion des Alkohols in Richtung anderer Organe beurteilt.

Die Auswertung der Injektatdistribution erfolgte mittels eines semiquantitativen Scorings. Bei insgesamt 10 von 15 Tieren (67%) war eine optimale Injektatverteilung zu verzeichnen (siehe Tab. 13). Diese Tiere erhielten den bestmöglichen Score von 3 Punkten. Bei 3 weiteren Tieren

## Ergebnisse

(20%) wurde eine suffiziente Verteilung mit einem Score von 2 Punkten erreicht. Bei 2 Tieren (13%) wurde die Distribution des Alkohols als insuffizient erachtet und ein Score von 1 Punkt vergeben. Bei keinem Tier verfehlte der applizierte Alkohol gänzlich die Nierenarterie (Score 0), eine Teilumspülung war in allen Fällen gegeben. Der mittlere Distributionsscore aller Tiere beträgt 2,53 Punkte.

Tab. 13: Auswertung der Injektatdistribution von Tier 1-16

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12	Tier 14	Tier 15	Tier 16
Score	3	1	3	2	3	1	3	3	2	3	3	3	3	3	2

Die folgenden MR-Aufnahmen werden zur besseren Vergleichbarkeit, sofern durchgeführt, in der T1w TSE fs-Sequenz dargestellt.

Abb. 10 zeigt exemplarisch für die 9 Tiere mit optimaler Injektatverteilung (Score 3) eine Interventionsaufnahme von Schwein 1 kurz nach der Substanzapplikation. Der Alkohol lässt sich im axialen und koronaren Schnitt über die gesamte Strecke vom Nierenarterienostium bis zur Einmündung in die Niere nachweisen. In der axialen Aufnahme ist ferner eine ventral- und dorsal-seitige Umspülung der Nierenarterie erkennbar.

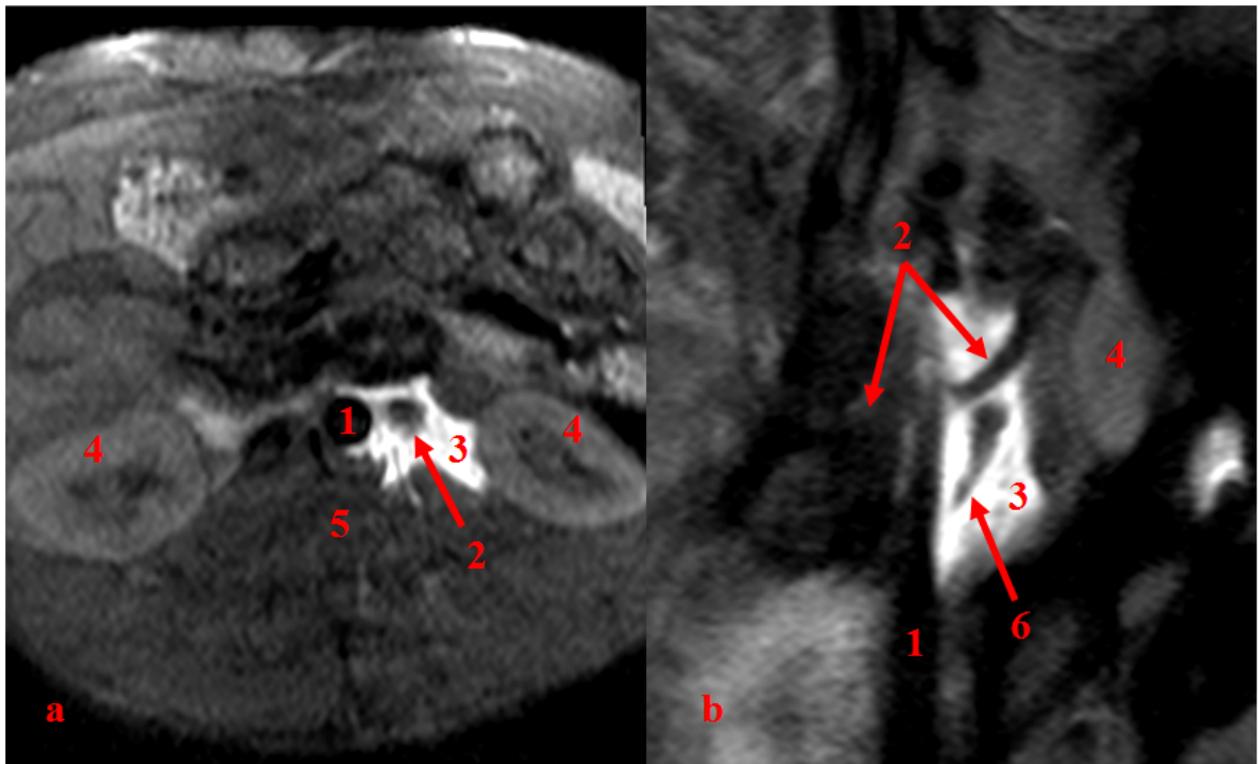


Abb. 10: Postinterventionelle axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 1. Die Nierenarterie (2) ist zirkumferentiell und über den gesamten Verlauf von proximal nach distal mit Alkohol (3) umspült. 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule, 6 = Ureter

Bei 3 Tieren wurde eine suffiziente Injektatverteilung (Score 2) erreicht mit guter Umspülung

## Ergebnisse

des Nierenarterienostiums, jedoch nur partieller Umspülung distaler Anteile der Nierenarterie. Abb. 11 zeigt beispielhaft die MR-Injektatkontrolle von Schwein 16. Die koronare Aufnahme lässt eine vollständige Umspülung der Nierenarterie von proximal nach distal annehmen, die axiale Schicht zeigt jedoch, dass sich der Alkohol um den Nierenarterienabgang konzentriert. Nur das Nierenostium bzw. das proximale Nierenarteriendrittel sind zirkumferentiell von Alkohol umgeben. Weitere nierenwärts gelegene Teile der Nierenarterie werden nicht erreicht.

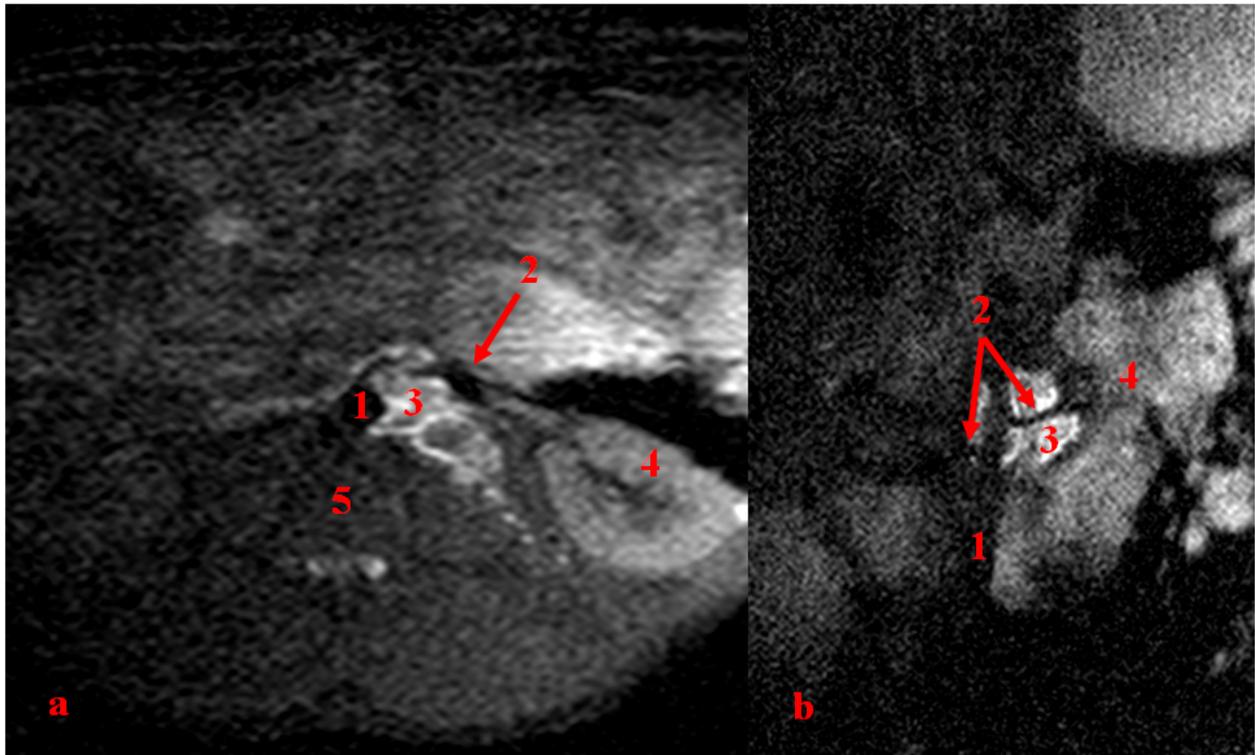


Abb. 11: Axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 16 post interventionem. Aus dem axialen Bild wird ersichtlich, dass die Nierenarterie im Gegensatz zur vorhergehenden Abbildung nicht im gesamten Verlauf von Alkohol umgeben wird. Das Injektat konzentriert sich um das Nierenarterienostium. 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule

Bei Schwein 2 und 6 wurde die Injektatdistribution als insuffizient beurteilt. Auffallend ist, dass sich diese beiden Tiere mit den schlechtesten Injektatdistributionen in der Gruppe mit 5 ml Substanzapplikation befinden. Abb. 12 zeigt beispielhaft eine postinterventionelle MR-Aufnahme von Schwein 6. Die axiale Schicht lässt lediglich dorsal der Nierenarterie Alkohol erkennen, ventral der Nierenarterie ist kein Injektat nachweisbar. Auf der koronaren Aufnahme auf Höhe des Nierenarterienostiums kommt ebenfalls kein Injektat zur Darstellung.

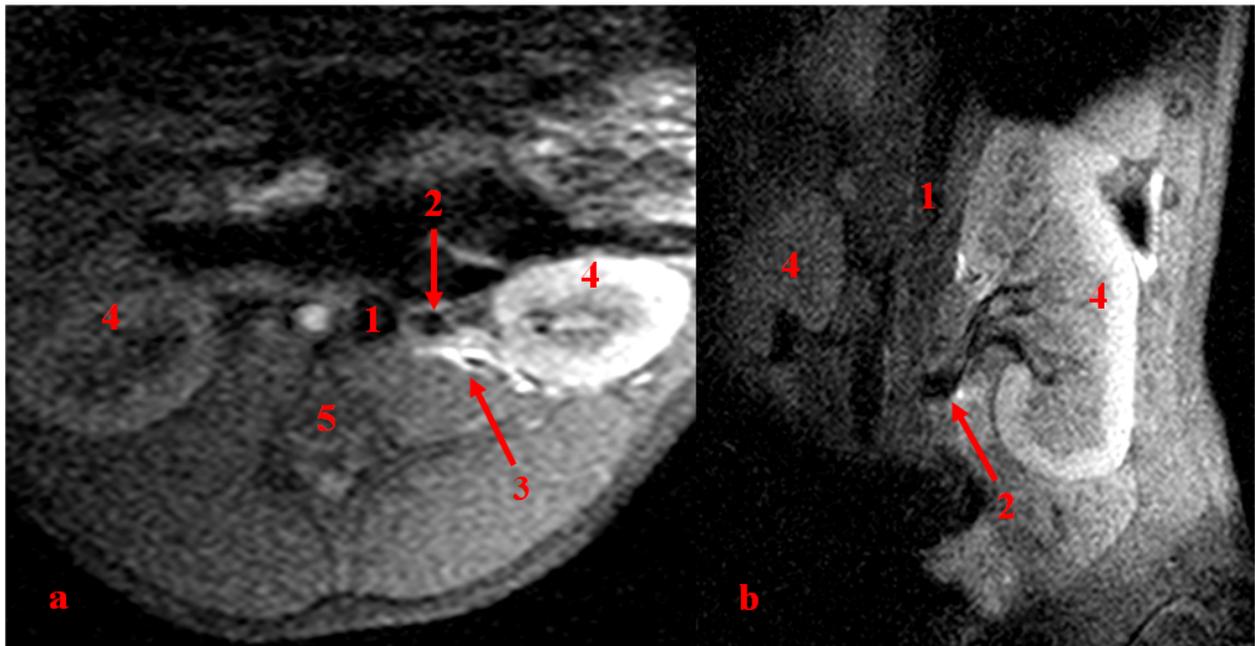


Abb. 12: Axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 6 post interventionem. Auf der axialen Schicht stellt sich das Injektat nur dorsal der Nierenarterie dar, bei fehlender Nachweisbarkeit im koronaren Schnitt. 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule

Abb. 13 zeigt zwei weiter dorsal gelegene koronare Schnittebenen von Schwein 6. Auf diesen Aufnahmen ist eine Umspülung der dorsalen Nierenarterienäste durch den Alkohol erkennbar. Insgesamt sind jedoch weder das Nierenostium noch die Nierenarterie im Verlauf zirkumferentiell vom Injektat umgeben.

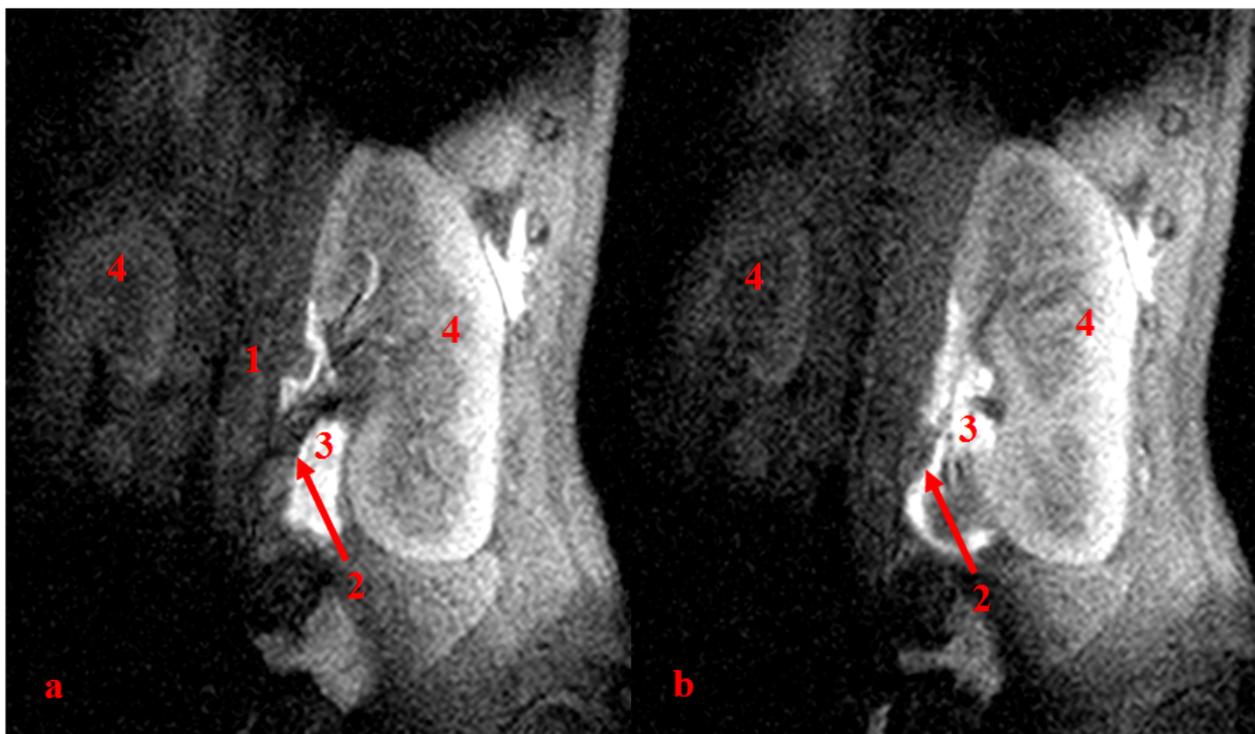


Abb. 13: Axiale T1w TSE fs von Schwein 6 nach Alkoholapplikation, wobei (b) dorsal von (a) liegt. Auf diesen beiden Bildern lässt sich im Vergleich zum vorhergehenden koronaren Schnitt aus Abb. 12 Injektat nachweisen. Es werden somit lediglich die dorsal gelegenen Nierenarterienäste vom Alkohol erreicht. 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren

## Ergebnisse

Bei der Auswertung der Injektatverteilung fiel bei mehreren Tieren eine unerwünschte Umspülung von Niere und Ureter auf, die höchstwahrscheinlich für einige der nachfolgend erwähnten Komplikationen verantwortlich ist. Abb. 14 zeigt exemplarisch eine Umspülung der Niere bei Schwein 4 und des Ureters bei Schwein 7. Die linke Niere von Schwein 4 liegt außergewöhnlich nah an der Aorta und damit an der Injektionsstelle, sodass die Diffusionsstrecke besonders kurz und die Gefahr einer Nierenverletzung durch den Alkohol erhöht ist, wie sie bei diesem Tier auch beobachtet werden konnte. Schwein 7 gehört zu den Tieren mit einer optimalen Injektatverteilung. Die Nierenarterie ist zirkumferentiell von proximal nach distal vom Injektat umgeben. Die hohe Injektatanreicherung im distalen Bereich der Nierenarterie führte bei diesem Tier allerdings zu einer Ureterstriktur.

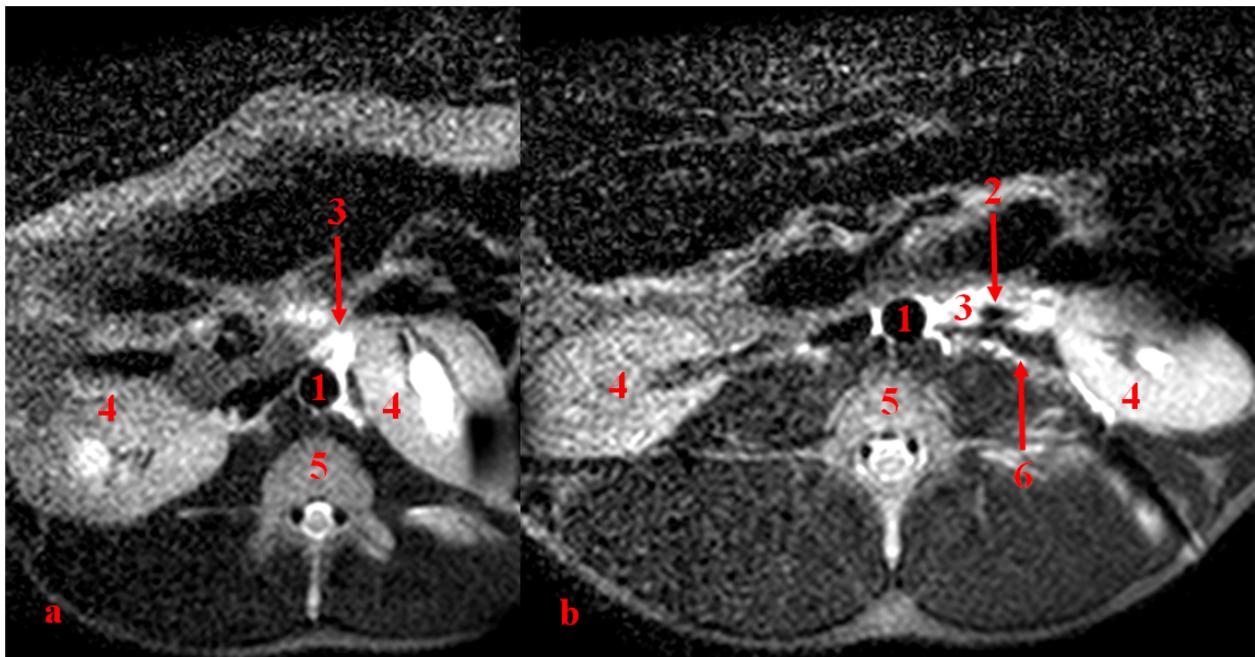


Abb. 14: Postinterventionelle axiale T2w SPIR von Schwein 4 (a) und Schwein 7 (b). 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = Wirbelsäule, 6 = Ureter

Um den o. g. Komplikationen entgegenzuwirken, wurde die Viskosität des Alkohols durch Beimengung von Polyacryl erhöht. Abb. 15 zeigt gegenüberstellend die Injektatverteilung von Schwein 2, 12 und 15. Schwein 2 wurde 5 ml 95%iger Alkohol, Schwein 12 10 ml eines Gemisches aus 70% Alkohol und 30 Polyacryl und Schwein 15 10 ml, bestehend aus 80% Alkohol und 20% Polyacryl, injiziert. In der koronaren Schnittebene zeigt sich sehr eindrücklich, dass sich das Injektat bei Schwein 2, trotz gerade mal 5 ml Gesamtmenge des Injektats, deutlich weiter nach kaudal ausbreitet als bei Schwein 12 und 15. Bei Schwein 12 und 15 haftet der Alkohol auf Grund der höheren Viskosität durch den Polyacrylzusatz an der Nierenarterie. Trotz 10% weniger Polyacrylanteil im Injektat bei Schwein 15 gegenüber Schwein 12 ist die Haftung an der Arterie als gleichwertig zu beurteilen.

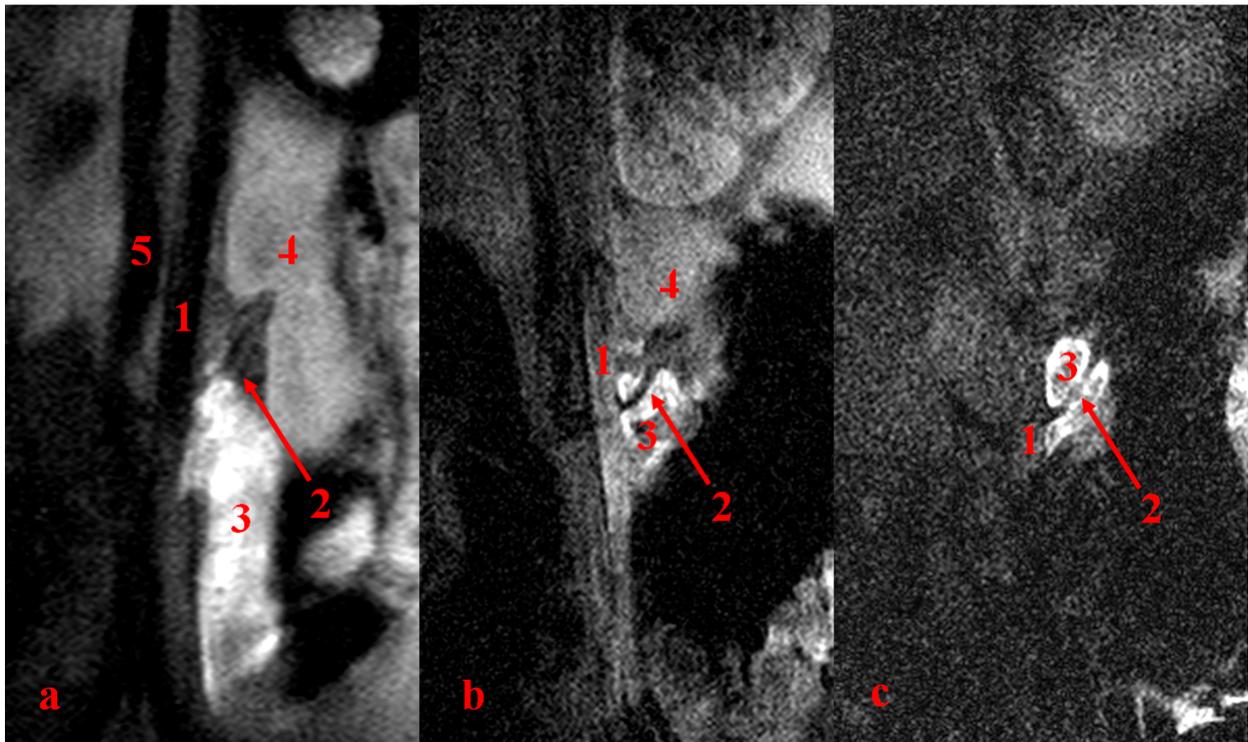


Abb. 15: Koronare T1w TSE fs von Schwein 2 (a), Schwein 12 (b) und Schwein 15 (c) nach Alkoholapplikation. Das Injektat breitet sich bei Schwein 2 von der Nierenarterie bis ins kleine Becken aus. Bei Schwein 12 und 15 ist die Injektatdistribution unter Zusatz von Polyacryl zum Ethanol weitgehend auf die Nierenarterie begrenzt. 1 = Aorta, 2 = Aa. renales, 3 = Alkohol, 4 = Nieren, 5 = V. cava

### 3.5 Sicherheit und unerwünschte Ereignisse

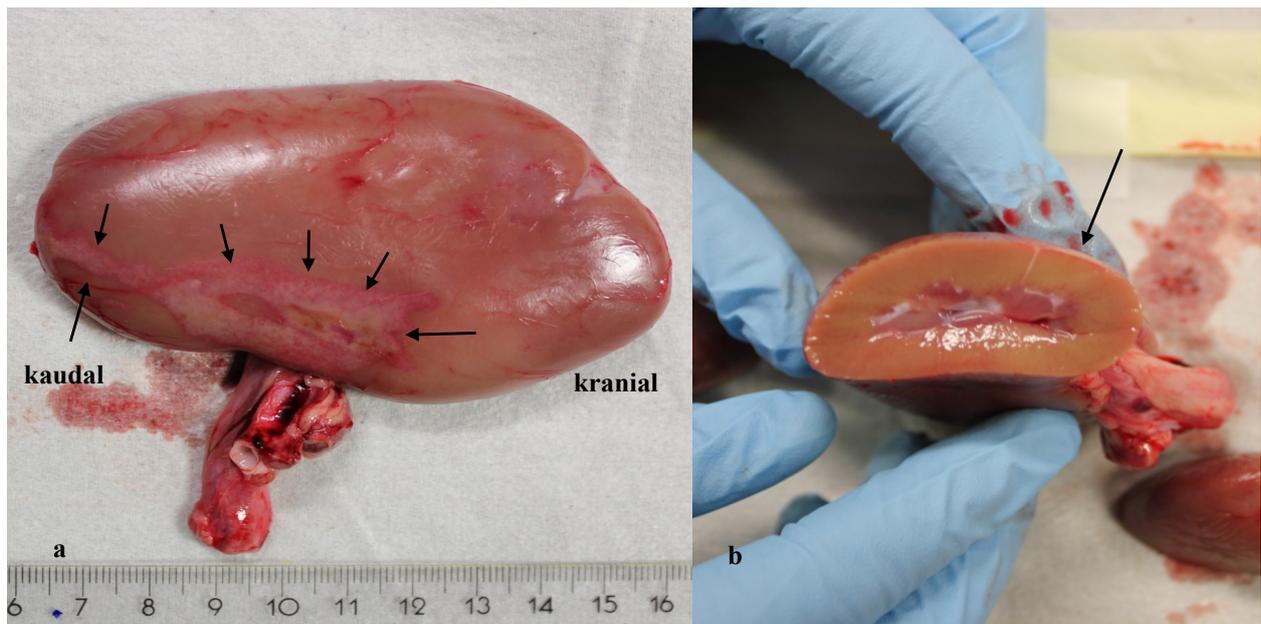
Alle Tiere zeigten sich während des gesamten Beobachtungszeitraums in einem gesundheitlich guten Zustand. Verhaltensauffälligkeiten, als Hinweis auf Schmerzen, wurden nicht beobachtet. Bei 4 Tieren wurden unerwünschte Ereignisse (UE) in Folge der Substanzinjektion festgestellt. Bei Schwein 4 und 9 konnten superfizielle Adhäsionen des Nierenparenchyms nachgewiesen werden und Schwein 7 sowie 15 entwickelten eine Hydronephrose, verursacht durch eine Ureterstriktur. Auf Grund fehlender Anzeichen für Schmerzen oder Krankheit wurden die 4 genannten UE erst am Tag der Euthanasie in den präfinalen MR-Kontrollaufnahmen bzw. der anschließenden makroskopischen Untersuchung diagnostiziert. Darüber hinaus kam es bei Schwein 16 während der Intervention zu einer akzidentellen Punktion der Aorta. Sowohl die Nierenparenchymverletzungen als auch die Verletzung der Aorta waren nicht behandlungsbedürftig und wurden daher als Minor-Komplikationen eingestuft. Die zwei Hydronephrosen wurden als Major-Komplikationen gewertet.

#### 3.5.1 Nierenkapselverletzung

Die Ethanolapplikation führte bei Schwein 4 und 9 zu einer Schädigung der Nierenkapsel. Exemplarisch sind nachfolgend die Bilder von Schwein 4 dargestellt. Makroskopisch zeigte sich eine frische, mediale und ureternahe Läsion des Nierenparenchyms der behandelten Seite. Die

## Ergebnisse

maximale Ausdehnung beträgt etwa 6 cm in der Längsachse und 2 cm im Querdurchmesser (siehe Abb. 16a). Zur Erfassung des Tiefendurchmessers der Verletzung wurde die Niere quer durchteilt. Abb. 16b zeigt die Sicht auf die durchtrennte Niere auf Höhe der Läsion, die eine Verletzung tiefer liegender Gewebeschichten ausschließt. Auf Grund des frühen Euthanasiezeitpunktes von Tier 3 und 4 (Akutversuch) können mittel- und langfristige Komplikationen bei diesen Tieren nicht beurteilt werden. Das Alter der Läsion zum Zeitpunkt der Euthanasie entspricht ca. 2 Stunden. Die Alkoholapplikation bei Schwein 4 verlief regelrecht, es konnte MR-morphologisch kein Korrelat für die Läsion festgestellt werden. Verletzungen anderer Gewebe oder Organe wurden nicht gefunden. Auf Grund des längeren Zeitraums zwischen Intervention und Euthanasie konnte bei Schwein 9 bereits ein fibröser Umbau des Gewebes stattfinden. Makroskopisch zeigte sich auch hier eine auf die oberflächlichen Schichten begrenzte Läsion. Es ist davon auszugehen, dass bei fehlender Verletzung tieferer Parenchymschichten keine Beeinträchtigung der Nierenfunktion resultiert, eine Beeinflussung der NA-Werte kann bei beiden Tieren jedoch nicht ausgeschlossen werden.



**Abb. 16:** (a) Dorsalansicht der linken Niere mit einer ca. 2 Stunden alten, 6 x 2 cm messenden, sich nach kaudal verjüngende Läsion (Pfeile) des medialen Nierenparenchyms (b) Darstellung des linken Nierenquerschnitts, der Pfeil markiert die Position der Verletzung von (a). Es ist keine Verletzung tieferer Gewebeschichten ersichtlich.

### 3.5.2 Hydronephrose

Bei 2 Tieren, Schwein 7 und 15, entwickelte sich eine Hydronephrose auf der behandelten Seite. Ursächlich für eine Hydronephrose ist eine Obstruktion der harnableitenden Wege, die über einen Rückstau des Harns in die Niere zu einem erhöhten Druck im Nierenbeckenkelchsystem (NBKS) führt. Im Frühstadium und bei anhaltender Stenosierung hypertrophiert die Nierenbeckenmuskulatur. Im weiteren Verlauf folgt eine Dilatation von Nierenbecken und Kelchen und

## Ergebnisse

eine Überdehnung sowie Atonie der Muskeln. Im Endstadium und bei sehr hohen Drücken, kann die Durchblutung nicht weiter aufrechterhalten werden. Es resultieren eine Hypoxie und Druckatrophie des Nierengewebes, die letztlich in einer Nekrose und interstitiellen Fibrose der Niere münden.<sup>133</sup>

Bei beiden Tieren ist eine Diffusion des Alkohols von der Nierenarterie in Richtung des gleichseitigen Ureters mit folgender Stenosierung des Ureters durch Sklerosierung anzunehmen. Beide Tiere zeigten bis zur Euthanasie keine Verhaltensauffälligkeiten, die auf Krankheit, Schmerzen oder eine Infektion hätten hindeuten können, sodass die Hydronephrose erst bei der einmonatigen MRT-Kontrolle am Euthanasietag festgestellt wurde. Es erfolgte daher auch keine Überprüfung der Nierenparameter. Bei einseitiger Hydronephrose ist allerdings von einer vollständigen

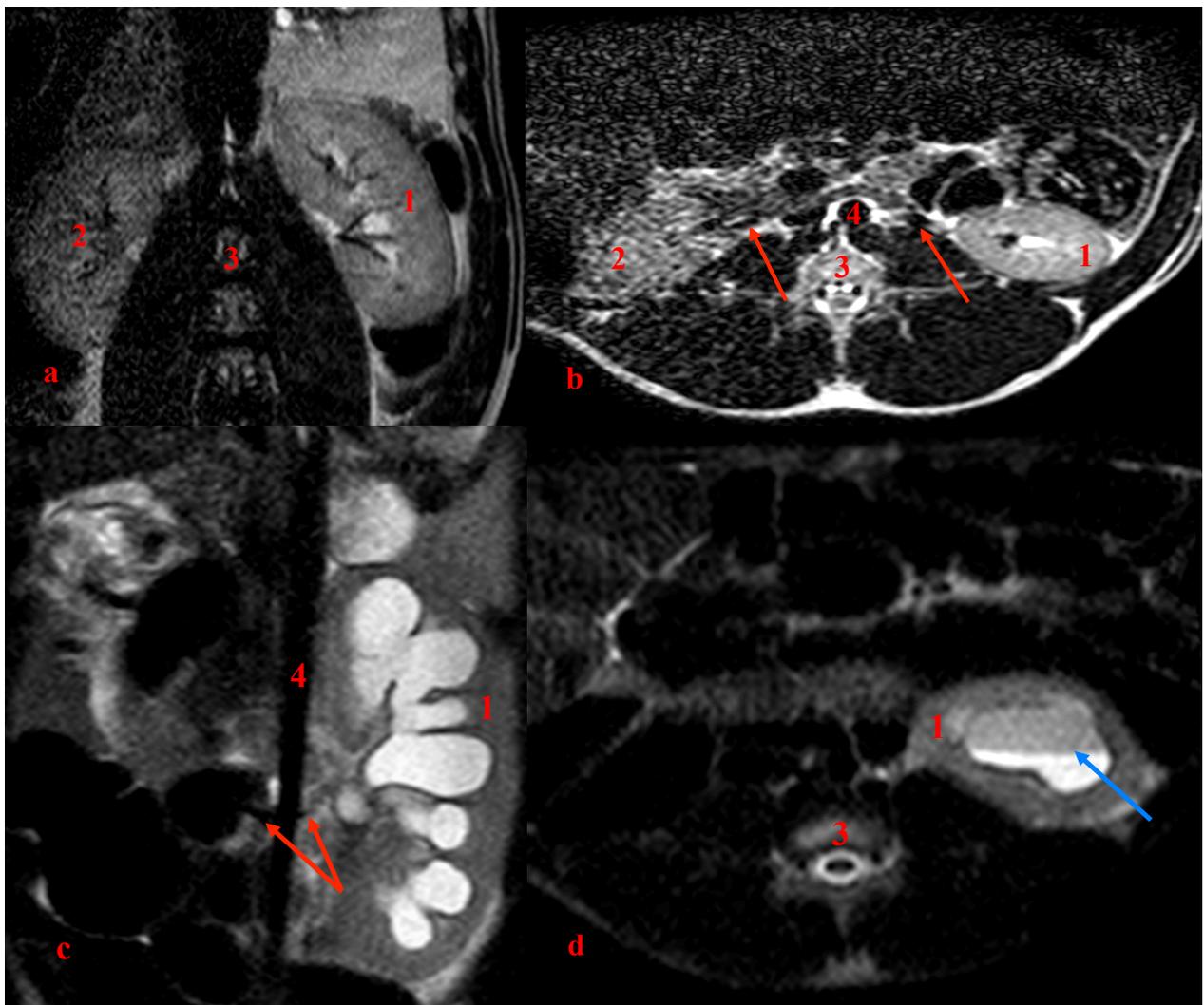


Abb. 17: Koronare (a) und axiale (b) T2w TSE von Schwein 7 präinterventionell sowie T2w SSH (Single Shot) am Tag der Euthanasie, ebenfalls koronar (c) und axial (d). In (a) und (b) stellt sich ein normal weites NBKS dar. Die linke Niere (1) weist hier eine Größe von 10,8 x 4 cm auf. Im Vergleich dazu zeigt sich das NBKS in (c) und (d) massiv geweitet und eine deutliche Größenzunahme der Niere auf ca. 18 x 9 cm, vereinbar mit einer Hydronephrose Grad 3. Innerhalb des Kelchsystems lässt sich eine Spiegelbildung (blauer Pfeil) erkennen, welche durch Eiteransammlung in Folge der Harnstauung und dessen anschließende Sedimentation entsteht. 1 = linke Niere, 2 = rechte Niere, 3 = Wirbelsäule, 4 = Aorta, rote Pfeile = Aa. Renales

## Ergebnisse

Kompensation durch die andere Niere und einer normwertigen Nierenleistung auszugehen.

Abb. 17 zeigt beispielhaft eine koronare (a) und axiale (b) präinterventionelle T2w-Aufnahme von Schwein 7. Es gibt zu diesem Zeitpunkt weder Anzeichen einer Ureterstenose noch eines Harnstaus. Die am Tag der Euthanasie gesehenen und nachfolgend beschriebenen Veränderungen müssen demnach binnen des 4 wöchigen Zeitraums nach Intervention entstanden sein.

Abb. 18 zeigt die nebeneinander liegende linke und rechte Niere von Schwein 7 von ventral nach Organentnahme. Die linke Niere weist eine Länge von 16,5 cm und eine Breite von 6 cm, die rechte Niere eine Länge von 10,5 cm und eine Breite von 5 cm auf.



**Abb. 18:** Größenvergleich der rechten, gesunden Niere und der linken, hydronephrotischen Niere (rechts im Bild) von Schwein 7 in Ventralansicht bei makroskopisch unauffälligem Ureter (Pfeil).

Abb. 19 stellt die entlang der Längsachse halbierte linke Niere bei Pyelonephritis nach Entfernung von etwa 100 ml Eiter dar. Es zeigt sich ein deutlich dilatiertes NBKS. Das Kelchsystem erscheint aufgespreizt und die einzelnen Kelche verplumpt. Weiterhin sind Zeichen einer Organatrophie in Form eines verschmälerten Parenchymsaums zu erkennen.

Bei Schwein 15 zeigte sich demgegenüber ein milderes Stadium der Hydonephrose mit grenzwertiger Organvergrößerung und fehlenden Zeichen einer Organatrophie. Das Parenchym stellte sich normal breit dar. Bei Vergleich mit der gesunden Niere fiel jedoch ein bereits mäßig erweitertes Pylon mit dezenter Aufweitung der Nierenkelche auf.

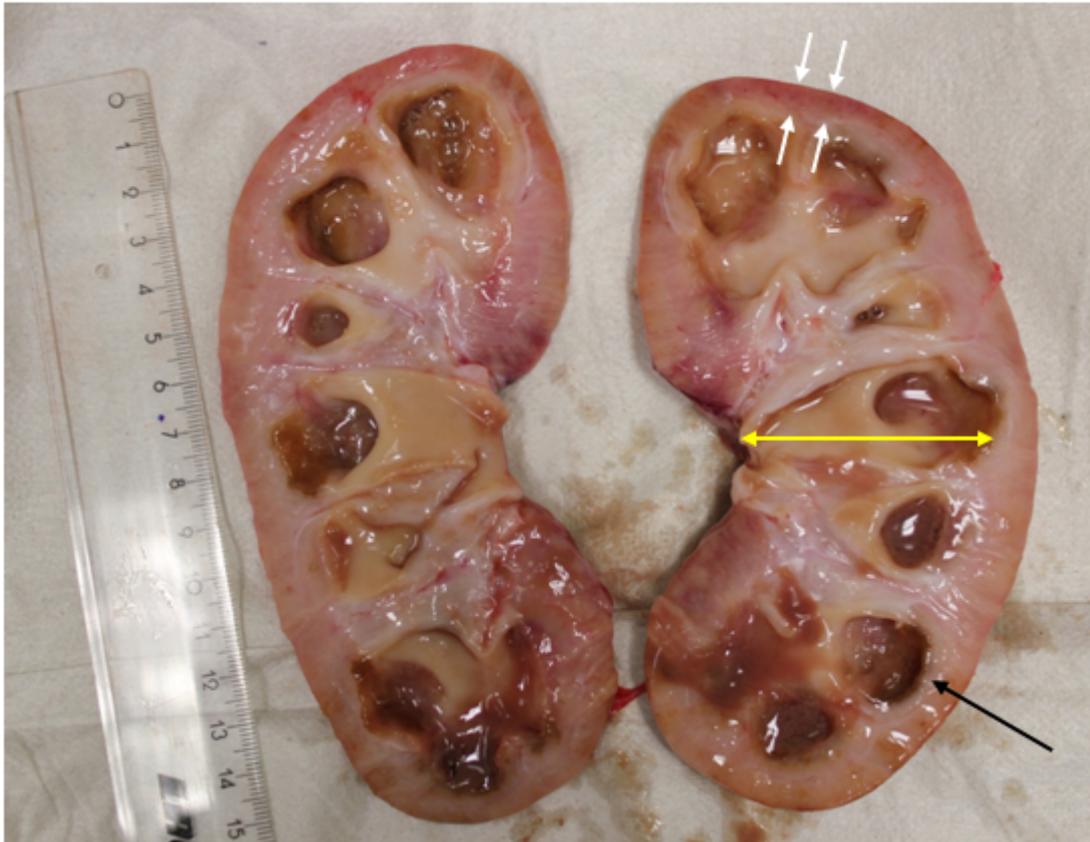


Abb. 19: Längsschnitt durch die linke Niere von Tier 7 nach Eiterentleerung. Insgesamt zeigt sich ein verbreitertes und verplumptes Kelchsystem (schwarzer Pfeil) und stark geweitete Nierenbecken (gelber Doppelpfeil) dar, welche das Nierenparenchym bis auf ein Minimum verdrängen. Die Parenchymversmälnerung zeigt sich u.a. durch einen deutlich atrophierten Nierenkortex (weiße Pfeile).

### 3.5.3 Vasculäre Komplikationen

Bei Schwein 15 ließ sich darüber hinaus in der MRA eine Verengung der behandelten linken Nierenarterie nachweisen. Histopathologisch konnte kein Korrelat für eine Stenose gefunden werden. Da nur präfinal eine Angiographie durchgeführt wurde, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob dieser Befund schon vor der Intervention bestand. Abb. 20 zeigt ein Bild aus der koronaren MIP (Maximum Intensity Projection) von Schwein 15 am Euthanasietag.

Bei Schwein 16 kam es zu einer versehentlichen Punktion der Aorta während der Intervention, die durch die MR-Bildgebung sowie die Aspiration von arteriellem Blut nachgewiesen werden konnte. Die Sauerstoffsättigung wie auch der Blutdruck blieben stabil, sodass kein Behandlungsbedarf bestand. Das Tier zeigte nach Erwachen aus der Narkose keine signifikanten Schmerzen und wies bis zur Euthanasie keine Verhaltensauffälligkeiten auf.

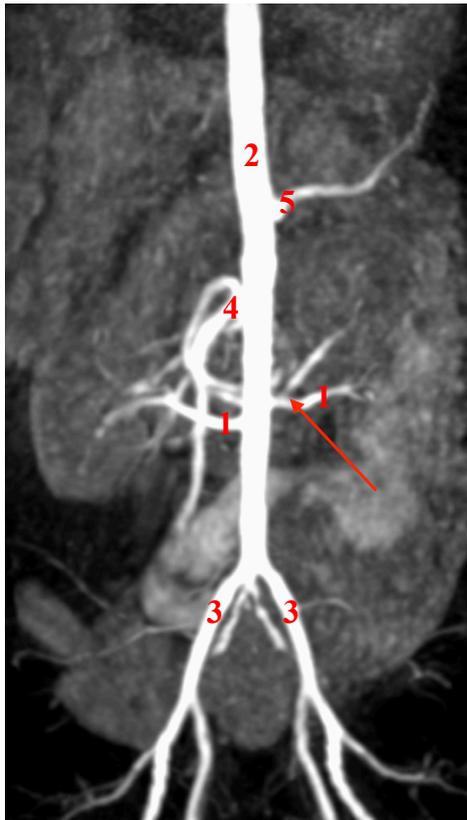


Abb. 20: MR-Angiographie, coronare MIP von Schwein 15 am Euthanasietag. Auf der linken Seite zeigt sich eine frühe Gabelung der Nierenarterie (1) mit Abgang einer Polararterie, der Pfeil weist auf eine vermeintliche proximale Stenosierung, welche in axialer Schichtorientierung nicht sicher nachweisbar ist. Distal dieser Verengung ist das Gefäß wieder mit KM gefüllt. Die rechte Nierenarterie wird regelhaft dargestellt. 1 = Aa. renales, 2 = Aorta, 3 = Aa. iliaca communes, 4 = A. mesenterica superior, 5 = Truncus coeliacus

### 3.6 Noradrenalin-Auswertung

Die NA-Bestimmung der Niere stellt einen funktionalen Parameter einer erfolgreichen renalen Denervation im präklinischen Modell dar. Ziel der NA-Auswertung war der Nachweis eines Nervenschadens durch einen NA-Abfall der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite nach einseitiger Denervierung.

Tab. 14 fasst die NA-Resultate aller Tiere zusammen. Gegenüberstellend sind ferner die Injektatverteilung und die histologischen Ergebnisse aufgeführt. Bei den ersten 6 Tieren wurde das Chromsystem, bei allen weiteren das Massenspektrometer als Detektor der HPLC verwendet.

Bei insgesamt 9 der 15 Tiere (60%) konnte eine NA-Reduktion nachgewiesen werden. Davon befanden sich 7 (78%) in der Gruppe mit 10 ml Alkoholapplikation und 2 (22%) in der Gruppe mit 5 ml Alkoholapplikation. Bei 8 Tieren (89%) mit NA-Abfall lag eine optimale Injektatverteilung vor und mehr als die Hälfte (5 Tiere, 56%) wies positive histologische Ergebnisse auf. Die NA-Reduktion reichte von 4,36 bis 89,95 %.

Bei den 6 Tieren (40%) ohne NA-Reduktion wurde in nur 2 Fällen (33%) eine optimale Injektatverteilung erreicht und lediglich bei 2 Tieren (33%) konnten Nervendegenerationen gefunden werden. 4 von den Tieren (67%) mit fehlendem NA-Abfall befanden sich in der 5 ml-Alkoholgruppe und nur bei 2 Tieren (33%) wurden 10 ml Alkohol appliziert. Bei den Tieren 3 und 4, die 4 Stunden nach der Intervention euthanasiert wurden, war keine NA-Reduktion auf

## Ergebnisse

der behandelten Seite festzustellen.

**Tab. 14:** NA-Konzentrationen von Schwein 1-16. Grün dargestellt sind Tiere mit einer NA-Reduktion der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite, rot dargestellt sind Tiere, bei denen kein NA-Abfall auf der behandelten Seite zu verzeichnen war. Bei positiver Histologie konnten Nervendegenerationen nachgewiesen werden.

	Injektat- menge [ml]	NA der behandelten Seite [ng/g]	NA der behandelten Seite [ng/g]	NA-Veränderung zur unbehandelten Seite [%]	Injektat- distribution	Histologie
Schwein 1	5	464,41	770,3	-39,71	3	negativ
Schwein 2	5	461,83	411,24	12,30	1	negativ
Schwein 3	5	666,33	641,31	3,90	3	negativ
Schwein 4	5	584,7	471,79	23,93	2	positiv
Schwein 5	5	320,4	484,76	-33,91	3	negativ
Schwein 6	5	369,59	340,13	8,66	1	negativ
Schwein 7	10	7,06	70,26	-89,95	3	positiv
Schwein 8	10	248,01	659,87	-62,42	3	positiv
Schwein 9	10	391,08	742,06	-47,30	2	negativ
Schwein 10	10	369,87	670,83	-44,86	3	positiv
Schwein 11	10	294,19	412,23	-28,63	3	positiv
Schwein 12	10	276,6	289,2	-4,36	3	negativ
Schwein 14	10	682,88	346,82	96,90	3	negativ
Schwein 15	10	414	447,51	-7,49	3	positiv
Schwein 16	9	749,88	507,29	47,82	2	positiv

Abb. 21 stellt die NA-Veränderungen für verschiedene Gruppen grafisch dar. Ganz links ist der mittlere NA-Abfall aller Tiere abgebildet. Die zweite und dritte Gruppe (Schwein 1-6 bzw. 7-16) fassen die Tiere mit 5 bzw. 10 ml Substanzapplikation zusammen. Die letzten beiden aufgeführten Gruppen (Schwein 7-10 und 11-16) unterteilen die Tiere mit 10 ml Substanzapplikation nochmals in die Untergruppen ohne und mit Zusatz von Polyacrylsäure zum Injektat. Alle Gruppen wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov- und Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung untersucht. Ausgenommen der Gruppe mit den Tieren 7-10 zeigten sich die NA-Werte in allen anderen Gruppen normalverteilt, weshalb in diesen Fällen der T-Test zur Überprüfung der Signifikanz zur Anwendung kam. Bei der Gruppe mit den Tieren 7-10 wurde der Wilcoxon-Test als nicht parametrischer Test eingesetzt. Auf Grund der kleinen Stichprobengröße und der fehlenden Normalverteilung der NA-Werte der letztgenannten Gruppe wurde der Median statt des arithmetischen Mittels für die folgende Darstellung verwendet.

Die NA-Reduktion der dargestellten Gruppen reicht von 4,36 bis 54,86%. Die Subgruppe mit dem stärksten NA-Abfall umfasst die Tiere 7-10 mit Applikation 10 ml 95%igen Alkohols ohne Polyacrylzugabe. Das schlechteste Ergebnis und die einzige Gruppe, die keinen Abfall der NA-Konzentration zeigte, ist die Gruppe der mit 5 ml Ethanol behandelten Tiere. Insgesamt konnte jedoch für keine Gruppe eine signifikante Veränderung der NA-Konzentration nachgewiesen

## Ergebnisse

werden.

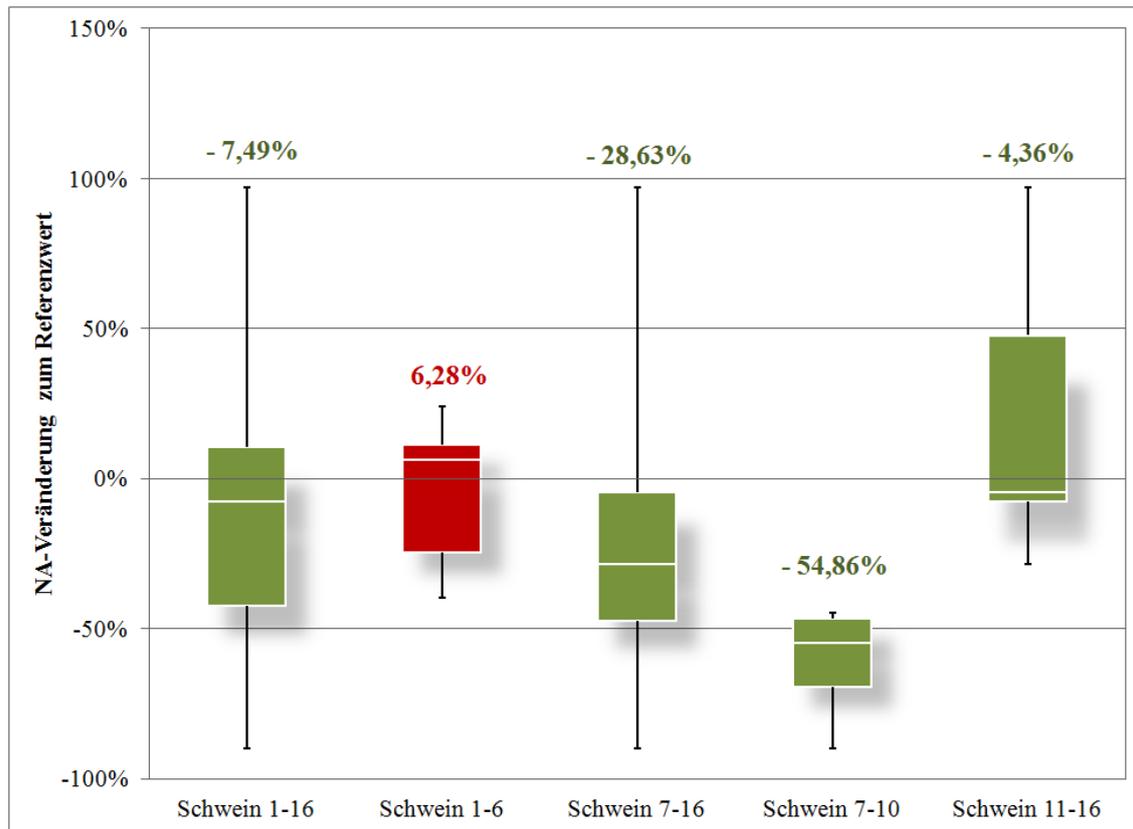


Abb. 21: Darstellung der NA-Veränderungen aller Tiere und innerhalb verschiedener Gruppen gegenüber der unbehandelten Seite als Referenzwert. Über den Säulen befindet sich jeweils der ermittelte Median. Bis auf die Tiere 1-6 (rot dargestellt) zeigen alle weiteren Gruppen (grün dargestellt) einen Abfall des Median.

### 3.7 Histopathologische Auswertung

Die histopathologische Untersuchung stellt nach der NA-Messung die zweitwichtigste Säule in der präklinischen Untersuchung der renalen Denervation dar und dient dem Nachweis eines strukturellen Nervenschadens durch Darstellung degenerierter efferenter sympathischer sowie afferenter sensorischer renaler Nervenfasern. Im Gegensatz zu den NA-Messungen lassen die in dieser Arbeit verwendeten histologischen Färbungen keine Aussage über die Funktion der Nerven zu.

Insgesamt wurden 176 Schnitte der Nierenarterien (90 der linken und 86 der rechten Nierenarterie, einer durchschnittlichen Anzahl von 6 bzw. 5,7 Schnitten pro Arterie bei einer Anzahl von 15 Tieren entsprechend) untersucht. Alle Präparate lagen in der HE und EvG-Färbung und der Großteil der Präparate zudem in der anti-S-100-Färbung vor.

Das von Sakakura et al.<sup>131</sup> beschriebene und hier verwendete Bewertungsschema zur präklinischen Evaluation der renalen Denervation ermöglicht ein einheitliches Vorgehen bei der Beurteilung des neuralen Schädigungsausmaßes. Anhand verschiedener histomorphologischer Kriterien erfolgte eine Einteilung der neuralen Degeneration in fünf Schweregrade. Als Korrelat peri- und

## Ergebnisse

epineuraler Schädigung finden sich, je nach Schweregrad, eine unterschiedlich stark ausgeprägte Fibrosierung und Inflammation und eine zunehmend schlechtere Abgrenzbarkeit gegenüber dem benachbarten Gewebe. Die endoneurale Schädigung zeigt sich in Form von Vakuolisierungen, pyknischen Nuklei, Digestionskammern und Schwellung des endoneuralen Gewebes bis hin zur kompletten Zerstörung der Nervenarchitektur mit Nekrose und Retraktion. Ferner ist als Zeichen zunehmender Destruktion eine abnehmende Anfärbbarkeit in der anti-S-100-Färbung zu erwarten, allerdings kann der Färbegrad zwischen gesunden Nerven ebenfalls geringfügig variieren und ist daher nur in Zusammenhang mit den oben erwähnten Kriterien der peri-, epi- und endoneuralen Schädigung zu beurteilen. Als weitere Parameter wurden die zirkumferentielle Verteilung geschädigter Nerven um die Nierenarterie sowie die Entfernung dieser zur Intimaoberfläche ermittelt.

Darüber hinaus wurden angrenzendes Gewebe und benachbarte Organe auf mögliche, histologisch nachweisbare Nebenwirkungen der Substanzapplikation hin untersucht. Dabei wurde insbesondere auf eventuelle Schädigungen der Intima oder Media sowie Verletzungen oder Anzeichen einer Entzündung von Ureter oder Niere geachtet.

Bei 5 der 6 Tiere, die mit 5 ml Alkohol behandelt wurden, sowie bei den Tieren 9, 12 und 14 der 10 ml-Gruppe, bestehend aus 9 Tieren, ließen sich keine nervalen Veränderungen nachweisen. Alle anderen Tieren zeigten neurale Degenerationen unterschiedlichen Ausmaßes (siehe Tab. 15). Die gesehenen neuralen Destruktionen reichten von minimal (Grad 1) bis moderat (Grad 3). Schädigungen 4. Grades konnten in keinem Tier festgestellt werden. Die unbehandelte Seite jedes Tiers zeigte keine Auffälligkeiten. Die mittlere Distanz aller 42 geschädigten Nervenfaszikel zur Intimaoberfläche betrug 2,2 mm.

**Tab. 15: Übersicht über die histologischen Schnitte der Tiere mit neuralen Degenerationen. Einige Tiere zeigten in mehreren Schnitten Degenerationen und sind daher entsprechend mehrfach aufgeführt.**

Tier	Lage des Gefäßabschnitts	Anzahl geschädigter Faszikel (mit Schädigungsgrad)	Anzahl gesunder Faszikel in jeweiligem Schnitt	Anzahl der Quadranten mit geschädigten Faszikeln	größte Entfernung zw. geschädigtem Nerv u. Intimaoberfläche	geschädigte Nerven/ Gesamtanzahl der Nerven pro behandelte Arterie
4	distal	1 (Grad 3)	9	1	0,82 mm	2,27%
7	proximal	6 (Grad 2)	5	1	2,74 mm	60,00%
7	mittig	3 (Grad 1)	1	1	1,88 mm	60,00%
8	proximal	5 (Grad 3), 3 (Grad 2)	0	2	7,26 mm	35,56%
8	mittig	8 (Grad 1)	5	2	1,42 mm	35,56%
10	proximal	6 (Grad 1)	5	1	2,78 mm	17,65%
11	mittig	3 (Grad 2)	5	2	4,15 mm	11,11%
15	proximal	3 (Grad 2)	8	1	2,92 mm	5,00%
16	distal	4 (Grad 1)	6	2	1,07 mm	8,00%

Darstellung der unbehandelten Kontrollseite

Abb. 22 zeigt exemplarisch die Übersichtsaufnahme der Nierenarterie der unbehandelten Seite von Schwein 12 in der HE-Färbung. Es handelt sich um ein mittleres Gefäßsegment. Auf Abb. 22 lässt sich gut der reguläre dreischichtige Wandaufbau aus innenliegender Intima, muskulärer Media und faserreicher Adventitia erkennen. Das die Arterie umgebende Gewebe stellt sich vollkommen unauffällig dar, es sind keinerlei pathologische Veränderungen zu erkennen, Abb. 22 entspricht daher Grad 0 in der Beurteilung periarterieller Gewebeschäden. Kleinere Risse in der Adventitia sind artefaktbedingt.

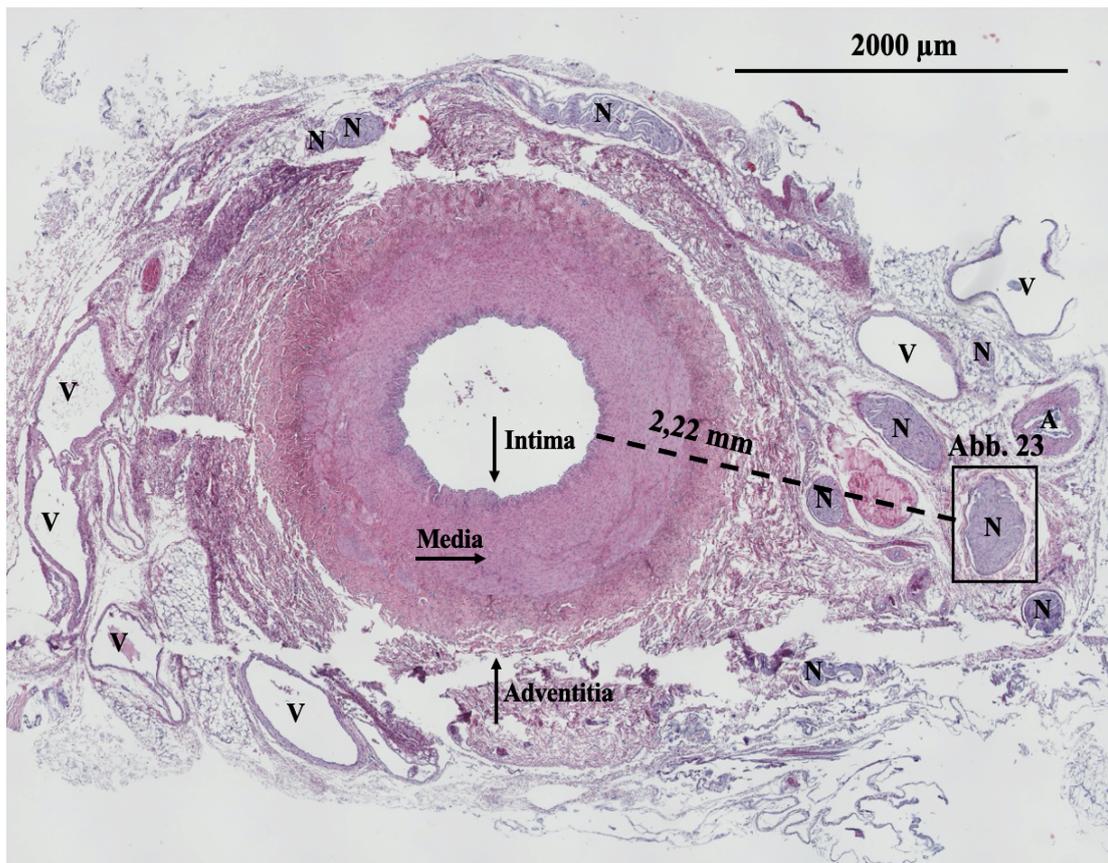


Abb. 22: Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarterienssegments der unbehandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung. Es sind keine pathologischen Veränderungen zu erkennen (Grad 0). Mit N gekennzeichnet sind die in der Adventitia und umliegenden Bindegewebe liegenden intakten Nerven. Der umrandete Faszikel wird in Abb. 23 in Nahaufnahme gezeigt. Die Entfernung des Nervs zur Intimaoberfläche beträgt 2,22 mm. A = Arteriole, V = venöse Gefäße.

Der auf Abb. 22 umrandete Nervenfaszikel wird im nachfolgenden Ausschnitt (Abb. 23) in zwei verschiedenen Vergrößerungen (5er und 20er Objektiv) und der HE, EvG und S100 dargestellt. Das Epineurium, als Fortsetzung der Dura und äußerste Schicht des Nerven, fasst mehrere Nervenfaszikel bzw. Nervenfaserbündel zusammen und sorgt für eine Verankerung des Nerven im umliegenden Gewebe. Jeder einzelne Faszikel wird wiederum von einer 10-25 µm durchmessenden bindegewebigen Hülle, dem Perineurium, umschlossen. Das Perineurium hat Verbindung zur Arachnoidea und bündelt mehrere Axone. Das Perineurium stellt sich auf Abb. 23 regelrecht

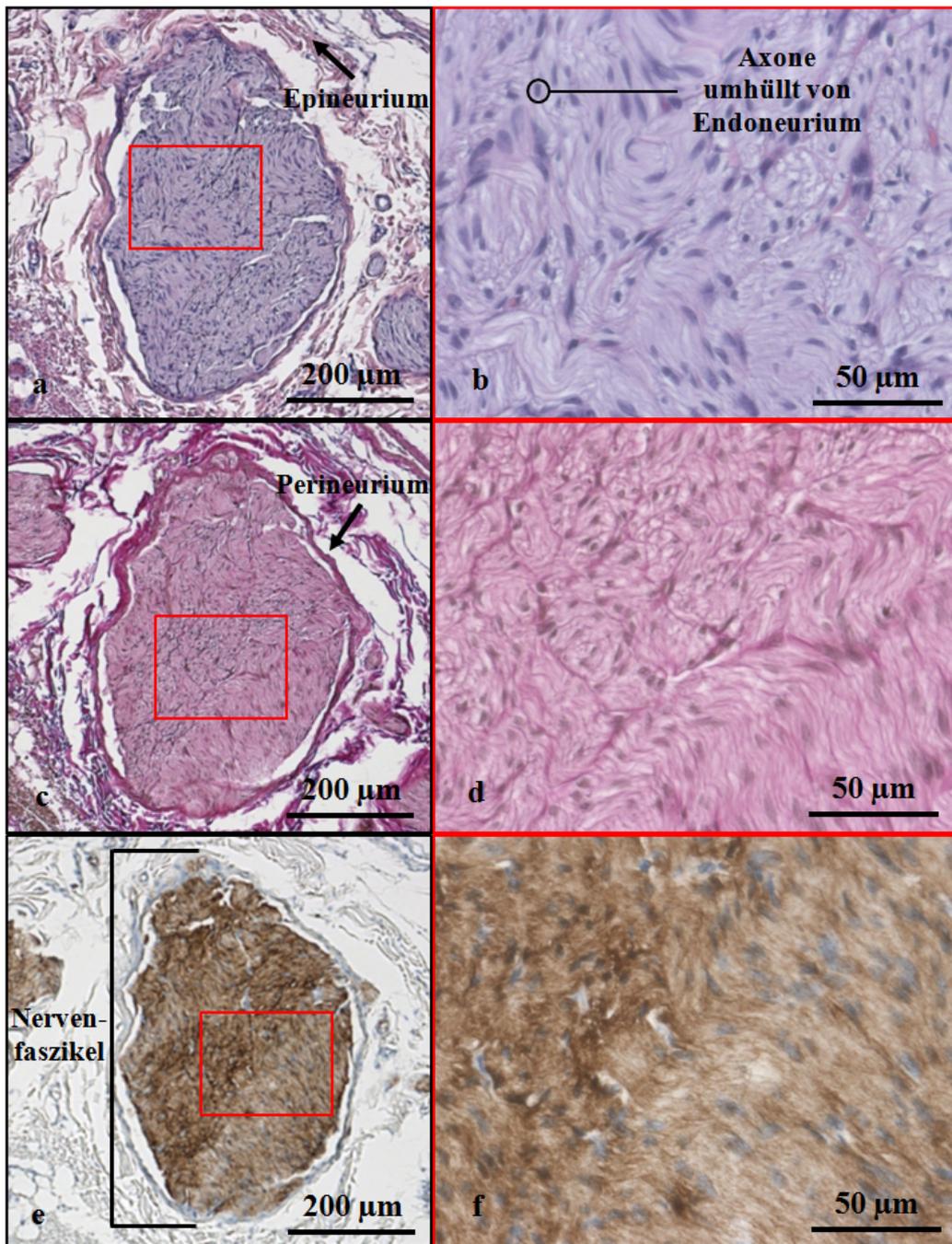


Abb. 23: Unbehandelte Kontrollseite: Nahaufnahme des Faszikels aus Abb. 22 in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e, f). Die Bilder rechts zeigen eine 5fache-Vergrößerung, die Bilder links einen Ausschnitt aus dem rechten Bild (rotes Viereck) in 20facher Vergrößerung. Weder Epi-, Peri- noch Endoneurium zeigen Auffälligkeiten (Grad 0 im Scoring System nervaler Degeneration). Der Anteil der Kollagenfasern, besonders in der EvG-Färbung sichtbar, ist nicht erhöht. Die S100-Färbung zeigte eine starke bräunliche Färbung des Faszikels (Grad 2).

als zarte, den Nervenfaszikel umgebende Schicht dar. Eine Abgrenzung gegenüber dem umliegenden Bindegewebe ist allseits möglich. Verdickungen des Epi- oder Perineuriums im Sinne einer Bindegewebsvermehrung bzw. Fibrosierung, die insbesondere in der EvG-Färbung durch eine Vermehrung der stark rötlich gefärbten Kollagenfasern auffallen würde, kommen nicht zur Darstellung. Das Endoneurium umgibt als retikuläres Bindegewebe Axone und deren Hüllzellen. Die typischen Zeichen einer degenerativen Veränderung des Endoneuriums, wie Vakuolisierung

## Ergebnisse

gen und pyknische Nuklei, fehlen. Die anti-S-100-Färbung zeigt eine starke Anfärbung des Faszikels (Grad 2), eine relevante Schädigung der Stützzellen kann somit ausgeschlossen werden. Insgesamt handelt es sich um einen gesunden Nervenfaszikel ohne Anzeichen einer Degeneration (Grad 0). Der in Abb. 23 dargestellte intakte Faszikel dient als Referenz für die nachfolgend gezeigten Bilder geschädigter Nerven. Alle nervalen Veränderungen werden analog zu dieser Abbildung in den 3 Färbungen (sofern durchgeführt) und zwei verschiedenen Vergrößerungen dargestellt.

### Renale Denervierung Grad 1-4

Die nachfolgende Übersichtsaufnahme (Abb. 24) stellt ein proximales Gefäßsegment der linken, behandelten Nierenarterie von Schwein 7 (10 ml-Gruppe) in HE-Färbung dar. Das periarterielle Bindegewebe

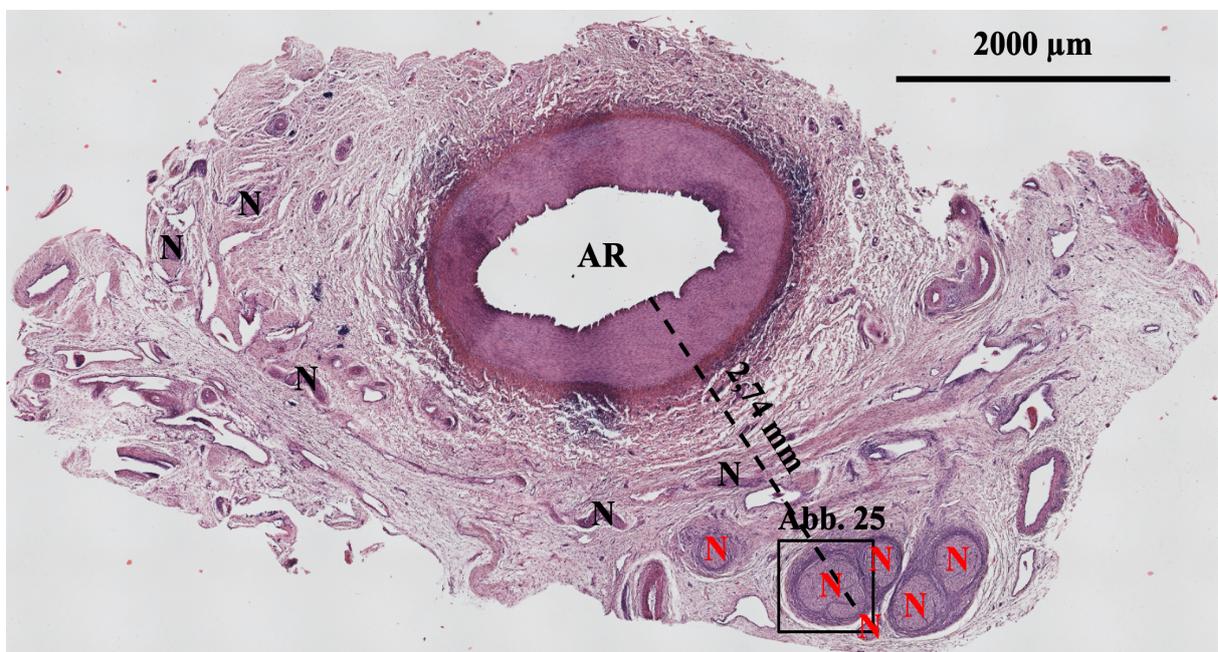


Abb. 24: Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarteriensegments der behandelten Seite von Schwein 7 in HE-Färbung. Geschädigte Nervenfaszikel sind mit einem roten, intakte mit einem schwarzen "N" markiert. Bei den degenerierten Faszikeln fällt ein verdicktes und unscharf abgrenzbares Perineurium auf, ein Großteil der Nerven ist jedoch intakt. Die verletzten Nervenfaszikel sind auf den rechten unteren Quadranten (Quadrant 4) konzentriert. Der geschädigte Nervenfaszikel mit der größten Distanz zur Intimaoberfläche ist 2,74 mm entfernt. Der umrandete Ausschnitt wird in Abb. 25. vergrößert dargestellt. AR = A.

zeigt keine Verletzungen durch den Alkohol (Grad 0). Die Nierenarterie wurde durch die Substanzapplikation nicht beschädigt, die Wandschichten stellen sich intakt dar. Im unteren Bildabschnitt sind mehrere Faszikel abgebildet, die bereits in dieser Vergrößerung durch ihre ausgeprägte perineurale Fibrosierung imponieren. Die geschädigten Nervenfaszikel befinden sich alle in Quadrant 4. Weiterhin lassen sich mehrere unauffällige Nerven in Quadrant 3 und 4 nachweisen.

Analog zu Abb. 23 sind nachfolgend für die Darstellung einer neuralen Degeneration Aufnah-

## Ergebnisse

men in HE, EvG und anti-S-100-Färbung sowie in 5 und 20facher Vergrößerung abgebildet.

Abb. 25 zeigt eine Nahaufnahme des Nervenfaszikel aus der Übersichtsaufnahme

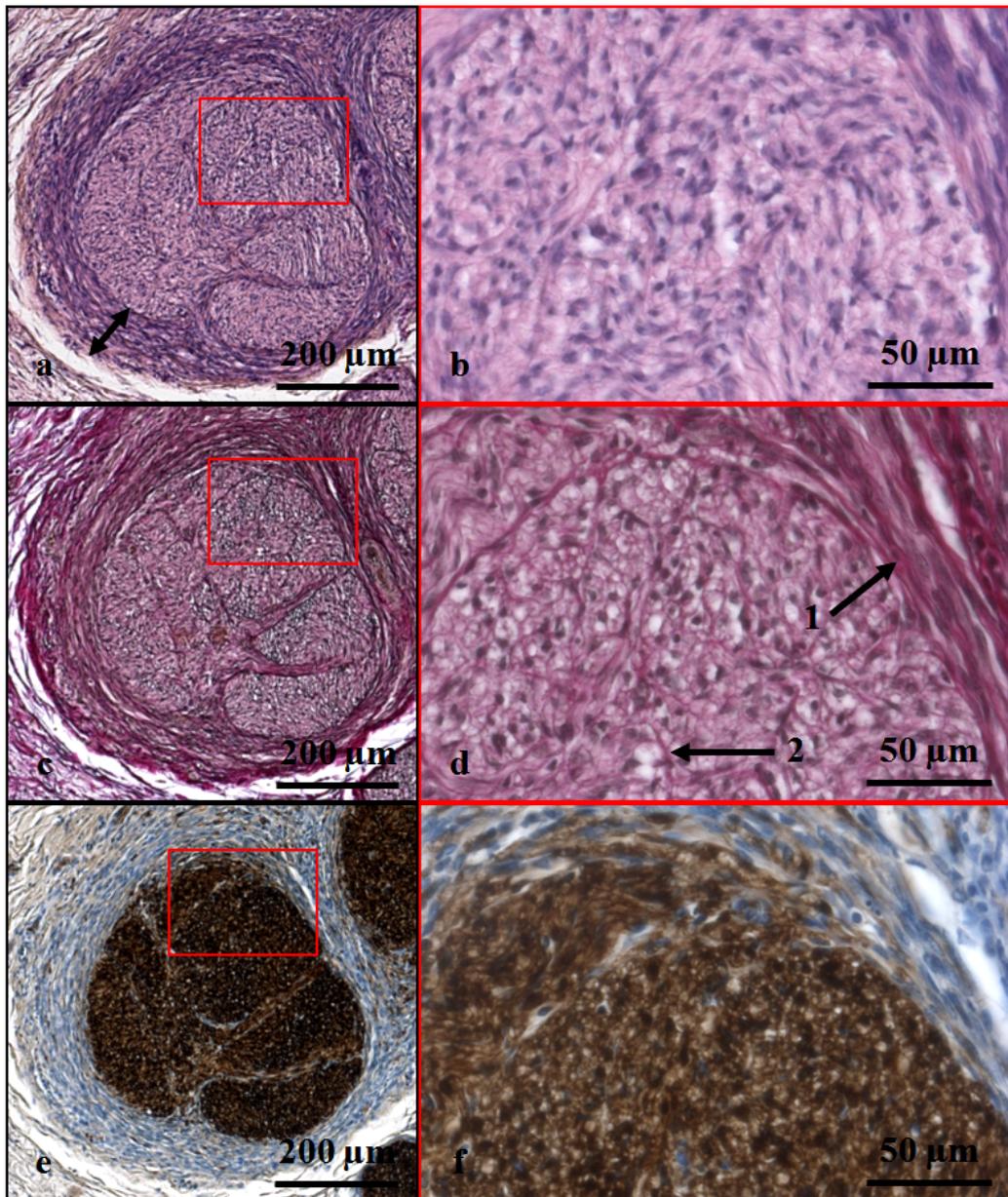


Abb. 25: Grad 1-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikel aus Abb. 24 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f). Massive Verbreiterung des Perineuriums (schwarzer Doppelpfeil) und fehlende Abgrenzbarkeit gegenüber dem umliegenden Bindegewebe. Beides ist mit einer perineuralen Fibrosierung zu vereinen. In der EvG-Färbung lassen sich als Korrelat einer Bindegewebiszunahme vermehrt rote, kollagene Fasern nachweisen (1). Die endoneurale Hohraumbildung, insbesondere in der EvG-Färbung, ist in erster Linie artefaktbedingt und nicht im Sinne einer Vakuolisierung zu werten (2). Die starke Anfärbung des Nervenfaszikel in der anti-S-100-Färbung (Grad 2) deutet auf die Intaktheit der Neuroglia hin.

von Schwein 7 (gekennzeichneter Bereich aus Abb. 24). Der dargestellte Faszikel befindet sich in einem Abstand 2,29 mm zur Intimaoberfläche. Das Perineurium weist eine Dicke von 111,55 µm auf und ist somit auf mehr als das 4fache des Normwertes (s.o.) verbreitert. In der EvG-Färbung fallen tiefrote, das Perineurium durchziehende Stränge auf, die auf eine Zunahme kollagener Fasern hindeuten. Eine scharfe Begrenzung des Perineuriums fehlt. Das Endoneurium ist

## Ergebnisse

weitestgehend unauffällig. Die beschriebenen Veränderungen entsprechen daher einem Grad 1 im Score zur Beurteilung nervaler Degenerationen.

Abb. 26 zeigt die Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarteriensgments der behandelten Seite von Schwein 11 in HE-Färbung. Das Bindegewebe im oberen Bildbereich ist durch die Alkoholapplikation stark geschädigt. Direkt innerhalb des geschädigten Areals konnten keine degenerierten Nerven gefunden werden, allerdings erschwerte die massive Gewebeerstörung das Auffinden der Nervenfaszikel. In dem an das Schädigungsareal angrenzenden Gewebe (Quadranten 1 und 3) ließen sich geschädigte Nerven nachweisen. Trotz der ausgeprägten Gewebeerletzung wurden weiter vom Schädigungsbereich entfernt liegende Nerven in der Umgebung der Nierenarterie nicht vom Alkohol erfasst und stellen sich unauffällig dar (Quadrant 4). Die Nierenarterie wurde nicht vom Alkohol beschädigt.

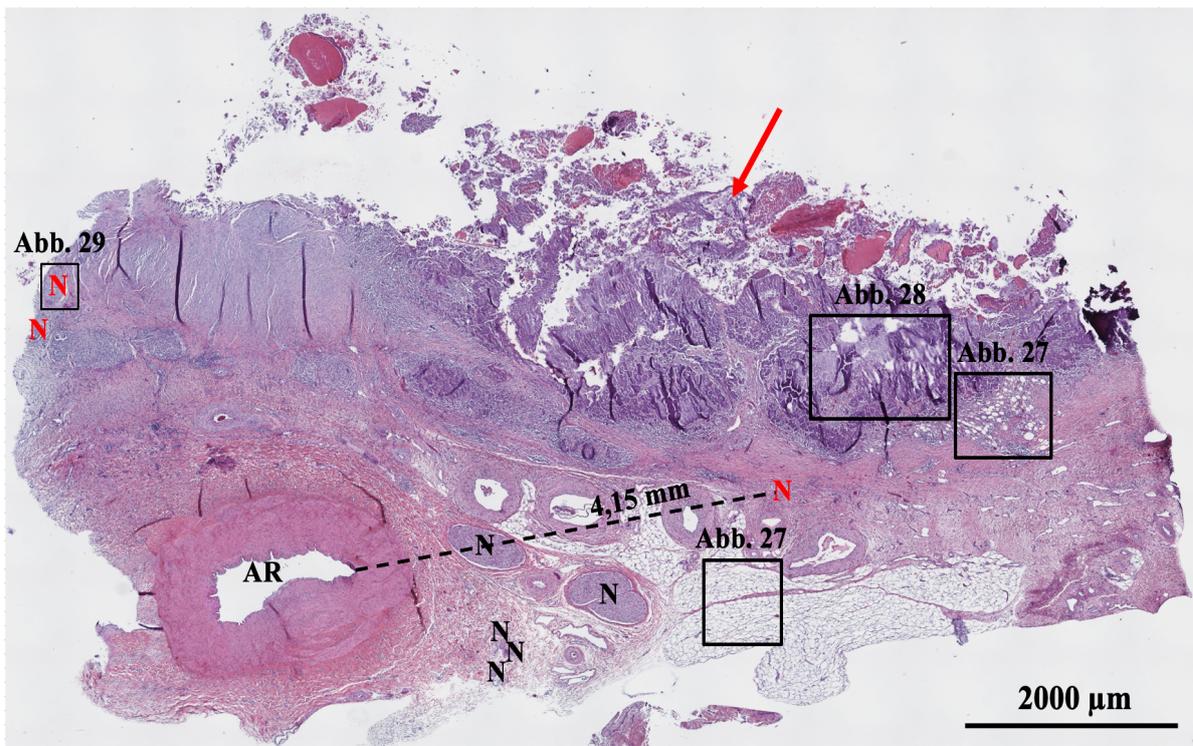


Abb. 26: Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarteriensgments der behandelten Seite von Schwein 11 in HE-Färbung. Der rote Pfeil markiert das durch den Alkohol geschädigte Gewebe. Angrenzend an dieses Areal zeigen sich 3 geschädigte Nervenfaszikel (rotes "N"). Die Nierenarterie stellt sich unauffällig dar, in direkter Umgebung befinden sich einige unverletzte Nerven (schwarzes "N"). Der Maximalabstand zwischen Intimaoberfläche und degeneriertem Nervenfaszikel liegt in Abb. 26 bei 4,15 mm. Die markierten Bereiche werden nachfolgend in Nahaufnahme gezeigt. AR= A. renalis

Neben der in der nächsten Abbildung dargestellten Bindegewebsschädigung ließ sich bei Schwein 11 ferner eine Fettgewebssnekrose nachweisen. Durch Destruktion der Fettzellen in Folge der Alkoholapplikation tritt flüssiges Fett in das Interstitium aus und induziert eine Entzündungsreaktion und Zellaggregation. In Abb. 27 werden gesundes Fettgewebe und die Fettgewebssnekrose von Schwein 11 gegenübergestellt.

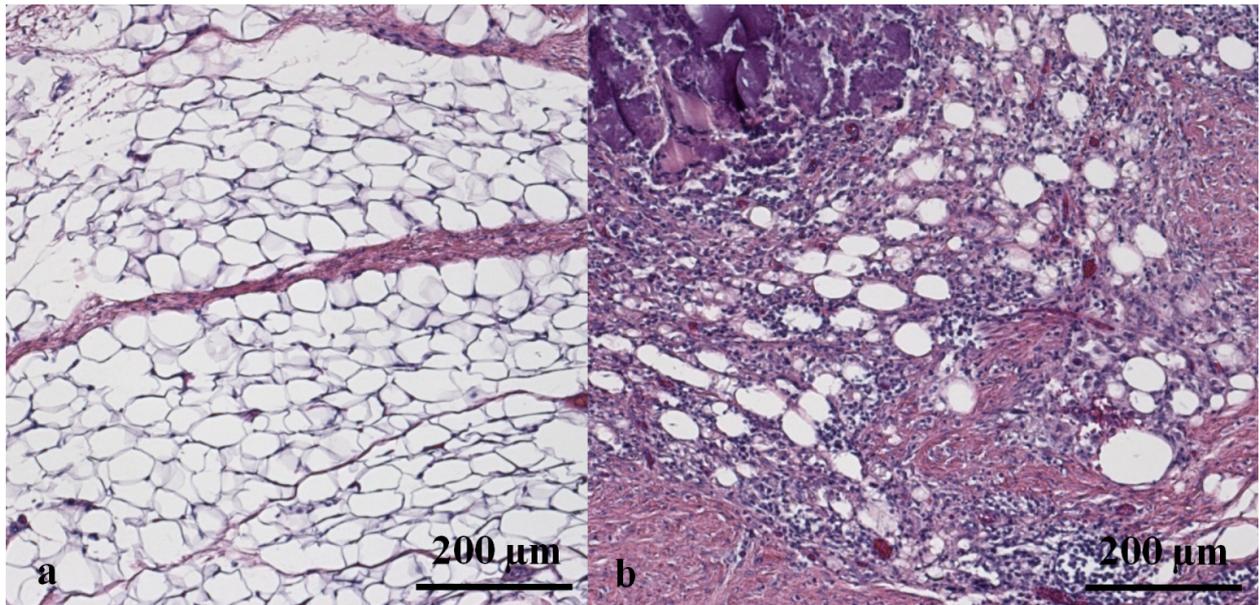
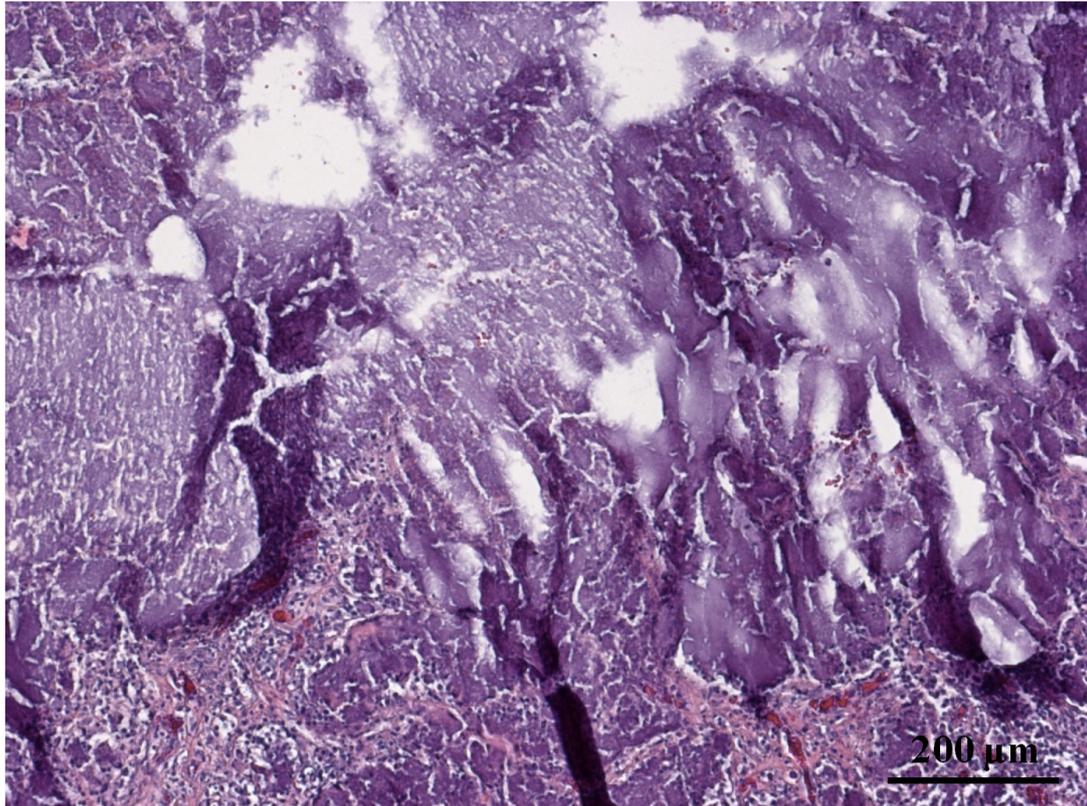


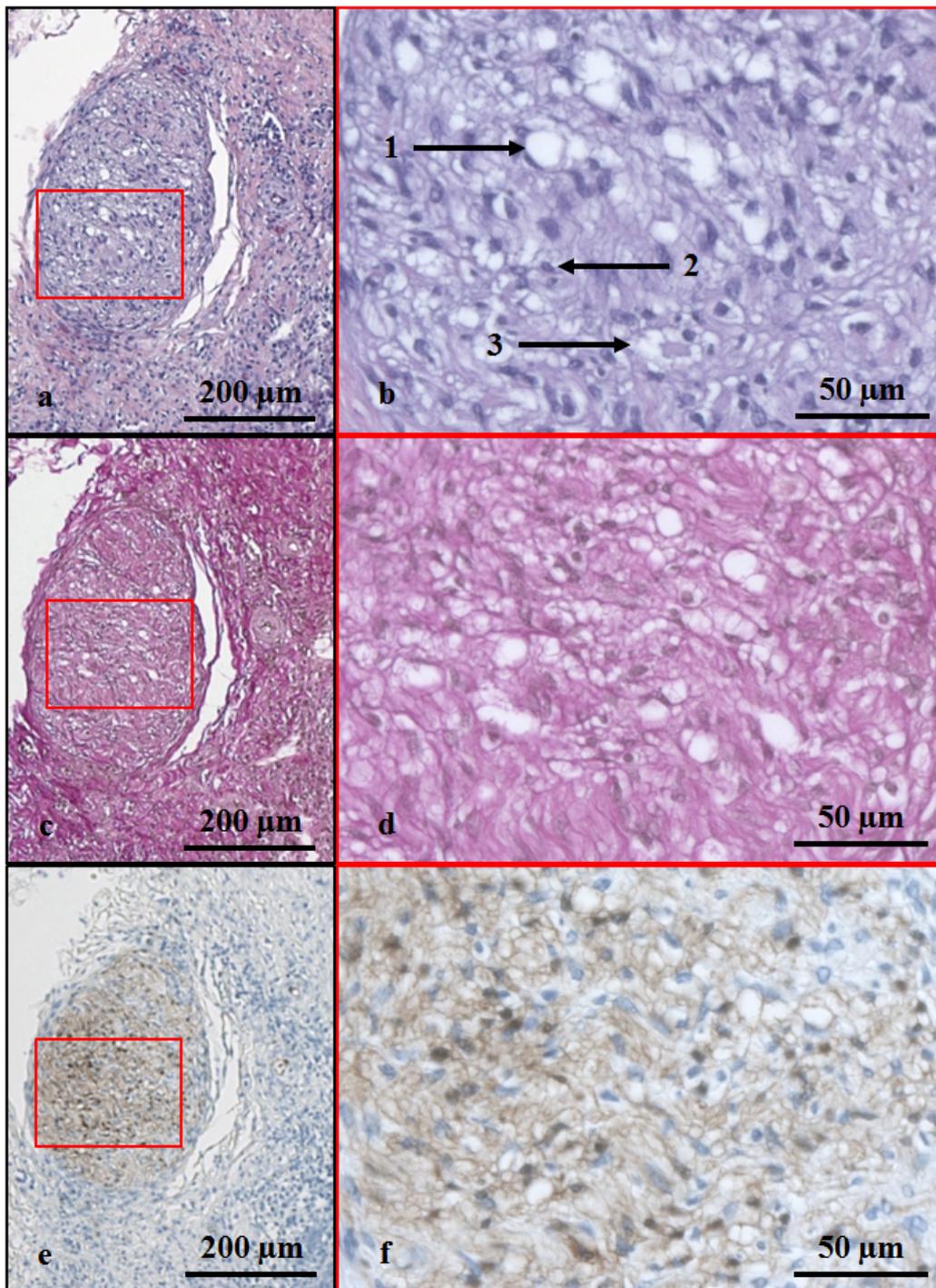
Abb. 27: (a) zeigt gesundes, weißes Fettgewebe von Schwein 11 in HE-Färbung (5fache Vergrößerung). Das Gewebe besteht aus einer homogenen Gruppe univakuärer Adipozyten. (b) zeigt eine Fettgewebsnekrose, ebenfalls von Schwein 11 in HE-Färbung (5fache Vergrößerung). Im Vergleich zu gesundem Fettgewebe weisen die Lipidvakuolen deutliche Größenschwankungen auf und sind von einem Infiltrat lymphoplasmazytärer Zellen umgeben. Die Veränderungen entsprechen im Scoring-System von Sakakura et al.<sup>131</sup> einer Fettgewebsschädigung Grad 4. Im oberen linken Bildbereich ist eine Kalzifikation zu erkennen, auf welche im nachstehenden Bild näher eingegangen werden soll.

Als dystrophische Verkalkung wird eine lokalisierte Kalziumablagerung bezeichnet, die durch zelluläre Reaktion auf degeneriertes oder nekrotisches Gewebe entsteht. Die Ursache der Gewebeschädigung kann von chronischen Abszessen, Infarkten, Thrombi, Infektionen, Tumoren bis hin zu posttraumatischen und altersbedingten Verkalkungen reichen. Bei der Verkalkung von nekrotischen Gewebe kommt es zur intrazellulären mitochondrialen und später auch zytoplasmatischen Kalziumakkumulation, die bei Veränderung des pH-Wertes in Richtung eines alkalischen Milieus, z.B. in Folge einer Reperfusion des Gewebes und Überschreitung der Löslichkeitsschwelle, zur Ausfällung von Kalziumsalzen führt. Bei degeneriertem Gewebe führt die Freisetzung von Phosphatverbindungen aus apoptotischen Zellen zu einer Ablagerung von Kalziumapatitkristallen. Auch bei normalen Calcium-Spiegeln können sich Kalziumsalze im Gewebe anreichern. Die dystrophische Verkalkung ist ein histologisches Korrelat vorangegangenen Zellschadens.<sup>134,135</sup> Abb. 28 zeigt eine solche dystrophische Verkalkung bei Schwein 11. Es handelt sich um einen Grad 4 periarterieller Gewebsschädigung.



**Abb. 28: Dystrophische Verkalkung und Hyalinisation des Bindegewebes nach Alkoholapplikation in HE-Färbung bei Schwein 11 (5fache Vergrößerung). Die Kalzifikationen stellen sich bläulich-violett dar.**

Abb. 29 zeigt die Nahaufnahme eines geschädigten Nerven von Schwein 11 (markierter Nervenfaszikel aus Abb. 26). Der Nervenfaszikel weist eine Distanz von 2,98 mm zur Intimaoberfläche auf. Im Vergleich zu der vorigen Nahaufnahme des Nervenfaszikels von Schwein 7 sind neben den bereits erwähnten epi- und perineuralen Veränderungen zusätzlich bereits ausgeprägte endoneurale Schäden zu sehen. Weiterhin ist die Anfärbung des Nervenfaszikels in der anti-S-100 vermindert (Grad 1). Die Degeneration entspricht einem Grad 2.



**Abb. 29:** Grad 2-Denervation Nahaufnahme eines Nervenfaszikel aus Abb. 26 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f). In allen drei Färbungen sind Vakuolisierungen unterschiedlicher Ausprägung als Korrelat endoneuraler Schädigung zu finden, exemplarisch in der HE-Färbung gekennzeichnet (1). Weitere Merkmale sind pyknische Nuklei (2) und Digestionskammern (3). Digestionskammern sind Dilatationen innerhalb einer Nervenfaser, die im Zuge der Wallerschen Degeneration mit Myelintrümmern und axonalen Fragmenten gefüllt werden. Eine klare Abgrenzung von Peri-, Epi- und Endoneurium ist nicht mehr möglich. Die Faszikelanfärbung in der anti-S-100-Färbung ist reduziert (Grad 1), was auf eine Schädigung der Neuroglia hindeutet.

In Abb. 30 ist die Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarteriensegments von Schwein 8 in HE-Färbung dargestellt. Die größte Distanz zwischen geschädigtem Nerven und Intimaoberfläche beträgt auf Abb. 30 7,26 mm. Dies entspricht der maximalen Reichweite der Alkoholapplikation, die über alle Präparate hinweg gefunden werden konnte. Bei den bisher gezeigten

## Ergebnisse

Schnitten wurde jeweils nur ein Teil der adventitialen Nerven durch den Alkohol erfasst, es konnten trotz histologisch erwiesenem Erfolg der Denervation noch einige intakte Nerven identifiziert werden. Abb. 30 ist ein Beispiel für eine zirkumferentielle Nervenschädigung. Alle auf diesem Gewebeschnitt gefundenen Nerven waren destruiert. Zwar befanden sich die geschädigten Faszikel nur in den Quadranten 1 und 2, in den anderen beiden Quadranten waren jedoch auch keine gesunden Nerven darzustellen. Die Bindegewebsschädigung war hingegen in allen 4 Quadranten nachzuweisen.

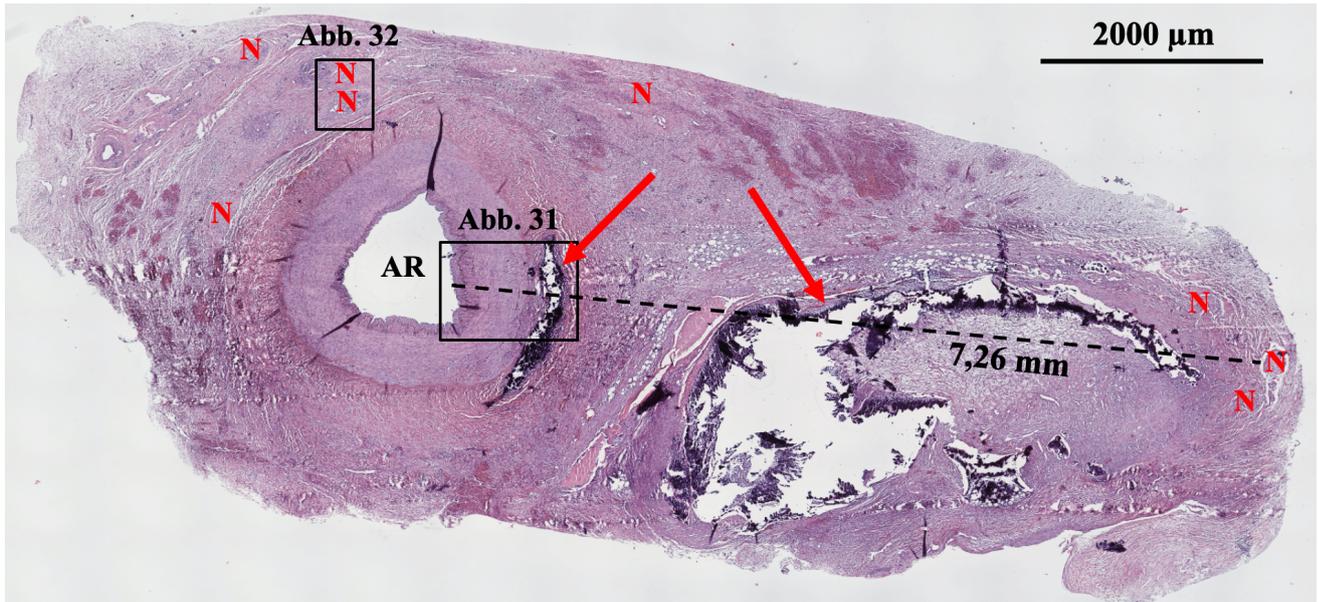
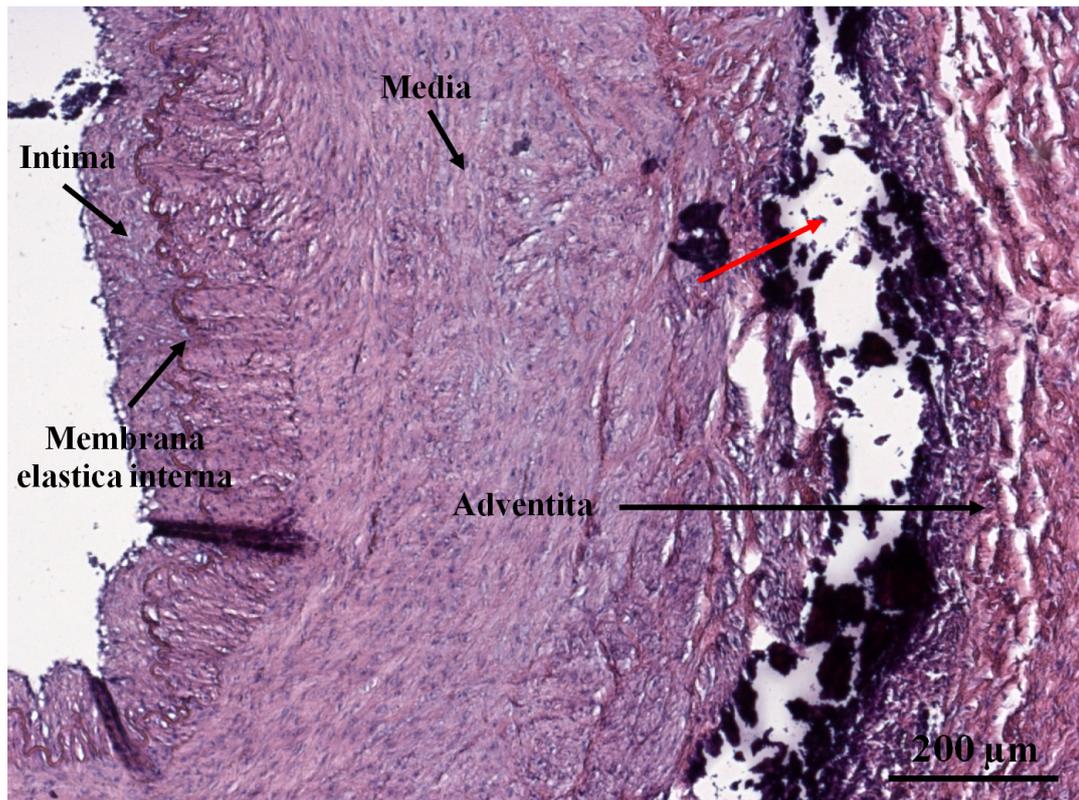


Abb. 30: Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarterienssegments der behandelten Seite von Schwein 8 in HE-Färbung. Alle Nervenfaszikel dieses Gewebeschnitts wurden durch die Alkoholapplikation geschädigt (rotes "N"), es sind keine intakten Nerven nachzuweisen. Als Ausdruck starker Gewebsschädigung finden sich dystrophische Verkalkungen (rote Pfeile). Der Maximalabstand zwischen Intimaoberfläche und degeneriertem Nervenfaszikel liegt bei 7,26 mm. Die zwei markierten Bereiche werden nachfolgend vergrößert dargestellt. AR = A. renalis

Abb. 31 zeigt die an die Nierenarterie grenzende dystrophische Verkalkung. Die Kalzifikation wird hier auf Grund der Nähe zur Nierenarterie gesondert dargestellt. Der Ausschnitt lässt neben den bereits gezeigten Wandschichten die Membrana elastica interna erkennen. Als elastische Lamelle trennt sie Intima und Media voneinander. Die Verkalkung befindet sich zwischen Media und Adventitia. Die Kalzifikationen erreichen gerade die äußersten Schichten der Media, die Intima ist nicht betroffen. Bei keinem weiteren Tier konnte eine Verletzung der Nierenarterie nachgewiesen werden.



**Abb. 31: Dystrophische Verkalkungen (Grad 4 Schädigung) bei Schwein 8 in HE-Färbung (5fache Vergrößerung). Die Kalzifikationen (roter Pfeil) befinden sich zwischen Media und Adventitia, die inneren Schichten der Media und die Intima zeigen keine Verletzungen. Die lumennahen Einziehungen der Gefäßwand sind artefaktbedingt.**

In Abb. 32 ist beispielhaft ein Nerv von Schwein 8 aus dem oben gezeigten Übersichtsbild dargestellt. Die Entfernung zur Intimaoberfläche beträgt 1,05 mm. Sowohl Epi-, Peri- also auch Endoneurium zeigen deutliche degenerative Veränderungen. Der Faszikel zeigte keine Anfärbung in der Anti-S-100-Färbung. Es liegt eine Grad 3-Schädigung vor.

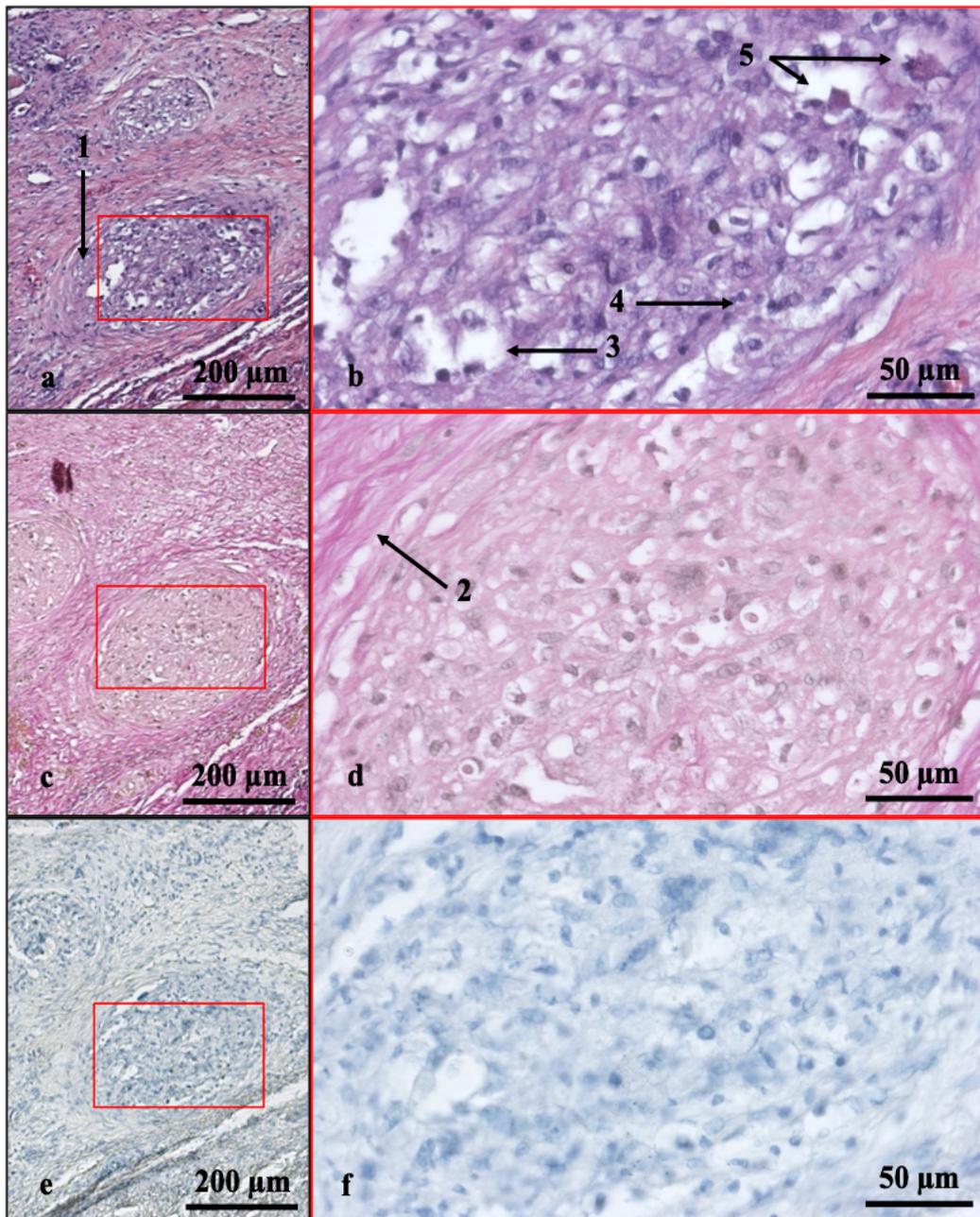


Abb. 32: Grad 3-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikels aus Abb. 30 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f). Grundsätzlich zeigen sich die gleichen Veränderungen wie auch schon bei Grad 2, allerdings unterliegen die beobachteten Schädigungsmerkmale einer stärkeren Ausprägung und größeren Frequenz. Mit zunehmendem Schädigungsgrad nimmt die Differenzierbarkeit von Faszikel und Bindegewebe ab: Das Perineurium und das benachbarte Bindegewebe gehen ineinander über, eine klare Grenze existiert nicht mehr (1). Die roten Fasern innerhalb des Perineuriums in der EvG-Färbung sind als Ausdruck einer Bindegewebsvermehrung zu werten (2). In allen drei Färbungen ist der Faszikel durch eine ausgeprägte Vakuolisierung durchsetzt, beispielhaft in der HE-Färbung gekennzeichnet (3). Die Zahl der pyknischen Nuklei (4) und Digestionskammern (5) ist gegenüber Grad 2 erhöht. Weiterhin zeigt sich eine endoneurale Schwellung. Die fehlende Anfärbung in der anti-S100-Färbung deutet auf eine massive Schädigung der Neurogliazellen hin.

Nachfolgend wird die Nahaufnahme eines Nerven (Abb. 33) von Schwein 4 gezeigt. Die gesehenden degenerativen Veränderungen entsprechen ebenfalls einem Grad 3, da bei diesem Tier jedoch Intervention und Euthanasie binnen 2 Stunden aufeinander folgten, gibt es gewisse Unterschiede zu den bisher gezeigten histologischen Schnitten. Aus diesem Grund soll die entspre-

## Ergebnisse

chende nervale Schädigung kurz erläutert werden. Die typischen degenerativen Veränderungen wie eine Fibrose oder entzündliche Reaktionen wie eine Leukozyten- und Makrophagenimmigration sind erst nach einem längeren Zeitraum nach erfolgter Alkoholapplikation zu beobachten und daher bei diesen Tieren nicht zu erwarten. Schnittbedingte Artefakte können ebenfalls durch endoneurale Auflockerung oder kleinere Hohlräume innerhalb des Endoneuriums imponieren (siehe Abb. 25) und sind bei fehlenden Langzeitschäden nur schwer von einer tatsächlichen Degeneration zu unterscheiden. Die nachfolgenden Abbildungen sollen demonstrieren, dass erst eine vollständige Untersuchung und die Zusammenschau von Auffälligkeiten in Epi-, Peri- und Endoneurium sowie umgebendem Gewebe die sichere Einschätzung einer Nervenschädigung ermöglichen.

Abb. 33 zeigt den Nervenfaszikel von Schwein 4 in zwei verschiedenen Vergrößerungen und in HE- und EvG-Färbung. Die anti-S-100-Färbung wurde hier nicht durchgeführt, da sie bei akuten neuralen Schädigungen (weniger als 7 Tagen nach Denervation) keine zuverlässigen Aussagen

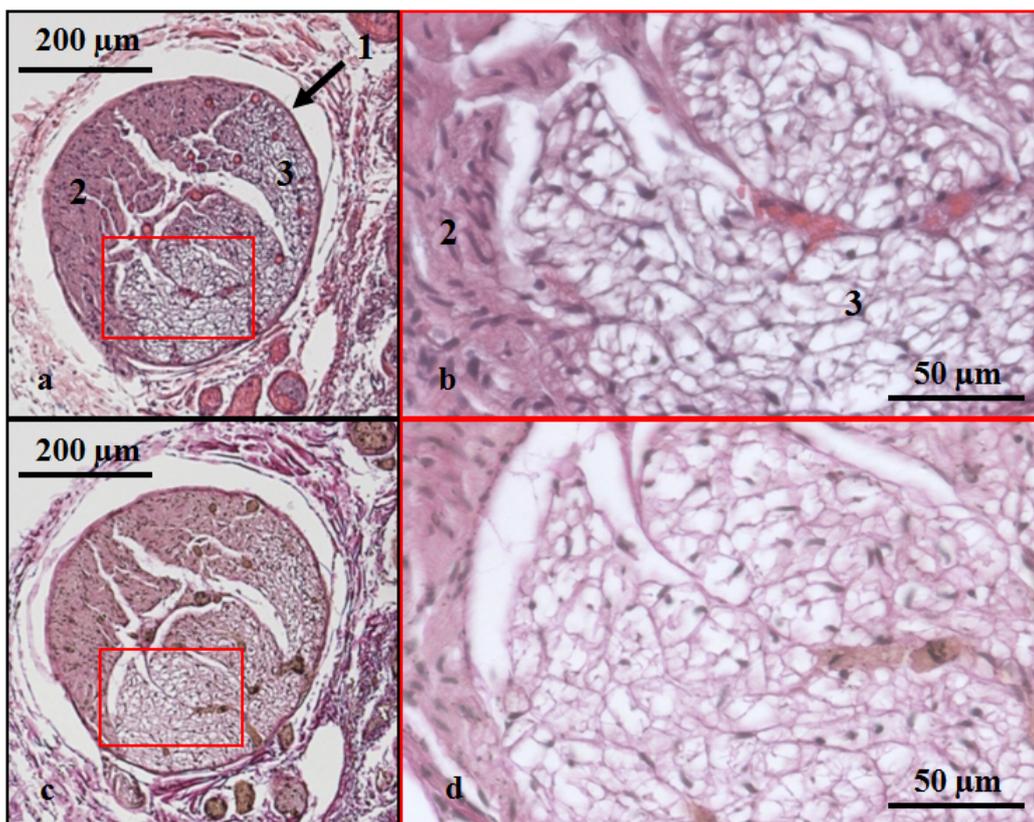


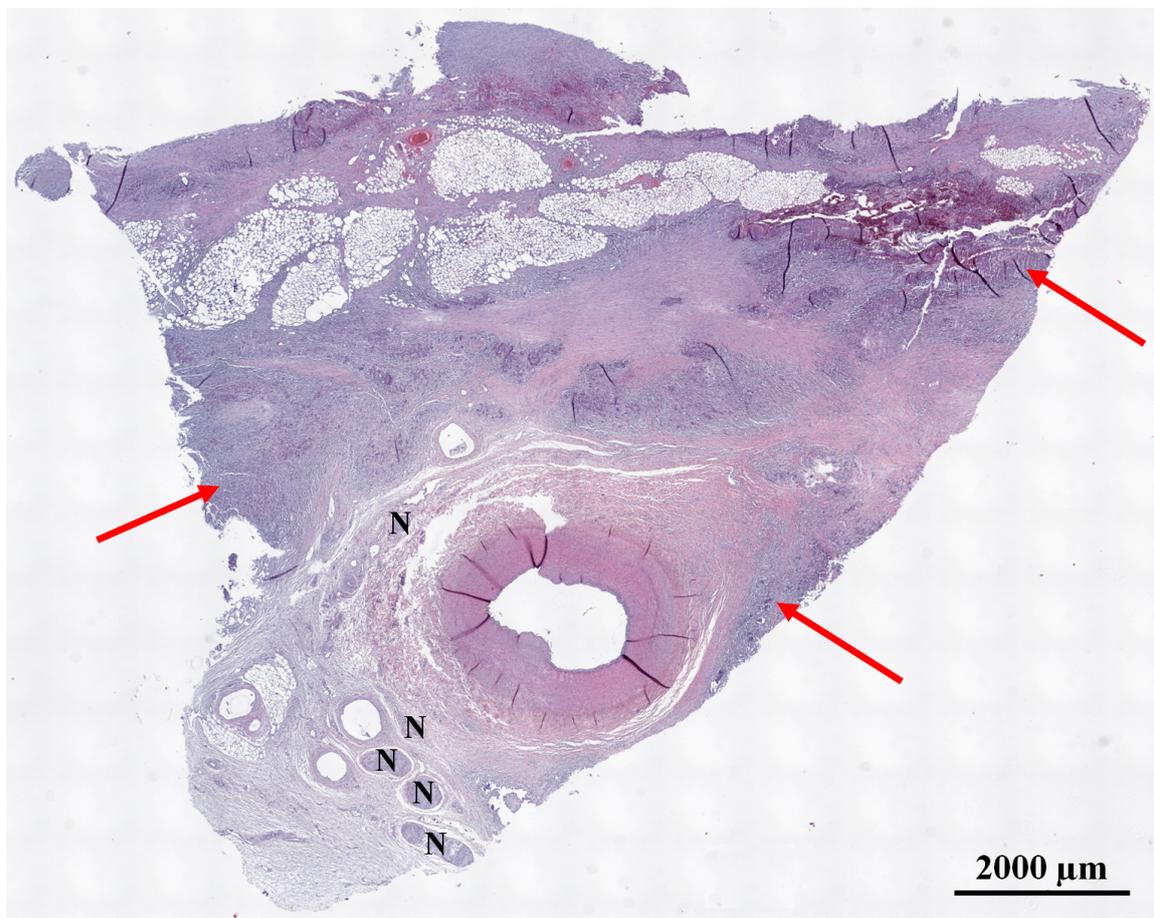
Abb. 33: Grad 3-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikels von Schwein 4 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b) und EvG- Färbung (c, d). Das Perineurium ist zart und allseits scharf gegenüber dem umliegenden Bindegewebe abgrenzbar (1). Die EvG-Färbung zeigt keinen Anhalt für eine Bindegewebsvermehrung. Linksseitig ist das Endoneurium unauffällig (2), rechtsseitig ist eine starke Vakuolisierung zu erkennen (3).

erlaubt und selbst bei ausgeprägter Nekrose gewöhnlich positiv auffällt.<sup>131</sup> Wie erwartet, stellen sich Epi- und Perineurium regelrecht ohne Anhalt für Fibrosierungen oder entzündliche Prozesse dar. Der Faszikel weist darüber hinaus lediglich eine Teilschädigung auf: Während sich das En-

## Ergebnisse

doneurium auf der linken Seite des Nerven, analog zu Abb. 23, unauffällig zeigt, sind rechtsseitig ausgeprägte Vakuolisierungen, wie schon bei Schwein 11 und 8 gezeigt, zu beobachten. Von den mit 5 ml Alkohol behandelten Tieren konnte nur bei Schwein 4 eine neurale Schädigung nachgewiesen werden.

Bei drei Tieren aus der 10 ml- und bei den meisten Tieren aus der 5 ml-Alkoholgruppe konnte keine Nervenschädigung gefunden werden. Trotzdem konnte bei einigen Tieren histopathologisch der Nachweis einer erfolgreichen Injektion in Nierenarteriennähe erbracht werden. Die Übersichtsaufnahme von Schwein 12 (Abb. 34) demonstriert einen solchen Fall, bei dem zwar keine neuronalen Degenerationen gefunden werden konnten, jedoch eine Gewebsschädigung und Entzündungsreaktion nahe der Nierenarterie. Die abgebildeten Nerven rund um die Arterie stellen sich dennoch alle intakt dar. Es handelt sich um ein mittleres Segment.



**Abb. 34:** Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarterienssegments der behandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung. Trotz ausgeprägter, nahezu zirkumferentieller periarterieller Gewebsschädigung und -inflammation (rote Pfeile) zeigen sich alle abgebildeten Faszikel unverletzt.

In Arealen mit ausgeprägter Bindegewebsschädigung, wie in Abb. 34, und zusätzlich massiver Zerstörung des Nervenfaszikels (Grad 3 oder höher) ist eine Abgrenzung und damit die Identifikation der Faszikel deutlich erschwert. Stark geschädigte Nervenfaszikel werden somit möglicherweise nicht erkannt oder übersehen. Ein vollständig zerstörter Nerv ist histopathologisch dage-

## Ergebnisse

gen nicht mehr darzustellen. Der Nachweis gelingt in diesem Fall nur durch einen Vergleich mit der unbehandelten Seite. Durch den Untergang der Nerven stellt sich die Nervendichte auf der behandelten Seite vermindert dar.

Aus diesem Grund wurde im Folgenden als weiteres histologisches Kriterium einer erfolgreichen Denervation die *durchschnittliche Zahl intakter Nerven pro histologischem Schnitt* erfasst. Abb. 35 stellt die mittlere Nervenanzahl pro Schnitt von behandelter und unbehandelter Seite gegenüber. In der Gruppe mit 10 ml Alkoholapplikation (Tier 7-16) war die Zahl intakter Nerven auf der behandelten im Vergleich zur unbehandelten Seite signifikant geringer ( $p = 0,021$ , errechnet anhand des Wilcoxon-Tests). Tier 14 zeigte als einziges Tier in dieser Gruppe eine höhere Nervenanzahl pro Schnitt auf der behandelten Seite gegenüber der unbehandelten. Für die Tiere, die mit 5 ml Alkohol behandelt wurden (Tiere 1-6,  $p = 0,6$ ), und für die Gesamtheit der behandelten Tiere (Tiere 1-16,  $p = 0,125$ ) konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden. Bei Schwein 3 fiel die Nervendichte der behandelten als auch unbehandelten Seite im Vergleich zu allen anderen Tieren deutlich geringer aus, da bei diesem Tier als erstem die histologische Aufarbeitung der zu untersuchenden Gewebe erfolgte und die Technik der Präparation zu diesem Zeitpunkt noch nicht ausgereift war.

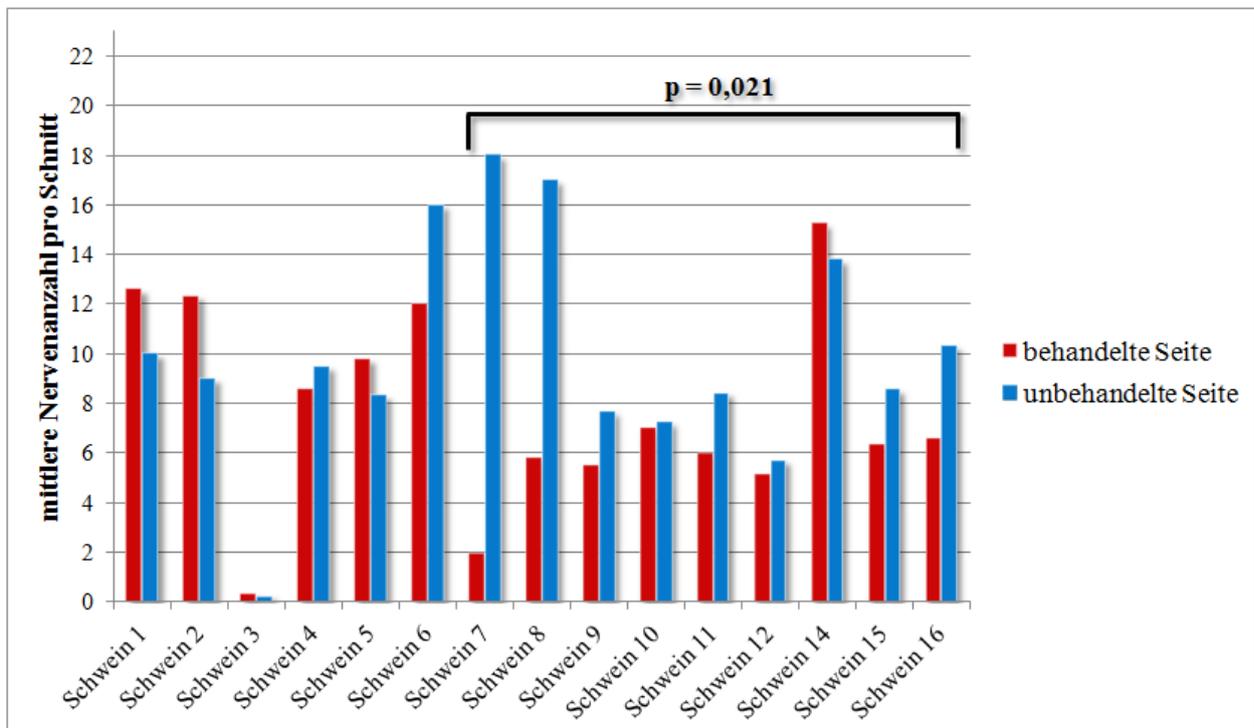


Abb. 35: Mittlere Anzahl intakter Nerven pro histologischem Schnitt auf der behandelten und unbehandelten Seite

Die histologischen Resultate zusammenfassend konnten zwar schwerere Verletzungen durch den Alkohol im periarteriellen Fett- und Bindegewebe histologisch nachgewiesen werden, die für die Sicherheit der Therapie entscheidenderen arteriellen Schädigungen waren jedoch bis auf in ei-

## Ergebnisse

nem Fall nicht festzustellen und sind selbst bei diesem Tier auf Adventitia und Media beschränkt. Weiterhin ließen sich keine luminalen bzw. muralen thrombotischen Formationen, keine aneurysmatischen Erweiterungen oder Stenosen histologisch darstellen.

### 3.8 Blutdruckwerte

Die Blutdruckmessung gibt neben der Bestimmung der NA-Konzentrationen und der histologischen Auswertung Auskunft über den Erfolg der Denervation. Die Aussagekraft ist im präklinischen Rahmen jedoch begrenzt und als geringer im Vergleich zu den beiden zuvor erwähnten Parametern einzuschätzen, da die Schweine normoton waren und nur eine Nierenseite behandelt wurde. Ab Tier 7 wurde eine postinterventionelle Blutdruckmessung durchgeführt. Tab. 16 zeigt die Blutdruckwerte der Tiere 1-16 unmittelbar vor und nach der Intervention sowie am Tag der Finalisierung. Bei der invasiven Blutdruckmessung von Tier 1 ließ sich prä- und postinterventionell nur jeweils der systolische Blutdruck ermitteln. Die Tiere befanden sich während der Blutdruckmessungen unter Allgemeinnarkose. Die angegebenen Blutdruckwerte ergeben sich aus mindestens 3 Einzelmessungen.

Tab. 16: Übersicht über die Blutdruckwerte von Schwein 1-16

	BD präinterventionell [mmHg]		BD postinterventionell [mmHg]		BD final [mmHg]	
	systolisch	diastolisch	systolisch	diastolisch	systolisch	diastolisch
<b>Schwein 1</b>	98	/	115	/	/	/
<b>Schwein 2</b>	96	45	113	53	/	/
<b>Schwein 3</b>	92	47	124	64	/	/
<b>Schwein 4</b>	80	34	93	38	/	/
<b>Schwein 5</b>	64	30	110	57	/	/
<b>Schwein 6</b>	78	33	112	51	/	/
<b>Schwein 7</b>	66	26	94	43	91	39
<b>Schwein 8</b>	135	79	83	33	72	31
<b>Schwein 9</b>	128	78	82	30	97	59
<b>Schwein 10</b>	90	33	79	26	83	28
<b>Schwein 11</b>	110	56	137	77	116	44
<b>Schwein 12</b>	119	54	116	54	97	45
<b>Schwein 14</b>	79	37	110	51	93	38
<b>Schwein 15</b>	70	25	78	45	75	25
<b>Schwein 16</b>	66	25	84	48	133	72

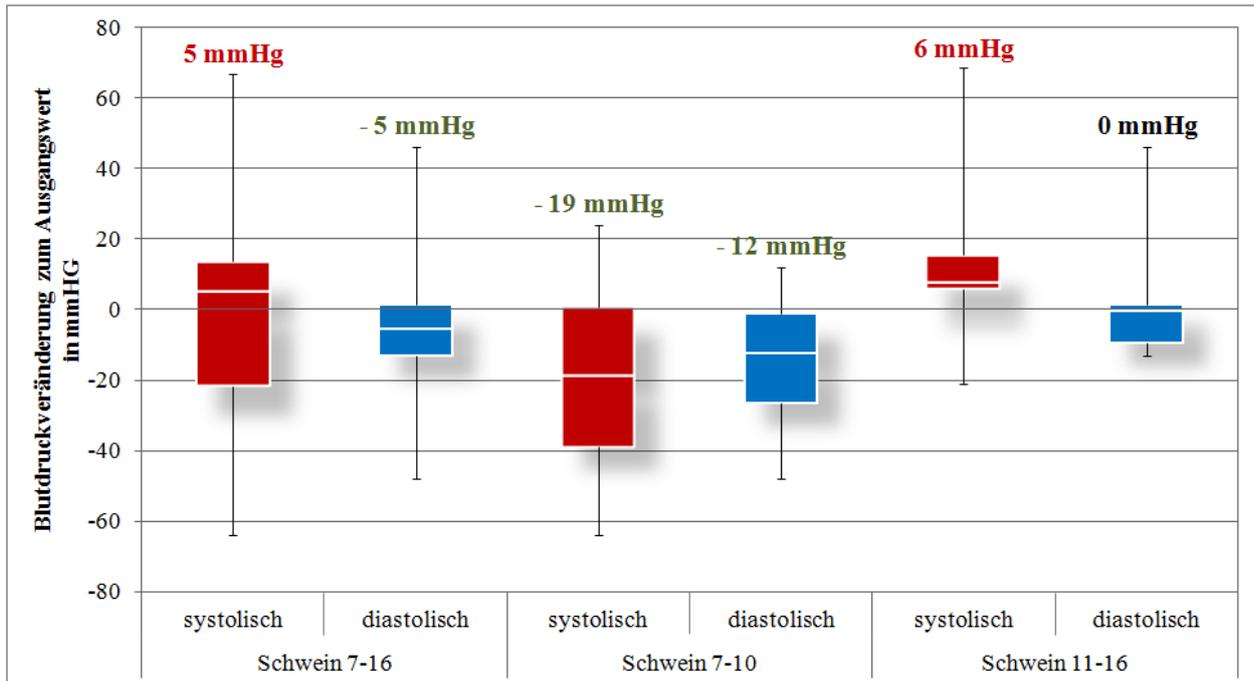
BD = Blutdruck

Der mittlere Blutdruck aller Tiere lag vor der Intervention bei 91 mm Hg systolisch und 43 mmHg diastolisch. Postinterventionell war ein leichter Blutdruckanstieg zu beobachten bei 102 mmHg systolisch und 48 mmHg diastolisch. Am Tag der Finalisierung betrug der mittlere systo-

## Ergebnisse

lische Wert für die Tiere 7-16 95 mmHg und der diastolische Wert 42 mmHg. Damit liegen die Blutdruckwerte zu allen 3 Zeitpunkten im hypotonen Bereich.<sup>136</sup>

Abb. 36 zeigt die Blutdruckveränderungen der präinterventionellen Messung im Vergleich zu den Blutdruckwerten am Tag der Finalisierung nach 28 Tagen für die Tiere 7-16 mit Applikation von 10 ml Ethanol. Ebenfalls dargestellt ist die Unterteilung in die Gruppen ohne (Tiere 7-10) und mit (Tiere 11-16) Zugabe von Polyacrylsäure. Auf Grund einer starken Streuung der Werte wurde der Median statt des arithmetischen Mittels verwendet.



**Abb. 36: Blutdruckveränderungen präinterventionell im Vergleich zur Finalisierung nach 28 Tagen.** Die roten Balken geben die Veränderungen des systolischen und die blauen Balken die des diastolischen Wertes an, darüber ist jeweils der Median dargestellt. Die Subgruppe der Tiere 7-10 mit 10ml Alkoholapplikation zeigte einen Blutdruck-Abfall von 19/12 mm Hg.

Für die Tiere 7-16 konnte kein Abfall des systolischen, aber ein 15%iger Abfall (5 mmHg) des diastolischen Wertes gemessen werden. Die besten Ergebnisse lieferte, wie auch bei den NAMessungen, die Gruppe mit den Schweinen 7-10. Bei diesen Tieren wurde ein Abfall des systolischen Blutdrucks um ca. 16% (19 mmHg) und ein Abfall des diastolischen Blutdrucks um ca. 20% (12 mmHg) beobachtet. Die Tiere 11-16 zeigten keinen Abfall des Blutdrucks im Vergleich zur präinterventionellen Messung. Die Untersuchung auf Signifikanz wurde mit dem Wilcoxon-Test durchgeführt. Alle Veränderungen stellten sich als nicht signifikant heraus.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Allgemeines**

Der jüngste Erfolg der katheterbasierten RFA Ablation zur renalen Denervation bei therapieresistenter Hypertonie (vielversprechende Ergebnisse bzgl. der Sicherheit von RFA) sowie die sich anschließenden publizierten Limitationen (inkonsistente Ergebnisse bzgl. der Wirksamkeit) haben das Interesse an alternativen minimal-invasiven und kostengünstigeren Therapieoptionen zur Sympathikolyse geweckt. Diese Arbeit untersuchte als erste die perkutane periarterielle renale Denervation mittels Alkohol am Schweinemodell. Aus diesem Grund stellte sich insbesondere die Findung der Wirkstoffgrößen, wie Menge und Viskosität der zu applizierenden Substanz, als Herausforderung dar. Zwar kam in einigen vorangehenden Arbeiten ebenfalls Ethanol als Sympathikolytikum zum Einsatz, jedoch erfolgte die Applikation über einen Katheter, sodass Rückschlüsse bezüglich Menge und Viskosität auf das hier eingesetzte Verfahren nur eingeschränkt möglich waren. Als Goldstandard gilt bisher die Denervation durch die RFA. Weitere invasive und nicht-invasive Verfahren befinden sich derzeit in Erprobung. Ziel ist die Herausstellung der Vor- und Nachteile gegenüber der RFA. Als primäre Outcome Parameter wurden ein Abfall der NA-Konzentration der behandelten Niere sowie der Nachweis neuraler Degenerationen in der Histopathologie festgelegt. Als sekundäre Outcome Parameter galten der Nachweis einer post-gegenüber präinterventionellen Blutdrucksenkung sowie die Sicherheit der Intervention.

### **4.2 Das Schweinemodell**

Durch die physiologische und anatomische Nähe zum Menschen gelten Schweine als besonders geeignet für die Durchführung tierexperimenteller Studien. Neben dem Affen stellen sie die wichtigsten Versuchstiere sowohl in chirurgischen als auch pharmakotoxikologischen Untersuchungen dar. Insbesondere das kardiovaskuläre System und auch der Urogenitaltrakt von Schwein und Mensch weist große Ähnlichkeiten auf und macht das Schwein damit zu einem idealen Modell kardiovaskulärer und urologischer Forschung.<sup>137</sup> Schweine verfügen über multi-lobuläre und –pappiläre Nieren und ein analog zum Menschen aufgebautes Kelchsystem. Die Niere eines 70 kg Schweins zeigt in etwa die gleichen Größenverhältnisse wie die eines Erwachsenen. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass Niere und Nierenarterie beim Schwein besonders leicht zu isolieren sind. Nachteilig stellt sich der im Vergleich zum Menschen verlängerte Processus transversus der Wirbelsäule sowie die stärker ausgeprägte Fascia thoracolumbalis dar, die den Zugangsweg von dorsal zur Nierenarterie erschweren. Zu dem histologischen Aufbau des peripheren oder sympathischen Nervensystems des Schweins sind bislang nur wenige Daten verfügbar. Bisherige Ergebnisse deuten jedoch auf eine enge Verwandtschaft des peripheren Ner-

vensystems zum Menschen hinsichtlich anatomischer, biochemischer und zellulärer Komponenten hin, Ähnliches ist für das sympathische Nervensystem anzunehmen.<sup>138</sup>

### 4.3 Interventionszeiten

Die Interventionszeiten lagen zwischen 18 und 55 min mit einem durchschnittlichen Wert von  $29 \pm 10$  min (Median = 27 min, IQR = 7 min). Die im Verlauf tendenziell abnehmende Interventionsdauer ist primär auf eine Lernkurve mit zunehmender Erfahrung in Bezug auf die MRT-gesteuerte periarterielle Alkoholapplikation zurückzuführen. Da dies die erste perkutane renale Denervation darstellte, musste die geeignete Technik zur periarteriellen Substanzabgabe während dieser Versuchsreihe zunächst erarbeitet werden. Weiterhin fallen durch die relativ kleine Versuchsanzahl von 15 Interventionen die ersten, längeren Interventionszeiten stärker ins Gewicht. Bei einer höheren Versuchsanzahl und weiterer Erprobung der Injektion ist davon auszugehen, dass sich der Durchschnittswert der unteren Grenze von 18 min annähert.

Die von der Gruppe von Firouznia et al.<sup>117</sup> durchschnittlich erzielte Interventionsdauer von 25 min bei der perkutanen renalen Denervation an 6 Schafen mit einem identischen Versuchsablauf, bekräftigt die gemessenen Daten.

Die mittlere Prozedurdauer mit dem Symplicity-System beträgt im Vergleich dazu  $66 \pm 2$  min.<sup>58</sup> Die genannte Dauer umfasst die Herstellung eines arteriellen Zugangs bis zum Rückzug des Katheters. Durchschnittlich wurden während dieses Zeitraums 4 Ablationspunkte pro Arterie gesetzt. Neuere Multi-Elektroden-Katheter sind in der Lage durch einfacheres Handling und lokale simultane Energieabgabe, die Ablationszeit pro Arterie zu verkürzen mit einer derzeit minimalen Energieabgabezeit für beide Arterien von 2 min mit dem Vessix- und dem Symplicity Spiralkatheter (siehe Tab. 2). Dennoch besteht weiterhin der Zeitaufwand für den arteriellen Zugang, sodass in Hinblick auf die Interventionszeit von einer Überlegenheit perkutaner Verfahren ausgegangen werden kann. Zudem sind für diese neueren Kathetersysteme bisher nur wenige Daten verfügbar, sodass sich die Praktikierbarkeit, Effektivität und Sicherheit dieser Verfahren in Studien mit längerer Laufzeit und größeren Patientenpopulationen noch unter Beweis stellen müssen.

### 4.4 Technische Durchführbarkeit

Die Bildqualität der gewählten MR-Sequenzen ermöglichte bei allen Tieren eine gute Darstellung der renalen Gefäße und präzise Positionierung der Punktionsnadel nahe des Nierenarterienostiums. Von den untersuchten fluoskopischen Sequenzen erwiesen sich die T1w TSE (TR/TE 200/ 5,4 ms) und von den postinterventionellen Sequenzen die T2w TSE SPIR (TR/TE 1500/100 ms) sowie die T1w TSE fs (TR/TE 450,4/10 ms) als besonders geeignet. Das Signal nimmt pro-

portional zum Quadrat der Feldstärke zu, während das Rauschen lediglich direkt proportional zur Feldstärke ansteigt. Somit ist von einer theoretischen Linearität zwischen dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) und Feldstärke auszugehen, wobei verschiedene physikalische Größen modulierend einwirken.<sup>139</sup> Die Feldstärke wird darüber hinaus von der Spulenform beeinflusst. Das CNR wird wiederum aus der Differenz der SNR zweier benachbarter Gewebe ermittelt. Bei der Oberflächenspule ist das SNR in dem der Spule direkt anliegenden Gewebe am höchsten und fällt mit zunehmendem Abstand exponentiell ab. Hingegen zeigen sich mit der Kopfspule relativ homogene SNR über die gesamte ausgeleuchtete Region mit punctum maximum im Zentrum des untersuchten Bereichs.<sup>139</sup> Da die bei der ersten Intervention eingesetzte Kopfspule eine exakte Führung der Punktionsnadel beeinträchtigte, wurde bei den darauffolgenden Versuchen stattdessen eine Oberflächenspule verwendet. Um vergleichbare SNR zu erhalten, wäre bei allen getesteten Sequenzen bei Positionierung der ROIs ein fortwährend konstanter Abstand zur Oberflächenspule erforderlich. Hinzu kommt, dass der Neigungswinkel der Spule sowie minimalste Veränderungen der Lokalisation der Spule am Tier sich ebenfalls auf die Messungen auswirken. Das gemessene Nadelartefakt wird letztlich auch durch einen unterschiedlichen Einstichwinkel zur Spule verfälscht.

Bei insgesamt 13 von 15 Tieren (87%) wurde die Injektatverteilung mit einem Score von 2 bzw. 3 Punkten als suffizient bzw. optimal beurteilt. Der mittlere Distributionsscore aller Tiere liegt bei 2,5 Punkten. Bei lediglich 2 Tieren wurde die Injektatverteilung als insuffizient erachtet und mit einem Score von 1 Punkt bewertet. Beide Tiere befanden sich in der 5 ml-Ethanol-Gruppe, dagegen wurde bei keinem der Tiere aus der 10 ml-Ethanol-Gruppe eine insuffiziente Injektatdistribution festgestellt. Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, dass eine Injektatmenge von 5 ml nicht ausreicht, um eine gute Umspülung der Nierenarterie und damit eine effektive Denervation zu gewährleisten. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der NA-Messungen (siehe Kapitel 4.6) und den fehlenden histologischen Nachweis renaler Nervendegenerationen in dieser Gruppe, mit Ausnahme von Schwein 4, gestützt. Ferner war der bei Schwein 4 gemessene maximale Abstand von geschädigtem Nerv zur Intimaoberfläche (0,82 mm) gegenüber den mit 10 ml behandelten Tieren geringer.

### **4.5 Sicherheit der Intervention**

Alle Tiere tolerierten die Intervention und Narkose sehr gut. Im folgenden Beobachtungszeitraum zeigte keines der Tiere Verhaltensauffälligkeiten oder Beeinträchtigungen, die auf Schmerzen oder Krankheit hätten Hinweis geben können. Schwein 13 verstarb als einziges der Tiere, allerdings vor Durchführung der Intervention, sodass kein Bezug zur Behandlung bestand. Alle

## Diskussion

anderen Tiere wurden zum geplanten Termin euthanasiert und zeigten bis zu diesem Zeitpunkt ein regelrechtes Verhalten sowie Wachstum und Gewichtszunahme.

Bei insgesamt 5 der 15 Tiere (33%) kam es zu prozedurbedingten Komplikationen: 2 der Tiere (13%) entwickelten im Verlauf eine Hydronephrose (Major komplikation), 2 weitere Tiere (13%) zeigten superfizielle Adhäsionen des Nierenparenchyms und bei einem Tier (7%) kam es während der Intervention zur Affektion der Aorta (Minor komplikation), welche durch die Bildgebung sowie die Aspiration arteriellen Blutes festgestellt wurde. Bei keiner der UE waren akute oder mittelfristige Auswirkungen auf den Gesundheitszustand oder das Wohlbefinden der Tiere zu beobachten. Mit Ausnahme der zwei Hydronephrosen wäre bei keiner Komplikation eine Behandlung notwendig geworden. Nach Diagnose der ersten Hydronephrose bei Schwein 7 wurde den Injektaten ab Schwein 10 Polyacryl hinzugesetzt. Durch die höhere Viskosität des Alkohols und damit bessere Haftung an der Nierenarterie sollte eine Diffusion in Richtung der Ureteren verhindert werden. Da die zweite Hydronephrose bei Schwein 15 mit Injektion eines Alkohol-Polyacryl-Gemisches im Verhältnis 8:2 auftrat, ist von einer nicht ausreichend hohen Viskosität auszugehen. Die Effektivität der Denervation, gemessen an den NA-Konzentrationen, siehe Kapitel 4.6, zeigte sich bei den Tieren 11-16 mit Polyacrylzusatz im Vergleich zu den Tieren 7-10 mit gleicher Injektatmenge ohne Polyacrylzugabe geringer. Bei einer weiteren Veränderung des Verhältnisses zu Gunsten des Polyacryl wäre mit einer noch stärkeren Abnahme der Wirksamkeit zu rechnen.

Bei der ersten Anwendung der perkutanen Denervation mit Alkohol im Menschen durch Streitparth et al.<sup>128</sup> traten keine UE auf. Ebenso erwies sich das Verfahren in der nachfolgenden Arbeit von Ricke et al.<sup>129</sup> an 11 Patienten als sicher. Zwar erfolgte die Durchführung damit bisher nur an einem geringen Patientenkollektiv und erlaubt daher noch keine validen Aussagen hinsichtlich Komplikationen, dennoch gibt es eine Reihe von Gründen, die dafür sprechen, dass die Gefahr einer Hydronephrose oder eines Nierenparenchymschadens im Menschen deutlich geringer ist. Es ist davon auszugehen, dass Personen über 50 Jahre das Hauptpatientenkollektiv der renalen Denervation darstellen werden. Die verwendeten Tiere waren ca. 3 Monate alt und wogen zwischen 20 und 30 kg. Sie weisen damit in etwa die Größe eines Schulkindes auf. Bei einem erwachsenen Menschen ist die Distanz zwischen Nierenarterienostium und Niere bzw. Ureter größer und damit die Verletzungsgefahr beider Organe geringer. Wie unter 4.2 erwähnt, entsprechen die Größenverhältnisse des Urogenitaltrakts eines 70 kg schweren Schweins in etwa denen eines Erwachsenen. Da Tiere dieses Gewichts und dieser Größe für den Transport nicht praktikabel sind und eines größeren Geheges bedürften, fiel die Wahl auf juvenile Schweine. Weiterhin kann durch entsprechende Lagerung die Diffusion des Alkohols in Richtung der Ureteren

## Diskussion

möglicherweise verhindert werden. So ist eine Rücken- bzw. Bauchlage zu bevorzugen und die Seitlage zu vermeiden. Die Liegezeit sollte dabei so gewählt werden, dass der Alkohol weitgehend vom Peritoneum resorbiert wurde. Auch hier könnte sich bei der Anwendung am Menschen ein Vorteil ergeben, da das Tier nach der Intervention während des Rücktransports in den Stall sowie im Stall während des Aufwachens in Seitlage gebracht werden musste. Der Grund hierfür war, dass einerseits eine bessere Thoraxexkursion und damit eine suffizientere Sauerstoffversorgung (nach der Intervention wurden O<sub>2</sub>-Maske sowie Pulsoxymeter für den Transport entfernt) und andererseits eine bessere Stabilisierung während des Transports des Tieres ermöglicht wurde. Die Lagerung eines Patienten auf dem Rücken oder Bauch nach der Intervention ist dagegen problemlos möglich. Eine mögliche Alternative bei der Intervention an Tieren, bei denen nur eine Seite behandelt wird, ist die Seitlagerung auf der unbehandelten Seite. Die Entfernung zur kontralateralen Niere und Ureter ist bedeutend größer, sodass eine Schädigung der Organe auf der unbehandelten Seite unwahrscheinlicher ist.

Ein weiterer Unterschied ist, dass die Nierenarterie beim Menschen von periarteriellm Fettgewebe umgeben wird. Da Alkohol im Fettgewebe konzentriert wird, könnte eine Applikation dessen direkt in oder in die Nähe dieses Fettgewebes eine bessere Haftung an der Nierenarterie bewirken und damit eine Diffusion in Richtung anderer Organe verhindern. Darüber hinaus wäre durch die lokal stärkere Ansammlung des Alkohols auch eine erhöhte Wirksamkeit denkbar. Bei Schweinen wird der Fettanteil züchtungsbedingt möglichst gering gehalten, sodass auch von einer geringeren pararenalen Fettgewebsbildung auszugehen ist. Die Fixation des Alkohols an der Nierenarterie ist dementsprechend schlechter.

Die in der MIP gesehene Nierenarterienstenose bei Schwein 15 wurde nicht als UE gewertet, da keine präinterventionellen MRA-Vergleichsaufnahmen durchgeführt wurden und daher unklar ist, ob der Befund schon vor der Intervention bestand. Weiterhin konnte kein histomorphologisches Korrelat für eine Stenose gefunden werden. Es wäre denkbar, dass die in der MIP gesehene Verengung der Nierenarterie auf eine Veränderung der Flusseigenschaften zurückzuführen ist. Komplexe Flussverhältnisse, z.B. durch Entstehung von turbulenter Strömung, führen zu einer Zerstörung der Phasenkohärenz und damit zu einem Signalverlust in der MIP.<sup>140</sup> Der Schweregrad einer Stenose kann dadurch überschätzt werden. Turbulente Strömung tritt insbesondere an Gefäßaufzweigungen und –schlängelungen auf. Ein Teil des laminaren Blutstroms wird an der Gabelungsstelle abgelenkt und erzeugt an der gegenüberliegenden Gefäßwand Verwirbelungen. Laminarer und turbulenter Blutfluss bestehen nebeneinander.<sup>141</sup> Die Protonenspins des turbulenten Blutes werden auf Grund der Stagnation angeregt, wohingegen die Spins des schnellen, la-

## Diskussion

minaren Blutes im unangeregten Zustand verbleiben. Laminarer Blutfluss ist daher durch eine hohe Signalintensität, turbulenter dagegen durch eine Signalauslöschung gekennzeichnet.<sup>142</sup>

Die renale Denervation durch RFA gilt als sicheres und komplikationsarmes Verfahren, dennoch konnten auch bei diesem Verfahren in präklinischen und klinischen Studien einige prozedurbedingte Komplikationen beobachtet werden. In einer präklinischen Studie von Steigerwald et al.<sup>143</sup> wurden die Veränderungen nach Denervation durch RFA an 7 Schweinen anhand von Histopathologie und Optischer Kohärenztomographie (OCT) zu zwei verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Die Tiere wurden entweder 45 min oder 10 Tage nach Intervention euthanasiert, wobei in 2 Fällen die Nierenarterie als interne Kontrolle unbehandelt verblieb. Mittels OCT konnten direkt nach der Intervention Retraktionen der luminalen Gefäßoberfläche, thrombotische Formationen und eine verminderte Signalintensität der Media als Ausdruck eines zellulären Ödems gefunden werden. 10 Tage nach der Intervention ließ sich kein thrombotisches Material mehr nachweisen, die Retraktionen blieben bestehen.

In der Symplicity HTN-2 Studie traten bei 12 von 52 Patienten in der Denervationsgruppe (23% der Behandelten) Nebenwirkungen auf, die in Zusammenhang mit der Intervention gesehen wurden und von denen einige einer Behandlung bedurften.<sup>79,84</sup> Darunter waren 7 Patienten (ca. 13%) mit vorübergehenden Bradykardien, die mit Atropin therapiert wurden. Zu den weiteren UE gehörten ein Pseudoaneurysma, Parästhesien, anhaltende Rückenschmerzen, ein Blutdruckabfall und ein Harnwegsinfekt.

In der 24-Monats-Studie der Symplicity HTN-1-Investigatoren lag die frühe Komplikationsrate bei 12% (19 von 153 Patienten) und die späte bei 8% (13 von 153 Patienten).<sup>86</sup> Zu den akuten UE zählten eine Nierenarteriendissektion, die mit einem Stent behandelt wurde, sowie 3 Pseudoaneurysmata. Ferner erlitten 15 Patienten während der Intervention vorübergehende Bradykardien, die den Einsatz von Atropin erforderten. Als späte Komplikationen traten u. a. Nieren- und Rückenschmerzen auf. Das Versterben zweier Patienten während des Beobachtungszeitraums wurde nicht auf die renale Denervation zurückgeführt.<sup>79</sup> In der Symplicity-HTN-1 wurden bei 2 von 45 behandelten Patienten (4%) Prozedur-bezogene Komplikationen festgestellt. Die beiden UE umfassten eine Dissektion der Nierenarterie und ein Pseudoaneurysma.<sup>80,81</sup> In einer Folge-Studie wurde die Kohortenzahl auf 153 Patienten erhöht mit einer Nachbeobachtungszeit von 36 Monaten. Bei 4 der Patienten (2,6%) wurde im Verlauf eine Nierenarterienstenose festgestellt. 2 davon stellten eine Progression einer bereits vorbekannten milden Nierenarterienstenose dar, die anderen 2 eine De-novo-Stenose. In 2 Fällen war die Stenose hämodynamisch relevant und wurde mit einem Stent versorgt. Andere UE waren Leistenschmerzen (2,0%), eine Nierenarterien-dissektion (0,7%), und Bradykardien (5,2%).<sup>83</sup>

## Diskussion

Die Komplikationsrate in der Symplicity-HNT-3-Studie stellte sich ähnlich dar: 4% (14 von 354) der Patienten im Interventionsarm erlitten bis zum Zeitpunkt von 6 Monaten eine Major-Komplikation. Allerdings traten auch bei 5,8% der Patienten (10 von 171) in der Kontrollgruppe, die einer Nierenangiographie als Sham-Prozedur unterlagen, Major-Komplikationen auf. Nähere Angaben zu den UE wurden nicht gemacht.<sup>87</sup> Seit Kurzem sind die Daten des 12-Monats-Follow-ups der HNT-3-Studie verfügbar. Nach Abschluss des 6 Monats-Follow-ups wurde den Kontrollpatienten ermöglicht, sich ebenfalls einer Denervation zu unterziehen und in die Interventionsgruppe zu wechseln (Crossover-Gruppe). Zum Zeitpunkt von 12 Monaten wurde eine Gesamtkomplikationsrate von 6,8% (24 von 355 Patienten) in der ursprünglichen Denervationsgruppe und von 5,3% (5 von 95 Patienten) in der Crossover-Gruppe festgestellt. Darunter befanden sich embolische Geschehen mit resultierendem Endorganschaden, vaskuläre Komplikationen und mehrere hypertensive Krisen. In der unbehandelten Gruppe (Non-Crossover-Gruppe) traten bei 7,2% der Patienten UE auf.<sup>144</sup>

Unter Einbeziehung aller, auch transienter, gut behandelbarer UE reicht die Gesamtkomplikationsrate der klinischen Studien zur renalen Denervation mit RFA von 4% bei der HTN-1-Studie bis 23% bei der HTN-2-Studie. In der Symplicity HTN-2 Studie war demnach fast jeder vierte Patient von einer Nebenwirkung der Therapie betroffen. Dagegen lag die Komplikationsrate in dieser Versuchsreihe mit 33% höher. Jedoch ist anzumerken, dass dies die ersten Versuche mittels perkutaner Denervation darstellen und mit zunehmender Erprobung eine Abnahme der UE zu erwarten ist. Allerdings existieren sowohl für die RFA als auch für die perkutane Denervation mit Alkohol bisher keine belastbaren Langzeitdaten. Die längsten derzeit verfügbaren Daten zur RFA umfassen einen Zeitraum von 3 Jahren. Viele Komplikationen treten jedoch erst nach Jahren auf, wie die Ergebnisse der HNT-1-Studie belegen: Die Entstehung zweier De-novo-Stenosen zeigte sich erst im 3-Jahres-Follow-up der Folge-Studie. Somit bleibt für beide Verfahren abzuwarten, was Langzeituntersuchungen erbringen.

Abschließend ist jedoch noch zu erwähnen, dass nicht nur bei der Denervation durch RFA, sondern auch bei allen weiteren Katheterverfahren die Gefahr von Nierenarterienstenosen und -dissektionen, Pseudoaneurysmata, transienten intraprozeduralen Bradykardien, post-prozeduralen Hypotensionen, Harnwegsinfekten, Parästhesien und diffusen abdominalen sowie Rücken- und Leistenschmerzen besteht.<sup>109</sup> Diese Komplikationen sind bei der perkutanen Denervation mit Alkohol nicht oder zumindest nicht in dem Maße zu erwarten, sodass dies einen potentiellen Vorteil für dieses Verfahren darstellen könnte. Des Weiteren hat sich die Verwendung von Alkohol auch in anderen Bereichen, z. B. in seit der mehr als 60 Jahren eingesetzten Ethanol-Blockade des Plexus coeliacus, als risikoarm erweisen können.<sup>145</sup>

## 4.6 Noradrenalin

Insgesamt zeigten 9 der 15 Tiere dieser Versuchsreihe einen Noradrenalin-Abfall im Nierenparenchym der behandelten Seite und erfüllten damit einen der beiden primären Outcome Parameter. Noradrenalin gilt als wichtigster quantitativer Marker einer erfolgreichen renalen Denervation in präklinischen Studien. Es besteht ein direkter linearer Zusammenhang zwischen der prozentualen NA-Reduktion und der Effektivität der Denervation: Je mehr sympathische renale Nervenfasern zerstört werden, desto größer ist der resultierende NA-Abfall.<sup>146</sup> Die derzeit genaueste Bestimmung wird durch HPLC mit Tandem-Massenspektrometer erreicht. Durch den Einsatz des Isotops Noradrenalin(d6) als Referenzwert kann Noradrenalin noch über zwei Größenordnungen unterhalb des endogenen Spiegels nachgewiesen werden.<sup>131</sup> Die HPLC mit elektrochemischer Detektion weist zwar ebenfalls eine hohe Sensitivität auf, angesichts fehlender Massenspezifität kann eine Interferenz mit Adrenalin und anderen Katecholaminen auftreten. Dagegen ist mit Hilfe der Massenspektrometrie eine Differenzierung von anderen endo- und exogenen Verbindungen möglich.<sup>131</sup> Aus diesem Grund wurde ab Tier 7 ein Tandem-Massenspektrometer als Detektor der HPLC verwendet. Bei den Tieren 7-10 fand eine Messung durch beide Detektoren statt mit einer medianen Abweichung von 12,5% in der NA-Reduktion zwischen beiden Verfahren. Da die meisten bisher veröffentlichten präklinischen Studien einen elektrochemischen Detektor einsetzten, ergibt sich eine eingeschränkte Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Ein weiteres bereits erwähntes Verfahren, welches in klinischen Studien Anwendung findet, ist die Bestimmung des NA-Spillovers mittels Isotopenverdünnungsanalyse.<sup>81,84</sup> Diese Methode weist von den bisher genannten die geringste Sensitivität und Spezifität auf. Da ein Übertritt des NA in den Blutkreislauf nicht nur durch eine erhöhte präsynaptische Freisetzung, sondern auch durch eine vermindertes präsynaptisches Reuptake bzw. eine reduzierte Clearance beeinflusst wird, konnte durch Gabe von Desipramin als neuronalem Wiederaufnahmehemmer des NA eine Erhöhung des Spillover von 33 auf 63 pmol/min erreicht werden. Ferner gelang durch Nitroprussid-Infusion, vermutlich auf Grund eines erhöhten Washouts des zirkulierenden und lokalen NA, eine Steigerung des NA-Spillover von 18 auf 35 pmol/min. Diese Ergebnisse zeigen, dass das regionale NA-Spillover entscheidend durch Veränderungen im Blutfluss und der Clearance beeinflusst werden.<sup>147</sup> Zusammenfassend sind die hier genannten NA-Messungen nur begrenzt auf andere Studien übertragbar.

Die Bestimmung des NA-Spiegels wird dadurch erschwert, dass NA sehr geringe endogene Konzentrationen aufweist und einem schnellen metabolischen und nicht-metabolischen oxidativen Abbau unterliegt.<sup>131</sup> Um eine Verzerrung der Ergebnisse zu verhindern, muss das zu unter-

## Diskussion

suchende Nierengewebe daher schnellstmöglich entnommen und eingefroren werden. Weiterhin ist eine ausreichende Homogenisierung essentiell, da NA ungleich in der Niere verteilt ist.

Darüber hinaus gilt zu beachten, dass geringfügige Veränderungen in der experimentellen Durchführung bereits zu deutlichen Veränderungen der Hormonkonzentrationen führen können. In dieser Arbeit weisen die Katecholamin-Konzentrationen eine große statistische Varianz auf mit Standardabweichungen, die annähernd die Höhe des Mittelwertes erreichen. Beispielsweise können eine Fixierung oder Schmerzen des Tieres während der Intervention zu einer Verdreifachung, eine erhöhte Narkosetiefe dagegen zu einem Abfall des Plasmakatecholaminspiegels führen.<sup>136</sup> Dieser Zusammenhang erklärt die große Streubreite der Absolutwerte der unbehandelten Seite von 70,26 bis 770,3 ng/g. Eine ähnlich starke Streuung der NA-Konzentrationen zeigte sich in einer Versuchsreihe zur renalen Denervation durch MR-gesteuerten HIFUS der gleichen Arbeitsgruppe.<sup>148</sup> Der NA-Gehalt der unbehandelten Niere lag zwischen 270,5 und 658,5 ng/g, ermittelt durch HPLC-Tandem-MS. Bei der Untersuchung von 6 unbehandelten Schweinen durch die Arbeitsgruppe von Prof. U. Speck in Rottmersleben ergaben sich NA-Konzentrationen von 255 bis 436 ng/g (unveröffentlichte Daten, persönliche Mitteilung durch Prof. U. Speck, InnoRa GmbH, Berlin). Die Messung erfolgte durch HPLC mit elektrochemischer Kopplung. Eine Erhöhung oder Erniedrigung des NA-Spiegels durch verstärkte bzw. verminderte renale sympathische Aktivität betrifft beide Nieren eines Tieres gleichermaßen. Aus diesem Grund können die NA-Konzentrationen in Bezug zur kontralateralen Niere desselben Tiers, jedoch nicht in Bezug zu NA-Konzentrationen eines anderen Tiers gesetzt werden.

Allerdings können auch physiologische Schwankungen zu größeren Differenzen der NA-Konzentrationen zwischen beiden Nieren eines Tieres führen und sich damit erschwerend auf die Interpretation der Werte auswirken. In der AG Speck konnten an den 6 unbehandelten Schweinen Unterschiede zwischen linker und rechter Niere von 4,8 bis maximal 34,6% (im Mittel 13,82%) festgestellt werden.

Zur Verifizierung des Denervationserfolges durch diverse Sympathikolytika wurden in einer Studie von Consigny et al.<sup>114</sup> 36 Ratten einer Sham-Prozedur ausgesetzt oder verblieben als native Kontrollen. Trotzdem wurde bei diesen Tieren ein NA-Konzentrationsgefälle von bis zu 25% zwischen beiden Nieren nachgewiesen. In der zuvor erwähnten Arbeit über renale Denervation durch MRgHIFUS wurde ebenfalls ein Schwein einer Scheinbehandlung unterzogen. Der Unterschied zwischen beiden Nieren lag hier sogar bei 67,1%. Demnach ist erst ab einem deutlich nachweisbaren Konzentrationsunterschied zwischen behandelter und unbehandelter von einem tatsächlichen Effekt der Denervation auszugehen. Ein fester Grenzwert existiert nicht, Differenzen unterhalb von 40% sind allerdings als fragwürdig zu betrachten. Für eine erfolgreiche

## Diskussion

Denervation und einen echten NA-Abfall spricht neben einem eindeutigen NA-Unterschied, ein in mehreren Tieren reproduzierbares Ergebnis sowie die Korrelation zu den histopathologischen Daten.

Ziel der Versuchsreihe war einerseits die Bestimmung eines geeigneten Euthanasiezeitpunktes, zu dem eine NA-Reduktion bereits nachweisbar ist. Zum anderen sollte durch Evaluation von zwei verschiedenen Volumina (5 und 10 ml) und drei unterschiedlichen Zusammensetzungen des Alkohols (ohne, mit 30 und 20% Polyacryl-Zusatz), die ideale Injektatmenge und -konzentration für eine größtmögliche NA-Reduktion bei gleichzeitig geringer Komplikationsrate ermittelt werden. Für die Tiere 3 und 4, die binnen 2 Stunden nach Intervention euthanasiert wurden, konnte kein NA-Abfall nachgewiesen werden. Da bei diesen Tieren eine suffiziente bzw. optimale Injektatverteilung vorlag, ist eine unzureichende Denervation als Erklärung unwahrscheinlich. Für eine ausreichende Distribution des Alkohols spricht auch die bei Schwein 4 histopathologisch nachgewiesene Nervendegeneration. Vielmehr ist davon auszugehen, dass der gewählte zeitliche Abstand von 2 Stunden zwischen Intervention und Euthanasie zu gering war, um Auswirkungen auf die NA-Konzentration in der Niere zu zeigen. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Beobachtungen einer vorangehenden Studie an 18 Ratten, bei der 10 min – 3h nach Denervation mit 10%igem Phenol kein Abfall der NA-Konzentration gegenüber der Sham-Denervation mit 0,9%igem NaCl nachzuweisen war. Erst eine Zeitspanne von 3 Tagen oder mehr bestätigte eine NA-Reduktion auf der behandelten Seite.<sup>149</sup> Aus diesem Grund wurde der Euthanasiezeitpunkt bei allen nachfolgenden Tieren auf 4 Wochen festgelegt.

Eine neuere Studie, die die NA-Konzentrationen 3 und 7 Tage nach Denervation mit 10%igem Phenol an 12 Ratten untersuchte, zeigte allerdings einen signifikant größeren NA-Abfall an Tag 3 gegenüber Tag 7. Die Autoren führten die geringere NA-Reduktion 7 Tage nach Denervation auf eine bereits beginnende Nervenregeneration zurück.<sup>114</sup> Ein direkte Übertragung ist bei unterschiedlichem Tiermodell Ratte versus Schwein jedoch nicht möglich. Ein ähnliches Resultat lieferte die Studie von Heuser et al. zur transurethralen Denervation an 16 Schweinen. Die Messungen an Tag 7, 14 und 30 nach Denervation lieferten eine NA-Reduktion von 66, 59 und 46%. Zwar ist mit großer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass wenige Stunden nach der Denervation noch kein NA-Abfall nachzuweisen ist, da in dieser Arbeit zwischen 2 Stunden und 4 Wochen keine weiteren Euthanasiezeitpunkte untersucht wurden, kann jedoch keine Aussage über den zeitlichen Verlauf bzw. die Tendenz der NA-Konzentrationen getroffen werden. Es ist möglich, dass die ermittelten NA-Werte zum Zeitpunkt von 4 Wochen nach Denervation bereits wieder ansteigende NA-Konzentrationen der behandelten Seite widerspiegeln.

## Diskussion

Als zweiten Punkt galt es, die Injektatmenge zu bestimmen. Für alle 15 Tiere ergab sich eine mediane nicht signifikante NA-Reduktion von 7,49% ( $p = 0,267$ ). Die Gruppe mit 5 ml Alkoholapplikation (Tiere 1-6) wies als einzige keinen NA-Abfall auf (NA behandelte/ unbehandelte Seite: +6,28%,  $p = 0,546$ ). Insgesamt zeigten nur 2 Tiere in der Gruppe eine NA-Reduktion mit einem Konzentrationsunterschied von maximal 39,71%. In Verbindung mit der bereits erwähnten in dieser Gruppe vermehrt auftretenden insuffizienten Injektatverteilung liegt die Vermutung nahe, dass die gewählte Injektatmenge von 5 ml zu gering ist, um eine effiziente Denervierung zu erzielen. Infolgedessen wurde die Menge bei den Tieren 7-16 auf 10 ml erhöht. Die Gruppe der Tiere 7-10 mit Applikation von 10 ml Alkohol ohne Polyacrylzusatz wies den über alle Gruppen gesehenen größten NA-Abfall auf. Die NA-Konzentration der behandelten Seite war im Median um 54,86% gegenüber der unbehandelten Seite reduziert. Für alle Tiere dieser Gruppe konnte ein mindestens 40%iger Abfall der NA-Konzentration nachgewiesen werden, somit ist eine physiologische Ursache als Grund für die Differenz zwischen behandelter und unbehalteter Seite nicht anzunehmen. In präklinischen Studien zur renalen Denervation durch die RFA konnte ein NA-Abfall von mehr als 85% verzeichnet werden. Messungen im Menschen durch die Isotopenverdünnungsanalyse ergaben jedoch nur eine Reduktion des NA-Spillovers von etwa 47%.<sup>81</sup> Die ebenfalls perkutan durchgeführte Denervation durch 10 ml 99,6%igen Alkohol an 6 Schafen erzielte einen NA-Abfall von durchschnittlich 40% (28-84%).<sup>117</sup> Unter Verwendung des Peregrine-Systems konnte ein volumenabhängiger Effekt auf die NA-Konzentrationen demonstriert werden. Die Applikation von 0,15, 0,3 und 0,6 ml 98%igen Alkohols führte zu einem NA-Abfall von 54, 78 bzw. 88%. Die Messung der NA-Konzentration beider letztgenannter Studien erfolgte mittels HPLC und elektrochemischem Detektor. Der NA-Abfall anderer präklinischer Studien variiert je nach Substrat und Konzentration bzw. Menge zwischen 25 und 100% (siehe Tab. 3, S. 24). Zusammenfassend ist die Effektivität der perkutanen renalen Denervation durch Alkohol im Schweinmodell, gemessen am prozentualen NA-Abfall, für die genannte Gruppe der Tiere 7-10 mit anderen Studien vergleichbar.

Die Gruppe der Tiere 11-16 mit Polyacrylzusatz erzielte einen medianen NA-Abfall von nur 4,36%. Bei 3 von 5 Tieren konnte eine verminderte NA-Konzentration auf der behandelten Seite nachgewiesen werden. Die größte in dieser Gruppe erreichte NA-Reduktion betrug 28,63% bei Schwein 11. Im Vergleich zu den Tieren 7-10 fällt der NA-Abfall damit trotz gleicher Injektatmenge deutlich geringer aus. Eine mögliche Erklärung ist die vergleichsweise niedrigere Konzentration des Alkohols. Durch die Mischung mit 2%igem Polyacryl im Verhältnis 7:3 bzw. 8:2 ergab sich bei den Tieren 11-14 eine Alkoholkonzentration von 66,5% und bei den Tieren 15 und 16 von 76%. Dagegen spricht, dass erfolgreiche Blockaden des Plexus coeliacus mit nur

## Diskussion

50%igem Ethanol beschrieben worden sind.<sup>123,125,150,151</sup> Eine andere Erklärung wäre, dass durch die erhöhte Viskosität und damit schlechtere Verteilung des Alkohols weniger Nerven vom Injektat erreicht wurden. Andererseits konnte eine Diffusion vom Nierenarterienostium in Richtung des Ureters und die infolgedessen resultierende Hydronephrose bei Schwein 15 durch das visköser Injektat nicht verhindert werden. Die Haftung des Alkohols an der Nierenarterie durch Zugabe von Polyacryl ist demnach geringer, als es von den postinterventionellen MR-Aufnahmen anzunehmen war (Abb. 15, S. 54). Dadurch sollte jedoch auch die Umspülung der Nerven nicht wesentlich beeinträchtigt sein. Damit konform gehen die bei 3 von 5 Tieren dieser Gruppe gefunden Nervendegenerationen. Der Grund für den geringeren NA-Abfall bei den Tieren 11-16 bleibt unklar.

Kleinste Verletzungen der Niere, selbst ohne Beeinträchtigung der renalen Funktion, sind im Stande sowohl die zentrale als auch die renale afferente und efferente sympathische Aktivität zu erhöhen.<sup>152</sup> Durch die bereits eingangs erwähnte einseitige intrarenale Injektion von Phenol konnte eine über 4 Wochen anhaltende signifikante Erhöhung des Plasma-NA gegenüber scheinbehandelten Tieren nachgewiesen werden.<sup>62,153</sup> Darüber hinaus ließ sich ein Anstieg der elektro-neurographischen Aktivität postganglionärer renaler sympathischer Nervenfasern kurz nach Phenolinjektion von 28% auf der behandelten und von 14-15% auf der kontralateralen Seite beobachten. Da die RSNA und das renale NA miteinander korrelieren, ist auch ein vergleichsweise stärkerer Anstieg des renalen NA auf der behandelten Seite naheliegend. Die NA-Konzentrationen der Tiere 4, 7, 9 und 15 mit renaler Schädigung sind daher unter Vorbehalt zu betrachten. In Anbetracht der zuvor erwähnten Beobachtungen ist am ehesten davon auszugehen, dass die NA-Konzentrationen der behandelten Seite tendenziell überschätzt wurden und der NA-Abfall bei diesen Tieren demnach noch unterschätzt worden sein könnte.

Bei insgesamt 8 von 9 Tieren, bei denen ein NA-Abfall erreicht wurde, lag eine optimale Injektatdistribution (Score von 3) vor. Dagegen wiesen von den 6 Tieren ohne NA-Abfall nur 2 den bestmöglichen Distributionsscore von 3 Punkten auf, wobei eines dieser 2 Tiere zu den akut euthanasierten gehörte, sodass der fehlende NA-Abfall in erster Linie auf einen zu kurzen zeitlichen Abstand zur Intervention zurückzuführen ist. Die gesehenen NA-Abfälle korrelieren demnach mit dem Verteilungsgrad des Injektats bzw. der Effizienz der Denervierung. Eine bessere Verteilung bzw. ein höherer Distributionsscore konnte, wie zuvor erwähnt, durch eine Umstellung der Injektatmenge von 5 auf 10 ml erreicht werden. Allerdings ist hervorzuheben, dass bei nur einem Tier in der Gruppe mit 5 ml Substanzapplikation eine prozedurbedingte Komplikation auftrat, wohingegen sich alle weiteren UE, insbesondere beide Hydronephrosen, in der 10 ml-Gruppe befanden. Es ist folglich bei der Wahl der Injektionsmenge zwischen größerer Wirksam-

keit und höherer Nebenwirkungsrate abzuwägen. Andererseits zeigen Studien zur Plexus coeliacus-Blockade, dass sogar eine Applikation von 40-60 ml Alkohol ohne größere Komplikationen möglich ist. Die Häufigkeit der Major-Komplikationen liegt hierbei unter 2%.<sup>125</sup> Allerdings befindet sich der Plexus coeliacus medialer als das Nierenarterienostium, somit ist die Distanz zu Niere bzw. Ureter größer. Da die Umschaltung auf die postganglionären sympathischen Fasern im Plexus coeliacus erfolgt (siehe Kap. 1.7, S. 12), würde eine Applikation des Alkohols an dieser Stelle mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls den gewünschten blutdrucksenkenden Effekt erzielen. Dadurch könnten ähnlich große Injektatmengen wie zur Blockade des Plexus coeliacus verwendet und damit die Wirksamkeit bei gleichbleibender oder sogar geringerer Komplikationsrate durch ausgedehntere Umspülung der Nervenfasern weiter erhöht werden.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde der Einfluss des Ablationsortes auf die Effektivität der Denervation über Bestimmung des prozentualen NA-Abfalls an 14 Schweinen untersucht.<sup>154</sup> Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt mit Denervation mittels RFA im proximalen, mittleren oder distalen Abschnitt der Nierenarterie. Es zeigte sich eine nach distal zunehmenden Effizienz der Denervation mit NA-Reduktionen von jeweils 12, 45 und 74%. Demnach könnte die Applikation des Alkohols auf Höhe des Plexus coeliacus trotz Einsetzbarkeit größerer Injektatmengen einen niedrigeren NA-Abfall zur Folge haben. Die Autoren führten dieses Ergebnis u. a. auf eine im Verlauf der Nierenarterie abnehmende Distanz der Nervenfasern zur Intimaoberfläche zurück.<sup>154</sup> Die Arterienwand ist während der Anwendung der RFA der größten Hitze ausgesetzt, wohingegen die Temperatur mit zunehmender Entfernung zur Elektrode abnimmt bei einer mittleren Läsionstiefe von durchschnittlich 2,2 mm mit dem Symplicity-Katheter.<sup>155-157</sup> Insbesondere die Wirksamkeit der RFA, aber auch anderer endoluminaler Verfahren könnte dadurch in dem mit dem Katheter am besten zugänglichen proximalen Bereich der Nierenarterie auf Grund des größten Nerven-Intima-Abstands eingeschränkt sein. Perkutane Verfahren, wie das hier beschriebene, sind durch die extravaskuläre Anwendung hingegen nicht von der Distanz der Nervenfasern zur Intima abhängig und können auch weit entfernt liegende Nerven erreichen (siehe Kapitel 4.7). In diesem Punkt sind perkutane Verfahren den vaskulären somit potentiell überlegen.

Eine andere Erklärung für die ungleichen NA-Reduktionen in vorgenannter Studie<sup>154</sup> stellt die unterschiedlich starke Ausprägung der Gefäßwand dar. Die Nierenarterie ist besonders im Bereich des Ostiums durch eine kräftige Media gekennzeichnet, die in Richtung Niere an Dicke abnimmt. Auch hierdurch könnte die Energieabgabe der RFA beeinträchtigt werden, die Effektivität perkutaner Verfahren bleibt hingegen unbeeinflusst. Weitere Gründe, die beide Verfahren gleichermaßen betreffen, sind der deutlich größere Nervendurchmesser sowie die inhomogene

## Diskussion

Verteilung von Nervenfasern und Ganglien im proximalen Bereich der Nierenarterie.<sup>154</sup> Darüber hinaus werden auch die äußeren Gefäßschichten, vorzugsweise die Tunica media, sympathisch durch die renalen Nervenfasern als sog. Nervi vasorum innerviert. Nahe des Nierenarterienostiums ist der Anteil dieser Nerven hoch und nimmt nach distal ab. Je weiter sich die Nierenarterie der Niere annähert, desto wahrscheinlicher ist es, dass die Nerven die Niere statt Teile der Gefäßwand innervieren.<sup>154</sup> Sollte sich die Verlagerung des Denervationszentrums nach distal in künftigen Studien als effizienter herausstellen, könnten sich sowohl für die endovaskulären als auch die perkutanen Verfahren folgende entscheidende Limitationen ergeben: Mit dem Katheter sind sehr weit distal gelegene, kleinlumige Gefäßäste nicht zugänglich, zugleich steigt mit einem geringeren Gefäßdurchmesser das Risiko für Stenosen und Thrombosen. Bei Durchführung der perkutanen Injektion im distalen Bereich der Nierenarterie ist indes mit einer Zunahme renaler Komplikationen (u.a. oberflächliche Adhäsionen, Hydronephrose) zu rechnen.

Zusammenfassend ist anzumerken, dass

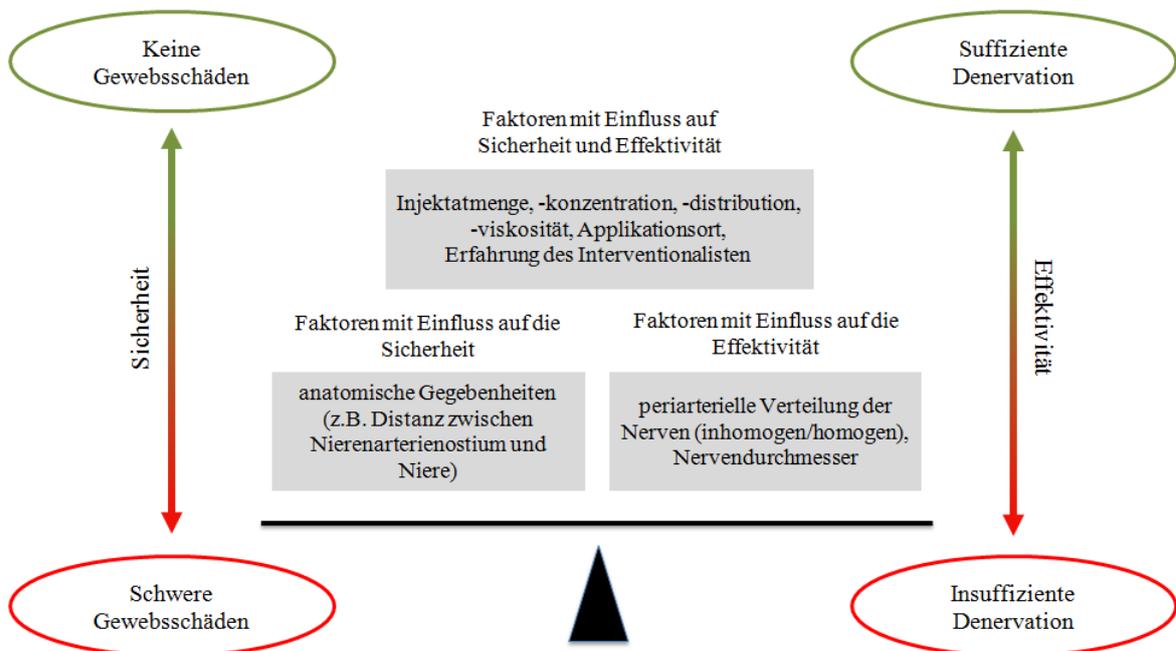


Abb. 37: Einflüsse auf Sicherheit und Effektivität, angelehnt an Sakakura et al.<sup>158</sup>

Konzentration, Menge, Verteilung, Viskosität und der Applikationsort des Injektats einen entscheidenden Einfluss auf Sicherheit wie auch Effektivität der Denervation ausüben (siehe Abb. 37). Bei Veränderung einer der genannten Parameter kann sich das Gleichgewicht zu Ungunsten der Sicherheit oder Wirksamkeit verändern. Zukünftige Studien sollten sich u. a. der Aufgabe widmen, durch Variation dieser Einflussgrößen eine Balance zwischen möglichst starkem NA-Abfall, d.h. effektiver Denervation, und geringen Gewebeschäden zu erzielen.

Zwar ist der exakte quantitative Zusammenhang zwischen der NA-Reduktion und dem Blutdruckabfall bisher unbekannt, es ist aber davon auszugehen, dass sich beide Größen proportional

zueinander verhalten.<sup>154</sup> Damit in Einklang stehen die Resultate von Kassab et al.<sup>159</sup>: Durch chirurgische Denervation an 7 Hunden konnte ein mehr als 90%iger Abfall des NA erreicht werden. Die Hunde wurden anschließend über 5 Wochen einer fettreichen Ernährung ausgesetzt, dabei blieb ein Blutdruckanstieg in der Denervationsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nahezu vollständig aus. Es ist demzufolge sehr wahrscheinlich, dass der beobachtete über 50%ige NA-Abfall der Tiere 7-10 im Vergleich zu dem 47%igen Abfall der Symplicity-Studien einen ähnlichen Blutdruckabfall an hypertensiven Patienten wie die RFA erzeugen kann. Ferner wird diese Annahme durch den nachgewiesenen signifikanten Blutdruckabfall nach einer ersten Anwendung im Menschen der perkutanen Ethanol-Injektion von Streitparth et al.<sup>128</sup> und einer Phase II-Studie von Ricke et al.<sup>129</sup> gestützt.

### 4.7 Histologische Auswertung

Von den in dieser Arbeit untersuchten Outcome Parametern einer erfolgreichen renalen Denervation liefert die NA-Messung das sensitivste Ergebnis. Im Vergleich dazu fällt die Sensitivität der histopathologischen Auswertung geringer aus, d.h. nicht bei jeder erfolgreichen Denervation auch histopathologische Veränderungen festzustellen sind, allerdings liegt die Spezifität im Gegensatz zur NA-Auswertung höher. Während bei der NA-Messung kleinere Schwankungen des NA-Gehalts beider Nieren auch durch zufallsbedingte Streuung verursacht werden können, ohne dass ein tatsächlicher Effekt durch die Behandlung erzielt wurde, ist die Wirkung der Denervation bei histopathologischem Nachweis neuraler Degenerationen annähernd gesichert. Zwar können milde neurale Verletzungen und Entzündungen auch bei unbehandelten Tieren gefunden werden sowie schnittartefaktbedingte Veränderungen des Endoneuriums Anzeichen einer Nervenschädigung in Folge Denervierung vortäuschen, allerdings lässt sich durch Untersuchung des Nervs auf die verschiedenen Zeichen der Nervendegeneration sowie des umliegenden Gewebes auf Alkohol-assoziierte Begleiterscheinungen wie Kollagendestruktion und Leukozytenansammlungen, eine echte Nervendestruktion nach Alkoholapplikation in der Mehrheit der Fälle sicher von einer artefaktbedingten oder unspezifischen Entzündung differenzieren. Der Nachweis von Digestionskammern, ausgeprägter Vakuolisierung, peri- und endoneurale Fibrosierungen und Nekrose gilt als nahezu beweisend für eine erfolgreiche Denervierung.<sup>131</sup>

Analog zu den NA-Auswertungen sollte durch die histologische Untersuchung der akut euthanasierten Tiere 3 und 4 der zeitliche Verlauf der neuralen Degenerationen dargestellt und anschließend der Euthanasiezeitpunkt für die folgenden Tiere bestimmt werden. Da bei Tier 4 lediglich auf einem Schnitt ein geschädigter Faszikel nachweisbar war und in Anbetracht des fehlenden NA-Abfalls bei diesen Tieren wurde der Euthanasiezeitpunkt, wie oben erwähnt, bei den Folge-

## Diskussion

versuche auf 4 Wochen festgelegt. Dennoch ist damit belegt, dass 2 Stunden nach der Intervention bereits histopathologische Veränderungen auftreten können. Eine mögliche Erklärung für den zum gleichen Zeitpunkt noch fehlenden NA-Abfall ist, dass die präsynaptischen Speicher noch nicht vollständig entleert sind und diese trotz axonalen Schadens weiterhin NA freisetzen können. Eine reaktive Freisetzung des NA aus der Präsynapse als Antwort auf einen Reiz, z.B. durch Verletzung des Axons, wäre ebenfalls denkbar. Ein ähnliches Resultat wurde in einer Studie zur RFA erzielt: Zum Zeitpunkt von 45 min nach Denervation waren noch keine histologischen Veränderungen zu beobachten. Erst 4-6 Stunden nach der Behandlung konnten Faszikelnekrosen und -vakuolisierungen gefunden werden.<sup>160</sup>

In der vorliegenden Arbeit konnten bei insgesamt 7 der 15 Tiere (47%) neurale Degenerationen als primärer Outcome Parameter nachgewiesen werden. Von diesen 7 Tieren wurden bei 6 10 ml und nur bei einem Tier 5 ml Ethanol eingesetzt. Bei allen Tieren mit positivem histopathologischem Befund lag ein Distributionsscore von 2 oder höher vor. Darüber hinaus ließ sich bei 5 Tieren ein NA-Abfall feststellen, lediglich bei Schwein 4 und 16 konnte trotz Darstellung neuraler Degenerationen keine Reduktion der NA-Konzentration auf der behandelten Seite beobachtet werden. Die histopathologischen Ergebnisse korrelieren folglich mit der Injektatmenge sowie -verteilung und der NA-Konzentration. Als Erklärung für den fehlenden NA-Abfall bei dem akut euthanasierten Schwein 4 sind die oben erwähnten Zusammenhänge zu dem verzögerten Auftreten eines NA-Abfalls und dem Euthanasiezeitpunkt heranzuziehen. Da bei Nachweis neuraler Degenerationen, sofern eine angemessene zeitliche Differenz zur Intervention vorliegt, die sensitivere NA-Messung ebenfalls positiv ausfallen sollte, ist das Ergebnis bei Schwein 16 nur durch frühzeitigen Abbau des NA in Folge zu später Kühlung oder eine ungenügende Homogenisierung zu begründen. Wie unter Punkt 4.6 erwähnt, besteht NA nur über einen äußerst kurzen Zeitraum im Körper, weswegen eine schnelle Organentnahme von großer Wichtigkeit ist.

Mit 47% liegt der Anteil der positiven histopathologischen Ergebnisse dieser Arbeit bezogen auf die Gesamttieranzahl unter dem vergleichbarer Studien: In einer präklinischen Studie von Rip-py et al.<sup>161</sup> an 7 Schweinen zur unilateralen renalen Denervation unter Verwendung des Symplicity-Katheters ließen sich bei allen behandelten Tieren histologisch Nervendegenerationen nachweisen. Die Arbeitsgruppe von Firouznia et al.<sup>117</sup> konnte nach Sympathikolyse durch CT-gesteuerte perkutane periarterielle Ethanol-Injektion an 6 Schafen ebenfalls bei allen Tieren neurale Schädigungen feststellen (siehe Tab. 3, S. 24). Ferner zeigte nur ein Tier bei lediglich 34% der Nerven (10 von 29 Nerven) milde perineurale Fibrosierungen und milde endoneurale Vakuolisierungen von Grad 2 (ermittelt nach dem Bewertungsschema von Sakakura et al.<sup>131</sup>). Die restlichen 5 Tiere wiesen perineurale Fibrosierungen von Grad 3 bei über 50% aller Nerven (90 von

## Diskussion

173 Nerven) auf. Bei 3 der 5 Tiere konnten darüber hinaus auch endoneurale Veränderungen von Grad 3 verzeichnet werden. In dieser Versuchsreihe lag das Verhältnis von geschädigten Nerven zur Gesamtanzahl der Nerven bei den 7 Tieren mit positivem histopathologischem Befund hingegen im Mittel bei 19,94% (2,27-60%, siehe Tab. 15, S. 62), wobei einige Tiere lediglich peri- und endoneurale Schädigungen von Grad 1 aufwiesen. In der ebenfalls mit Ethanol durchgeführten Denervation durch den Peregrine-Katheter von Fischell et al.<sup>101,116</sup> wurden keine Angaben zu der Häufigkeit der gesehenen neuralen Degenerationen gemacht.

Bei der perkutanen Denervation von Firouznia et al.<sup>117</sup> erfolgte identisch zu dieser Arbeit die Applikation des Alkohols von dorsolateral über die Flanke des Versuchstiers an das Nierenarterienostium. Die eingesetzte Alkoholmenge lag, wie in dieser Arbeit, bei 10 ml und die Konzentration des Alkohols bei 99,6% (hier wurde stattdessen 95%iger Alkohol verwendet). Ausgenommen der Tiere 1-6 stimmen mit der Menge, dem Applikationsort und einem vernachlässigbar geringen Unterschied in der Konzentration des Alkohols die entscheidenden Parameter einer suffizienten Denervation in beiden Arbeiten überein (siehe Abb. 37, S. 92). Bei Firouznia et al.<sup>117</sup> wurde die Intervention an 6-7 Monate alten Schafen mit einem Gewicht zwischen 26 und 33 kg durchgeführt. Größe und Gewicht dieser Tiere sind demzufolge mit den hier untersuchten Schweinen vergleichbar. Die Euthanasie erfolgte, wie in dieser Arbeit, nach ca. einem Monat. Auf Grund des ähnlichen Versuchsaufbaus wäre auch ein vergleichbares histologisches Resultat zu erwarten. Allerdings ist hervorzuheben, dass in der Gruppe der Tiere 7-10 mit Injektion 10 ml 95%igen Alkohols 3 der 4 Tiere (75%) Nervendegenerationen aufwiesen. Weiterhin zeigte sich in dieser Gruppe eine signifikant verminderte Nervenanzahl der behandelten gegenüber der unbehandelten Seite. Diese Beobachtung steht in Einklang mit den NA-Messungen, bei denen die Tiere 7-10 mit 54,86% den größten NA-Abfall zeigten (bei Firouznia et al. betrug der NA-Abfall vergleichsweise 40%). Entsprechend sind die unter 4.6 erwähnten Erklärungsansätze zu der NA-Auswertung ebenso für die abweichenden histologischen Ergebnisse der Tiere 1-6 und 11-16 heranzuziehen. Mögliche weitere Gründe für die über alle Tiere gesehene geringere Anzahl an Nervendegenerationen im Vergleich zu Rippy und Firouznia et al.<sup>117,161</sup>, auf die im Folgenden kurz eingegangen werden soll, sind die niedrigere Sensitivität der histologischen Untersuchung gegenüber der NA-Messung, ein vollständiger Untergang der Faszikel mit fehlender histologischer Nachweisbarkeit der Nerven und eine im zeitlichen Verlauf abnehmende Schädigung der Nerven: Ursächlich für die eingeschränkte Sensitivität ist, dass die angefertigten histologischen Schnitte lediglich Teilausschnitte der A. renalis präsentieren. Die in die Paraffin-Blöcke eingebetteten Nierenarterienstücke hatten eine Länge von ca. 1,5 cm. Von jedem dieser Blöcke wurden jeweils 3-8 Schnitte von je 5 µm Dicke für die hier verwendeten Färbungen angefertigt.

## Diskussion

Demzufolge ist es möglich, dass in den Schnitten, die von einem Paraffinblock angefertigt wurden, keine Nervendegenerationen gefunden wurden, obwohl pathologische Veränderungen in dem jeweiligen Block vorhanden waren. Jeder Paraffinblock hätte komplett untersucht und jeder der Schnitte gefärbt werden müssen, um mit Sicherheit nervale Veränderungen auszuschließen.

Ferner wäre vorstellbar, dass die Nervenfaszikel nach massivster Schädigung bis zur Unkenntlichkeit zerstört wurden. Für diese Annahme spricht, dass bei den meisten Tieren die Nervenanzahl auf der behandelten im Vergleich zur unbehandelten Seite geringer und im Fall von Tier 7-16 sogar signifikant vermindert war. Weiterhin erschwerte die z. T. starke Gewebeschädigung das Auffinden der Faszikel. Bei den 8 Tieren ohne nachweisbare neurale Schädigung könnten Nerven demnach derart zerstört gewesen sein, dass sie bei der histologischen Untersuchung übersehen und das Ausmaß der Schädigung somit unterschätzt wurde. In Anbetracht der Ergebnisse der NA-Auswertung ist davon allerdings nicht auszugehen.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie von Sakakura et al.<sup>162</sup> wurden das Ausmaß der Nervendegeneration sowie der arteriellen und periarteriellen Schädigung nach Denervation durch den Symplicity-Katheter über 4 verschiedene Zeitpunkte an 28 Schweinen untersucht. Die Euthanasie erfolgte an Tag 7, 30, 60 oder 180 nach Intervention. Sowohl der Schädigungsgrad der Nerven als auch der arteriellen Gefäßwandschichten und des an die A. renalis angrenzenden Gewebes waren an Tag 7 nach Intervention am größten und nahmen mit zunehmender Zeit zur Denervation ab. Die Anzahl funktionell intakter sympathischer Axone, ermittelt durch eine Antikörperfärbung gegen Tyrosin-Hydroxylase (TH), war an Tag 7 und 30 am niedrigsten und an Tag 180 am größten. Fokale Nervenregenerationen konnten bei 17% der behandelten Nierenarterien an Tag 60 und bei 71% der denervierten Nierenarterien an Tag 180 gefunden werden. Histologisch zeichneten sich die Nervenregenerationen durch eine Ansammlung multipler kleiner, ungeordneter Proliferationen von Axonen aus, welche von Schwann-Zellen und teilweise auch Makrophagen umgeben wurden.

Bereits einsetzende Heilungsprozesse können somit für die geringere Anzahl an positiven histopathologischen Ergebnissen gegenüber anderen Studien verantwortlich sein. Allerdings erfolgte die Euthanasie bei Firouznia et al.<sup>117</sup> nach einem ähnlichen Zeitraum und bei Rippy et al.<sup>161</sup> sogar erst nach 6 Monaten, eine beginnende Nervenregeneration wäre hier demnach ebenfalls zu erwarten. Dennoch konnten auch in anderen Studien Hinweise auf eine Reinnervation nach erfolgter Denervation gefunden werden. In einer Arbeit von Mulder et al.<sup>163</sup> wurde die Reinnervation in 17 Ratten nach unilateraler Denervierung durch Beträufelung der Nierenarterie mit 10%igem Phenol und zusätzlich chirurgischer Durchtrennung einzelner Nerven untersucht. Der Euthanasiezeitpunkt variierte zwischen einem Tag und 12 Wochen nach dem Eingriff. Die Ner-

## Diskussion

venregeneration wurde anhand der optischen Dichte der renalen Nerven durch immunologische Färbungen gegen Marker der sympathischen (TH und Neuropeptid Y) und sensorischen Fasern (Substanz P und Calcitonin Gene-Related Peptid (CGRP)) ermittelt. Innerhalb weniger Tage nach der Behandlung fiel die optische Dichte aller Marker als Zeichen einer suffizienten Denervation auf unter 20% gegenüber der unbehandelten kontralateralen Nierenarterie ab. Anschließend ließ sich eine kontinuierliche Zunahme der optischen Dichte aller Marker feststellen. Nach 9-12 Wochen ergab sich sowohl für die Marker der sympathischen als auch die der sensorischen Fasern kein Unterschied in der optischen Dichte zwischen behandelter und unbehandelter Seite. Es ist folglich anzunehmen, dass die Reinnervation afferenter und efferenter renaler Nerven in Ratten innerhalb von 12 Wochen abgeschlossen ist.

Ähnliches zeigte sich in einer Studie von Booth et al.<sup>164</sup> nach einseitiger Denervation durch den Symplicity Flex Katheter in Schafen. Die Euthanasie erfolgte 1 Woche, 5,5 und 11 Monate nach der Intervention, zusätzlich existierte eine Kontrollgruppe ohne Behandlung. Zur Beurteilung der Nervenregeneration wurden die RSNA, der NA-Gehalt der Nieren sowie immunologische Färbungen gegen TH und CGRP untersucht. Ferner wurden Veränderungen des mittleren arteriellen Drucks (MAP), der Herzfrequenz (HF), des renalen Blutflusses (RBF) und des renal vaskulären Widerstands (RVC) nach elektrischer Stimulation der renalen Nerven ermittelt. Eine Woche nach der Denervation war keine RSNA zu verzeichnen. Ebenso blieben nach Stimulation der renalen Nerven MAP, HF, RBF und RVC im Gegensatz zu den Kontrolltieren unverändert. Der NA-Gehalt lag zwischen 13,5 und 20,1% gegenüber der kontralateralen Niere und die histologische Untersuchung bestätigte auf der behandelten Seite eine signifikant verminderte Menge von TH und CGRP. Nach 5,5 Monaten normalisierten sich die untersuchten Parameter und stellten sich nach 11 Monaten vollständig unauffällig dar. Die Reinnervation erfolgte hier somit zu einem deutlich späteren Zeitpunkt als in der vorgenannten Studie. Neben anderen Faktoren scheint die Tierart demzufolge einen entscheidenden Einfluss auf den Regenerationszeitpunkt auszuüben. Inwieweit diese Ergebnisse daher auf die hier untersuchten Schweine oder sogar Menschen übertragbar sind, bleibt bisher unklar. Allerdings deuten Studien zur Nierentransplantation darauf hin, dass eine Reinnervation der Niere im Menschen ebenfalls möglich ist. So konnten 28 Tage nach Implantation einer Spenderniere erste proliferierende Axone distal der arteriellen Anastomose und nach 8 Monaten eine deutlich fortgeschrittene Reinnervation festgestellt werden.<sup>163,165</sup> Solche Ansammlungen regenerierender Neurone wurden in keinem der in dieser Arbeit untersuchten Tiere gefunden, möglicherweise war die gewählte Zeitspanne zwischen Intervention jedoch zu kurz. Mit diesen neuen Erkenntnissen und insbesondere nach der Veröffentlichung der HNT-3-Studie ist die Langzeitwirkung der Denervation in Frage zu stellen.

## Diskussion

Neben den bereits genannten und makroskopisch sichtbaren Verletzungen von Niere und Ureter zeigten sich in der Mikroskopie z.T. ausgeprägte Destruktionen des Binde- und Fettgewebes um die Nierenarterie und Infiltrationen durch Entzündungszellen. Dennoch fand sich einzig bei Tier 8 eine Schädigung der Adventitia und der äußeren Schichten der Media, die Intima blieb unverletzt. Bei allen anderen Tieren stellten sich die inneren Gefäßwandschichten der A. renalis unauffällig dar. Darüber hinaus wurden in keinem Fall Thrombosen oder Gefäßstenosen beobachtet.

Die Denervation durch RFA gilt als sicheres und risikoarmes Verfahren, dennoch konnten in einigen Studien Verletzungen der Gefäßwand in Folge der starken Erhitzung gefunden werden. In der oben genannten Arbeit von Rippy et al.<sup>161</sup> an Schweinen wurden in einigen histologischen Schnitten milde bis moderate thermische Läsionen der Nierenarterie mit einer Beteiligung von Media, Membrana elastica externa (MEE) und/ oder Adventitia zwischen 10 und 25% gesehen.<sup>161</sup> Die Schädigungen äußerten sich in einer partiellen oder transmuralen Fibrosierung von Media bzw. Adventitia und einer leichten bis mittelgradigen Disruption der MEE. Weiterhin konnten in allen behandelten Nierenarterien minimale intimale Verdickungen und geringfügige Kontinuitätsunterbrechungen der Membrana elastica interna vorgefunden werden. Die Endothelialisierung war in sämtlichen untersuchten Schnitten erhalten, Stenosen oder Thrombosen wurden nicht gefunden.

In der bereits erwähnten präklinischen Arbeit von Steigerwald et al.<sup>143</sup> zur renalen Denervation durch RFA mit 2 unterschiedlichen Euthanasiezeitpunkten (45 min und 10 Tage nach Intervention) konnten ebenfalls signifikante histopathologische Veränderungen festgestellt werden. Die histologische Untersuchung der Nierenarterien der akut euthanasierten Tiere ergab einen Verlust der endothelialen Zellschichten von über 25% auf der behandelten Seite. In den Bereichen mit fehlender Endothelialisierung waren Ansammlungen thrombotischen Materials zu beobachten. Darüber hinaus zeigten sich ödematöse Schwellungen und eine reduzierte Zelldichte in der Media sowie Koagulationen des Bindegewebes und ein Zellschwund in der Adventitia. Die Histopathologie der subakut euthanasierten Tiere deutete auf einen bereits fortgeschrittenen Heilungsprozess mit nahezu vollständiger Reendothelialisierung hin. Thromben ließen sich zu diesem Zeitpunkt nicht mehr nachweisen. Ferner fand sich eine Regeneration der Media mit lokaler sowie transmuraler Fibrose von durchschnittlich 11% des Gefäßumfangs. Innerhalb der Adventitia fanden sich eine inflammatorische Reaktion und beginnende Vaskulogenese.

Zusammenfassend konzentrieren sich Schädigungen durch die RFA mehr auf die Nierenarterie, wohingegen bei der perkutanen Denervation durch Alkohol vor allem das periarterielle Gewebe geschädigt wurde. Durch Läsionen des Gefäßes, insbesondere der Intima, besteht die Gefahr der Stenosen- und Thrombenbildung, die bei den perkutanen Verfahren somit geringer ausfällt.

## 4.8 Blutdruck

Für die Versuchsreihe wurden gesunde, normotensive Schweine ausgesucht. Wie zahlreiche Studien belegen, ist eine Reduktion des mittleren arteriellen Drucks nach renaler Denervation bei normotensiven Tieren nicht zu erwarten.<sup>149,166-168</sup> Zwischen RSNA und Blutdruck besteht eine positive Korrelation. Der Effekt der Denervation auf den Blutdruck fällt daher umso geringer aus, je näher sich dieser bereits vor Intervention am Zielbereich befindet. Trotz erfolgreicher Destruktion der renalen sympathischen Fasern kann eine Blutdrucksenkung entsprechend ausbleiben. Der Blutdruck weist somit von den untersuchten Faktoren die geringste Aussagekraft auf und wurde folglich als sekundärer Outcome Parameter definiert.

Ferner wurde lediglich eine unilaterale Denervation durchgeführt, wohingegen in klinischen Studien stets eine beidseitige Denervierung der sympathischen Nerven stattfindet. Die Vergleichbarkeit ist dementsprechend eingeschränkt. Eine Gegenregulation durch die noch intakten sympathischen Nervenfasern der kontralateralen Niere kann nicht ausgeschlossen werden.

Insgesamt konnte kein signifikanter Abfall des Blutdrucks beobachtet werden. Präinterventionell ergab sich für die Tiere 1-16 ein Blutdruck von 91/43 mmHg, postinterventionell von 102/48 mmHg und präfinal für die Tiere 7-16 von 95/42 mmHg. Der leichte Anstieg des Blutdrucks prä gegenüber post interventionem ist am ehesten auf eine intraprozedurale stressbedingte Katecholaminausschüttung zurückzuführen. Analog zu der NA-Messung und der histologischen Auswertung konnte für die Tiere 7-10 das beste Ergebnis verzeichnet werden. Der Blutdruckabfall betrug in dieser Gruppe 19/12 mmHg (einer Reduktion um 16 bzw. 20% entsprechend). Für die Symplicity HTN-1-Studie ergab sich nach einem Monat ein Blutdruckabfall von 14/10 mmHg und für die Symplicity HTN-2-Studie von 20/7 mmHg. Für die HTN-3-Studie liegen keine Einmonatsdaten vor, zum Zeitpunkt von 6 Monaten betrug die Blutdrucksenkung 14/7 mmHg. Trotz des unilateralen Vorgehens und der normotensiven Tiere ist das Ergebnis dieser Arbeit damit durchaus als gleichwertig anzusehen. Die fehlende Signifikanz in dieser Gruppe lässt sich durch die geringe Tieranzahl von lediglich 4 erklären. Bei einer Anwendung im Menschen mit vorliegender resistenter Hypertonie ist tendenziell mit einem noch größeren Blutdruckabfall zu rechnen, wie auch die First-in-man-Studie von Streitparth et al.<sup>128</sup> bestätigte: Die Blutdruckreduktion betrug nach einem Monat 29/14 mmHg und übertrifft damit deutlich die Einmonatsresultate der Symplicity-Studien. Die Messungen der Phase II Pilot-Studie von Ricke et al.<sup>129</sup> reihen sich hier mit einem Blutdruckabfall von 30 mmHg systolisch nach einem Monat ebenfalls ein, dennoch haben sich diese Ergebnisse in einer größeren Studienpopulation erst noch unter Beweis zu stellen. Als weitere Einschränkung ist zu nennen, dass die 24-h-

## Diskussion

Blutdruckmessung mit einer höheren Validität gegenüber der einmaligen Blutdruckmessung an den Tieren nicht durchführbar war. Die Resultate von Streitparth<sup>128</sup> bzw. Ricke et al.<sup>129</sup> mit 19/11 mmHg (gemittelt aus Tag- und Nachtwerten nach einem Monat) bzw. 15 mmHg systolisch (nach 6 Monaten) deuten jedoch darauf hin, dass auch hier eine Gleichwertigkeit oder ggf. sogar Überlegenheit im Vergleich zu den Symplicity-Studien mit 11 mmHg systolisch (HTN-1<sup>81</sup> nach 12 Monaten), 11/7 mmHg (HTN-2<sup>84</sup> nach 6 Monaten) und 7 mmHg systolisch (HTN-3<sup>87</sup> nach 6 Monaten) besteht.

Hervorzuheben ist weiterhin, dass die Blutdruckwerte zu allen drei Zeitpunkten deutlich unterhalb des Normbereichs lagen. Die Tiere befanden sich während aller Blutdruckmessungen in Allgemeinanästhesie. Sowohl von dem initial zur Sedierung verabreichten Midazolam als auch dem zur Narkoseeinleitung und –aufrechterhaltung verwendeten Propofol wurden blutdrucksenkende Eigenschaften in der Literatur beschrieben. Die Abnahme des arteriellen Blutdrucks durch Propofol beruht auf einer Vasodilatation, einer Reduktion der RSNA, einer Suppression der Neurone in der RVLM und einer Desensibilisierung des Baroreflexes bei unveränderter oder, nach größeren Propofol-Gaben, abnehmender Herzfrequenz.<sup>169-171</sup> In einer Studie von Krassioukov et al.<sup>170</sup> an Ratten wurde die kontinuierliche Infusion von 4 verschiedenen Propofoldosen zwischen 22 und 102 mg · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup> über einen Zeitraum von 35 min untersucht. Der Blutdruckabfall bei der höchsten gewählten Menge betrug 49 mmHg. In einer anderen Arbeit an 7 männlichen Patienten konnte bei der einer Propofolinfusion von 200 µg · kg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup> über 25 min eine Reduktion des mittleren arteriellen Drucks um 19 ± 4 mmHg verzeichnet werden.<sup>171</sup>

Midazolam bewirkt über das zentrale autonome Nervensystem und vermutlich auch über postganglionäre Neurone ebenfalls eine Vasodilatation. Weiterhin sind Endothel-abhängige und Endothel-unabhängige Mechanismen über die NO-Synthase bzw. über spannungsgetriggerte Calcium-Kanäle an der Vasodilatation beteiligt.<sup>172</sup> In einer Studie an 20 Schweinen konnte ein systolischer sowie diastolischer Blutdruckabfall von ca. 10 mmHg nach Bolusgabe von 0,5 mg Midazolam/kg festgestellt werden.<sup>173</sup> Beide Medikamente sind somit im Stande, eine beträchtliche Blutdruckreduktion hervorzurufen und sehr wahrscheinlich zumindest teils für die niedrigen Messergebnisse ursächlich.

In Anbetracht der deutlich höheren präinterventionellen systolischen Blutdruckwerte, die in einer Parallelstudie zur renalen Denervation durch den HIFUS festgestellt wurden, kann eine fehlerhafte Messung ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Die Messungen in der HIFUS-Studie ergaben vor dem Eingriff einen durchschnittlichen Blutdruck von 122/52 mmHg.<sup>148</sup> Die Herkunft der Tiere und das Narkoseprotokoll waren in beiden Arbeiten identisch, allerdings kam in der Alkohol-Studie eine Blutdruckmanschette für Erwachsene und in der HIFUS-Studie eine

kleinere Blutdruckmanschette für Kinder zur Anwendung. Dennoch ist davon auszugehen, dass die Relationen der 3 Blutdruckmessungen zueinander selbst bei Verwendung einer zu großen Blutdruckmanschette erhalten bleiben und damit auch die Beurteilbarkeit dieser Werte. Im Vergleich dazu ist es vorstellbar, dass durch eine unterschiedliche Narkosetiefe prä- und postinterventionell auch die Relationen der Blutdruckwerte zueinander verfälscht werden und die Messungen folglich an Aussagekraft verlieren.

### **4.9 Prozedurale Parameter, Wirtschaftlichkeit und Kontraindikationen**

Im Fokus der vorhergehenden Abschnitte standen insbesondere die Effizienz und die Sicherheit der renalen perkutanen Denervation durch Alkohol und die Gegenüberstellung mit der RFA als derzeitiger Standardtherapie. Nachfolgend sollen technische und wirtschaftliche Aspekte sowie Kontraindikationen der RFA und der perkutanen Denervation in einem abschließenden Vergleich näher dargestellt werden.

Wie aktuelle Studien zeigen, weist die RFA einige technische Limitationen auf, die die Wirksamkeit der Therapie entscheidend beeinflussen könnten: Bei diesem Hochfrequenzstrom-Verfahren werden nur direkt der Katheterspitze anliegende Gefäßareale ausreichend erhitzt. Durch den starken Temperaturabfall distal des Applikators bzw. des Anwendungsbereiches können weiter peripher liegende Nerven eventuell nicht erreicht werden. Die Folge sind Non-Responder oder eine unzureichende Blutdruckreduktion.<sup>116</sup> In einer kürzlich veröffentlichten histologischen Untersuchung am Menschen wurde die maximal nachweisbare Reichweite der RFA mit 2 mm von der Intimaoberfläche aus angegeben.<sup>174</sup> Weiterhin zeigte das Schädigungsareal eine kuppelartige Form mit einer breiten Basis an der luminalen Seite und einer beträchtlichen Verjüngung in Richtung der nervenreichen Adventitia. Nach Sakakura et al.<sup>70</sup> befinden sich nur etwa 41% der Nerven innerhalb eines Radius von 2 mm um die Nierenarterie. Nach Perfusionsfixierung, welche im Gegensatz zur Immersionsfixierung einen besseren Gewebserhalt, geringere Artefakte wie Schrumpfung, Substanzverlust oder Spaltbildung und damit eine größere Aussagekraft ermöglicht, liegt der Anteil der Nerven im genannten Bereich sogar noch niedriger. Ausgehend von diesen Daten würden mehr als die Hälfte aller Nerven nicht von der RFA erreicht werden.<sup>70,101</sup> Das Patientenspektrum der renalen Denervation umfasst in der Regel langjährige resistente Hypertoniker, die häufig bereits Endorganschäden aufweisen. Insbesondere bei solchen Patienten ist die Distanz der Nerven zum Lumen durch vaskuläre Hyperplasien in Form von intimalen oder medialen Verdickungen auf Grund einer kontinuierlichen Schädigungen der Gefäße durch den hohen Blutdruck als noch größer einzuschätzen.<sup>174</sup> Die Ergebnisse präklinischer histologischer Untersuchungen an normotensiven Tieren mit unbeschädigten, dünnwandi-

## Diskussion

gen Nierenarterien zur Auswertung des Ausmaßes und der Reichweite der RFA aber auch anderer Verfahren sind daher als fraglich zu beurteilen. Ferner ist durch die nur punktuelle Ablation des RFA-Katheters die zirkumferentielle Erfassung von Nerven eingeschränkt.<sup>116</sup> Selbst bei den neueren Multi-Elektroden-Kathetern werden durch die umschriebenen Ablationspunkte große Teile des Gefäßdurchmessers ausgespart. Der Wirkungsbereich jedes Ablationspunktes weist einen Arkus von etwa 30-40° auf.<sup>101</sup> Ausgehend von einer Anzahl von durchschnittlich 4 Ablationspunkten pro Arterie in den Symplicity-Studien würde dies einen Einflussbereich von 120-160° des Gefäßumfangs bedeuten.<sup>58,83,87,101</sup> Durch beides zusammen, die geringe Reichweite und die mangelnde zirkumferentielle Abdeckung des Gefäßes, werden vermutlich in weniger als 20-30% der Fälle ausreichend Nerven erfasst.<sup>101</sup> Die große Anzahl an nicht affizierten Nerven kann folglich weiter zu einer Aufrechterhaltung der Sympathikusaktivität und damit des Bluthochdrucks beitragen. Dies wiederum resultiert in einer unzureichenden oder sogar gänzlich fehlenden Blutdrucksenkung, die fälschlicherweise als ein Nichtansprechen auf die Therapie interpretiert werden kann.

Bei der perkutanen Denervation durch Alkohol wird die höchste Konzentration des Neurolytikums in der Adventitia erreicht. Dies könnte einen entscheidenden Vorteil gegenüber der RFA bedeuten, da folglich nicht erst eine Distanz zwischen Applikations- und Zielort überbrückt werden muss, durch welche ein Wirksamkeitsverlust entstehen könnte. Im Mittel konnten histopathologisch Nervendegenerationen in einer Entfernung von 2,2 mm bis zu einer maximalen Distanz von 7,26 mm von der intimalen Oberfläche aus nachgewiesen werden. Schädigungen von Fett- und Bindegewebe durch den Alkohol wurden sogar in noch größerer Entfernung vorgefunden. Mit dem Symplicity-Flex-Katheter betrug die Läsionstiefe ex aequo durchschnittlich 2,2 mm.<sup>155-157</sup> Auch mit den folgenden, neueren Kathetersystemen, dem Symplicity-Spyral sowie dem EnligHTN-Katheter der 2. Generation, wurde diesbezüglich keine signifikante Steigerung erreicht (2,2 bzw. 2,3 mm).<sup>175</sup> Bei der ebenfalls Alkohol-basierten renalen Denervation durch den Peregrine-Katheter ließen sich neurale Schädigungen bis zu einer Distanz von 13,4 mm feststellen.<sup>101</sup> Da bei der perkutanen Denervation die Applikation des Alkohols von außen an das Gefäß erfolgt, ist anzunehmen, dass eine vergleichbare oder sogar größere Reichweite erzielt werden kann. In den postinterventionellen MRT-Aufnahmen konnte ferner eine größtenteils allseitige Umspülung der Nierenarterie nachgewiesen werden. Zwar zeigten sich histologisch Nervendegenerationen in nur ein oder zwei Quadranten, allerdings war die tatsächliche Gewebestruktion durch den Alkohol häufig auf weitaus mehr Quadranten ausgedehnt. Der fehlende Nachweis von Nervendegenerationen in diesen Quadranten könnte, wie bereits erwähnt, auf eine vollständige Zerstörung der Faszikel zurückzuführen sein. Die histologischen Schnitte von

## Diskussion

Schwein 8 (siehe Abb. 30) bestätigen, dass eine zirkumferentielle Sympathikolyse durch den Alkohol prinzipiell möglich ist. Durch Variation und Optimierung verschiedener prozeduraler Einflussgrößen, wie Injektatmenge und Applikationsort, könnten die Resultate weiter verbessert werden.

Eine Steigerung der Effektivität bei der RFA könnte sich hingegen durch die anatomischen Gegebenheiten als schwierig erweisen: In einer Post-hoc-Analyse der Symplicity HTN-3 Daten von Kandzari et al.<sup>176</sup> konnte gezeigt werden, dass der Abfall des systolischen Blutdrucks in der Praxismessung und der ABDM sowie die Herzfrequenzabnahme mit der Anzahl der Ablationen korrelieren. Patienten, die nur wenige Ablationen erhielten, wiesen häufig keinen Unterschied in der Blutruksenkung im Vergleich zur Sham-Gruppe auf. Erst ab 12 oder mehr Ablationspunkten konnte ein signifikanter Abfall des systolischen Blutdrucks in der Praxismessung bzw. der ABDM im Interventions- gegenüber dem Kontrollarm erreicht werden. Um eine so große Anzahl an Ablationen sicher durchführen zu können, ist eine Nierenarterie erforderlich, die über eine Länge von 4-5 cm einen Durchmesser  $> 4$  mm aufweist.<sup>101</sup> Insgesamt verfügen jedoch nur wenige Patienten über eine solche Nierenarterie. Die Anwendung der RFA in den weiter distal gelegenen Aufzweigungen der Nierenarterie erhöht auf Grund des deutlich schmaleren Gefäßdurchmessers die Gefahr von Stenosen um ein Vielfaches. Möglicherweise könnten Multi-Elektroden-Katheter durch die nah beieinanderliegenden zirkulären Ablationspunkte das Problem lösen. Neben sehr dünnen ( $< 4$  mm) stellen auch sehr kurze ( $< 20$  mm) Nierenarterien, starke Schlingelungen des Gefäßes sowie eine frühe Aufzweigung des Hauptstammes Kontraindikationen der RFA dar. Weitere Kontraindikationen sind eine erhöhte Blutungsgefahr, z.B. bei Thrombozytopenien, eine chronische renale Erkrankung, eine  $eGFR < 45$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> eine vorangegangene Intervention an der Nierenarterie, ein Nierenarterienaneurysma, eine schwere Stenosierung der Nierenarterie oder ein Aneurysma der Aorta abdominalis.<sup>177</sup>

Einschränkungen der perkutanen Denervation durch Alkohol existieren hingegen bislang nicht. Dieses Verfahren kann somit auch an den Patienten angewendet werden, die in Folge der oben genannten Gründe für eine Denervation durch die RFA nicht in Frage kommen würden. Ein weiterer Vorteil der perkutanen Anwendung ist, wie bereits kurz unter Punkt 4.7 erwähnt, dass die inneren Gefäßwandschichten nicht betroffen werden. Durch die fokalen thermalen Verletzungen der Intima, die während der RFA entstehen, ist das Risiko für thromboembolische Geschehen erhöht. Bei Verschleppung eines Thrombus kann dies in einem Niereninfarkt münden. Ferner können die Gewebsdestruktionen an den Applikationsorten eine intimale Hyperplasie oder ein Remodelling bewirken, welche wiederum in einer Stenose und einer erneuten Hypertonie resultieren können.<sup>116,128</sup> Die zweite Generation an RFA-Kathetern mit Multi-Elektroden-Systemen

## Diskussion

und die Anwendung von Ultraschallkathetern ermöglichen zwar eine verkürzte Behandlungszeit und geringere Schmerzen während der Prozedur, sind darüber hinaus aber nicht in der Lage, den intimalen oder medialen Kollateralschaden zu reduzieren.<sup>101</sup> Bei der perkutanen Denervation besteht durch die direkte Injektion in den periarteriellen Raum die Gefahr von Stenosen und Thrombosen nicht, da Intima und Media kaum bis gar nicht vom Alkohol erreicht werden. Durch die nicht-vaskuläre Anwendung entfallen zudem Katheter-assoziierte Schädigungen, beispielsweise Dissektionen der Gefäßwand oder Aneurysmen an der Punktionsstelle.

Während der Anwendung der RFA werden von vielen Patienten starke Schmerzen beklagt. Infolgedessen werden häufig hohe Dosen an Benzodiazepinen und Narkotika verabreicht, die insbesondere in Hinblick auf das eher ältere Patientenkollektiv zu einer respiratorischen Insuffizienz und verlängerten Hospitalisierungszeiten führen können.<sup>116</sup> Bei der perkutanen Denervation durch Alkohol kann das Auftreten von Schmerzen über zwei Wege reduziert werden: Zum einen ist die Schädigung lokalisierter mit Aussparung der inneren Gefäßwandschichten, zum anderen können langwirksame Lokalanästhetika wie Bupivacain vor der Applikation des Sympathikolytikums oder in einer Mischung mit dem Sympathikolytikum um die Nierenarterie injiziert werden. Eine Allgemeinanästhesie ist daher nicht erforderlich, ebenso kann auf die intravenöse Gabe von Analgetika und Benzodiazepinen verzichtet oder diese zumindest auf ein Minimum gesenkt werden. Auf Grund der tierexperimentellen Durchführung war eine Vollnarkose in dieser Arbeit unumgänglich. In der First-in-man-Studie zur perkutanen renalen Denervation durch Ethanol von Streitparth et al.<sup>128</sup> erfolgte lediglich die lokale Betäubung der Punktionsstelle durch Prilocain und die des Zielgebiets durch Bupivacain in einer Injektatmischung Ethanol:Bupivacain:KM von 7:2:1 ml. Der Patient blieb während des gesamten Eingriffs schmerzfrei.

Bei der renalen Denervation durch RFA, aber auch sämtlichen anderen Katheterverfahren wird zur Verhinderung potentieller thrombotischer Komplikationen eine Antikoagulation durchgeführt. Vor der Intervention werden hierzu 5000 IU Heparin verabreicht, im Anschluss erfolgt die einmal tägliche Gabe von 100 mg ASS.<sup>178</sup> Bei der perkutanen Denervation ist eine Antikoagulation nicht notwendig, somit entfällt auch das damit einhergehende Blutungsrisiko und die damit möglicherweise einhergehenden Komplikationen für die Patienten.

Weitere Nachteile der RFA sind die relativ hohe Strahlenbelastung und Kontrastmittelexposition: Während des Eingriffs sind sowohl der Patient als auch der Interventionalist über einen längeren Zeitraum gegenüber Röntgenstrahlen exponiert. Die Dauer der Intervention und damit auch die Strahlenbelastung bei der perkutanen Denervation sind im Vergleich zur RFA, wenn im CT durchgeführt, kürzer (siehe Punkt 4.3). Bei Durchführung im MRT, wie in dieser Arbeit,

## Diskussion

wird eine Strahlenbelastung sogar gänzlich vermieden. Durch die kürzere Behandlungszeit wird zudem die Belastung für den Patienten reduziert.

Zur Positionierung des RFA-Katheters in den Nierenarterien werden wiederholt große Mengen Kontrastmittels (KM) injiziert, die sich toxisch auf die Nierentubuluszellen auswirken und im schlimmsten Falle zu einer KM-induzierten Niereninsuffizienz führen können.<sup>116</sup> Bei der perkutanen Denervation erfolgt die Applikation deutlich geringerer KM-Mengen in den periarteriellen Raum. Bei Verwendung von T2w-Aufnahmen im MRT kann auf den Einsatz von KM sogar verzichtet werden kann. Damit eignet sich dieses Verfahren besonders für Patienten mit vorbestehender Nierenfunktionseinschränkung, die darüber hinaus häufig schmale Nierenarterien aufweisen, welche einen vaskulären Eingriff zusätzlich erschweren würden.<sup>128</sup>

Tab. 17: Übersichtsdaten zur RFA und perkutanen Denervation durch Alkohol

	Radiofrequenzablation	perkutane Ethanol-Injektion
<b>Blutdruckabfall</b>	1-Monatsdaten: <i>HTN-1</i> : 14/10 mmHg, <i>HTN-2</i> : 20/7 mmHg, 6-Monatsdaten: <i>HTN-3</i> : 14/7 mmHg	<i>Tiere 7-10</i> : 19/12 mmHg
<b>NA-Abfall</b>	Durchschnitt von 10 Patienten der HNT-1: 47%	<i>Tiere 7-10</i> : 54,86%
<b>Unerwünschte Ereignisse</b>	<i>HNT-1</i> : 1/45 Pseudoaneurysma, 1/45 Nierenarterien-dissektion <i>HTN-2</i> : 1/52 Pseudoaneurysma, 7/52 Bradykardien, 1/52 Rückenschmerzen, 1/52 Blutdruckabfall, 1/52 Parästhesien <i>HTN-3</i> : Major-Komplikationen 3/361, 1/352 embolisches Ereignis mit folgendem Endorganschaden, 1/352 behandlungsbedürftige vaskuläre Komplikation, 1/332 De-novo-Stenose der Nierenarterie > 70%	2/15 Hydronephrose, 2/15 oberflächliche Adhäsionen der Niere, 1/15 Verletzung der Aorta
<b>Kontraindikation</b>	GFR < 45 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> , chronische renale Erkrankungen, erhöhtes Blutungsrisiko, Aortenaneurysma Nierenarterie: Diameter < 4mm, Länge < 20 mm, anatomische Normvarianten, z.B. ausgeprägte Schlingelung, Aneurysmen, schwere Stenosierungen, fibromuskuläre Dysplasien	-
<b>Interventionsdauer</b>	> 60 min	ca. 25-30 min
<b>Schmerzen</b>	stark	nicht vorhanden oder gering
<b>Strahlenbelastung</b>	hoch	nicht vorhanden (MRT) oder gering (CT, da kürzere Interventionsdauer)
<b>Kontrastmittel-exposition</b>	hoch	nicht erforderlich (bei T2w-Aufnahmen) oder gering
<b>Vollnarkose erforderlich</b>	ja	nein
<b>Antikoagulation erforderlich</b>	ja	nein
<b>Kosten</b>	ca. 7500 €	ca. 150 €
<b>Verfügbarkeit</b>	gering, da Katheterlabor erforderlich	hoch, da lediglich CT notwendig

Zuletzt soll an dieser Stelle auf den finanziellen Aspekt beider Verfahren eingegangen werden: Sowohl bei RFA- als auch bei Ultraschallkathetern handelt es sich um sehr hochpreisige medizi-

nische Geräte. Die Kosten der RFA beliefen sich im Jahr 2011 auf ca. 7500 € pro Eingriff (hauptsächlich durch RF Generator und Einweg RFA-Applikator).<sup>179</sup> Die Materialkosten der perkutanen Denervation sind demgegenüber vernachlässigbar gering, es fallen hauptsächlich Ausgaben für das Personal und die CT- bzw. MRT-Nutzung an. Die Kosten in der Charité belaufen sich hierbei auf ca. 150 €. Der finanzielle Aufwand ist abgeschätzt in Anlehnung an eine Publikation zur Kostenanalyse der MRT- und CT-gesteuerten spinalen Injektionen.<sup>180</sup> Einen weiteren Gewinn stellt die hohe Verfügbarkeit dar, da die Intervention in jedem Krankenhaus mit CT durchgeführt werden kann. Die renale Denervation durch RFA ist hingegen auf ein Katheterlabor bzw. eine Angiographieanlage angewiesen.

Zusammenfassend stellt die perkutane renale Denervation mit Alkohol damit eine einfache, kostengünstige, leicht verfügbare Behandlungsalternative zur RFA mit kurzer Behandlungszeit und keinen bis minimalen prozedurbedingten Schmerzen dar (siehe Tab. 17).

### 4.10 Limitationen

Bei der Interpretation der aufgeführten Daten sowie deren Übertragung und Anwendung auf den klinischen Bereich sind einige Limitationen zu berücksichtigen.

Für eine erste Evaluierung der Machbarkeit und Sicherheit dieser Methode sowie in Anlehnung an andere präklinische Studien zur renalen Denervation wurde für die Nachbeobachtung ein Zeitraum von einem Monat festgelegt. Eine Beurteilung der Spätkomplikationen ist durch das kurze Follow-up jedoch nicht hinreichend möglich. Beispielsweise entwickelten sich in der HTN-1-Studie zwei De-novo-Stenosen erst im Verlauf des mehrjährigen Beobachtungszeitraums.<sup>83</sup> Darüber hinaus scheint der Euthanasiezeitpunkt einige der untersuchten Erfolgsparameter entscheidend zu beeinflussen: Die zuvor erwähnten Arbeiten von Sakakura, Consigny und Steigerwald et al. lassen darauf schließen, dass Anzahl und Ausmaß der neuralen Degeneration als auch die Höhe des NA-Abfalls in den ersten Tagen nach Denervation am größten sind und mit zunehmender zeitlicher Differenz zwischen Intervention und Euthanasie abnehmen.<sup>114,143,162</sup>

Als Ursache hierfür werden u. a. ein phagozytischer Abbau degenerierter Nervenfaszikel im Sinne einer Reorganisation des Gewebes sowie eine beginnende neurale Regeneration diskutiert. Bisherige Studienergebnisse deuten daraufhin, dass die Reinnervation in Ratten bereits nach einigen Wochen, in Hunden sowie Schweinen nach wenigen Monaten und in Menschen erst nach vielen Monaten bis Jahren abgeschlossen ist. Eine abschließende Stellungnahme zu dieser Thematik ist auf Grund des gewählten Beobachtungszeitraums nicht möglich. Da in dieser Arbeit lediglich zwei Zeitpunkte (2 Stunden und ca. 4 Wochen nach Intervention) untersucht wurden, kann ferner keine Aussage über das Maximum bzw. den zeitlichen Verlauf des NA-Abfalls so-

## Diskussion

wie der neuronalen Degenerationen getroffen werden.

Eine weitere Einschränkung dieser Arbeit liegt in der geringen Fallzahl von 16 Tieren. Durch die Verwendung unterschiedlicher Stehzeiten, Alkoholvolumina und –konsistenzen entstanden überdies Untergruppen von noch kleinerer Größe. Für eine erstmalige Untersuchung der Dauer bis zum Wirkungseintritt sowie des Verhaltens der Substanz bei der periarteriellen Injektion erwies sich die Gruppengröße als ideal. Die Aussagekraft bezüglich Wirkung als auch Nebenwirkung wird jedoch durch die geringe Fallzahl limitiert. Bei zu kleiner Stichprobe werden bestehende signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen durch die Testverfahren nicht erkannt.

Als Schwierigkeit erwies sich weiterhin das bis dato fehlende einheitliche Vorgehen bei der histologischen Auswertung sowie die Anwendung verschiedener NA-Messverfahren. Erst durch Veröffentlichung der „Methodischen Standardisierung für die präklinische Evaluation der renalen sympathischen Denervation“ durch Sakakura et al.<sup>131</sup> in 2014 steht ein orientierendes Bewertungsschema zur Verfügung. Insgesamt schränkt die bislang unterschiedliche methodische Durchführung die Repräsentativität und Vergleichbarkeit der Studien untereinander ein.

In dieser Arbeit wurde lediglich das unmittelbare Verhalten des Wirkstoffs bis etwa 15 Minuten nach Injektion untersucht. Eine längere Beobachtungszeit des Alkohols im MRT postinjektionem könnte möglicherweise Aufschluss über die teils fehlenden NA-Reduktionen und negativen histologischen Ergebnisse geben. Die ausbleibende Wirkung könnte in diesen Fällen nach anfänglich guter Umspülung der Nierenarterie auf eine schnelle Umverteilung oder Abdiffusion der Substanz zurückzuführen sein.

Die Aussagekraft der histologischen Untersuchung ist ebenfalls begrenzt. Die durchgeführten histopathologischen Färbungen erlauben ausschließlich eine Beurteilung der morphologischen Intaktheit der renalen Neurone, auf die neuronale Funktionalität können keine Rückschlüsse gezogen werden. Die Verwendung von Antikörpern gegen Enzyme des Katecholaminmetabolismus, z.B. Tyrosin-Hydroxylase oder L-Dopa-Decarboxylase, könnte, zusätzlich zur NA-Messung, einen Informationsgewinn über die Nervenaktivität durch Nachweis der An- oder Abwesenheit der NA-Synthese bedeuten.<sup>131</sup>

Einige Einschränkungen des Verfahrens bezüglich der Anwendbarkeit auf den Patienten bzw. der Bedeutung für die klinische Situation sind bereits in den vorangehenden Abschnitten besprochen worden. Dazu gehören die im Gegensatz zur klinischen Anwendung erfolgte unilaterale Denervation, die Behandlung normotensiver Tiere und die erforderliche Allgemeinanästhesie während des Eingriffs, die allesamt zu einer Beeinflussung von Blutdruck und NA-Messung führen können. Aus logistischen und finanziellen Gründen werden ferner im Rahmen der tierexperimentellen Durchführung vielfach Jungtiere eingesetzt, die Mehrzahl der untersuchten Erkrank-

kungen, wie auch der Hypertonus, treten jedoch im höheren Lebensalter auf.<sup>181</sup> Zudem handelt es sich häufig um multimorbide Patienten, sodass Wechselwirkungen bzw. Interferenzen mit anderen Krankheiten bei der Therapie zu bedenken sind, die im Tiermodell keine Rolle spielen. Mit dem zunehmenden Patientenalter verbunden, sind auch eine Abnahme der Neurogenese und des Nervenregenerationspotentials. Selbst wenn eine Innervation der renalen sympathischen und afferenten Fasern erfolgt, ist möglicherweise die Zeitspanne, in der sie erfolgt, entscheidend, um zu beurteilen, ob die Anwendung einer renalen Denervation als sinnvoll angesehen werden kann. Darüber hinaus ist der genaue Aufbau des porkinen SNS und dessen Ähnlichkeit zur humanoiden Neuroanatomie noch nicht vollständig erfasst.

Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, dass Messungen von Hormonen, insbesondere des hier untersuchten NA, allgemein als sehr störanfällig gelten und, ausgelöst durch kleinste Veränderungen des Versuchablaufs (Transport, Schmerz, Fixierung etc. siehe Kapitel 4.6), erhebliche Schwankungen in Folge einer Stresszunahme bei den Tieren aufweisen können.

Tierexperimentelle Studien stellen die bisher einzige Option dar, die systemisch-physiologische Reaktion des Menschen auf einen minimal-invasiven Eingriff unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen. Zusammenfassend sollte die Übertragung der im Tiermodell gewonnenen Daten auf den Menschen in Anbetracht der genannten Limitationen zwar unter Vorbehalt erfolgen, dennoch zeigten sich erste Anwendungen der perkutanen renalen Denervation im Menschen durch Streitparth<sup>128</sup> und später durch Ricke et al.<sup>129</sup> erfolgreich.

### **4.11 Schlussfolgerungen**

Der Bluthochdruck ist für einen Großteil der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität der Bevölkerung weltweit verantwortlich. Diese Bedeutung der Hypertonie als ein entscheidender Risikofaktor der Herzkreislauferkrankungen begründet die Bestrebungen, die Therapie stetig zu optimieren und eine bestmögliche sowie effektive Therapie für die Betroffenen zu erreichen. Der aktuelle Stand der Forschung legt eine bedeutende Rolle des SNS an der Entstehung der primären Hypertonie nahe. Durch die renale Denervation mittels RFA konnten bereits erste gute Erfolge erzielt werden, die zu einer Weiterentwicklung und Verbesserung der Methode drängen und die Therapie auch bei Patienten mit anatomischen Normvarianten der Nierenarterien einsetzbar machen.

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die Machbarkeit, Wirksamkeit und Sicherheit der MRT-gesteuerten perkutanen renalen Denervation durch Alkohol an 16 Tieren zu evaluieren. Als primäre Outcome Parameter wurden der NA-Abfall auf der behandelten Seite und der histologische Nachweis degenerierter Neurone festgelegt. Ein Blutdruckabfall sowie die Sicherheit der Inter-

vention galten als sekundäre Outcome Parameter. Neben der erwähnten Unabhängigkeit vom Verlauf der Nierenarterie bzw. Normvarianten des Gefäßes, bietet die perkutane Denervation gegenüber der RFA eine Reihe weiterer Vorteile, wie die Vermeidung Katheter-assoziiertes Risiko, eine Reduktion von Kontrastmittel- und Strahlenexposition sowie ein Verzicht auf Allgemeinanästhesie und Antikoagulation. Insbesondere hinsichtlich der älteren, multimorbiden Zielgruppe des Verfahrens wird dadurch eine Anwendung an einem größeren Patientenkollektiv ermöglicht. Im Zuge des relevanter werdenden Wirtschaftlichkeitsaspekts im Gesundheitswesen, könnte darüber hinaus die Kostensenkung durch die perkutane renale Denervation einen nicht unerheblichen Gewinn darstellen.

Die vorliegende Arbeit konnte nachweisen, dass durch die perkutane renale Denervation durch Alkohol eine Erniedrigung des NA-Spiegels der behandelten Seite, histologische Veränderungen und ein Blutdruckabfall auftreten. Maßgeblich am Erfolg der Intervention beteiligt scheinen der Applikationsort, die Konzentration, die Menge und die Viskosität des Wirkstoffs, die sich u.a. auf das Diffusionsverhalten auswirken können, und nicht beeinflussbare Parameter, wie die Nervenverteilung und die Absorption durch umliegendes Gewebe, beispielsweise das periarterielle Fettgewebe. Die Alkoholmenge korrelierte dabei mit dem NA-Abfall. Weiterhin ließ sich auch ein Zusammenhang zwischen der beobachteten Injektatverteilung im MRT und der Reduktion des NA nachweisen.

Anzumerken ist jedoch, dass bei 4 Tieren Nebenwirkungen der Therapie zu beobachten waren. Zwar erwiesen sich die Unterschiede in den untersuchten Parametern, bis auf den Vergleich der Nervenanzahl von behandelter und unbehandelter Seite, als nicht signifikant, jedoch rechtfertigen die Vorteile gegenüber der RFA und die vielversprechende Tendenz der Ergebnisse weitere präklinische und klinische Studien.

### **4.12 Ausblick**

Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass eine Denervation der in der Adventitia verlaufenden sympathischen renalen Nervenfasern im Schweinmodell durch perkutane periarterielle Applikation von Alkohol durchzuführen ist. Die Ergebnisse der besten Untergruppe (Tiere 7-10) sind hinsichtlich NA-Abfall, histologischer Auswertung und Blutdruckreduktion mit denen der RFA vergleichbar. Nachfolgende Studien zur perkutanen renalen Denervation durch Alkohol, beispielsweise am Schaf oder die erste Anwendung am Menschen, unterstützen diese Daten.

Ob die perkutane Denervation auch in puncto Langzeitsicherheit ähnlich positive Resultate wie die RFA erzielen kann, muss sich in zukünftigen Arbeiten noch unter Beweis stellen. In dieser Arbeit konnten bereits erste Daten über den Einfluss verschiedener Wirkstoffmengen, -

## Diskussion

konzentrationen und –viskositäten auf die Denervierung und die Komplikationsrate gewonnen werden. Weitere Untersuchungen, insbesondere auch die Verwendung unterschiedlicher Applikationsorte, sind wünschenswert. Neben einer höheren Tierversuchszahl sollte dabei auch eine längere Nachbeobachtungszeit Berücksichtigung finden. Eine größere Anzahl unterschiedlicher Euthanasiezeitpunkte könnte darüber hinaus Aufschluss über die zeitliche Veränderung der NA-Konzentration sowie der Histopathologie geben. Weiterhin ließe sich durch die Verwendung spontan hypertensiver Knockout-Tiere und eine bilaterale Applikation der Substanz die Aussagekraft der Blutdruck- und NA-Messung erhöhen. Zuletzt wäre auch der Einsatz älterer Schweine denkbar, um eine bessere Vergleichbarkeit zu den anatomischen Größenverhältnissen eines Erwachsenen zu erhalten.

Fraglich bleibt die Langzeitwirkung der renalen Denervation. Ferner ist die Effektivität der Behandlung nach den Ergebnissen der HNT-3-Studie umstritten. Als ursächlich diskutiert werden u.a. statistische Phänomene, wie der Placebo-, der Regressions- oder der Hawthorne-Effekt, die zu falsch positiven Ergebnissen bisheriger Studien geführt haben könnten. Weiter sind auch methodische Fehler, z.B. eine zu geringe Anzahl an Ablationspunkten, und die unter Punkt 4.9 genannten technischen Einschränkungen der RFA in Betracht zu ziehen.

Weitere Studien müssen zeigen, ob sich die perkutane renale Ethanol-Denervation gegenüber den neueren Multielektroden- und Ultraschallkathetern und weiteren chemischen Denervationsverfahren behaupten und ob sich die Denervation unter dem Aspekt der Nervenregeneration generell als nachhaltiges Verfahren durchsetzen kann.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006;367:1747-57.
2. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A, Hypertension ISO. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* 2008;371:1513-8.
3. Prügger C, Heuschmann PU, Keil U. Epidemiology of hypertension in Germany and worldwide. *Herz* 2006;31:287-93.
4. Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, Chen J, He J. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation* 2016;134:441-50.
5. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global Burden of Hypertension: Analysis of Worldwide Data. *Lancet* 2005;365:217-23.
6. WHO. Noncommunicable disease: country profiles 2014. Geneva: WHO; 2014.
7. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part II: variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic regions and prevention strategies. *Circulation* 2001;104:2855-64.
8. Opie LH, Seedat YK. Hypertension in Sub-Saharan African populations. *Circulation* 2005;112:3562-8.
9. Singh RB, Suh IL, Singh VP, Chaithiraphan S, Laothavorn P, Sy RG, Babilonia NA, Rahman AR, Sheikh S, Tomlinson B, Sarraf-Zadigan N. Hypertension and stroke in Asia: prevalence, control and strategies in developing countries for prevention. *J Hum Hypertens* 2000;14:749-63.
10. Pearson TA. Cardiovascular disease in developing countries: myths, realities, and opportunities. *Cardiovasc Drugs Ther* 1999;13:95-104.
11. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F, Members TF. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2013;31:1281-357.
12. Mancia G, Grassi G, Redon J. Manual of Hypertension of the European Society of Hypertension. 2nd ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group; 2014.
13. Wright JT, Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, Rocco MV, Reboussin DM, Rahman M, Oparil S, Lewis CE, Kimmel PL, Johnson KC, Goff DC, Fine LJ, Cutler JA, Cushman WC, Cheung AK, Ambrosius WT, Group SR. A randomized trial of intensive versus standard blood-pressure control. *N Engl J Med* 2015;373:2103-16.
14. Benesch L, Bjarnason-Wehrens B, Cordes C, Franz I, Grunze M, Gysan D, Hoberg E, Hoffmann K, Klein G, Miche E, Schröder K, Theisen F, Tönnemann U, Völler H, Volger E, Willemsen D, Wirth A, Witt T. Umsetzungsempfehlung der Leitlinie Arterielle Hypertonie für die kardiologische Rehabilitation. *Rehabilitation und Prävention* 2003;20:209-22.
15. Franco V, Oparil S, Carretero OA. Hypertensive therapy: part I. *Circulation* 2004;109:2953-8.
16. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Roccella EJ, Joint National Committee on Prevention D, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute, Committee NHBPEPC. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-52.

17. Cooper-DeHoff RM, Gong Y, Handberg EM, Bavry AA, Denardo SJ, Bakris GL, Pepine CJ. Tight blood pressure control and cardiovascular outcomes among hypertensive patients with diabetes and coronary artery disease. *JAMA* 2010;304:61-8.
18. Herold G. *Innere Medizin*. Köln: Herold; 2015.
19. Parati G, Ochoa JE, Lombardi C, Bilo G. Assessment and management of blood-pressure variability. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:143-55.
20. Siegenthaler W, Blum HE. *Klinische Pathophysiologie*. 9th ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2006.
21. Palisch H. Volkskrankheit Bluthochdruck. *PflegeKolleg* 2013;65:30-3.
22. Middeke M. *Arterielle Hypertonie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.
23. Ahmed H, Neuzil P, Skoda J, Petru J, Sediva L, Schejbalova M, Reddy VY. Renal sympathetic denervation using an irrigated radiofrequency ablation catheter for the management of drug-resistant hypertension. *JACC Cardiovascular interventions* 2012;5:758-65.
24. Anderson NB. *Encyclopedia of health and behavior*. 1st ed. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 2004.
25. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension - Part I: definition and etiology. *Circulation* 2000;101:329-35.
26. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, White A, Cushman WC, White W, Sica D, Ferdinand K, Giles TD, Falkner B, Carey RM, American Heart Association Professional Education C. Resistant Hypertension: Diagnosis, Evaluation, and Treatment: A Scientific Statement From the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008;117:e510-26.
27. Persell SD. Prevalence of resistant hypertension in the United States, 2003-2008. *Hypertension* 2011;57:1076-80.
28. ALLHAT-officers. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: the Antihypertensive and Lipid-Lowering treatment to prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002;288:2981-97.
29. Jamerson K, Weber MA, Bakris GL, Dahlöf B, Pitt B, Shi V, Hester A, Gupte J, Gatlin M, Velazquez EJ, Investigators AT. Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients. *N Engl J Med* 2008;359:2417-28.
30. Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, Wedel H, Beevers DG, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J, Investigators A. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2005;366:895-906.
31. Hohenstein-Scheibenecker K. Therapieresistente Hypertonie: Definition, Epidemiologie und kardiovaskuläres Risiko. *Journal of Hypertension* 2015;19:38-42.
32. Egan BM, Zhao Y, Axon RN, Brzezinski WA, Ferdinand KC. Uncontrolled and apparent treatment resistant hypertension in the United States, 1988 to 2008. *Circulation* 2011;124:1046-58.
33. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003;290:199-206.
34. Lloyd-Jones DM, Evans JC, Larson MG, O'Donnell CJ, Roccella EJ, Levy D. Differential control of systolic and diastolic blood pressure: factors associated with lack of blood pressure control in the community. *Hypertension* 2000;36:594-9.
35. Lloyd-Jones DM, Evans JC, Larson MG, Levy D. Treatment and control of hypertension in the community: a prospective analysis. *Hypertension* 2002;40:640-6.

36. Oparil S, Weber M. Hypertension: a companion to Brenner and Rector's The Kidney. 1st ed. Philadelphia, PA: Saunders Company; 2000.
37. Muiesan ML, Salvetti M, Rizzoni D, Paini A, Agabiti-Rosei C, Aggiusti C, Agabiti Rosei E. Resistant hypertension and target organ damage. *Hypertens Res* 2013;36:485-91.
38. Pascual-Gil S, Garbayo E, Díaz-Herráez P, Prosper F, Blanco-Prieto MJ. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials. *J Control Release* 2015;203:23-38.
39. De Lima LG, Soares BG, Saconato H, Atallah AN, da Silva EM. Beta-blockers for preventing stroke recurrence. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;5:1-20.
40. Strohmer B. Bluthochdruck und Herzrhythmusstörungen – eine gefährliche Kombination. *Journal of Hypertension* 2009;13:13-22.
41. Brunner U, Creutzig A, Mahler F, Partsch H. Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der arteriellen Verschlusskrankheit der Becken-Beinarterien. *VASA - Zeitschrift für Gefäßkrankheiten* 2001;30:3-19.
42. Janhsen K, Strube H, Starker A. Hypertonie. Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2008;43:1-35.
43. Linnenweber-Held S, Haller H, Menne J. Innovative Therapieoptionen bei therapieresistenter arterieller Hypertonie. *J Hypertonie* 2012;16:20-5.
44. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:335-46.
45. Nathan MA, Reis DJ. Chronic labile hypertension produced by lesions of the nucleus tractus solitarius in the cat. *Circ Res* 1977;40:72-81.
46. Alderman M, Arakawa K, Beilin L, Chalmers J, Erdine S, Fujishima M. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee. *J Hypertens* 1999;17:151-83.
47. Granata AR, Ruggiero DA, Park DH, Joh TH, Reis DJ. Brain stem area with C1 epinephrine neurons mediates baroreflex vasodepressor responses. *Am J Physiol* 1985;248:H547-67.
48. Hasser EM, Cunningham JT, Sullivan MJ, Curtis KS, Blaine EH, Hay M. Area postrema and sympathetic nervous system effects of vasopressin and angiotensin II. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:432-6.
49. Schmidt R, Thews G. Physiologie des Menschen. 27th ed. Berlin: Springer-Verlag; 1997.
50. Dun NJ, Machado BH, Pilowsky PM. Neural mechanisms of cardiovascular regulation. 1st ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2004.
51. Black HR, Elliott WJ. Hypertension: a companion to Braunwald's heart disease. 1st ed. Philadelphia: Elsevier; 2007.
52. Grassi G. Renin-angiotensin-sympathetic crosstalks in hypertension: reappraising the relevance of peripheral interactions. *J Hypertens* 2001;19:1713-6.
53. Klinker R, Pape H, Silbernagl S. Physiologie. 5th ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2005.
54. DiBona GF, Esler M. Translational medicine: the antihypertensive effect of renal denervation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;298:R245-53.
55. Alpern RJ, Moe OW, Caplan M. Seldin and Giebisch's the kidney: physiology and pathophysiology. 5th ed. London: Elsevier; 2013.
56. Biaggioni I, Burnstock G, Low PA, Paton JFR. Primer on the autonomic nervous system. 3rd ed. London: Elsevier; 2011.
57. Kopp UC, Cicha MZ, Smith LA. Dietary sodium loading increases arterial pressure in afferent renal-denervated rats. *Hypertension* 2003;42:968-73.
58. Heuser R, Schlaich M, Sievert H. Renal denervation: a new approach to treatment of resistant hypertension. 1st ed. London: Springer Verlag; 2015.

59. Kopp UC, Smith LA, DiBona GF. Facilitatory role of efferent renal nerve activity on renal sensory receptors. *Am J Physiol* 1987;253:F767-77.
60. Kopp UC. Neural control of renal function. 1st ed. San Rafael, CA: Morgan & Claypool Life Sciences; 2011.
61. Rettig R. Salt and hypertension dietary minerals, volume homeostasis and cardiovascular regulation. 1st ed. Berlin: Springer; 1989.
62. Ye S, Zhong H, Yanamadala V, Campese VM. Renal injury caused by intrarenal injection of phenol increases afferent and efferent renal sympathetic nerve activity. *Am J Hypertens* 2002;15:717-24.
63. Xu B, Zheng H, Liu X, Patel KP. Activation of afferent renal nerves modulates RVLM-projecting PVN neurons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015;308:H1103-11.
64. Brüning F. Die operative Behandlung der Angina Pectoris durch Exstirpation des Hals- und Brustsympathikus und Bemerkungen über die Behandlung der abnormen Blutdrucksteigerung. *Klinische Wochenschrift* 1923;2:777-80.
65. Peet MM. Hypertension and its surgical treatment by bilateral supradiaphragmatic splanchnicectomy. *Am J Surg* 1948;75:48-68.
66. Smithwick RH, Thompson JE. Splanchnicectomy for essential hypertension; results in 1,266 cases. *J Am Med Assoc* 1953;152:1501-4.
67. Schlaich MP, Socratous F, Hennebry S, Eikelis N, Lambert EA, Straznicky N, Esler MD, Lambert GW. Sympathetic activation in chronic renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2009;20:933-9.
68. Aumüller G, Aust G, Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S, Reißig D, Salvetter J, Schmidt W, Schmitz F, Schulte E, Spanel-Borowski K, Wolff W, Wurzinger L, Zilch H. *Anatomie*. 1th ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2007.
69. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. *Prometheus - Lernatlas der Anatomie: Kopf, Hals und Neuroanatomie*. 2nd ed. Stuttgart: Thieme; 2009.
70. Sakakura K, Ladich E, Cheng Q, Otsuka F, Yahagi K, Fowler DR, Kolodgie FD, Virmani R, Joner M. Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man. *Journal of the American College of Cardiology* 2014;64:635-43.
71. Atherton DS, Deep NL, Mendelsohn FO. Micro-anatomy of the renal sympathetic nervous system: a human postmortem histologic study. *Clin Anat* 2012;25:628-33.
72. Mahfoud F, Edelman ER, Böhm M. Catheter-based renal denervation is no simple matter: lessons to be learned from our anatomy? *Journal of the American College of Cardiology* 2014;64:644-6.
73. Claxton AJ, Cramer J, Pierce C. A systematic review of the associations between dose regimens and medication compliance. *Clin Ther* 2001;23:1296-310.
74. Jung O, Gechter JL, Wunder C, Paulke A, Bartel C, Geiger H, Toennes SW. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis. *J Hypertens* 2013;31:766-74.
75. Doumas M, Guo D, Papademetriou V. Carotid baroreceptor stimulation as a therapeutic target in hypertension and other cardiovascular conditions. *Expert Opin Ther Targets* 2009;13:413-25.
76. Scheffers IJ, Kroon AA, Schmidli J, Jordan J, Tordoir JJ, Mohaupt MG, Luft FC, Haller H, Menne J, Engeli S, Ceral J, Eckert S, Erglis A, Narkiewicz K, Philipp T, de Leeuw PW. Novel baroreflex activation therapy in resistant hypertension: results of a European multi-center feasibility study. *Journal of the American College of Cardiology* 2010;56:1254-8.
77. Kroon A, Schmidli J, Scheffers I, Tordoir J, Mohaupt M, Allemann Y, Jordan J, Engeli S, Liebeskind U, Luft F, Eckert S, Hansky B, Elletson M, de Leeuw P. Sustained blood pressure reduction by baroreflex activation therapy with a chronically implanted system: 4-year data from the Rheos DEBut-HT study in patients with resistant hypertension. *J Hypertens* 2010;28:e441.

78. Bisognano JD, Bakris G, Nadim MK, Sanchez L, Kroon AA, Schafer J, de Leeuw PW, Sica DA. Baroreflex activation therapy lowers blood pressure in patients with resistant hypertension: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled reos pivotal trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2011;58:765-73.
79. Reichel M, Zechmeister-Koss I. Perkutane renale Denervation bei therapieresistenter Hypertonie: Systematischer Review - 1. Update 2012. Wien: Ludwig Boltzmann Gesellschaft GmbH; 2012:28.
80. Gulati V, White WB. Novel approaches for the treatment of the patient with resistant hypertension: renal nerve ablation. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2013;7.
81. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, Sobotka PA, Sadowski J, Bartus K, Kapelak B, Walton A, Sievert H, Thambar S, Abraham WT, Esler M. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet* 2009;373:1275-81.
82. Esler M, Jennings G, Korner P, Blombery P, Sacharias N, Leonard P. Measurement of total and organ-specific norepinephrine kinetics in humans. *Am J Physiol* 1984;247:E21-8.
83. Krum H, Schlaich MP, Sobotka PA, Böhm M, Mahfoud F, Rocha-Singh K, Katholi R, Esler MD. Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the Symplicity HTN-1 study. *Lancet* 2014;383:622-9.
84. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Böhm M, Investigators SH-. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:1903-9.
85. Esler MD, Böhm M, Sievert H, Rump CL, Schmieder RE, Krum H, Mahfoud F, Schlaich MP. Catheter-based renal denervation for treatment of patients with treatment-resistant hypertension: 36 month results from the SYMPPLICITY HTN-2 randomized clinical trial. *European heart journal* 2014;35:1752-9.
86. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, Sobotka PA, Sadowski J, Bartus K, Kapelak B, Walton A, Sievert H, Thambar S, Abraham WT, Esler M. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: durability of blood pressure reduction out to 24 months. *Hypertension* 2011;57:911-7.
87. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, D'Agostino R, Flack JM, Katzen BT, Leon MB, Liu M, Mauri L, Negoita M, Cohen SA, Oparil S, Rocha-Singh K, Townsend RR, Bakris GL, Investigators SH-. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med* 2014;370:1393-401.
88. Holzgreve H. Analyse einer Fehleinschätzung. *Deutsches Ärzteblatt* 2014;111:794-6.
89. Worthley SG, Tsioufis CP, Worthley MI, Sinhal A, Chew DP, Meredith IT, Malaiapan Y, Papademetriou V. Safety and efficacy of a multi-electrode renal sympathetic denervation system in resistant hypertension: the EnligHTN I trial. *European heart journal* 2013;34:2132-40.
90. Papademetriou V, Tsioufis CP, Sinhal A, Chew DP, Meredith IT, Malaiapan Y, Worthley MI, Worthley SG. Catheter-based renal denervation for resistant hypertension: 12-month results of the EnligHTN I first-in-human study using a multielectrode ablation system. *Hypertension* 2014;64:565-72.
91. Sievert H, Schofer J, Ormiston J, Hoppe UC, Meredith IT, Walters DL, Azizi M, Diaz-Cartelle J, Cohen-Mazor M. Renal denervation with a percutaneous bipolar radiofrequency balloon catheter in patients with resistant hypertension: 6-month results from the REDUCE-HTN clinical study. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2015;10:1213-20.
92. Ormiston JA, Watson T, van Pelt N, Stewart R, Haworth P, Stewart JT, Webster MW. First-in-human use of the OneShot™ renal denervation system from Covidien. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;8:1090-4.

93. Ormiston JA, Watson T, van Pelt N, Stewart R, Stewart JT, White JM, Doughty RN, Stewart F, Macdonald R, Webster MW. Renal denervation for resistant hypertension using an irrigated radiofrequency balloon: 12-month results from the Renal Hypertension Ablation System (RHAS) trial. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;9:70-4.
94. Verheye S, Ormiston J, Bergmann MW, Sievert H, Schwindt A, Werner N, Vogel B, Colombo A. Twelve-month results of the rapid renal sympathetic denervation for resistant hypertension using the OneShot™ ablation system (RAPID) study. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2015;10:1221-9.
95. Renal artery denervation with a new simultaneous multielectrode catheter for treatment of resistant hypertension: 12-month update from the Symplicity Spyral first-in-man study. 2014. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.tctmd.com/show.aspx?id=126025>.)
96. Simplicity Spyral Katheter zur renalen Denervierung verkürzt Eingriffsdauer bei signifikanter Blutdrucksenkung. 2013. (Accessed 4th July, 2015, at [http://www.medtronic.com/hk/wcm/groups/mdtcom\\_sg/@mdt/@eu/@de/documents/documents/pm\\_de\\_spyral\\_euro\\_pcr.pdf](http://www.medtronic.com/hk/wcm/groups/mdtcom_sg/@mdt/@eu/@de/documents/documents/pm_de_spyral_euro_pcr.pdf).)
97. Heuser RR, Mhatre AU, Buelna TJ, Berci WL, Hubbard BS. A novel non-vascular system to treat resistant hypertension. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;9:135-9.
98. Wang Q, Guo R, Rong S, Yang G, Zhu Q, Jiang Y, Deng C, Liu D, Zhou Q, Wu Q, Wang S, Qian J, Lei H, He TC, Wang Z, Huang J. Noninvasive renal sympathetic denervation by extracorporeal high-intensity focused ultrasound in a pre-clinical canine model. *Journal of the American College of Cardiology* 2013;61:2185-92.
99. Freyhardt P, Heckmann L, Beck A, Stolzenburg N, Schnorr J, Kamp J, Rinnenthal JL, Hamm B, Günther RW, Streitparth F. MR-guided high-focused ultrasound for renal sympathetic denervation-a feasibility study in pigs. *J Ther Ultrasound* 2014;2:12.
100. Todoran TM, Basile JN, Zile MR. Renal sympathetic denervation for blood pressure control: a review of the current evidence and ongoing studies. *J Clin Hypertens* 2014;16:331-41.
101. Fischell TA, Fischell DR, Ghazarossian VE, Vega F, Ebner A. Next generation renal denervation: chemical "perivascular" renal denervation with alcohol using a novel drug infusion catheter. *Cardiovasc Revasc Med* 2015;16:221-7.
102. Prochnau D, Heymel S, Otto S, Figulla HR, Surber R. Renal denervation with cryoenergy as second-line option is effective in the treatment of resistant hypertension in non-responders to radiofrequency ablation. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2014;10:640-5.
103. Completed clinical studies. 2013. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.konamedical.com/physician-information/completed-clinical-studies/>.)
104. Six month data reported for WAVE I study of renal denervation therapy for hypertension at EuroPCR meeting in Paris. 2013. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.konamedical.com/renal-denervation-therapy-2/>.)
105. Sound Intervention. 2012. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.tctmd.com/show.aspx?id=114189>.)
106. REALISE clinical trial: preliminary results demonstrate catheter based ultrasound renal denervation is associated with a decrease in sympathetic activity. 2014. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.pcronline.com/Lectures/2014/Preliminary-results-from-the-REALISE-trial-show-endovascular-ultrasound-renal-denervation-ultrasound-associated-with-decrease-in-sympathetic-overactivity>.)

107. PARADISE (Recor). 2012. (Accessed 4th July, 2015, at <http://www.tctmd.com/show.aspx?id=114187>.)
108. Renal denervation using the novel therapeutic intra-vascular ultrasound (TIVUS™) catheter system – preliminary report of first-in-man safety and performance studies. 2014. (Accessed 4th Jul, 2015, at <http://www.pconline.com/Lectures/2014/Renal-denervation-using-the-novel-therapeutic-intra-vascular-ultrasound-TIVUS-catheter-system-Preliminary-report-of-first-in-man-safety-and-performance-study>.)
109. Stefanadis C, Toutouzas K, Synetos A, Tsioufis C, Karanasos A, Agrogiannis G, Stefanis L, Patsouris E, Tousoulis D. Chemical denervation of the renal artery by vincristine in swine. A new catheter based technique. *International journal of cardiology* 2013;167:421-5.
110. Stefanadis C, Synetos A, Toutouzas K, Tsioufis C, Drakopoulou M, Tsiamis E, Agrogiannis G, Patsouris E, Tousoulis D. New double balloon delivery catheter for chemical denervation of the renal artery with vincristine. *International journal of cardiology* 2013.
111. Stefanadis C, Synetos A, Tsioufis C, Drakopoulou M, Tsiamis E, Tousoulis D, Agrogiannis G, Patsouris E, Toutouzas K. Chemical renal denervation by vincristine: the role of the flow rate of delivery. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:1336-42.
112. Manning PT, Powers CW, Schmidt RE, Johnson EM. Guanethidine-induced destruction of peripheral sympathetic neurons occurs by an immune-mediated mechanism. *J Neurosci* 1983;3:714-24.
113. Owens C, Gasper W, Seward K, Misra S, Jacobson S, Jones R. Percutaneous peri-adventitial guanethidine delivery induces renal artery sympathectomy: preclinical experience and implication for refractory hypertension. *J Vasc Surg* 2011;53:87S.
114. Consigny PM, Davalian D, Donn R, Hu J, Rieser M, Stolarik D. Chemical renal denervation in the rat. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:218-23.
115. Prochnau D, Figulla HR, Surber R. Cryoenergy is effective in the treatment of resistant hypertension in non-responders to radiofrequency renal denervation. *International journal of cardiology* 2013;167:588-90.
116. Fischell TA, Vega F, Raju N, Johnson ET, Kent DJ, Ragland RR, Fischell DR, Almany SL, Ghazarossian VE. Ethanol-mediated perivascular renal sympathetic denervation: preclinical validation of safety and efficacy in a porcine model. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;9:140-7.
117. Firouznia K, Hosseinasab SJ, Amanpour S, Haj-Mirzaian A, Miri R, Muhammadnejad A, Muhammadnejad S, Jalali AH, Ahmadi F, Rokni-Yazdi H. Renal sympathetic denervation by CT-scan-guided periarterial ethanol injection in sheep. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2015;in press.
118. Waksman R, Barbash IM, Chan R, Randolph P, Makuria AT, Virmani R. Beta radiation for renal nerve denervation: initial feasibility and safety. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;9:738-44.
119. Sharma M, Gupta S, Bennett M, KH S. Practical management of complex cancer pain. 1st ed. Oxford: Oxford University Press; 2014.
120. Rowe D. Neurolytic techniques for pain management. *Pain Clin* 1995;8:107–15.
121. Dogliotti A. Traitement des syndromes douloureux de la périphérie par l'alcoolisation sous-arachnoïdienne des racines postérieurs à leur émergence de la moelle épinière. *Presse Med* 1931;39:1219-52.
122. Racz G. Techniques of neurolysis. 1st ed. New York: Springer Science and Business Media; 1989.
123. Bridenbaugh L, Moore D, Campbell D. Management of upper abdominal cancer pain: treatment with celiac plexus block with alcohol. *JAMA* 1964;190:877-80.

124. Thompson GE, Moore DC, Bridenbaugh LD, Artin RY. Abdominal pain and alcohol celiac plexus nerve block. *Anesth Analg* 1977;56:1-5.
125. Kambadakone A, Thabet A, Gervais DA, Mueller PR, Arellano RS. CT-guided celiac plexus neurolysis: a review of anatomy, indications, technique, and tips for successful treatment. *Radiographics* 2011;31:1599-621.
126. Moricca G. Neuroadenolysis for diffuse unbearable cancer pain. In: Bonica J, Albe-Fessard D, eds. *Advances in pain research and therapy*. New York: Raven Press; 1976:863-6.
127. Jiménez-Sáenz M, Kreuzer H. *Schmerzmedizin: Neurobiologische Grundlagen, Therapie und Organisation*. 1st ed. Berlin: Springer Verlag; 1985.
128. Streitparth F, Gebauer B, Nickel P, Reinke P, Freyhardt P, Wieners G, Hamm B, Günther RW. Percutaneous computer tomography-guided ethanol sympathectomy for the treatment of resistant arterial hypertension. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:513-8.
129. Ricke J, Seidensticker M, Becker S, Schiefer J, Adamchic I, Lohfink K, Kandulski M, Heller A, Mertens PR. Renal sympathetic denervation by CT-guided ethanol injection: a phase II pilot trial of a novel technique. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2016;39:251-60.
130. Breitenseher M, Dominkus M, Amann G. *Bildgebende Diagnostik und Therapie der Weichteiltumoren - mit pathologischer Klassifikation, Nuklearmedizin, interventioneller Therapie*. 1st ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2008.
131. Sakakura K, Ladich E, Edelman ER, Markham P, Stanley JR, Keating J, Kolodgie FD, Virmani R, Joner M. Methodological standardization for the pre-clinical evaluation of renal sympathetic denervation. *JACC Cardiovascular interventions* 2014;7:1184-93.
132. Bauch HJ, Kelsch U, Hauss WH. Einfache, schnelle, selektive und quantitative Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Plasma durch Kombination von Flüssigextraktion, HPLC-Trennung und elektrochemischer Detektion. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986;24:651-8.
133. Tanagho E, McAninch J. *Smiths Urologie*. Berlin: Springer Verlag; 1992.
134. Mohan H, Mohan S. *Essential Pathology For Dental Students*. 4th ed. Neu-Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2011.
135. Rubin R, Strayer D. *Rubin's Pathology: clinicopathologic foundations of medicine*. 6th ed. China: Lippincott Raven; 2012.
136. Hannon JP, Bossone CA, Wade CE. Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. *Lab Anim Sci* 1990;40:293-8.
137. Dalmoose AL, Hvistendahl JJ, Olsen LH, Eskild-Jensen A, Djurhuus JC, Swindle MM. Surgically Induced Urologic Models in Swine. *Journal of Investigative Surgery* 2000;13:133-45.
138. Zilic L, Garner PE, Yu T, Roman S, Haycock JW, Wilshaw SP. An anatomical study of porcine peripheral nerve and its potential use in nerve tissue engineering. *J Anat* 2015;227:302-14.
139. Alai-Omid M. *Untersuchungen des Auges mit einer Oberflächenspule in einem 3,0-Tesla-MRT: Dissertation; Charité - Universitätsmedizin Berlin; 2010.*
140. Nitz W, Runge V, Schmeets S, Faulkner W, Desai N. *Praxiskurs MRT: Anleitung zur MRT-Physik über klinische Bildbeispiele*. 1st ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2007.
141. Anderson CM, Saloner D, Tsuruda JS, Shapeero LG, Lee RE. Artifacts in maximum-intensity-projection display of MR angiograms. *AJR Am J Roentgenol* 1990;154:623-9.
142. Schäfers M, Flachskampf F, Sehtem U, Achenbach S, Krause B, Schwaiger M, Breithardt G. *Nichtinvasive kardiale Bildgebung: Spektrum, Methodik, Indikation und Interpretation*. 1st ed. Landsberg: Ecomed; 2008.
143. Steigerwald K, Titova A, Malle C, Kennerknecht E, Jilek C, Hausleiter J, Nahrig JM, Laugwitz KL, Joner M. Morphological assessment of renal arteries after radiofrequency catheter-based sympathetic denervation in a porcine model. *J Hypertens* 2012;30:2230-9.

144. Bakris GL, Townsend RR, Flack JM, Brar S, Cohen SA, D'Agostino R, Kandzari DE, Katzen BT, Leon MB, Mauri L, Negoita M, O'Neill WW, Oparil S, Rocha-Singh K, Bhatt DL, Investigators SH-. 12-month blood pressure results of catheter-based renal artery denervation for resistant hypertension: the SYMPPLICITY HTN-3 trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2015;65:1314-21.
145. Jones RR. A technic for injection of the splanchnic nerves with alcohol. *Anesth Analg* 1957;36:75-7.
146. Saleh A. Renal denervation: Current developments. *Radiologe* 2013;53:216-22.
147. Chang PC, Kriek E, van der Krogt JA, van Brummelen P. Does regional norepinephrine spillover represent local sympathetic activity? *Hypertension* 1991;18:56-66.
148. Suppan L. Magnetresonanz gesteuerter hochintensiver fokussierter Ultraschall zur renalen Denervation im Schweinmodell: Dissertation; Freie Universität Berlin; 2014.
149. Bello-Reuss E, Colindres RE, Pastoriza-Muñoz E, Mueller RA, Gottschalk CW. Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. *J Clin Invest* 1975;56:208-17.
150. Moore DC, Bush WH, Burnett LL. Celiac plexus block: a roentgenographic, anatomic study of technique and spread of solution in patients and corpses. *Anesth Analg* 1981;60:369-79.
151. Jain P, Dutta A, Sood J. Coeliac plexus blockade and neurolysis: an overview. *Indian Journal of Anaesthesia* 2006;50:169-77.
152. Vink EE, Blankestijn PJ. Evidence and consequences of the central role of the kidneys in the pathophysiology of sympathetic hyperactivity. *Frontiers in physiology* 2012;3:29.
153. Ye S, Gamburd M, Mozayeni P, Koss M, Campese VM. A limited renal injury may cause a permanent form of neurogenic hypertension. *Am J Hypertens* 1998;11:723-8.
154. Henegar JR, Zhang Y, Hata C, Narciso I, Hall ME, Hall JE. Catheter-based radiofrequency renal denervation: location effects on renal norepinephrine. *Am J Hypertens* 2015;28:909-14.
155. Beeftink MM, Spiering W, De Jong MR, Doevendans PA, Blankestijn PJ, Elvan A, Heeg JE, Bots ML, Voskuil M. Renal denervation beyond the bifurcation: the effect of distal ablation placement on safety and blood pressure. *Journal of clinical hypertension* 2017;19:371-8.
156. Verloop WL, Hubens LE, Spiering W, Doevendans PA, Goldschmeding R, Bleys RL, Voskuil M. The effects of renal denervation on renal hemodynamics and renal vasculature in a porcine model. *PLoS One* 2015;10:e0141609.
157. Mahfoud F, Tunev S, Ewen S, Cremers B, Ruwart J, Schulz-Jander D, Linz D, Davies J, Kandzari DE, Whitbourn R, Böhm M, Melder RJ. Impact of lesion placement on efficacy and safety of catheter-based radiofrequency renal denervation. *Journal of the American College of Cardiology* 2015;66:1766-75.
158. Sakakura K, Joner M. Renal denervation revisited: comparative appraisal of safety and efficacy. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2014;10:178-80.
159. Kassab S, Kato T, Wilkins FC, Chen R, Hall JE, Granger JP. Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity. *Hypertension* 1995;25:893-7.
160. Ammar S, Ladich E, Steigerwald K, Deisenhofer I, Joner M. Pathophysiology of renal denervation procedures: from renal nerve anatomy to procedural parameters. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2013;9 Suppl R:R89-95.
161. Rippy MK, Zarins D, Barman NC, Wu A, Duncan KL, Zarins CK. Catheter-based renal sympathetic denervation: chronic preclinical evidence for renal artery safety. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society* 2011;100:1095-101.

162. Sakakura K, Tunev S, Yahagi K, O'Brien AJ, Ladich E, Kolodgie FD, Melder RJ, Joner M, Virmani R. Comparison of histopathologic analysis following renal sympathetic denervation over multiple time points. *Circ Cardiovasc Interv* 2015;8:e001813.
163. Mulder J, Hökfelt T, Knuepfer MM, Kopp UC. Renal sensory and sympathetic nerves reinnervate the kidney in a similar time-dependent fashion after renal denervation in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2013;304:R675-82.
164. Booth LC, Nishi EE, Yao ST, Ramchandra R, Lambert GW, Schlaich MP, May CN. Reinnervation of renal afferent and efferent nerves at 5.5 and 11 months after catheter-based radiofrequency renal denervation in sheep. *Hypertension* 2015;65:393-400.
165. Gazdar AF, Dammin GJ. Neural degeneration and regeneration in human renal transplants. *N Engl J Med* 1970;283:222-4.
166. Salman IM, Sattar MA, Abdullah NA, Ameer OZ, Hussain FB, Hye Khan MA, Yam MF, Rathore KR, Kazi RN, Salman HM, Johns EJ. Renal functional & haemodynamic changes following acute unilateral renal denervation in Sprague Dawley rats. *Indian J Med Res* 2010;131:76-82.
167. DiBona GF, Sawin LL. Effect of renal denervation on dynamic autoregulation of renal blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F1209-18.
168. Bello-Reuss E, Pastoriza-Muñoz E, Colindres RE. Acute unilateral renal denervation in rats with extracellular volume expansion. *Am J Physiol* 1977;232:F26-32.
169. Dorantes-Mendez G, Aletti F, Toschi N, Guerrisi M, Coniglione F, Dauri M, Baselli G, Signorini MG, Cerutti S, Ferrario M. Effects of propofol anesthesia induction on the relationship between arterial blood pressure and heart rate. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2012;2012:2835-8.
170. Krassioukov AV, Gelb AW, Weaver LC. Action of propofol on central sympathetic mechanisms controlling blood pressure. *Can J Anaesth* 1993;40:761-9.
171. Ebert TJ, Muzi M. Propofol and autonomic reflex function in humans. *Anesth Analg* 1994;78:369-75.
172. Estafanous F, Barast P, Reves J. *Cardiac anesthesia: principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Williams; 2001.
173. Goodrich JA, Lackland DT, Del Signore MJ, Swindle MM. Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation. *Comp Med* 2001;51:13-5.
174. Vink EE, Goldschmeding R, Vink A, Weggemans C, Bleijs RL, Blankestijn PJ. Limited destruction of renal nerves after catheter-based renal denervation: results of a human case study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2014;29:1608-10.
175. Al Raisi SI, Barry MT, Qian P, Bhaskaran A, Pouliopoulos J, Kovoov P. Comparison of new-generation renal artery denervation systems: assessing lesion size and thermodynamics using a thermochromic liquid crystal phantom model. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2017;13:1242-7.
176. Kandzari DE, Bhatt DL, Brar S, Devireddy CM, Esler M, Fahy M, Flack JM, Katzen BT, Lea J, Lee DP, Leon MB, Ma A, Massaro J, Mauri L, Oparil S, O'Neill WW, Patel MR, Rocha-Singh K, Sobotka PA, Svetkey L, Townsend RR, Bakris GL. Predictors of blood pressure response in the SYMPPLICITY HTN-3 trial. *European heart journal* 2015;36:219-27.
177. Wojakowski W, Tendera M, Jadczyk T, Januszewicz A, Witkowski A. Catheter-based renal denervation. *E-journal of Cardiology Practice* 2012.
178. Lanzer P. *Catheter-based cardiovascular interventions: a knowledge-based approach*. 1st ed. Heidelberg: Springer-Verlag; 2013.

## Literaturver

179. Reichel M, Zechmeister-Koss I. Renale Denervation. Systematischer Review – 1. Update. Wien: Ludwig Boltzmann Institut für Health Technology Assessment; 2012.
180. Maurer MH, Schreiter N, de Bucourt M, Grieser C, Renz DM, Hartwig T, Hamm B, Streitparth F. Cost comparison of nerve root infiltration of the lumbar spine under MRI and CT guidance. *Eur Radiol* 2013;23:1487-94.
181. Hartung T. Vor- und Nachdenkliches zu Tierversuchen. *ALTEX* 2008;25:10-6.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einflüsse des Sympathikus.....	7
Abb. 2: Darstellung der Nervendichte in Abhängigkeit von der Distanz zum Lumen .....	13
Abb. 3: Blutdruckmessung an der hinteren linken Extremität .....	30
Abb. 4: a) Tier nach Positionierung in Bauchlage im offenen 1,0 T MRT.....	31
Abb. 5: Sicht auf den eröffneten Bauchraum von Schwein 7 kurz vor Organentnahme .....	36
Abb. 6: Übersichtsaufnahme der unbehandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung.....	40
Abb. 7: Durchmesser der Punktionsnadel unter Variation von Wichtung, TE und TR mit Standardabweichung .....	46
Abb. 8: Axiale (a) und coronare (b) T1w TSE von Schwein 10 prä injectionem.....	47
Abb. 9: Postinterventionell durchgeführte T2w TSE SPIR (a) und T1w TSE fs (b).....	49
Abb. 10: Postinterventionelle axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 1 .....	50
Abb. 11: Axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 16 post interventionem.....	51
Abb. 12: Axiale (a) und koronare (b) T1w TSE fs von Schwein 6 post interventionem.....	52
Abb. 13: Axiale T1w TSE fs von Schwein 6 nach Alkoholapplikation .....	52
Abb. 14: Postinterventionelle axiale T2w SPIR von Schwein 4 (a) und Schwein 7 (b).....	53
Abb. 15: Koronare T1w TSE fs von Schwein 2 (a), Schwein 12 (b) und Schwein 15 (c) nach Alkoholapplikation.....	54
Abb. 16: (a) Dorsalansicht der linken Niere .....	55
Abb. 17: Koronare (a) und axiale (b) T2w TSE von Schwein 7 präinterventionell sowie T2w SSH (Single Shot) am Tag der Euthanasie, ebenfalls koronar (c) und axial (d).....	56
Abb. 18: Größenvergleich der rechten, gesunden Niere und der linken, hydronephrotischen Niere (rechts im Bild) von Schwein 7.....	57
Abb. 19: Längsschnitt durch die linke Niere von Tier 7 nach Eiterentleerung.....	58
Abb. 20: MR-Angiographie, coronare MIP von Schwein 15 am Euthanasietag.....	59
Abb. 21: Darstellung der NA-Veränderungen aller Tiere und innerhalb verschiedener Gruppen gegenüber der unbehandelten Seite als Referenzwert.....	61
Abb. 22: Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarteriensegments der unbehandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung.....	63
Abb. 23: Unbehandelte Kontrollseite: Nahaufnahme des Faszikels aus Abb. 22 in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e, f) .....	64
Abb. 24: Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarteriensegments der behandelten Seite von Schwein 7 in HE-Färbung.....	65
Abb. 25: Grad 1-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikel aus Abb. 24 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f).....	66
Abb. 26: Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarteriensegments der behandelten Seite von Schwein 11 in HE-Färbung.....	67
Abb. 27: (a) zeigt gesundes, weißes Fettgewebe von Schwein 11 in HE-Färbung (5fache Vergrößerung) .....	68
Abb. 28: Dystrophische Verkalkung und Hyalinisation des Bindegewebes nach Alkoholapplikation in HE-Färbung bei Schwein 11 (5fache Vergrößerung) .....	69
Abb. 29: Grad 2-Denervation Nahaufnahme eines Nervenfaszikels aus Abb. 26 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f).....	70
Abb. 30: Übersichtsaufnahme eines proximalen Nierenarteriensegments der behandelten Seite von Schwein 8 in HE-Färbung.....	71
Abb. 31: Dystrophische Verkalkungen (Grad 4 Schädigung) bei Schwein 8 in HE-Färbung (5fache Vergrößerung).....	72

Abb. 32: Grad 3-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikel aus Abb. 30 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b), EvG- (c, d) und anti-S-100-Färbung (e,f).....	73
Abb. 33: Grad 3-Denervation: Nahaufnahme eines Nervenfaszikel von Schwein 4 in 5facher (links) und 20facher (rechts) Vergrößerung sowie in HE- (a, b) und EvG- Färbung (c, d).....	74
Abb. 34: Übersichtsaufnahme eines mittleren Nierenarteriensegments der behandelten Seite von Schwein 12 in HE-Färbung .....	75
Abb. 35: Mittlere Anzahl intakter Nerven pro histologischem Schnitt auf der behandelten und unbehandelten Seite.....	76
Abb. 36: Blutdruckveränderungen präinterventionell im Vergleich zur Finalisierung nach 28 Tagen.....	78
Abb. 37: Einflüsse auf Sicherheit und Effektivität, angelehnt an Sakakura et al. ....	92

## 7 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Definition und Klassifikation des Bluthochdrucks .....	3
Tab. 2: Übersicht über bisherige klinische Studien zur renalen Denervation .....	20
Tab. 3: Übersicht über aktuelle präklinische Studien zur chemischen Denervation.....	24
Tab. 4: MRT-Standardprotokoll für die perkutane periarterielle Ethanol-Injektion.....	34
Tab. 5: Injektatdistribution .....	35
Tab. 6: Standardprotokoll für MRA und MRU.....	35
Tab. 7: Zeit zwischen Intervention und Euthanasie .....	35
Tab. 8: Verkürztes H&E-Färbeprotokoll .....	38
Tab. 9: Verkürztes Elastica van Gieson-Färbeprotokoll .....	39
Tab. 10: Zusammenfassende Darstellung der Scores für Nervendegeneration, Gewebedestruktion sowie Intensität der anti-S100-Färbung .....	41
Tab. 11: Übersicht über die MR-Parameter der verwendeten fluoroskopischen Sequenzen und den Nadel-Gewebe-Kontrast .....	45
Tab. 12: Übersicht über die MR-Parameter der postinterventionellen diagnostischen Sequenzen und den Alkohol-Gewebe-Kontrast .....	48
Tab. 13: Auswertung der Injektatdistribution von Tier 1-16 .....	50
Tab. 14: NA-Konzentrationen von Schwein 1-16.....	60
Tab. 15: Übersicht über die histologischen Schnitte der Tiere mit neuralen Degenerationen.....	62
Tab. 16: Übersicht über die Blutdruckwerte von Schwein 1-16.....	77
Tab. 17: Übersichtsdaten zur RFA und perkutanen Denervation durch Alkohol .....	105

## Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Anna Walter, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: MRT-gesteuerte periarterielle Alkohol-Injektion zur renalen Sympathikusdenervierung – Machbarkeitsstudie im Schweinemodell selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

Unterschrift

### Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Frau Anna Walter hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: F. Streitparth, A. Walter, N. Stolzenburg, L. Heckmann, J. Breinl, J. L. Rinnenthal, A. Beck, M. De Bucourt, J. Schnorr, U. Bernhardt, B. Gebauer, B. Hamm, R. W. Günther, MR-guided Periarterial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2013;36(3):791-6.

Beitrag im Einzelnen:

Frau Walter war an der Versuchsplanung, -vorbereitung und –durchführung beteiligt, ebenso an der statistischen Auswertung, Erstellung histologischer Schnitte und deren Auswertung sowie an der Erstellung der Grafiken für die Publikation.

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

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## **Lebenslauf**

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

## **Publikationsliste**

F. Streitparth, A. Walter, N. Stolzenburg, L. Heckmann, J. Breinl, J. L. Rinnenthal, A. Beck, M. De Bucourt, J. Schnorr, U. Bernhardt, B. Gebauer, B. Hamm, R. W. Günther, MR-guided Periar-terial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013;36(3):791-6.

## Danksagung

Ich danke zunächst Herrn Prof. Dr. med. Bernd Hamm, Direktor der Klinik für Radiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, für die Möglichkeit am Campus Mitte wissenschaftlich arbeiten zu können und dafür dass ich die für die Promotion erforderlichen Räumlichkeiten, Geräte und Ausstattung nutzen durfte.

Mein besonderer Dank gilt meinem wissenschaftlichen Betreuer und Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Florian Streitparth, für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas, die vielfältige Unterstützung und die fruchtbaren Diskussionen und Anregungen im Zuge der Arbeit. Ich danke ihm ebenso für die Geduld, mit welcher er mich während der Arbeit begleitet hat. Durch seine Motivation, seine Wissbegier sowie sein Engagement konnte er mich darüber hinaus für das Gebiet der Radiologie begeistern und in der Wahl der Fachrichtung bestärken.

Ferner danke ich Herrn Dr. med. Patrick Freyhardt für die angenehme Zusammenarbeit während der Versuchsdurchführung.

Bei Frau Dr. med. vet. Nicola Stolzenburg und Frau Janni Breinl möchte ich mich für die veterinärmedizinische Unterstützung bei den Versuchen und die Einführung in die Laborarbeit sowie die histologischen Methoden und ihre unermüdliche und qualifizierte Hilfe bei fachlichen Fragen bedanken.

Ich danke Frau Dr. med. vet. Lilian Suppan für die kompetente veterinärmedizinische Begleitung aller Versuche, ohne die die Durchführung derer nicht möglich gewesen wäre und dafür dass sie die gemeinsamen Stunden des Arbeitens um vieles angenehmer machte.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dr. rer. nat. Jan Leo Rinnenthal für die Betreuung und Beratung in neuropathologischen Angelegenheiten und den großen zeitlichen Aufwand, den er in die Auswertung und Beurteilung histologischer Schnitte gesteckt hat.

Für die kollegiale Zusammenarbeit bei den Untersuchungen im MRT danke ich allen medizinisch technischen Assistenten und Assistentinnen, insbesondere Frau Virginia Ding-Reinelt.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Speck und Herrn Dr. Ing. Ulrich Bernhardt gilt mein herzlicher Dank für die Bestimmung der Noradrenalin-Konzentration, weiterhin dafür dass sie jede Frage bzgl. der HPLC-Messung und der Interpretation der Resultate geduldig beantworteten sowie für die Weitergabe von Literatur und unveröffentlichten Daten.

Meinen tiefsten Dank möchte ich meinen lieben Eltern aussprechen, die mir das Studium erst ermöglichten, mich darin bestärkten, zu promovieren und mir während der Erstellung der Dissertation, wie auch sonst, stets ermutigend zur Seite standen. Ohne deren uneingeschränkte und liebevolle Unterstützung hätte ich diesen langen Weg nicht bewältigen können. Ebenso möchte ich allen Freunden und Freundinnen für ihre Ablenkung und Motivation, aber auch ihr Verständnis während dieser Zeit danken.