

Aus der Klinik für Radiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
und der Klinik für Klautiere  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Transaortale periarterielle Ethanol-Sympathikolyse  
zur renalen Denervation mittels endovaskulärem  
Injektionskatheter im Schweinmodell**

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

vorgelegt von  
**Josephin Scholz, geb. Schütze**  
Tierärztin aus Rudolstadt

Berlin 2020  
Journal-Nr.: 4249







**Aus der Klinik für Radiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin  
und der Klinik für Kleintiere  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Transaortale periarterielle Ethanol-Sympathikolyse zur renalen Denervation mittels  
endovaskulärem Injektionskatheter im Schweinemodell**

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

**vorgelegt von**

Josephin Scholz, geb. Schütze

**Tierärztin**

**aus Rudolstadt**

**Berlin 2020**

**Journal-Nr.: 4249**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

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

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

pigs, animal models, kidney, injection, sympatholytics, catheters, denervation,  
renal functions, ethanol, norepinephrine, histology

Tag der Promotion: 04.12.2020

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-96729-098-1

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2020**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abkürzungsverzeichnis .....	IV
1. Einleitung.....	1
2. Aktueller Wissensstand.....	3
2.1. Regulation des Blutdrucks - Einfluss des sympathischen Nervensystems.....	3
2.2. Arterielle Hypertonie (aHT) und refraktäre aHT .....	6
2.3. Bluthochdruckassoziierte Begleit- und Folgeerscheinungen.....	8
2.4. Therapie der arteriellen Hypertonie .....	9
2.4.1. Konventionelle Therapie .....	9
2.4.2. Pharmakologische Therapie .....	10
2.4.3. Minimalinvasive Therapieoptionen .....	12
2.4.3.1. ROX Coupler .....	12
2.4.3.2. Barorezeptorstimulation .....	12
2.4.3.3. Renale Denervation .....	13
2.4.3.3.1. Katheter-basierte renale Denervation .....	14
2.4.3.3.2. Nicht-katheter-basierte Verfahren .....	17
2.4.3.3.3. Chemische RDN (cRDN) .....	18
2.5. Limitationen der bisherigen endovaskulären Verfahren .....	19
2.6. Zielstellung.....	20
3. Material und Methode .....	21
3.1. Studiendesign .....	21
3.2. Versuchstiere und Tierhaltung .....	21
3.3. Vorbereitung der renalen Denervation.....	22
3.4. Blutdruckmessung .....	23
3.5. Kathetergestützte renale Denervation mittels Ethanol .....	24
3.6. Postinterventionelles CT .....	27
3.7. Kontroll-CT und Euthanasie .....	28
3.8. Bestimmung Noradrenalin-Wert (NA-Wert) .....	30
3.9. Anfertigung der histologischen Präparate.....	30
3.9.1. Histologische Färbungen .....	31
3.10. Statistik .....	33

4. Ergebnisse.....	34
4.1. Allgemeine Daten .....	34
4.2. Technische Durchführbarkeit .....	34
4.3. Sicherheit und Nebenwirkungen .....	36
4.4. Renale Denervation mittels Ethanol.....	37
4.4.1. Blutdruck .....	37
4.4.2. Noradrenalinwerte .....	38
4.4.3. Makroskopische Beurteilung.....	39
4.4.4. Histologische Auswertung.....	42
4.4.4.1. Degenerationsgrad .....	44
4.4.4.2. Zirkumferenz .....	50
4.4.4.3. Nervenanzahl .....	52
4.4.4.4. Maximale Schädigungstiefe .....	52
4.4.5. Analytische Beurteilung .....	54
4.4.5.1. NA-Reduktion und Degenerationsgrad.....	54
4.4.5.2. NA-Reduktion und Zirkumferenz .....	54
4.4.5.3. Nervenanzahlreduktion und Degenerationsgrad.....	55
4.4.5.4. Nervenanzahlreduktion und Zirkumferenz .....	56
4.4.5.5. Korrelation Eindringtiefe und NA-Reduktion der behandelten Seite.....	57
5. Diskussion .....	58
5.1. Allgemeine Überlegungen .....	58
5.2. Diskussion von Material und Methoden .....	58
5.2.1. Das Versuchstiermodell .....	58
5.2.2. Sedation und Narkose .....	59
5.2.3. Wirkstoffwahl - Ethanol .....	59
5.2.4. Katheterwahl .....	60
5.2.5. Bestimmung von Noradrenalin .....	60
5.2.6. Histologische Aufarbeitung .....	61
5.2.7. Blutdruckmessung.....	61
5.3. Diskussion der Ergebnisse.....	61
5.3.1. Technische Durchführbarkeit.....	61

---

5.3.2. Sicherheit .....	62
5.3.3. Histologische Ergebnisse.....	63
5.3.4. Noradrenalin .....	66
5.3.5. Limitationen .....	67
5.3.6. Schlussfolgerung.....	69
5.3.7. Ausblick .....	69
6. Zusammenfassung.....	71
7. Summary .....	72
8. Literaturverzeichnis .....	73
Anhang .....	VII
Abbildungsverzeichnis.....	VIII
Tabellenverzeichnis.....	XI
Danksagung .....	XII
Publikationen.....	XIII
Selbstständigkeitserklärung .....	XIV

## Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
ABPM	ambulatory blood pressure monitoring
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
aHT	arterielle Hypertonie
AT1	Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1
BAT	Barorezeptorstimulation
BV	Blutvolumen
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CBCT	Cone Beam Computertomographie
CNP	C-natriuretisches Peptid
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CT	Computertomographie
CVK	Campus Virchow-Klinikum
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DEGS	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
EHIS	European Health Interview Survey
ESC	European Society of Cardiology
ESH	European Society of Hypertension
EvG	Elastica van Gieson
ext.	externa
F	French
GEDA	Gesundheit in Deutschland aktuell
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
HBPM	home blood pressure monitoring
HIFU	high intensity focused ultrasound
HE	Hämatoxylin-Eosin
HF	Herzfrequenz
HMV	Herzminutenvolumen

HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HZV	Herzzeitvolumen
Kg	Kilogramm
L	Liter
LAGeSo	Landesamt für Gesundheit und Soziales
LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
μ	Mikro
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
max.	maximal
min	Minute
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MONICA	Multinational MONItoring of trends and determinants in CARdiovascular disease
MS	Massenspektrometrie
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
o.ä.	oder ähnliches
RDN	renale Denervation
RFA	Radiofrequenzablation
s.	siehe
S.	Seite
SV	Schlagvolumen
TierSchVersV	Tierschutz-Versuchstierverordnung
TPW	totaler peripherer Widerstand
u.a.	unter anderem
V.	Vena
v.a.	vor allem
VNS	vegetatives Nervensystem
Vv.	Venae
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel



# 1. Einleitung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die Haupttodesursache weltweit [1]. Allein Bluthochdruck ist jährlich für ca. 9,4 Millionen Todesfälle auf der Welt verantwortlich [2]. Spricht man von Bluthochdruck, so meint man die arterielle Hypertonie (aHT). Bei dieser ist der Druck, den das fließende Blut auf die Arterien des Körperkreislaufs ausübt, zu hoch. Die Ursachen dafür sind vielfältig. Entscheidend ist, dass Bluthochdruck ein wesentlicher Risikofaktor für die Entstehung von kardiovaskulären, cerebrovaskulären und renalen Erkrankungen darstellt [3]. Knapp die Hälfte aller ischämischen Herzerkrankungen und etwas mehr als die Hälfte aller Schlaganfälle weltweit sind auf aHT zurückzuführen [3].

Einer Schätzung aus dem Jahr 2000 folgend, werden 2025 weltweit rund 1,56 Milliarden Menschen von arterieller Hypertonie betroffen sein [4]. In Deutschland zeigt die Studie „Gesundheit in Deutschland aktuell“ (GEDA) 2014/2015-EHIS (European Health Interview Survey), welche Teil des bundesweiten Gesundheitsmonitoring des Robert-Koch-Instituts, sowie Teil der europäischen Gesundheitsumfrage ist, dass jeder dritte Deutsche an Bluthochdruck leidet. Dabei nimmt die Prävalenz mit dem Alter zu. So haben knapp über 60% der Menschen, die 65 Jahre und älter sind, einen ärztlich diagnostizierten Bluthochdruck [5]. Diese Zahlen machen deutlich, wie wichtig die Diagnostik, die erfolgreiche Therapie und auch die Prävention dieser Erkrankung sind.

Von arterieller Hypertonie spricht man, laut aktuellen Leitlinien, ab einem systolischen Blutdruck von  $\geq 140$  mmHg und/oder einem diastolischen Wert von  $\geq 90$  mmHg [6, 7] bei wiederholten Messungen. Beginnend ab 115/75 mmHg verdoppelt sich jedoch schon das Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung mit jedem Anstieg des Blutdrucks um 20/10 mmHg [6].

Wird keine Ursache für den erhöhten Blutdruck gefunden, wie in den meisten Fällen, spricht man von essenzieller oder primärer Hypertonie. Ist die aHT Folge einer Grunderkrankung, bezeichnet man sie als sekundäre Hypertonie z.B. bei einem zugrunde liegenden primären Hyperaldosteronismus. Die sekundäre Form findet man nur in knapp 5 % der Patienten [8]. Eine gründliche Anamnese und Diagnostik sind also unabdingbar. Ist die Therapie der Wahl bei der sekundären Hypertonie die Behandlung des auslösenden Faktors, so ist die Therapie der primären aHT komplexer und vielschichtiger. Das Ziel ist jedoch immer Blutdruckwerte von  $< 140/90$  mmHg zu erreichen. Ist der Einsatz von Medikamenten nötig, stehen als mögliche Substanzgruppen u.a. Diuretika, Calciumantagonisten, Betablocker, ACE-Hemmer und Angiotensinrezeptorblocker zur Verfügung [5, 7]. Diese können als Mono- oder Kombinationstherapie genutzt werden.

Wird trotz Einsatz von 3 oder mehr blutdrucksenkenden Mitteln in optimaler Dosierung und aus verschiedenen Wirkstoffklassen, inklusive eines Diuretikums, keine adäquate Senkung des Blutdrucks erreicht, spricht man von therapieresistenter oder refraktärer Hypertonie [6, 7, 9]. Der genaue Prozentsatz an Betroffenen ist schwierig zu ermitteln, da eine Pseudoresistenz ausgeschlossen werden muss. Dazu zählen die Incompliance der Patienten bei der Medikamenteneinnahme und bei der Lebensstiländerung, inadäquate medikamentöse Therapie, technisch fehlerhafte Blutdruckmessungen und die „Weißkittelhypertonie“ [8, 10]. Man geht davon aus, dass ca. 10 - 30 % der Hypertoniker therapieresistent sind [11].

Die genauen pathophysiologischen Vorgänge bei refraktärer Hypertonie sind noch nicht vollständig erforscht. Jedoch weiß man seit vielen Jahren um die zentrale Bedeutung der Niere und um die Aktivität des sympathischen Nervensystems bei der Blutdruckregulation [12, 13]. Seit Beginn des 20. Jahrhunderts bis in die 50er Jahre wurde deshalb bei schwerer aHT die Durchtrennung sympathischer Nervenfasern operativ durchgeführt, eine sogenannte subdiaphragmatische Splanchniektomie. Dies war jedoch ein sehr radikaler Eingriff mit teilweise schweren Komplikationen und hohen Mortalitätsraten [14]. Man nahm Abstand von der chirurgischen Therapie als wirksame und gut verträgliche Medikamente verfügbar wurden.

Mit der Entwicklung neuer interventioneller Therapieverfahren wurde der Gedanke der renalen Denervation (RDN) in jüngerer Zeit wieder aufgenommen. So sind neue Therapieprinzipien bei therapierefraktärer Hypertonie entwickelt worden, welche gezielter und weniger invasiv eingesetzt werden können. Eine Möglichkeit ist die renale Denervation mittels Radiofrequenzablation (RFA). Das bekannteste System, welches auch bereits klinische Anwendung findet, ist die RFA mittels dem Symplicity™-Kathetersystem von Medtronic [15]. Ein Ablationskatheter, welcher über einen femoralen Zugang in die A. renalis eingebracht wird und die, in der Adventitia liegenden, sympathischen Nervenfasern mittels Radiofrequenzenergie transmural verödet. In der ersten, nicht randomisierten Studie (Symplicity HTN-1) wurde die RDN mittels RFA bei 45 Patienten durchgeführt. Der durchschnittliche Blutdruck von 177/101 mmHg konnte nach 12 Monaten systolisch um 27 und diastolisch um 17 mmHg gesenkt werden [15]. An der darauf folgenden Studie (Symplicity HTN-2), welche randomisiert war, nahmen 106 Patienten teil. Nach 6 Monaten wurde eine Reduktion des Blutdrucks um 32/12 mmHg in der Interventions-Gruppe festgestellt [16]. 2014 erfolgte dann die Veröffentlichung der Ergebnisse der Symplicity HTN-3 Studie. Diese Studie war erstmals verblindet randomisiert und hatte eine Gesamtteilnehmerzahl von 535 Personen. Nach 6 Monaten konnte eine Senkung des systolischen Blutdrucks von nur 14,1 mmHg in der Behandlungsgruppe festgestellt werden. Die scheinbehandelte Gruppe wies ebenfalls einen systolischen Blutdruckabfall auf. Dieser betrug 11,7 mmHg. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag bei lediglich 2,39 mmHg und war somit nicht signifikant [17]. Damit wurde eine signifikante Blutdruckreduktion mittels RFA im Gegensatz zur Scheinprozedur verfehlt und die Wirksamkeit des Verfahrens in Frage gestellt. Zudem gilt es zu beachten, dass nicht alle refraktären Bluthochdruckpatienten für die RFA geeignet sind und es einige Ausschlusskriterien gibt. Daher werden weitere Techniken zur renalen Denervation erprobt. Zu diesen gehören unter anderem die Kryoablation [18], intravaskulärer oder extrakorporaler Ultraschall [19, 20], sowie der lokale Einsatz von Neurotoxinen und chemischen Substanzen [21 - 23].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine neue, auch katheterbasierte Methode zur renalen Denervation zu eruiieren und dabei die technische Durchführbarkeit, Sicherheit und Effektivität zu beurteilen. Es erfolgte eine renale, transaortale periarterielle Ethanol-Sympathikolyse mittels endovaskulärem Injektionskatheter bei 11 Schweinen. Behandelt wurde jeweils einseitig, so dass die kontralaterale Seite als Kontrolle diente. Nach 4 Wochen wurden die Tiere euthanasiert und die Nieren mit umgebenden Gewebe entnommen. Die primären Outcome Parameter waren zum einen die histopathologische Beurteilung der renalen sympathischen Nerven, der Nierenarterien und des angrenzenden Gewebes, zum anderen die Bestimmung des Noradrenalin-Wertes im Nierenparenchym. Dies geschah jeweils seitenvergleichend. Die Messung des Blutdrucks kurz vor und nach der Intervention sowie am Tag der Euthanasie und die CT-gestützte Beurteilung der Injektatdistribution dienten als sekundäre Outcome-Parameter.

## 2. Aktueller Wissensstand

### 2.1. Regulation des Blutdrucks - Einfluss des sympathischen Nervensystems

Im Ruhezustand beträgt der systolische Blutdruck bei einem gesunden Erwachsenen etwa 120 mmHg und der diastolische Wert liegt bei etwa 80 mmHg [24]. Die Homöostase des Blutdrucks ist essenziell für den Körper. Länger andauernde Abweichungen von dem, in engen Grenzen gehaltenen, arteriellen Blutdruck sind schädlich. Hypotonie führt zu Minderdurchblutung der Organe und zu einem Sauerstoffmangel. Eine Hypertonie schädigt die Gefäße und später die Endorgane [25].

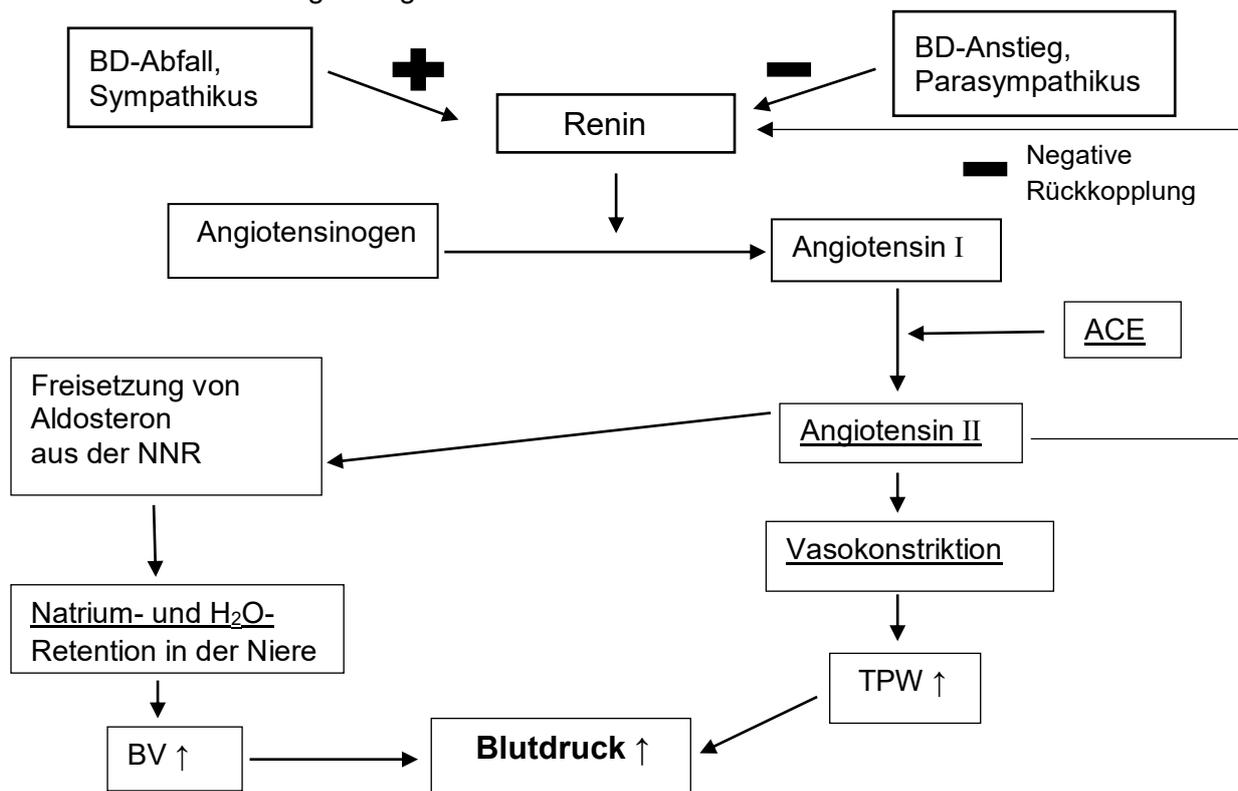
Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD), den über die Zeit gemittelten Wert, errechnet man aus dem Produkt von Herzzeitvolumen (HZV) und dem totalen peripheren Widerstand (TPW) in den Gefäßen [24]. Das HZV wird als Herzminutenvolumen (HMV) angegeben und ist wiederum das Ergebnis von Herzfrequenz (HF) mal Schlagvolumen (SV) [24]. Der TPW ist abhängig von der Viskosität des Blutes und dem Durchmesser der Gefäße [25].

Dabei wird die Herzfrequenz im Wesentlichen durch das vegetative Nervensystem (VNS) moduliert [24]. Das Schlagvolumen wird vom venösen Rückstrom und der Kontraktilität des Herzens bestimmt. Analog zur HF nimmt die Kontraktilität bei einer erhöhten sympathischen Aktivität zu und nimmt bei einer erhöhten parasympathischen Aktivität ab [24]. So kann der Körper sich schnell und effektiv an unterschiedliche Situationen, wie zum Beispiel eine höhere körperliche Anstrengung, anpassen.

Das zur Verfügung stehende Blutvolumen (BV) bestimmt den venösen Rückfluss. Das BV verändert sich je nach Flüssigkeitsaufnahme oder -verlust. Dabei spielen die Niere und das RAAS (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System) eine essenzielle Rolle. Durch die Exkretion oder Retention von Wasser und Elektrolyten, v.a. Natrium, hat die Niere einen bedeutenden Einfluss auf das Blutvolumen [24, 25].

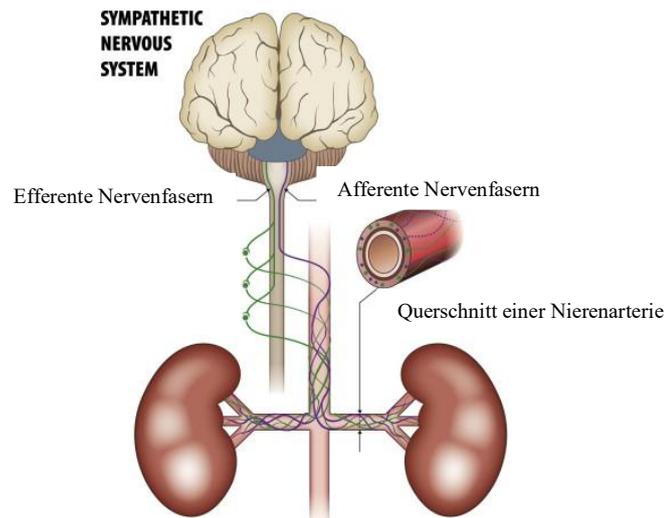
Die lokale Regulation der Gefäßweite geschieht über die vegetative Innervation sowie über verschiedene Botenstoffe. Zu nennen sind vor allem Stickstoffmonoxid (NO), Endothelin, C-natriuretisches Peptid (CNP) und Angiotensin (AT) II, welche zur Konstriktion oder Dilatation der Gefäße führen [24]. Schon eine geringe Änderung des Durchmessers der Gefäße hat enorme Wirkung. Man kann dafür eingeschränkt das Hagen-Poiseuille-Gesetz anwenden, wenn man davon ausgeht, dass in den Gefäßen die gleichen Bedingungen wie in einem Rohr herrschen und wenn man vernachlässigt, dass Blut keine Newton'sche Flüssigkeit ist [24, 25]. Das Gesetz besagt u.a., dass der Volumenstrom direkt proportional zur 4. Potenz des Innenradius ist. Analog zum Ohm'schen Gesetz ist es dann möglich zu sagen, dass der Widerstand mit der Abnahme des Radius um den Faktor der 4. Potenz zunimmt [24]. Werden die Gefäße also nur geringgradig enger gestellt, ist die Zunahme des TPW und somit auch des Blutdrucks wesentlich [25]. Kommt es zu einer Blutdruckschwankung, nimmt das der Organismus in Sekunden mittels Rezeptoren, wie z.B. den Barorezeptoren in den Gefäßwänden, wahr. Diese leiten die Information über afferente Nervenfasern an die Medulla oblongata, ein Teil des ZNS, weiter, welche durch Aktivierung des VNS Maßnahmen zur Regulation einleitet. Bei Blutdruckabfall kommt es kurzfristig durch eine erhöhte sympathische Aktivität zu einer Erhöhung der HF und des TPW [24]. Mittelfristig wird das RAAS aktiviert. Das bedeutet, dass die Polzellen des juxtaglomerulären Apparates der Niere Renin sezernieren, ein Enzym welches Angiotensin I von Angiotensinogen abspaltet. Durch das in der Lunge gebildete ACE (Angiotensin converting enzyme) wird Angiotensin I in das vasokonstriktorisch wirkende Angiotensin II umgewandelt. Langfristig gesehen, sorgt Angiotensin II zudem für eine Ausschüttung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde.

Aldosteron bewirkt in der Niere eine Retention von Wasser und Natrium und sorgt so für eine Zunahme des Blutvolumens und somit für eine Erhöhung des Blutdrucks [24, 25]. Dies ist vereinfacht in Abbildung 1 dargestellt.



**Abbildung 1:** Vereinfachte Darstellung der Blutdruckregulation durch das RAAS. „+ / ↑“ bedeutet Zunahme und „- / ↓“ Abnahme, BD - Blutdruck, ACE - Angiotensin converting enzyme, NNR - Nebennierenrinde, H<sub>2</sub>O - Wasser, BV - Blutvolumen, TPW - Totaler peripherer Widerstand. Die unterstrichenen Größen und tlw. deren Rezeptoren stellen Angriffspunkte für Antihypertensiva dar.

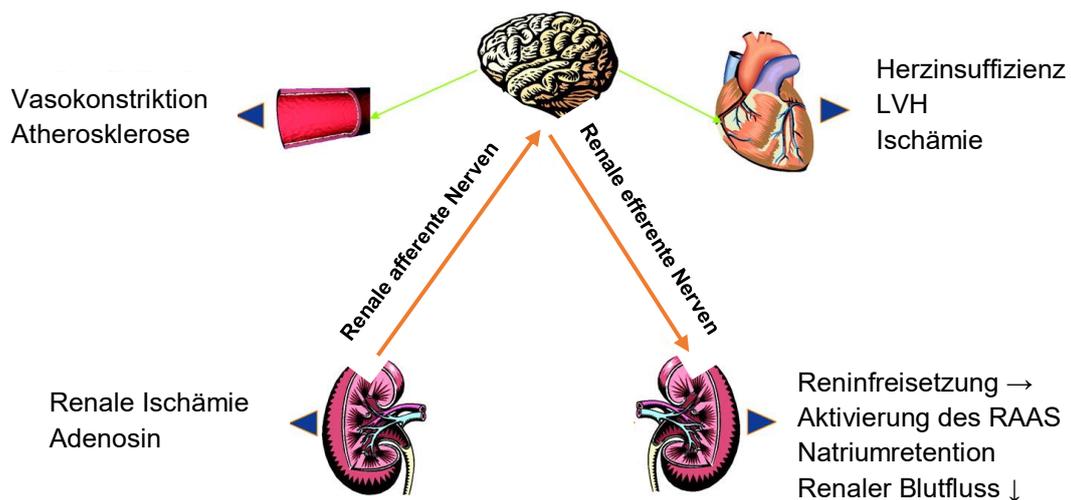
Fast alle der zur Behandlung von arterieller Hypertonie eingesetzten Medikamente greifen an unterschiedlichen Punkten in diese, in Abbildung 1 dargestellte, Proteinkaskade ein und bewirken auf verschiedene Art und Weise eine Senkung des Blutdrucks [26]. Die Initiation des RAA-Systems wird verschieden reguliert. Aktivierend auf die Reninausschüttung wirken u.a. eine verminderte Perfusion der Niere, ein Blutdruckabfall und die Aktivierung der  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptoren am juxtaglomerulären Apparat durch den Sympathikus. Damit hat das sympathische Nervensystem eine zentrale Bedeutung in der Blutdruckregulation. Angiotensin II, Aldosteron und der Parasympathikus hemmen hingegen über eine negative Rückkopplung die Reninsekretion. Zusätzlich wird bei sympathischer Aktivität in den distalen Tubuluszellen vermehrt Natrium rückresorbiert und der renale Plasmafluss sinkt durch die Wirkung an den renalen Arteriolen [27]. Hinzu kommt, dass die Niere nicht nur Effektor ist, sondern dass auch durch afferente Nervenfasern, welche zur Medulla oblongata verlaufen, die zentrale Sympathikusaktivität gesteigert wird [27]. Dabei liegen die afferenten und efferenten Nervenfasern netzartig bis in die Adventitia um die Nierenarterie herum [28, 29]. Dies ist in Abbildung 2 gut zu erkennen.



**Abbildung 2:** Darstellung der renalen afferenten und efferenten Nervenfasern. Modifiziert nach [30].

Studien haben gezeigt, dass Hypertoniker eine Überaktivität des Sympathikus aufweisen [31]. Durch diese zentrale sympathische Überaktivität kommt es nicht nur zu essenziellen Bluthochdruck, sondern auch zu anderen chronischen Erkrankungen wie zum Beispiel Insulinresistenz und tachykarden Herzrhythmusstörungen [32]. Die verstärkte efferente Impulsaktivität führt zu einer vermehrten Diffusion von Noradrenalin ins Plasma [32]. So ist die NoradrenalinKonzentration ein indirektes Maß für die Sympathikusaktivität und bei vielen Hypertonikern deutlich erhöht. [24, 32 - 34].

In Abbildung 3 sieht man einige der Wirkweisen der renalen afferenten und efferenten Nerven.



**Abbildung 3:** Physiologische und pathophysiologische Wirkungen der renalen Afferenzen und Efferenzen auf die Nieren, das ZNS, das Gefäßsystem und das Herz. LVH - linksventrikuläre Hypertrophie. Modifiziert nach [35].

Auf diesen Grundlagen beruht die in dieser Arbeit erforschte Therapiemethode, welche die chemische Denervation der renalen sympathischen Nervenfasern zum Gegenstand hat.

## 2.2. Arterielle Hypertonie (aHT) und refraktäre aHT

Arterielle Hypertonie, bzw. Bluthochdruck im allgemeinen Sprachgebrauch, ist die dauerhafte situationsunabhängige Erhöhung des Drucks in den arteriellen Blutgefäßen. Der systolische Grenzwert beträgt 140 mmHg und der diastolische 90 mmHg [7]. Wie in Tabelle 1 dargestellt, kann man die Messwerte noch genauer klassifizieren.

**Tabelle 1:** Kategorisierung und Definition von Blutdruckmesswerten (in mmHg) nach [7]. Die Gruppe wird bestimmt von dem jeweils höheren diastolischen oder systolischen Wert.

Kategorie	Systolisch	Diastolisch
Optimal	< 120	und < 80
Normal	120 - 129	und / oder 80 - 84
Hochnormal	130 - 139	und / oder 85 - 89
Hypertonie Grad 1	140 - 159	und / oder 90 - 99
Hypertonie Grad 2	160 - 169	und / oder 100 - 109
Hypertonie Grad 3	≥ 180	und / oder ≥ 110
Isolierte systolische Hypertonie	≥ 140	und < 90

Arterielle Hypertonie ist der wichtigste und häufigste Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen, welche die führende Todesursache weltweit sind [1, 3]. Im Jahr 2000 gab es ca. 972 Millionen Erwachsene mit Bluthochdruck. Das entspricht 26,4 % der Gesamtbevölkerung. Obwohl prozentual gesehen mehr Hypertoniker in den Industrieländern leben, zeigen die absoluten Zahlen jedoch, dass etwas mehr als 2/3 der Betroffenen aus Entwicklungsländern kommen. Einer Schätzung zufolge soll die Anzahl der Menschen mit aHT bis 2025 um 60 % auf 1,56 Milliarden steigen [4]. Diese Zahlen machen deutlich, dass Bluthochdruck ein globales Gesundheitsproblem darstellt, welches immer mehr Menschen betrifft. Arterielle Hypertonie ist der Hauptrisikofaktor für Schlaganfälle und einer der Risikofaktoren für Herzinfarkte [36, 37]. Schon ab einem systolischen Blutdruckwert von 115 mmHg verdoppelt sich das Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung mit jedem Anstieg des Drucks um 20 mmHg [6].

In Deutschland zeigt die Studie GEDA 2014/2015-EHIS, dass fast jeder 3. Erwachsene einen ärztlich diagnostizierten Bluthochdruck aufweist. In der Gruppe der ≥ 65-Jährigen liegt die Prävalenz mit zwei Dritteln noch deutlich höher [5]. Zur Bestimmung der Blutdruckwerte gibt es die Praxisblutdruckmessung mit auskultatorischen oder oszillometrischen Messgeräten. Außerhalb der Praxis findet die Langzeitblutdruckmessung (ABPM) oder die häusliche Blutdruckmessung (HBPM) Anwendung. Diese zwei Verfahren ermöglichen eine größere Anzahl von Blutdruckwerten und somit eine repräsentativere Aussage über den tatsächlichen Blutdruck. Die Ergebnisse sollten ergänzend zum Praxisblutdruck der Therapiekontrolle und -überwachung dienen [7].

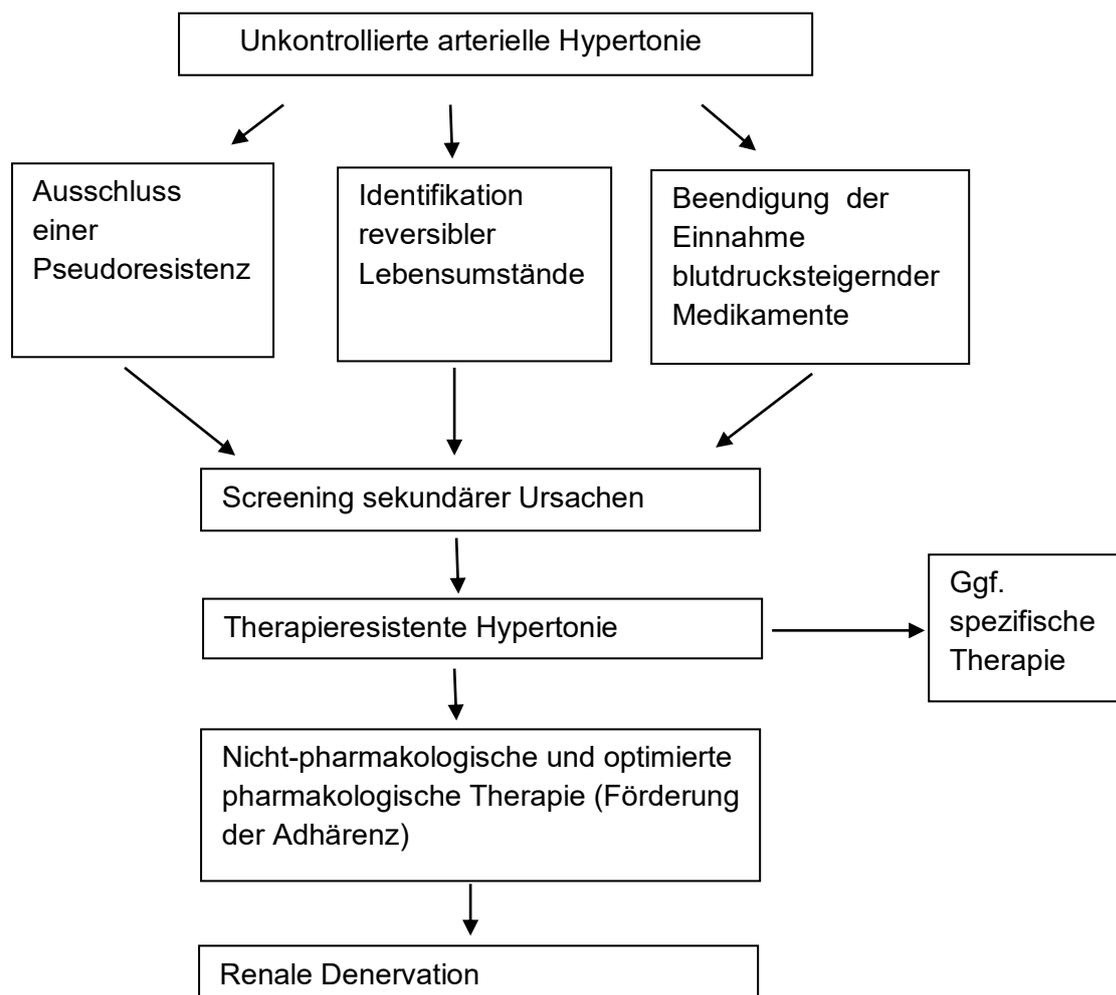
Neben der Kategorisierung in Schweregrade kann man die aHT auch in primäre und sekundäre Hypertonie einteilen. Dies ist nicht immer einfach und bedarf der genauen

Anamnese und Diagnostik. Die sekundäre Hypertonie ist eher selten. Sie ist in der Regel monokausal und die Behandlung der organischen Grundursache stellt die Therapie dieser Form dar. Als mögliche Ursachen für einen erhöhten Blutdruck kommen parenchymatöse Nierenerkrankungen, Nierenarterienstenose, primärer Hyperaldosteronismus oder seltener ein Phäochromozytom oder ein Cushing-Syndrom in Frage [7].

In über 95 % der Fälle lässt sich keine genaue organische Ursache für den erhöhten arteriellen Blutdruck finden und man spricht von primärer oder essenzieller Hypertonie [8]. Diese Form ist multikausal. Zum einen ist sie stark von Umwelt- und Lebensstilfaktoren der Patienten abhängig, zum anderen aber auch von deren Genetik [38]. Die große Gefahr der aHT ist, dass die Erkrankung lange Zeit unbemerkt bleibt – meist solange bis Endorganschäden auftreten [39]. Neben nicht modifizierbaren Faktoren wie Geschlecht, steigendes Alter und familiäre Prädisposition gibt es noch eine Reihe beeinflussbarer Faktoren. So erhöhen Stress, Übergewicht, hoher Salz- und Alkoholkonsum, Rauchen, wenig Bewegung und ungesunde Ernährung das Risiko an Bluthochdruck zu erkranken [7, 8]. Zudem können Medikamente wie z.B. Immunsuppressiva und nichtsteroidale Antiphlogistika den Blutdruck erhöhen [40]. Einige der Pathomechanismen, welche zur Entstehung von aHT beitragen, sind erhöhte Gefäßsteifigkeit, gestörte Barorezeptoraktivität, erhöhter Gefäßwiderstand, endotheliale Dysfunktion, gestörter Wasser- und Salzmetabolismus, Aktivierung des RAAS und die gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystems [38]. In dieser Arbeit ist mit arterieller Hypertonie immer die primäre Hypertonie gemeint.

Zur Therapie von aHT sind oben genannte Lebensstiländerungen vorzunehmen. Reicht das allein nicht aus bzw. sind die Blutdruckwerte sehr hoch, müssen zusätzlich Medikamente eingesetzt werden. Trotz guter medizinischer Versorgungsmöglichkeit ist die Anzahl gut eingestellter Hypertoniker mit 7 - 50 % relativ niedrig. Im MONICA Projekt in Augsburg betrug der Kontrollgrad, das heißt der Prozentsatz von behandelten Hypertonikern mit Blutdruckwerten < 140/90 mmHg, 1994/95 bei Männern 6,6 %, bei Frauen 13,1 %. Obwohl der Kontrollgrad in den älteren Altersgruppen höher war, ist er nie über 20 % gestiegen [41]. 2008 - 2011 in der DEGS 1 lag der Kontrollgrad bei ca. 50 % [42]. Bei adipösen und übergewichtigen Patienten erreichen weniger als 20 % ihre Zielblutdruckwerte [43]. In den USA zeigt die National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) ähnliche Zahlen: 47 % der Hypertoniker haben trotz Medikation keine Zielblutdruckwerte erreichen können [44].

Es gilt zu unterscheiden zwischen echter Therapieresistenz und Pseudoresistenz. Hauptursachen für letztere sind die mangelnde Compliance der Patienten bei Einnahme der Medikamente und / oder bei der Änderung ihres Lebensstils und inadäquate antihypertensive Medikation [8, 10, 45]. Daneben können fehlerhaft technische Blutdruckmessungen oder die Weißkittelhypertonie Ursache einer Pseudoresistenz sein [8, 45]. Ist dies alles ausgeschlossen, sind blutdrucksteigernde Medikamente abgesetzt und erreicht man trotz Einnahme von 3 oder mehr Antihypertensiva verschiedener Substanzklassen in maximaler bzw. maximal tolerierbarer Dosierung, inklusive eines Diuretikums, die Zielwerte von unter 140 mmHg systolisch und 90 mmHg diastolisch nicht, spricht man von echter therapieresistenter oder refraktärer Hypertonie [6, 7, 9]. Der exakte Prozentsatz refraktärer Hypertoniker ist nicht bekannt, da der Ausschluss von Pseudoresistenzen teilweise sehr schwierig ist. Je nach Literatur beträgt der Anteil 4 - 28 % [8, 11, 46 - 48]. Abbildung 4 zeigt das mögliche diagnostische und therapeutische Vorgehen bei unkontrollierter aHT. Die Diagnose und Therapie dieser Patienten ist sehr wichtig, weil sie ein besonders hohes kardiovaskuläres Risiko haben [49].



**Abbildung 4:** Behandlungsstrategien bei therapieresistenter arterieller Hypertonie nach [48].

### 2.3. Bluthochdruckassoziierte Begleit- und Folgeerscheinungen

Langanhaltender Bluthochdruck ist sehr schädlich für den Organismus, v. a. für die Endorgane. Zu diesen zählen Herz, Gehirn, Augen, Nieren und die Gefäße selber. Eine frühe Erkennung solcher beginnender Organschäden ist enorm wichtig, denn nur so kann man die Progression der Schädigungen verlangsamen, aufhalten oder wenn sie reversibel sind, die Funktion wieder herstellen. Neben der hämodynamischen Druckbelastung kommt es auch durch das sympathische Nervensystem, das RAAS, die Mineralkortikoidrezeptor-Stimulation sowie durch metabolische und inflammatorische Faktoren zur Endorganschädigung [50]. Weiterhin bestimmen die Höhe der Kochsalzzufuhr und das Übergewicht den Grad der Organschäden unabhängig von der Blutdruckhöhe [51, 52]. An diesem Beispiel sieht man, dass nicht immer allein die Höhe des Blutdrucks eine Aussage über den Schweregrad der Endorganschäden zulässt, sondern dass auch andere Faktoren eine wichtige Rolle dabei spielen. Eine spezifische Diagnostik zur Erkennung von frühen hypertensiven Endorganschäden, neben der Blutdruckmessung, ist daher dringend notwendig.

Die Auswirkung der chronischen Druckerhöhung an den Gefäßen zeigt sich als hypertensive Vaskulopathie. Dabei kommt es in den kleinen und großen Arterien zu endothelialen Dysfunktionen und Remodeling, v. a. beruhend auf zu wenig verfügbarem Stickstoffmonoxid (NO) [53]. Dies führt zu vermehrter Wandsteifigkeit, Verlust der Koronarreserve und beginnender Atherosklerose [52, 53]. Ohne Therapie kommt es im fortgeschrittenen Stadium, vor allem in der Aorta, zu Stenosen und Aneurysmata [52]. Die Therapie besteht hauptsächlich

in der Blutdrucksenkung. Fast alle Antihypertensiva haben zusätzlich einen positiven Effekt auf die Wandsteifigkeit, bis auf  $\beta$ -Blocker. Von dieser Substanzklasse wurde in der CAFE Studie von Williams et al. gezeigt, dass sie das Risiko eines Schlaganfalls nicht senken kann [54].

Das Herz ist ein weiteres wichtiges Endorgan, welches durch aHT geschädigt wird. Zu den hypertensive Herzerkrankungen gehört u.a. die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH), welche lange Zeit symptomlos bleibt. Sie erhöht das Risiko für Herzinsuffizienz, plötzlichen Herztod, Herzinfarkt und Schlaganfall [52]. Auch bei dieser Erkrankung ist nicht nur die hämodynamische Belastung durch die aHT relevant, sondern auch andere strömungsunabhängige Faktoren wie z.B. die Aktivierung des sympathischen Nervensystem und des RAAS [55, 56]. In der Therapie der LVH werden vor allem Hemmer des RAAS und Kalziumantagonisten eingesetzt, da diese neben der Blutdrucksenkung auch eine Reduktion der Herzmasse zur Folge haben [52, 57].

Arterielle Hypertonie ist einer der Hauptrisikofaktoren für einen Schlaganfall [3]. Dies gilt für den ischämischen genauso wie den hämorrhagischen [58]. 2010 erlitten ca. 16,9 Millionen Menschen weltweit einen Schlaganfall, 5,9 Millionen Menschen sind daran gestorben [59]. Weitere hypertensive cerebrovaskuläre Schädigungen, durch aHT verursacht, sind lakunäre Infarkte, Marklagerschäden und Mikroblutungen aufgrund der Mikroangiopathie [50]. Eine Reduktion des Blutdrucks  $< 140/90$  mmHg reduziert das Schlaganfallsrisiko signifikant [60, 61]. Bluthochdruck ist außerdem ein Risikofaktor für kognitive Dysfunktion und Demenz, nicht nur für die vaskuläre Form der Demenz, sondern auch für den Typ Alzheimer [62, 63].

Auch die Augen mit den Gefäßen in der Retina sind von einer Schädigung durch chronisch oder akut erhöhten Blutdruck betroffen. Bei einem Fundus hypertonicus findet man, je nach Stadium der retinalen Schädigung, verengte Arteriolen, Hämorrhagien, Exsudate, Papillenödem und eine Optikusatrophie [50]. Der Patient klagt über Augenschmerzen oder Visusstörungen bis hin zur Erblindung. Eine rasche und adäquate Blutdrucksenkung ist erforderlich.

Diese weitreichenden Auswirkungen machen deutlich, welche medizinische Herausforderung die aHT darstellt und dass die Erreichung der Zielblutdruckwerte essenziell ist.

## **2.4. Therapie der arteriellen Hypertonie**

### **2.4.1. Konventionelle Therapie**

Laut ESC/ESH Leitlinien sind Lebensstiländerungen die wichtigste und primäre Therapie bei einem Blutdruck im Bereich Hochnormal oder Grad 1 ohne Endorganschäden [7]. Ein Problem stellt die oft geringe Compliance über längere Zeiträume dar. Auch wenn im Verlauf oder bei höheren Blutdruckwerten eine medikamentöse Therapie nötig ist, bleiben die Lebensstiländerungen immer ein wichtiger Bestandteil bei der Therapie und Verlaufskontrolle der aHT.

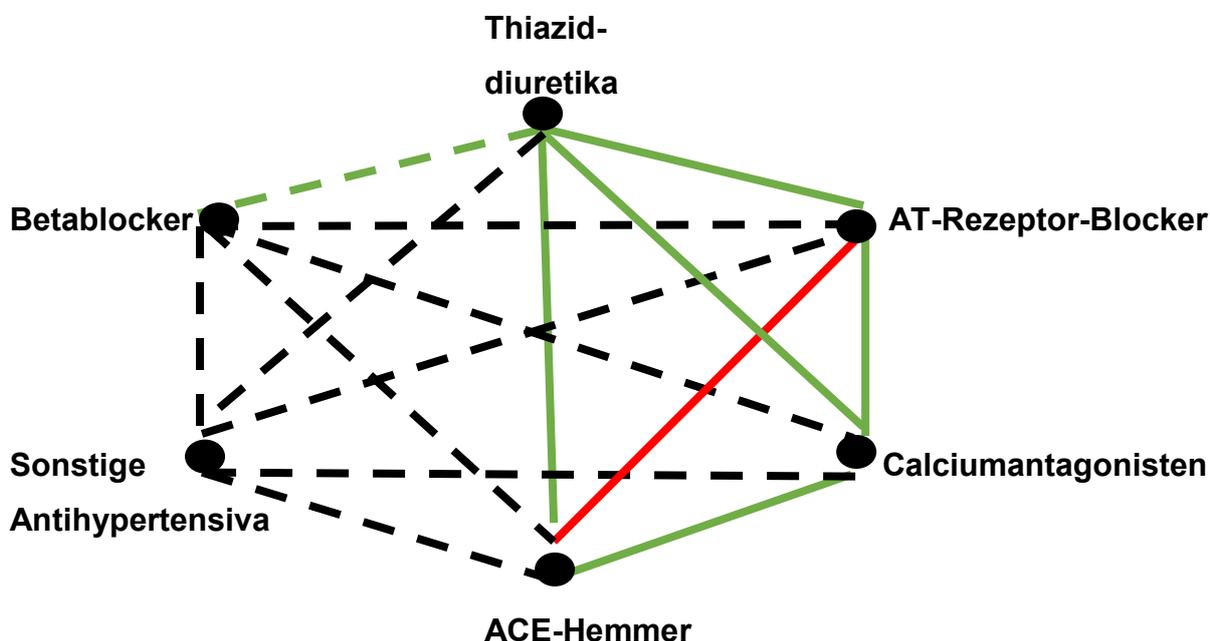
Zu den Veränderungen im Alltag gehört bei übergewichtigen oder adipösen Patienten eine Gewichtsreduktion [64 - 66]. Die Kochsalzzufuhr sollte auf maximal 5 - 6 g/Tag reduziert werden [7, 67]. Zudem sollte die Ernährung fettreduziert mit erhöhtem Anteil an Omega-6-Fettsäuren und reich an Obst und Gemüse sein [7, 64, 67]. Weiterhin ist regelmäßige Bewegung in den Alltag zu integrieren. Moderates Training mindesten 30 Minuten pro Tag an 5 - 7 Tagen die Woche kann den systolischen Wert um 4 - 9 mmHg reduzieren [7, 69, 70]. Wenn ein erhöhter Alkoholkonsum bei dem Patienten vorliegt, sollte dieser reduziert werden [7, 64]. Rauchenden Hypertonikern ist zu empfehlen komplett auf Nikotin zu verzichten [7]. Wenn nötig, sollten Entspannungsübungen o. ä. zur Stressbewältigung erlernt werden. Die

Kombination zwei oder mehrerer dieser Lebensstiländerungen hat einen additiven Effekt und sollte daher angestrebt werden [6, 64].

## 2.4.2. Pharmakologische Therapie

Hilft die konventionelle Therapie allein nicht aus um die Zielblutdruckwerte  $< 140/90$  mmHg zu erreichen oder bestehen bereits Endorganschäden bzw. liegt eine Hypertonie Grad 3 vor, muss mit einer medikamentösen Therapie begonnen werden. Die Entwicklung antihypertensiver Medikamente begann vor etwa 50 Jahren [71]. Heute stehen eine Reihe von verschiedenen Medikamentengruppen zur Verfügung, welche besser verträglich sind als damals. Die Auswahl des Therapieregimes ist individuell nach bestehenden Erkrankungen und persönlichen Risikofaktoren zu treffen. Es besteht die Möglichkeit einer Mono- oder Kombinationstherapie. Es ist vor allem wichtig die Therapietreue der Patienten sicherzustellen. Diese ist höher je weniger Tabletten eingenommen werden müssen und je geringer die Nebenwirkungen sind [72].

Als Initial- und Dauertherapie stehen offiziell fünf Substanzklassen zur Verfügung: ACE-Hemmer, AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blocker,  $\beta$ -Blocker, Diuretika und Kalziumantagonisten [7]. Man sollte stets mit einer niedrigen Initialdosierung laut Fachinformation starten und folgend die Dosis langsam anpassen. Dabei ist wichtig zu wissen, dass es drei bis vier Wochen dauern kann bis die volle Wirkung eintritt [71]. Bei Kombinationen sollte man auf die Verträglichkeit der verschiedenen Komponenten achten. In Abbildung 5 sind die Monosubstanzen zur Therapie der aHT dargestellt und welche Wirkstoffe gut, nur bedingt oder gar nicht kombinierbar sind.



**Abbildung 5:** Mögliche Kombinationen der antihypertensiven Wirkstoffe. Grün durchgezogen: bevorzugte Kombinationen; Grün gestrichelt: sinnvolle Kombination; schwarz gestrichelt: mögliche, aber weniger gut untersuchte Kombinationen; rot durchgezogen: nicht empfohlene Kombination (nach [7])

Zur Initialtherapie werden fixe Kombinationspräparate ebenso empfohlen wie Monopräparate [7]. Zu beachten gilt, dass die Vorteile von zwei oder mehr Wirkstoffklassen u.a. in der Addition der blutdrucksenkenden Wirkung und in einem geringeren Bedarf der Dosishöhe liegen [71]. Somit ist der Behandlungserfolg größer und die unerwünschten Nebenwirkungen geringer, als mit einer Monotherapie. Denn mit steigender Dosierung nehmen die Nebenwirkungen überproportional zu, wohingegen die Wirkungskurve in höheren Dosierungen eher flach verläuft [73]. Ein weiterer Vorteil ist die höhere Therapieadhärenz der Patienten [71]. Diese ist generell sehr variabel. Einige Studien zeigen eine Medikamentenadhärenz von weniger als 50 % [72, 68]. Generell kann man sagen, dass sie geringer ist je mehr Tabletten vom Patienten

einzunehmen sind [73]. Bei einer Tablette zweimal täglich beträgt die Medikamententreue noch 60 %, bei einer Tablette viermal täglich nur noch 25 % [74]. So geht man davon aus, dass 50 - 60 % der Bluthochdruckpatienten weniger Medikamente als verordnet einnehmen [74, 68]. Eine Device-basierte Therapie könnte hier die Anzahl der Tabletten reduzieren oder sogar ganz ersetzen. Auf diese Weise könnten mehr Hypertoniker die Zielblutdruckwerte von < 140/90 mmHg erreichen. Aktuell ist in Deutschland nur etwa jeder zweite Hypertoniker optimal mit oralen antihypertensiven Medikamenten eingestellt [42].

Die fünf zur Verfügung stehenden Substanzklassen von Antihypertensiva sind nachfolgend näher erläutert.

### **ACE-Hemmer**

Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer greifen in das RAAS-System ein und verhindern die Umwandlung von Angiotensin I in das vasokonstriktorisch wirkende Angiotensin II. Zudem wird die Sekretion von Vasopressin und Aldosteron verringert und die Aktivität des sympathischen Nervensystems reduziert [75]. ACE-Hemmer verringern außerdem die Nachlast der Herzens [75]. Eine der häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen von ACE-Hemmern ist ein trockener Reizhusten, wohingegen eine der gefährlicheren Nebenwirkungen ein Angioödem der oberen Atemwege ist, welches zu einem lebensbedrohlichen Zustand führen kann [26].

### **Angiotensin (AT)-Rezeptor-Blocker**

Eine weitere Substanzgruppe, welche das RAAS-System beeinflusst, sind die AT1-Rezeptor-Blocker. Diese wirken kompetitiv und selektiv am AT1-Rezeptor und verhindern so die kardiovaskulären Auswirkungen von Angiotensin II. Ein Vorteil gegenüber den ACE-Hemmern ist, dass der trockene Husten und das Angioödem deutlich seltener als Nebenwirkungen auftreten. Ein Grund dafür ist der ungestörte Bradykininabbau, welcher durch ACE katalysiert wird [76]. Weder ACE-Hemmer noch AT-Rezeptor-Blocker sollten während einer Schwangerschaft eingenommen werden. Beide Substanzklassen haben fetotoxische Eigenschaften [76].

### **Kalziumantagonisten**

Zu dieser Gruppe, auch Kalziumkanal-Blocker genannt, gehören Substanzen, die selektiv den Einstrom von Kalzium am L-Typ-Kalziumkanal blockieren [25]. Neuere Medikamente der 3. Generation wirken zusätzlich auch am T-Typ-Kalziumkanal [78]. Diese Kanäle findet man zum Beispiel in der glatten Muskulatur von Gefäßwänden oder im Herzmuskel. Durch Vasodilatation sinkt der periphere Widerstand und somit auch der Blutdruck. Zudem führen sie zur energetischen Entlastung des Herzmuskels und einer besseren Koronardurchblutung desselbigen [25].

### **Beta-Rezeptorblocker**

Medikamente dieser Substanzgruppe blockieren kompetitiv  $\beta$ -Adrenozeptoren und verhindern so die Bindung von Adrenalin und Noradrenalin. Es werden der Blutdruck und auch die Herzfrequenz gesenkt. Man unterscheidet zwischen selektiven  $\beta_1$ -Rezeptorblocker und nicht-selektiven Betablockern [79]. Hervorzuheben ist Nebivolol, ein Betablocker der 3. Generation. Dieser blockiert nicht nur den  $\beta_1$ -Rezeptor selektiv, sondern aktiviert auch die endotheliale NO-Sekretion [80]. Damit wirkt Nebivolol als einziger Betablocker zusätzlich vasodilatierend und senkt den peripheren Gefäßwiderstand [71]. Außerdem kann es durch das freigesetzte Stickstoffoxid die Funktion des Endothels verbessern [81].

## **Diuretika**

In der Hypertoniebehandlung sind vor allem Thiaziddiuretika gebräuchlich und Mittel der ersten Wahl [83]. Sie sind harntreibende Medikamente, welche die Resorption von Natrium und Chlorid im frühdistalen Tubulus hemmen [24]. Es wird die Ausscheidung beider Ionen und Wasser verstärkt. Sie werden als Mono- oder Add-On-Therapie eingesetzt. Weitere Indikationen sind Herzinsuffizienz, Ödeme oder kalziumhaltige Nierensteine [84].

Wird trotz Einnahme von 3 oder mehr Antihypertensiva verschiedener Substanzklassen, inklusive eines Diuretikums, in maximal tolerierbarer Dosis der Zielblutdruck nicht erreicht, spricht man von therapieresistenter Hypertonie [6, 7, 9]. In diesen Fällen können bzw. müssen minimalinvasive Verfahren in Betracht gezogen werden.

### **2.4.3. Minimalinvasive Therapieoptionen**

Wird die Senkung der Blutdruckwerte in den Zielbereich trotz Medikamenteneinnahme nicht erreicht und sind ursächliche Erkrankungen ausgeschlossen, werden andere Therapieoptionen in Betracht gezogen. Durch die Entwicklung neuer interventioneller Verfahren in den letzten Jahren gibt es ein alternatives Therapiefeld zu den bisherigen oralen Medikamenten. Das Ziel der minimalinvasiven Eingriffe ist es, dass Trauma des Zugangs wie auch der Operation selber so gering wie möglich zu halten. Dafür hat man keine direkte Sicht auf das Operationsfeld, sondern steuert die Instrumente mit entsprechender Bildgebung. Dieses Feld bietet viele neue Möglichkeiten, bedarf aber auch noch intensiver Forschung.

#### **2.4.3.1. ROX Coupler**

Bei diesem Therapieverfahren ist der periphere Widerstand der Angriffspunkt. Dieser wird durch die Schaffung einer künstlichen Anastomose zwischen der A. iliaca externa und der V. iliaca externa gesenkt [85, 86]. Ursprünglich wurde dieses Verfahren zur Therapie der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD - chronic obstructive pulmonary disease) entwickelt. Durch die Anastomose werden die gemischt venöse Sauerstoffkonzentration und das HZV erhöht. Dies ermöglicht COPD-Patienten, die auf exogene Sauerstoffzufuhr nicht ansprechen, u.a. eine bessere Belastungsfähigkeit [87]. Das entsprechende Instrument ist der ROX Coupler (ROX Medical Inc., San Clemente, CA, USA), welcher aus Nitinol, einer Nickel-Titan-Legierung besteht. Er ist formstabil und gleichzeitig flexibel, so dass eine dauerhafte und in der Größe fest definierte, Anastomose geschaffen werden kann [85]. Der ROX Coupler wird minimalinvasiv über je einen Zugang in der A. und V. femoralis eingebracht, anschließend wird die arteriovenöse Fistel hergestellt. Die Senkung des peripheren Widerstandes führt zum Abfall des systemischen Blutdrucks [85, 86]. Dieser Umstand wird genutzt um das Verfahren bei therapieresistenten arteriellen Hypertonus anzuwenden. Da das Shuntvolumen 800-1000ml/min beträgt, ist die Patientenauswahl sehr wichtig. Patienten mit Herzinsuffizienz oder pulmonal-arterieller Hypertonie sind auszuschließen, da der pulmonalarterielle Blutdruck durch die künstliche Anastomose ansteigen wird. Erste Studien zeigen positive Ergebnisse bezüglich der Blutdrucksenkung [88, 89].

#### **2.4.3.2. Barorezeptorstimulation**

Eine weitere minimalinvasive Methode ist die Barorezeptorstimulation (BAT). Barorezeptoren am Sinus caroticus werden durch elektrische Impulse aktiviert und suggerieren dem Körper einen Bluthochdruck. Dieser reagiert mit einer Deaktivierung des Sympathikus und einer Aktivierung des Parasympathikus [90]. Daraufhin sinkt der Blutdruck. Eine der führenden Hersteller ist die Firma CVRx® Inc. (USA). Je nach Modell wird bei dem Eingriff eine Elektrode um eine oder beide Aa. Carotides gelegt. Wobei der Stimulator der ersten Generation (Rheos®, CVRx®, Minneapolis, MN, USA) um beide Arterien gelegt wurde und der der zweiten (neo®, CVRx®, Minneapolis, MN, USA) nur noch um eine. Die Größe des zweiten Gerätes ist auch deutlich geringer als die des ersten. Die Implantation des Pulsgenerators erfolgt unter dem Schlüsselbein [90]. Die Batterie hält zwischen drei und vier Jahre [85]. Die erste

Machbarkeitsstudie mit 45 Teilnehmern zeigte einen signifikanten und langanhaltenden Blutdruckabfall [91]. Die folgende Doppelblindstudie zeigte Blutdruckabfälle bei beiden Gruppen, jedoch war der Abfall bei der Gruppe mit aktivierten Barorezeptorstimulator deutlich höher [92].

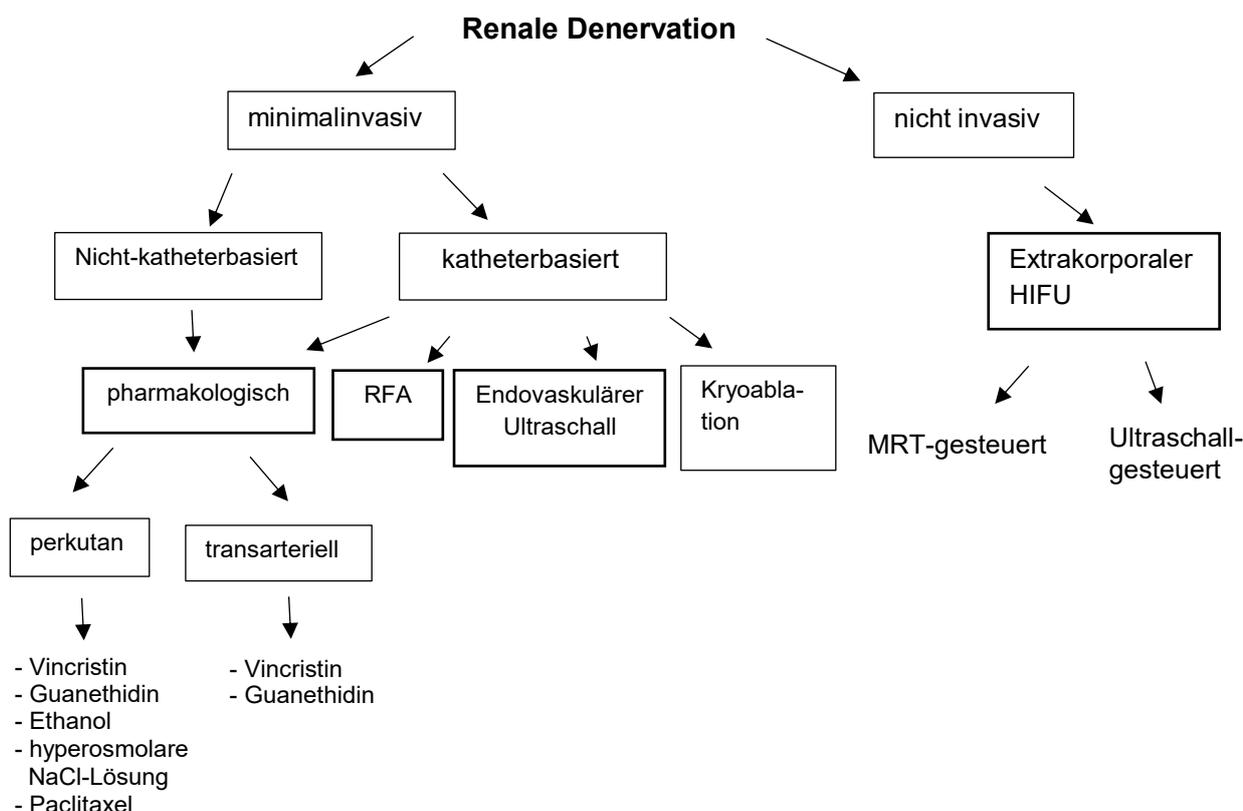
Das MobiusHD®-System der Firma Vascular Dynamics, Inc. (Mountain View, CA, USA) ist eine weitere Alternative zur Stimulation des physiologischen Baroreflexes. Perkutan über einen Katheter wird ein Implantat, ähnlich einem Stent, aus Nitinol in den Karotissinus eingebracht. Dieser führt durch Änderung der Gefäßgeometrie zur passiven Verstärkung der Pulswelle und somit zu einer erhöhten Barorezeptoraktivierung, welche wiederum die Inhibition des sympathischen Nervensystems zur Folge hat [77]. In Europa und den USA wurde die nicht randomisierte CALM (Controlling and Lowering Blood Pressure with the MobiusHD)-Studie mit 31 Patienten durchgeführt. Dabei wiesen die Teilnehmer einen durchschnittlichen Blutdruck von 186 / 116 mmHg auf und allen wurde das MobiusHD-System implantiert. Sechs Monate nach dem Eingriff konnte bei der Praxisblutdruckmessung eine Senkung der Werte um 22/10 mmHg gesehen werden. 9 Patienten wurden nach 12 Monaten untersucht und die gemessenen Blutdruckwerte zeigten immer noch eine Differenz von 26/16 mmHg [82].

#### **2.4.3.3. Renale Denervation**

Eine dritte Therapieoption bei therapieresistenter Hypertonie, welche mit am längsten erforscht und in der Klinik bereits angewendet wird, ist die renale Denervation. Um diese geht es auch in der vorliegenden Arbeit. Es ist bekannt, dass bei Hypertonikern die Hyperaktivität des Sympathikus eine tragende Rolle spielt [33]. Dabei sind vor allem seine Auswirkungen auf die Nieren und ihre Signalwege von Bedeutung. Diese sind bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der Hypertonie sehr entscheidend. Daher ist eine Inaktivierung der renalen sympathischen Nervenfasern ein erfolgsversprechender Therapieansatz.

Bis in die 1950-er Jahren hat man die renale Denervation chirurgisch, mittels subdiaphragmaler Splanchniektomie, durchgeführt [13]. Dabei erfolgte die invasive, nicht selektive Durchtrennung der Nervi splanchnici kurz unterhalb des Diaphragmas. Dies hatte eine sehr effektive Blutdrucksenkung von 50 mmHg oder mehr zur Folge [13, 93]. Es war aber ein großer chirurgischer Eingriff, der oft mit schwerwiegenden Komplikationen wie massivem Schwindel, erektiler Dysfunktion, Inkontinenz und Synkopen einherging [93]. Zudem lag die Mortalitätsrate bei ca. 19 % [93]. Aufgrund der hohen Komplikationsrate und mit der Einführung von gut wirksamen und besser verträglichen Medikamenten wurde diese Art der Therapie nicht fortgeführt.

In den letzten Jahren griff man den Gedanken der renalen Denervation in verschiedenen Arbeitsgruppen wieder auf und entwickelte diverse minimalinvasive Techniken. Aktuell stehen verschiedene Methoden und Instrumente für diese Aufgabe zur Verfügung. Einige werden schon klinisch angewendet, andere sind noch in der tierexperimentellen Studienphase. Abbildung 6 zeigt einen groben Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten. Sie erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.



**Abbildung 6:** Schema über die verschiedenen Verfahren der renalen Denervation. RFA - Radiofrequenzablation; NaCl - Natriumchlorid; HIFU - Hochintensiver fokussierter Ultraschall.

Bei den Verfahren zur RDN gibt es extravaskuläre Herangehensweisen, welche die Nervenfasern von außerhalb der Nierenarterie schädigen. So zum Beispiel die perkutane Injektion von neurotoxischen Substanzen in die unmittelbare Nähe der Nierenarterie oder der extrakorporale Ultraschall. Auf der anderen Seite gibt es endovaskuläre Verfahren bei denen der Zugang über die A. femoralis erfolgt und anschließend ein Katheter bis in die Nierenarterie vorgeführt wird. Je nach Methode verlieren die umliegenden Nerven durch thermische Energie, Ultraschall oder chemische Substanzen, welche neurotoxisch wirken, ihre Funktion. Folgend werden einige der verschiedenen Verfahren genauer erläutert.

#### 2.4.3.3.1. Katheter-basierte renale Denervation

##### Radiofrequenzablation (RFA)

Das bekannteste Verfahren ist die Radiofrequenzablation mittels endovaskulärem Ablationskatheter [15, 16]. Bei dem Eingriff wird unter Röntgendurchleuchtung ein Ablationskatheter über die A. femoralis bis in die Nierenarterie vorgeführt. Anschließend wird punktförmig Radiofrequenzenergie an die Gefäßwände abgegeben. Die in der Adventitia liegenden Nerven werden durch die thermische Energie geschädigt und funktionsuntüchtig. Nacheinander werden beide Nierenarterien behandelt. Über die Jahre haben verschiedene Firmen unterschiedliche Arten von Kathetern entwickelt. Nachfolgend sind einige der Systeme genauer erläutert.

## 1. Symlicity™

Das Symlicity-Kathetersystem von Medtronic (Minneapolis, Minnesota, USA) besteht aus einem Radiofrequenzgenerator, welcher hochfrequenten Wechselstrom erzeugt und einer Sonde mit einer Elektrode an der Spitze. Bei dem Eingriff wird zuerst eine Schleuse in die A. femoralis communis gelegt und dann über einen Führungskatheter die Ablationssonde bis distal in die A. renalis vorgeführt. Durch Drehen und Zurückziehen des Katheters werden nacheinander sechs bis acht Ablationspunkte gesetzt. Die Ablationsdauer pro Punkt beträgt bis zu zwei Minuten. Währenddessen werden Temperaturen von bis zu 80 °C in der Gefäßwand erreicht [94]. Da dies diffuse viszerale Schmerzen verursacht, wird der gesamte Eingriff unter Analgosedierung durchgeführt [15]. Insgesamt dauert die Intervention im Durchschnitt 40 Minuten [94]. Ein entscheidendes Kriterium bei der Patientenauswahl ist die Anatomie der Nierenarterie. So müssen Hypertoniker mit einer doppelten Nierenversorgung, einer Nierenarterienstenose, einem Durchmesser der Nierenarterie < 4 mm oder einer Nierenarterienlänge < 20 mm ausgeschlossen werden. Zudem darf die Nierenfunktion nicht zu stark eingeschränkt sein. Eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) < 45 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ist auch ein Ausschlusskriterium [15, 16].

Die erste multizentrische Machbarkeitsstudie Symlicity HTN-1 [15] mit 45 Teilnehmern zeigte eine signifikante Blutdruckreduzierung nach 1 (-14/-10 mmHg) und nach 12 Monaten (-27/-17 mmHg). Auch in einer finalen Studie nach 36 Monaten zeigte sich kein erneuter Blutdruckanstieg [95]. So dass man davon ausgehen kann, dass eine funktionale Regeneration der Nerven nicht stattfindet und die Blutdrucksenkung von Dauer ist. Die Symlicity HTN-2 Studie mit 106 Teilnehmern [16] war randomisiert kontrolliert und zeigte ebenfalls 6 Monate nach RDN einen signifikanten Blutdruckabfall um 32/12 mmHg, die Blutdruckwerte der Kontrollgruppe blieben unverändert. Die neueste Symlicity HTN-3 Studie war randomisiert, kontrolliert und einfach verblindet. Von 535 Teilnehmern erhielten 364 Personen eine RDN, die restlichen Teilnehmer erhielten eine Scheinprozedur. Nach 6 Monaten konnte in beiden Gruppen eine systolische Blutdrucksenkung festgestellt werden. Diese war in der behandelten Gruppe niedriger als in den vorangegangenen Studien und betrug nur 14 mmHg in der Praxismessung. Doch auch die Kontrollgruppe zeigte einen Abfall des systolischen BD um 12 mmHg. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war somit nicht signifikant. [17].

Diese Ergebnisse waren eine Zäsur und stellten das gesamte Verfahren in Frage. Darauf folgende Analysen der HTN-3-Studie zeigten die Schwachpunkte des Studienaufbaus und der Methodik auf und es wurden mögliche Ursachen für die Ergebnisse genannt. So wurden z.B. die Eingriffe von vielen verschiedenen Ärzten durchgeführt, welche zum Teil sehr wenig Erfahrung mit dieser Technik hatten. In der Folge wurden teilweise weniger Ablationen als empfohlen durchgeführt. Jedoch korreliert die Anzahl der Ablationen mit dem blutdrucksenkenden Effekt der Prozedur. Außerdem wurde die antihypertensive Medikation, trotz anderslautender Empfehlung, in beiden Gruppen in den ersten 6 Monaten verändert [97].

## 2. EnligHTN™

2013 wurde in der EnligHTN™ Studie ein Katheter der Firma St. Jude Medical (St. Paul, Minnesota, USA) getestet, welcher mit 4 Elektroden gleichzeitig 4 definierte Ablationspunkte setzen kann [98]. Wohingegen der Symlicity-Katheter nur eine monopolare Elektrode aufweist. Die Dauer der Ablation beträgt nur noch ca. 90 Sekunden und die Energieabgabe erfolgt nur 2 - 3 Mal pro Nierenarterie. Auf diese Weise wird die Interventionszeit verkürzt. In einer ersten multizentrischen, nicht randomisierten Studie mit 46 Patienten wurde der Praxisblutdruck nach 24 Monaten um -29/-13 mmHg gesenkt [98].

### 3. Vessix™

Cohen-Mazor et al. entwickelte 2014 einen ballonähnlichen Katheter (Vessix™) mit mehreren bipolaren Elektroden. Durch diese Eigenschaft wird die Menge der benötigten Energie, im Gegensatz zu monopolaren Systemen, deutlich reduziert und das Risiko von Schäden an der Arterienwand, abgesehen von der Ablationsstelle, verringert [99]. Die Blutzufuhr zur Niere wird während der Platzierung des Katheters kurzzeitig unterbrochen. Eine Behandlung pro Nierenarterie ist in der Regel ausreichend. Durch eine Behandlungszeit von ca. 30 Sekunden pro Nierenarterie wird die gesamte Interventionszeit reduziert. In der REDUCE HTN Studie mit 146 Teilnehmern konnte ein Blutdruckabfall um -25/-10 mmHg 12 Monate nach erfolgter renaler Denervation nachgewiesen werden [100]. Bei 18 % der teilnehmenden refraktären Hypertonikern wurde ein systolischer Zielblutdruck von < 140 mmHg erreicht [100].

### 4. Symplcity Spyral™

Auch das Symplicity-System hat sich weiterentwickelt. Das neueste Modell ist der Symplicity Spyral-Katheter. Er hat eine spiralförmige, selbstexpandierende Spitze mit 4 Elektroden. Das Ablationsmuster bleibt gleich, jedoch mit weniger Manipulation des Katheters. Es ist nur eine einmalige Positionierung notwendig. Pro Arterie beträgt die Ablationszeit ca. 60 Sekunden. Der Katheter ist für Nierenarteriendurchmesser von 3 - 8 mm geeignet [101]. Die randomisierte, Sham-kontrollierte Machbarkeitsstudie SPYRAL HTN-OFF MED hatte 80 Teilnehmer aus 21 Zentren. Diese Patienten nahmen keine oder pausierten mit ihren antihypertensiven Medikamenten zum Zeitpunkt der RDN. Nach 3 Monaten konnte in der Praxismessung eine Differenz von -8/-5 mmHg festgestellt werden. Die 24-Stunden-Blutdruckmessung zeigte einen Blutdruckabfall um 5,5 mmHg systolisch und 4 mmHg diastolisch. Die Kontrollgruppe, welche eine Scheinprozedur erhielt, wies keine signifikanten Änderungen des Blutdrucks auf [102]. Es folgte die SPYRAL HTN-ON MED Studie, bei welcher die Patienten seit mindestens 6 Wochen vor der Intervention ein bis drei antihypertensive Medikamente in gleichbleibender Dosis einnahmen. Auch dies war eine randomisiert kontrollierte Studie. Nach 6 Monaten konnte bei der ambulanten 24-Stunden-Messung ein systolischer Blutdruckabfall von 7 mmHg und diastolisch von 4,3 mmHg verzeichnet werden. Der Unterschied zur Kontrollgruppe war signifikant [103].

## **Kryotherapie**

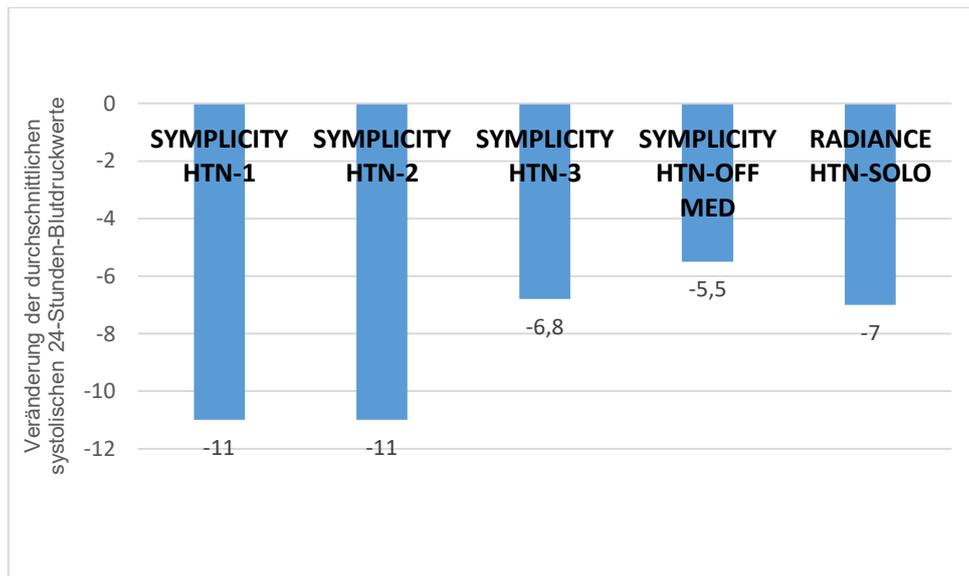
Andere Forscher wählten neue Quellen der Energie für die Verödung der Nervenfasern. Zum Beispiel zeigten 2011 Prochnau et al. erfolgreich die Machbarkeit und Sicherheit von renaler Denervation mittels Kryoablation im Schafmodell [18]. 2015 konnten Ji et al. auch im Schweinemodell zeigen, dass die RDN mittels Kryoablation sicher und effektiv ist [104].

## **Ultraschall**

Eine weitere Alternative erforschten 2012 Mabin et al. indem sie an 11 Patienten mit therapieresistenten Bluthochdruck endovaskulären Ultraschall als Energiequelle für die renale Denervation nutzten [19]. Die hochfrequenten Schallwellen erzeugen Wärme in den tieferen Gewebsschichten und zerstören so die überaktiven sympathischen Nervenfasern. Bei der Intervention kam die PARADISE™ Technologie (ReCor Medical, NY, USA) zum Einsatz. Der Paradise Katheter ist von ballonähnlicher Form, welcher mit kühlender Flüssigkeit gefüllt ist. Er wird, wie die anderen Katheter auch, über einen femoralen Zugang in die Nierenarterie eingebracht. 7 Sekunden lang wird zirkumferentiell nicht fokussierter Ultraschall ausgesendet. Pro Nierenarterie werden ca. 2 - 4 Behandlungen angewandt [106]. Die aktuellste Studie ist die RADIANCE HTN. Diese verblindete, randomisierte und schein kontrollierte Studie wurde unterteilt in 2 Kohorten. RADIANCE-HTN SOLO sind Bluthochdruckpatienten welche seit mindestens 4 Wochen keine blutdrucksenkenden Medikamente nehmen. In der TRIO-Gruppe befinden sich therapierefraktäre Hypertoniker, welche aktuell 3 oder mehr Antihypertensiva einnehmen. Die ersten Ergebnisse der SOLO Studie zeigen 2 Monate post interventionem einen systolischen Blutdruckabfall um -7 mmHg in der behandelten Gruppe im Unterschied

zu -3,1 mmHg in der Gruppe, welche die Scheinprozedur erhielt [107]. Die Ergebnisse der TRIO Studie stehen noch aus.

In Abbildung 7 wird die erzielte systolische Blutdrucksenkung der Symplicity™-Katheter sowie des Paradise™-Katheters in den verschiedenen Studien vergleichend dargestellt. Dabei wurden die durchschnittlichen systolischen Werte aus der 24-Stunden-Messung verwendet. In den ersten 4 Studien nutzte man thermische Energie mittels RFA, in der letzten Studie endovaskulären Ultraschall zur renalen Denervierung.



**Abbildung 7:** Vergleichende Darstellung der systolischen Blutdrucksenkung bei der 24-Stunden-Messung in unterschiedlichen RDN-Studien. Modifiziert nach [105]. HTN-1 bis HTN-3 wurden mit dem Symplicity™-Katheter, Symplicity Off Med mit dem Symplicity Spyril™-Katheter und die Radiance Studie mit dem Paradise™-Katheter durchgeführt.

#### 2.4.3.3.2. Nicht-katheter-basierte Verfahren

Bei katheterbasierten Verfahren können in seltenen Fällen auch interventionelle Komplikationen auftreten. So kam es bei RFA-Verfahren durch den Katheter zum Beispiel zu einer Nierenarterien-dissektion oder zur Bildung eines Pseudoaneurysmas an der A. femoralis [15, 16]. Zur Vermeidung dieser Komplikationen wird auch nach nicht-katheter-basierten Verfahren geforscht. Jedoch haben auch diese ihre Herausforderungen.

2013 wurde die Nutzung von extrakorporalen hochintensiven fokussierten Ultraschall (HIFU) zur RDN an 18 Hunden getestet [20]. Dabei werden die ausgesandten Schallwellen gezielt gebündelt und erhitzen an einem gewählten Punkt das Gewebe so stark, dass es zerstört wird. Es sind Temperaturen von bis zu 90 °C lokal möglich. Das umliegende Gewebe bleibt jedoch unberührt. Bisher ist das größte Einsatzgebiet des HIFU die Onkologie. Auch Wang et al. setzte HIFU zur RDN ein und konnte 28 Tage nach Ablation ein Noradrenalinabfall von -55,4 % messen [20]. Ebenso untersuchten Freyhardt et al. den Einsatz von HIFU als Alternative zur RDN mittels RFA-Katheter. In dieser Studie wurde HIFU bei 10 Schweinen in Vollnarkose einseitig und unter MRT-Kontrolle durchgeführt. Der NA-Abfall zwischen behandelter und unbehandelter Seite war vorhanden, jedoch nicht signifikant. Die histologische Auswertung zeigte auch kaum pathologische Veränderungen an den, in der Adventitia liegenden, Nervenfasern [108]. Als Grund wurden die ungünstige porcine Anatomie mit ihren längeren Processi transversi und eine ausgeprägte Fascia thoracolumbalis genannt, welche nur ein kleines Fenster für die Ultraschallwellen ließ [108].

Kona Medical Inc. (Bellevue, Washington, USA) entwickelte ein sogenanntes Surround Sound® System, welches niedrig intensiven fokussierten Ultraschall nutzt, um nichtinvasiv von

extern die sympathischen Nerven der Nierenarterie zu schädigen [109]. Die ersten 2 klinischen Machbarkeitsstudien mit therapie-resistenten Bluthochdruckpatienten benutzten noch eine Art „Zielkatheter“, welcher in die Nierenarterie eingeführt wurde und an dessen Spitze sich eine Ultraschallsonde befand, die das Zielen für die externe Sonde erleichtern sollte. Ab der WAVE III Studie wurde die intraarterielle Sonde weggelassen. Zur Findung der Zielstruktur wurde stattdessen eine Duplexsonographie durchgeführt [109]. Insgesamt wurden 69 Teilnehmer mit dem Surround Sound® System behandelt. Nach 6 Monaten konnte der systolische Blutdruck um 24 mmHg und der diastolische BD um 9 mmHg gesenkt werden. Eine der häufigsten Nebenwirkungen waren uni- und bilaterale Rückenschmerzen, die teilweise länger als 30 Tage anhielten [109]. Die randomisierte, scheinkontrollierte Doppelblindstudie WAVE IV von 2014 wurde frühzeitig abgebrochen, da bei 81 behandelten Patienten kein signifikanter Unterschied in der Blutdrucksenkung zwischen der behandelten und der scheinbehandelten Gruppe nach 12 sowie nach 24 Wochen festgestellt werden konnte [110].

#### **2.4.3.3.3. Chemische RDN (cRDN)**

Neben der Nutzung diverser Energieformen wurde von verschiedenen Forschern auch die Möglichkeit des Einsatzes neurotoxischer Substanzen zur renalen Denervation getestet. Die Applikation erfolgte entweder katheterbasiert transarteriell oder perkutan direkt in unmittelbare Nähe der Nierenarterie. Zu den untersuchten Substanzen gehören Vincristin, Guanethidin, Ethanol, hyperosmolare Kochsalzlösung und Paclitaxel. Die drei zuerst genannten stellten sich als am wirksamsten dar und werden folgend genauer beschrieben.

**Vincristin** gehört zu den halbsynthetischen Vincaalkaloiden. Als Zytostatikum wird es vor allem in der Onkologie zur Chemotherapie von akuter Leukämie, Lymphomen und einigen Sarkomen angewendet. Vincristin weist aber auch neurotoxische Eigenschaften auf, welche es nützlich für die RDN machen [111]. 2011 wurde Vincristin erfolgreich im Schweinemodell zur Denervation der renalen sympathischen Nervenfasern genutzt. Die Applikation erfolgte transarteriell mittels Mikroinfusionskatheters (Bullfrog®, Mercator MedSystems Inc., San Leandro, CA, USA) [112]. Dabei kommt eine 130 µm lange Mikronadel durch Entfaltung des Ballons zum Vorschein und penetriert die Wand der A. renalis [111].

Auch das Antisymphotonikum **Guanethidin** wurde schon länger auf seine Neurotoxizität hin untersucht. Oral eingenommen reichert es sich in den sympathischen Nervenfasern an und behindert reversibel die Neurotransmitterfreisetzung; es kommt zur Senkung des Blutdrucks [111]. Lokal angewendet, wirkt es immunvermittelt denervierend [113]. Im Schweinemodell mit Hilfe eines Mikroinfusionskatheters zur RDN genutzt, kam es zu einem deutlichen NA-Abfall mit einem guten Sicherheitsprofil [114].

Die Arbeitsgruppe um Freyhardt et al. nutzte die neurotoxischen Eigenschaften von Vincristin und Guanethidin, um eine renale Denervation zu erwirken. Sie wählten kein katheterbasiertes Verfahren, sondern applizierten die Wirkstoffe perkutan unter CT-Steuerung [23]. Bei 6 Schweinen wurde Vincristin und bei weiteren 6 Tieren Guanethidin unilateral periarteriell appliziert. In der Vincristin-Gruppe betrug der NA-Abfall von behandelter zu unbehandelter Seite 53 % ( $p < 0,01$ ). In der Guanethidin-Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied im NA-Abfall gezeigt werden. Histopathologisch konnten jedoch bei allen behandelten Tieren Nervenschädigungen nachgewiesen werden.

Eine weitere seit Jahren erfolgreich eingesetzte neurotoxische Substanz ist **Ethanol**. Dabei handelt es sich um einen aliphatischen, einwertigen Alkohol. Lokal angewendet, führt er zur sofortigen und direkten Neurolyse. Die Wirkung beruht auf einer Schädigung der Zellmembran, Dehydratation des Gewebes und auf der Denaturierung von Proteinen [115]. Die Ethanolinjektion hat eine lokale Entzündungsreaktion und anschließend die Wallersche Degeneration der Nervenzellen zur Folge. Bei der histologischen Untersuchung sind u.a. intrazelluläre Ödeme und eine Demyelinisierung erkennbar [115].

Das größte Einsatzgebiet ist die Schmerz- und Palliativmedizin. Durch die gezielte Ausschaltung der Nervenfunktion in bestimmten Arealen können Schmerzempfindungen, welche medikamentös nicht beherrschbar sind, gelindert bzw. komplett unterbunden werden. Die wichtigsten interventionellen Eingriffe sind Sympathikusblockaden, v. a. des Plexus coeliacus bei Oberbauchschmerzen und die intrathekale Neurolyse [115]. Zum Einsatz kommen dabei verschiedene Konzentrationen des Ethanol von 40 - 100 %. Eine Minimalkonzentration welche zur Neurolyse führt, ist bislang unbekannt [116]. Nach Injektion des Alkohols diffundiert er aufgrund seiner guten Gewebelöslichkeit in die Umgebung. Der Abbau erfolgt in der Leber, so dass keine systemischen Nebenwirkungen zu erwarten sind [116].

Ethanol wurde bereits nicht-katheterbasiert unter MRT-Steuerung zur RDN im Schweinemodell von Streitparth et al. erforscht [21]. Dabei wurden 6 Schweinen 5 ml und 8 Schweinen 10 ml 95%-iger Ethanol perkutan unilateral appliziert. 4 Wochen post interventionem wurden die Tiere euthanasiert, der NA-Gehalt im Nierenparenchym gemessen und die Nierenarterie inklusive der sie umgebenden sympathischen Nerven wurde histologisch untersucht. Der NA-Abfall der behandelten Seite gegenüber der unbehandelten war bei einer Teilgruppe signifikant niedriger. Außerdem wurden neuronale Degenerationen histologisch nachgewiesen [22]. Dieses Verfahren wurde durch dieselbe Arbeitsgruppe erstmals auch an einem Menschen durchgeführt [117]. Einem 50-jährigen Mann mit therapieresistenter arterieller Hypertonie und Nierenversagen wurde unter CT-Kontrolle Ethanol perkutan bilateral um die Nierenarterien appliziert. Schon nach 6 Tagen konnte ein Blutdruckabfall um 29/14 mmHg verzeichnet werden [117].

Aufgrund der bisherigen positiven Erfolge bei der Nutzung von Ethanol zur Neurolyse und zur sympathischen RDN, egal ob im Tiermodell oder bei der Anwendung im Menschen, wurde auch in der vorliegenden Dissertation Ethanol als sympatholytische Substanz gewählt. Erstmals wurde Ethanol mittels Katheter transaortal um die Nierenarterie appliziert. Die Injektion durch die Wand der Aorta auf Höhe der Nierenarterienabzweigung in den periarteriellen Raum hat den großen Vorteil, dass man unabhängig von der Anatomie der versorgenden Nierenarterien die Behandlung durchführen kann. Viele Limitationen der anderen katheterbasierten Verfahren werden so umgangen. So könnte man das Verfahren z.B. auch bei einer doppelten Nierenversorgung oder bei Nierenarterienstenosen anwenden. Es müssten also weniger Patienten aufgrund ihrer Gefäßanatomie von dem Eingriff ausgeschlossen werden und somit wäre der Patientenpool viel größer.

## 2.5. Limitationen der bisherigen endovaskulären Verfahren

Ein Ausschlusskriterium für die Anwendung des Symplicity-Katheters ist ein Durchmesser der Nierenarterie  $< 4$  mm, eine Länge der A. renalis von  $< 20$  mm oder eine doppelte Nierenversorgung. Auch bei Patienten mit einer GFR  $< 45$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> oder einer bekannten bzw. behandelten Nierenarterienstenose kann das Verfahren nicht durchgeführt werden [15, 16]. Eine Studie von Schonherr et al. zeigte 2016, dass diese Ausschlusskriterien sehr oft vorkommen. Bei 126 untersuchten Patienten wären bis zu 59 % nicht passend gewesen [118]. Zu den möglichen Komplikationen, die bei der RDN mittels RFA auftreten können, gehören Nierenarterienstenosen und Nierenarteriendissektionen [95].

Der Paradise-Katheter benötigt ebenfalls einen Nierenarteriendurchmesser  $\geq 4$  mm [119] und eine GFR  $\geq 40$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> [107]. Der Spyral-Katheter kann bereits ab einem Durchmesser der Nierenarterie  $> 3$  mm eingesetzt werden. Somit besteht die Möglichkeit auch akzessorische Äste der Aa.renales mitzubehandeln [120]. Jedoch kann dies die Dauer der Intervention deutlich verlängern. So wurden in der Spyral-HTN OFF MED Studie durchschnittlich 43,8 Punkte für je 60 Sekunden kauterisiert [120]. Bei der Benutzung des Paradise-Katheters in der Radiance-HTN SOLO Studie wurden im Durchschnitt 5,4 Punkte für

je ca. 7 Sekunden abladiert [107]. Im Verlauf dieser Studie ist es zudem vorgekommen, dass das Ostium der Nierenarterie so gewunden war, dass ein Passieren und Vorschieben des Katheters nicht möglich war [107].

Ein weiterer Punkt ist die Variabilität der Eindringtiefe zwischen den einzelnen Systemen. Der Paradise-Katheter zeigte im Tiermodell eine Eindringtiefe von 1 – 7,5 mm [121]. In 2 Studien wurde ein thermochromatisches kristallines Flüssigkeitsmodell genutzt, um die Eindringtiefe der abgegebenen Energie diverser RFA-Katheter zu evaluieren. Diese Studien zeigten eine Eindringtiefe des Symplicity-Katheters von 3,8 mm, des EnligHTN-Katheters von 3,4 mm und des Spyral-Katheters von 2,2 mm [122, 123].

## 2.6. Zielstellung

Vor dem Hintergrund der genannten Limitationen und den bisher bekannten Systemen, stellt unsere Studie, zum Zeitpunkt der Durchführung, die erste dar, welche einen transaortalen Zugang für die Applikation von Ethanol zur chemischen RDN gewählt hat. Ein katheterbasiertes Verfahren unter Aussparung der Nierenarterie, welche durch ihre anatomische Variabilität oder Vorerkrankung oft zum Ausschluss des Patienten von einer Intervention führt, ist ein neuer Ansatzpunkt auf dem Gebiet der RDN. Zudem ist die Gefahr von Gefäßstenosen in einer großen Arterie, wie der Aorta, geringer als in der A. renalis mit geringerem Durchmesser. In dieser Studie sollte die technische Machbarkeit, Sicherheit und Effektivität des genannten Verfahrens im Tiermodell untersucht werden.

Als primäre Outcome Parameter wurden definiert:

- der histologische Nachweis degenerierter Nerven um die Nierenarterie
- und die Messung des renoparenchymatösen NA-Gehalts.

Dies geschah jeweils Seitenvergleichend, mit der unbehandelten Seite als Kontrolle. Als sekundäre Outcome Parameter wurden definiert:

- die Messung des arteriellen Blutdrucks
- und die Beurteilung der Injektatsverteilung.

## **3. Material und Methode**

### **3.1. Studiendesign**

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine einarmige, prospektive experimentelle Tierversuchsstudie. In dieser Machbarkeitsstudie soll geprüft werden, ob die katheterbasierte transaortale periarterielle Applikation von Ethanol beim Schwein durchführbar und sicher ist. Darüber hinaus wird evaluiert, ob dieses Verfahren zur gezielten renalen Denervation und somit zur positiven Beeinflussung von refraktärer Hypertonie einsetzbar ist.

Dafür erfolgte bei 11 Schweinen einseitig eine katheterbasierte, transaortale chemische RDN mittels Ethanol. Die kontralaterale Seite wurde nicht behandelt und diente so als Kontrolle. 10 Tiere wurden jeweils 4 Wochen nach erfolgter Intervention euthanasiert. Anschließend wurden beide Nieren, inklusive des umgebenden Gewebes, entnommen. Die histopathologische Auswertung der Effekte von Ethanol auf das behandelte Gewebe, insbesondere auf die sympathischen renalen Nervenfasern, ist der primäre Outcome Parameter dieser Studie. Zusätzlich, als Effektivitätsparameter der cRDN, wurde der Noradrenalinegehalt im Nierenparenchym beidseits vergleichend bestimmt. Als sekundäre Outcome-Parameter wurden der arterielle Blutdruck der Schweine prä- und postinterventionell sowie am Tag der Euthanasie gemessen und die Injektatsverteilung um die Nierenarterie, CT-gestützt, beurteilt.

### **3.2. Versuchstiere und Tierhaltung**

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 11 männliche und kastrierte Hausschweine der Rasse „Deutsche Landrasse“ aus dem Betrieb H.G.E. Service GmbH Langerwisch, Michendorf, Deutschland, welche jeweils paarweise zu unterschiedlichen Zeitpunkten gehalten und behandelt wurden. Die Tiere wogen kurz vor der Intervention zwischen 24 kg und 39 kg. Zwei der Schweine waren schwerer (54 kg und 55 kg), da die Intervention später als geplant stattfand. Die Tierhaltung erfolgte in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK unter Einhaltung der EU-Richtlinie 2010/63/EU und der deutschen Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV), wie in Abbildung 8 zu sehen ist. Es waren jeweils 2 Schweine in einer gefliesten, ca. 9 m<sup>2</sup> großen Box aufgestellt. Diese war mit Hobespänen (Allspan GmbH Spanverarbeitung, Karlsruhe, Deutschland) eingestreut und zur Beschäftigung der Tiere gab es Heu, Stroh, Bälle oder anderes Spielzeug. Täglich wurden die Boxen gereinigt und neu eingestreut. Gefüttert wurden die Schweine 2 Mal täglich mit Standard-Haltungsfutter Mast Solo pelletiert (AGRAVIS Raiffeisen AG, Münster, Deutschland). Zusätzlich gab es ab und zu Äpfel und Möhren. Es waren pro Box jeweils 2 Tränkebecken Modell 370-VA<sup>1</sup>/<sub>2</sub>" der Firma SUEVIA® (SUEVIA HAIGES GmbH, Kirchheim/Neckar, Deutschland) installiert. Die Tierversuche wurden durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (LAGeSo) bewilligt. Die Tierversuchsnummer lautete G 0169/13.

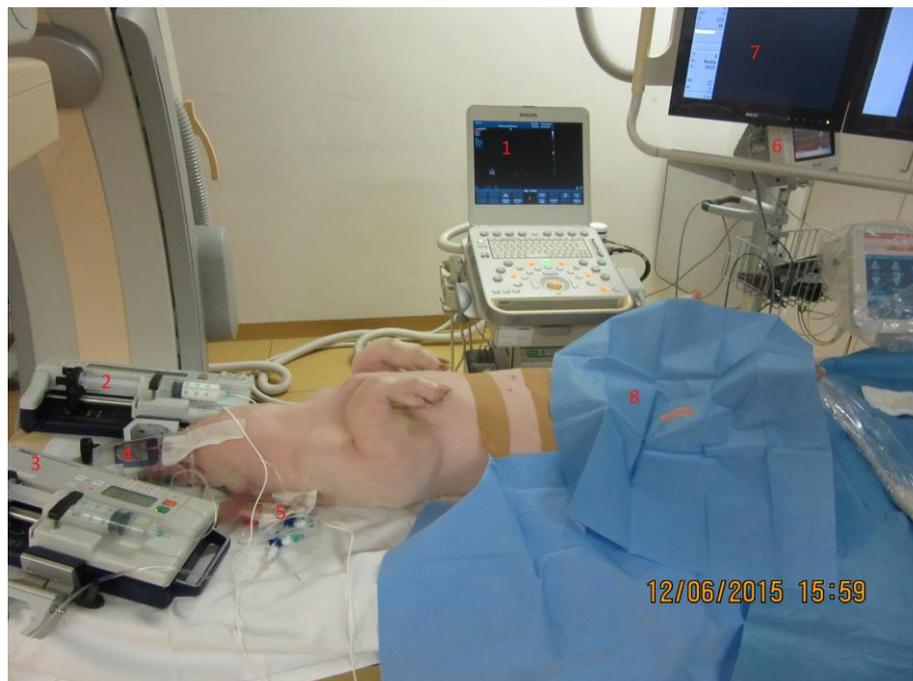


**Abbildung 8:** Haltung der Versuchstiere in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK.

### 3.3. Vorbereitung der renalen Denervation

Nach Ankunft der Tiere in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK hatten diese eine Woche Zeit sich einzugewöhnen. Währenddessen wurden sie tiermedizinisch betreut und beobachtet. Sollte es durch den Transportstress eventuell zum Ausbruch von Erkrankungen wie z.B. Durchfall oder Atemwegsinfekten kommen, konnte so schnell mit einer entsprechenden Therapie begonnen werden. Waren die Tiere gesund, wurde die Intervention durchgeführt und sie blieben an diesem Tag nüchtern und wurden gewogen. In der Stallbox verabreichte man dem zu untersuchenden Tier mittels einer Spritze mit aufgestecktem Verlängerungsschlauch und gelber 20 G Kanüle die Narkose bestehend aus 20 mg/kg Ketaminhydrochlorid (Ursotamin®, 100 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland), und 0,2 mg/kg Midazolamhydrochlorid (Midazolam- ratiopharm®, 15 mg/3 ml, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) intramuskulär seitlich in den Hals. Die in dem Verlängerungsschlauch verbliebene Mischung wurde mittels isotoner Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung 0,9 % Braun, Ecoflac plus, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) nachgegeben. Es wurde streng darauf geachtet, dass mit den Tieren so ruhig wie möglich umgegangen wird und keine Fixationsmaßnahmen angewendet werden. Das Stresslevel sollte so niedrig wie möglich gehalten werden. Hatte sich das Schwein abgelegt, wurde ein peripherer Venenkatheter (Vasofix® Safety 0,90 x 25 mm G 22 blau, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in eine der Ohrvenen geschoben und mittels Klebeband fixiert. Über diesen Zugang wurde wirkungsabhängig 2%-iges Propofol (Propofol-Lipuro® 2 %, 20 mg/ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) als Boli von 1 bis 3 ml zur Aufrechterhaltung der Narkose verabreicht. Während der gesamten Narkosedauer wurden die nozizeptiven Flexorreflexe am Kronsaum und die Vitalparameter (Sauerstoffsättigung und Puls) kontrolliert und die Propofolgabe entsprechend angepasst. Das Propofol befand sich in einer 50ml Perfusorspritze, die mittels Verlängerung mit dem Venenverweilkatheter im Ohr verbunden war. So konnte das Tier, gut sediert, auf einer Trage vom Stall zum Interventionsraum transportiert werden. Zum Schutz der Augen wurde beidseits eine Augensalbe (Regepithel®, Alcon Pharma GmbH, Freiburg i. Breisgau, Deutschland) eingebracht. Im Interventionsraum angekommen, erhielt das Tier ca. 3 l/min Sauerstoff über einen Schlauch, der durch ein Loch im Boden eines Plastikbeckers gezogen und dort luftdicht fixiert war. Dieser Becher wurde über die Schnauze des Schweines gestülpt und mittels

Klebeband befestigt. Das Tier wurde in Rückenlage auf dem Operationstisch gelagert. Die Überwachung der Sauerstoffsättigung und des Pulses erfolgte durch den Anschluss eines Pulsoxymeters an den Schwanz des Tieres, welcher mit dem IntelliVue® MP30 (Philips, Patient Monitor, Philips GmbH Market DACH, Hamburg, Deutschland) verbunden war. Kurz vor Beginn der Intervention wurden an die Ohrverweilkanüle zwei Drei-Wege-Hähne (Discofix® C 3SC, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) mit Rückschlagventilen angeschlossen und über diese erfolgte die Gabe von Propofol und Fentanyl (Fentanyl 0,5MG-Rotexmedica®, 0,05 mg/ml, Rotexmedica GmbH Arzneimittelwerk, Trittau, Deutschland) mittels Perfusoren (Alaris IVAC® P7000 Spritzenpumpe, CareFusion Germany 318 GmbH, Heidelberg, Deutschland). Die Dosierung des Propofols war wirkungsabhängig, lag aber im Durchschnitt bei ca. 5mg/kg/h. Die Infusionsrate des Fentanyls betrug ca. 3µg/kg/h. Ab Schwein Nummer 6 wurde den Tieren zusätzlich, zur Stabilisierung des Kreislaufs, 1 Liter Sterofundin® (Sterofundin ISO Infusionslösung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) als intravenöse Infusion während des Eingriffs verabreicht. Zu Beginn der Intervention wurde die Leistenregion großflächig desinfiziert und mit einem Einweg-OP-Lochtuch abgedeckt, so dass rund um die Punktionsstelle ein steriler Arbeitsbereich herrschte. Ein für die Intervention vorbereitetes Schwein ist auf Abbildung 9 zu sehen.



**Abbildung 9:** Fertig vorbereitetes Tier kurz vor der Intervention, 1 - Ultraschallgerät; 2 - Perfusor mit Propofol; 3 - Perfusor mit Fentanyl; 4 - Sauerstoffzufuhr über einen Plastikbecher; 5 - Venenverweilkanüle mit 3-Wege-Hähnen; 6 - Blutdruckmessgerät; 7 - Bildschirm des CTs; 8 - steril vorbereitete Punktionsstelle

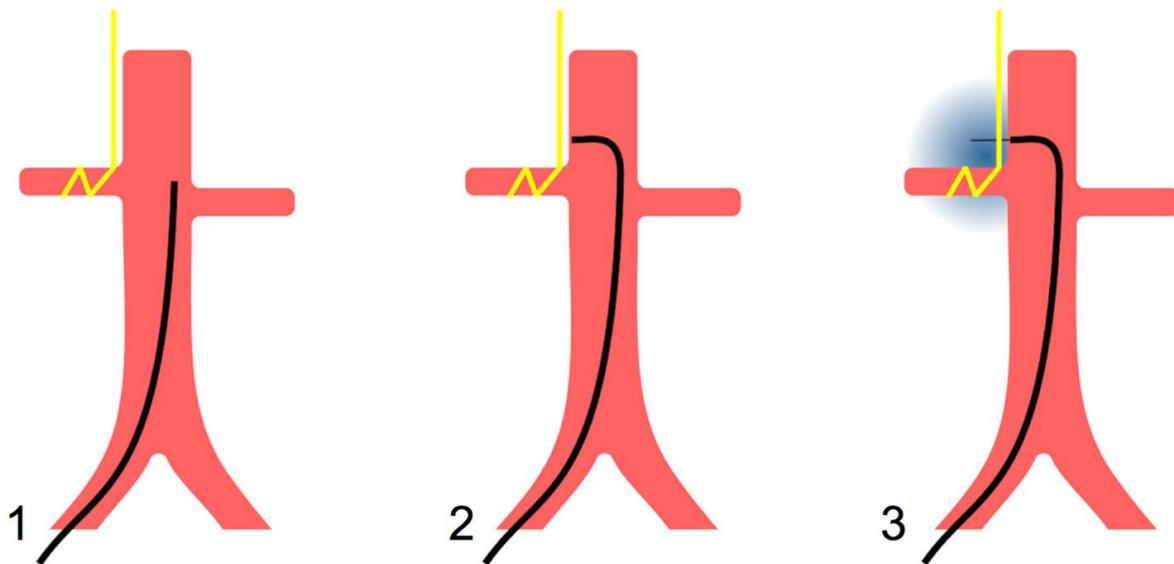
### 3.4. Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessung erfolgt nichtinvasiv mit Verwendung einer Blutdruckmanschette für Kinder. Diese wurde oberhalb der Articulatio talocruralis um den linken Unterschenkel angelegt. Dabei lag das narkotisierte Tier auf der rechten Seite. Die Messung erfolgte indirekt oszillatorisch, d.h. die Schwingungen des pulsierenden Blutes werden registriert, der Blutdruck errechnet und nach kurzer Dauer die Werte auf dem Monitor (Philips IntelliVue® MP30 Patient Monitor, Philips GmbH Market DACH, Hamburg, Deutschland) angezeigt. Es wurden 3 aufeinander folgende Messungen vorgenommen und dann aus diesen der arithmetische Mittelwert bestimmt. Eine solche Blutdruckmessung erfolgte jeweils prä- und post interventionell, sowie am Tag der Euthanasie kurz vor der Kontroll-Bildgebung mittels Computertomographie (CT).

### 3.5. Kathetergestützte renale Denervation mittels Ethanol

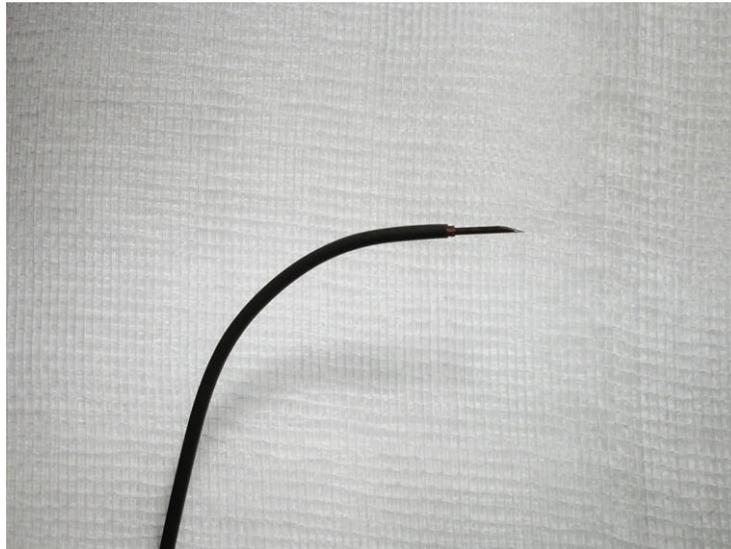
Zu Beginn der Intervention wurde mittels Ultraschall (Philips CX50 Ultraschallsystem, Philips GmbH Market Dach, Hamburg, Deutschland) die rechte A. femoralis in der Leistengegend dargestellt und punktiert. Darauffolgend wurde eine 4-French (F) Schleuse in die A.femoralis eingebracht. Über diese wurde ein Pigtail-Katheter eingeführt und auf Höhe des Diaphragmas platziert. Dieser und die noch folgenden Schritte geschahen alle unter ständiger Sichtkontrolle mittels Fluoroskopie (Siemens. Artis Q, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen Deutschland).

Über den Pigtailkatheter erfolgte eine Aortographie mit Darstellung der unpaarigen und paarigen Aortenabgänge. Nachfolgend wurde ein steuerbarer Führungskatheter (Destino Twist®, Oscor, Palm Harbor, FL, USA, Innendurchmesser 8.5 F, nutzbare Schaftlänge 71 cm, Kurvendurchmesser 17 mm) eingewechselt und in der Aorta bis unmittelbar oberhalb des Ostiums der zu behandelnden Nierenarterie vorgeführt. Dieser wurde durch Krümmung des Katheters so ausgerichtet, dass die distale Spitze direkt an der Wand der Aorta liegt. Der Berührungspunkt befand sich kurz über der Abzweigung der A.renalis. Im Anschluss wurde eine experimentelle geflochtene 21 G Nadel (Länge: 90 cm) mit einer ein-und ausziehbaren Spitze, für die Punktion der Aorta, eingeführt. Die Platzierung des Katheters und der Nadel wird in Abbildung 10 bildlich dargestellt.



**Abbildung 10:** Die 3 Schritte der transaortalen periarteriellen Ethanol-Sympathikolyse zur renalen Denervation mittels endovaskulärem Injektionskatheter. 1: Vorführen des steuerbaren Katheters in der Aorta über die A. femoralis kommend bis zur Abzweigung der A. renalis. 2: Abbiegen der Spitze des Katheters bis sie im 90°-Winkel, kurz oberhalb des Ostium renalis, an der Gefäßwand anliegt. 3: Einführen der Injektionsnadel und Ausfahren der Spitze aus dem Führungskatheter, um die Wand der Aorta kurz oberhalb der A. renalis zu punktieren. Nach erfolgreicher Testinjektion zur Sicherstellung der korrekten extravasalen Position der Nadel, erfolgt die Ethanolinjektion.

Für eine stabilere, zentralere Position der Nadel innerhalb des deflektierbaren Führungskatheters wurde in den Schweinen 5 - 11 zusätzlich ein 5 F Berenstein-Katheter (Soft-VU, Angiodynamics, Latham, NY, USA) in den Führungskatheter eingebracht und in diesem die Nadel vorgeschoben (Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Die experimentelle 21 G Nadel mit ausgefahrener Spitze in dem weichen, schwarzen 5 F Berenstein-Katheter.

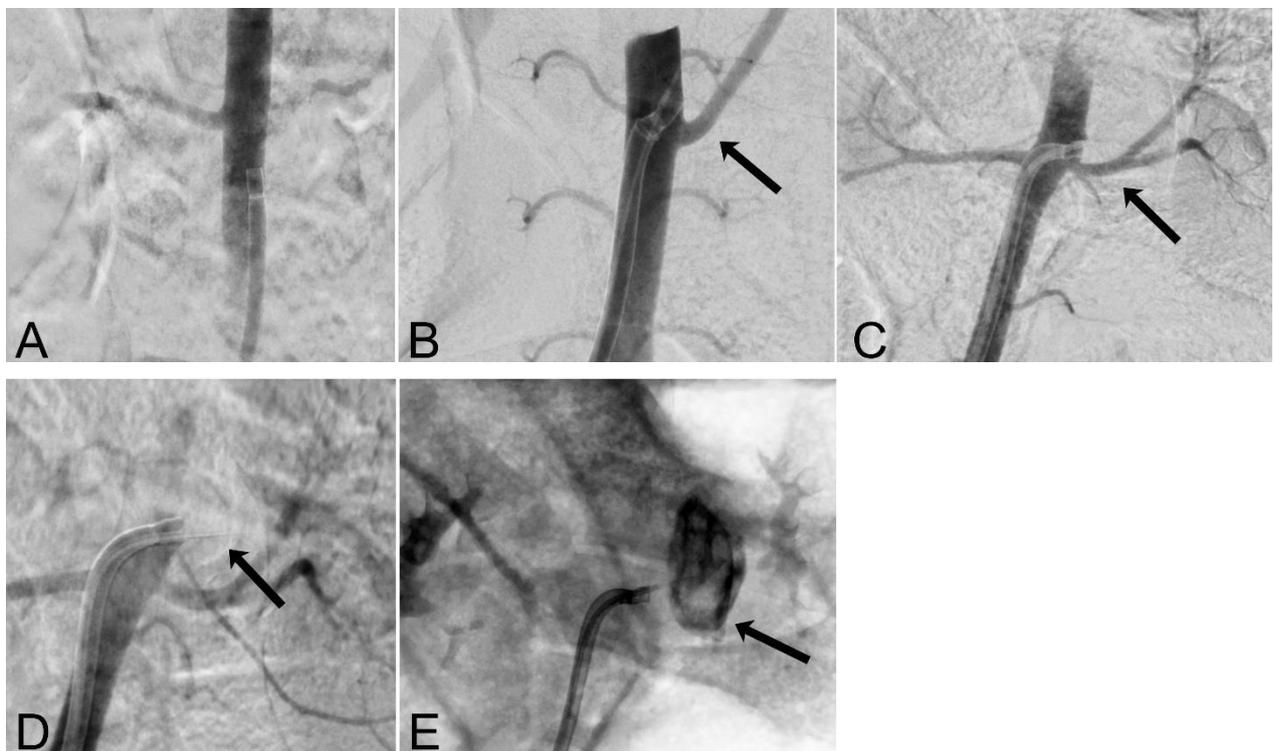
Nach dem Ausfahren der Nadelspitze und Punktion der Aortenwand erfolgte eine Testinjektion von 1 ml Kontrastmittel zur Verifikation der erfolgreichen Penetration der Gefäßwand und nachfolgenden extravasalen, periarteriellen Verteilung des Injektats.

War das Ergebnis positiv, wurde ein Injektat bestehend aus 7 ml Ethanol, 2 ml Bupivacain (Carbostesin 0,5 %, Astra Zeneca, London, GB) und 1 ml Kontrastmittel (Accupaque 240, GE Healthcare, Buckinghamshire, GB) injiziert. Sollte die Durchleuchtung eine inkorrekte Verteilung des Injektats zeigen, wurde die Injektion gestoppt, die Nadelspitze zurückgezogen.

Abbildung 12 zeigt Schwein 11, fixiert auf dem Behandlungstisch, während der Intervention. Rings um die Punktionsstelle sorgen sterile Abdecktücher für eine entsprechende Hygiene. Auf dem großen Monitor wird mittels Angiographie der korrekte Sitz des Injektionskatheters überprüft. In Abbildung 13 sind 5 Angiogramme zu sehen, welche schrittweise die verschiedenen Stadien der Intervention zeigen. Angefangen mit dem Einführen des Katheters in die Aorta, über die richtige Positionierung bis hin zur Freisetzung des Ethanolgemischs, welches zur Denervation führen soll.



**Abbildung 12:** Schwein 11 während der Intervention. 1 - C-Bogen; 2 - Monitor zur Darstellung der Angiogramme; 3 - Operateur; 4 - Instrumententisch



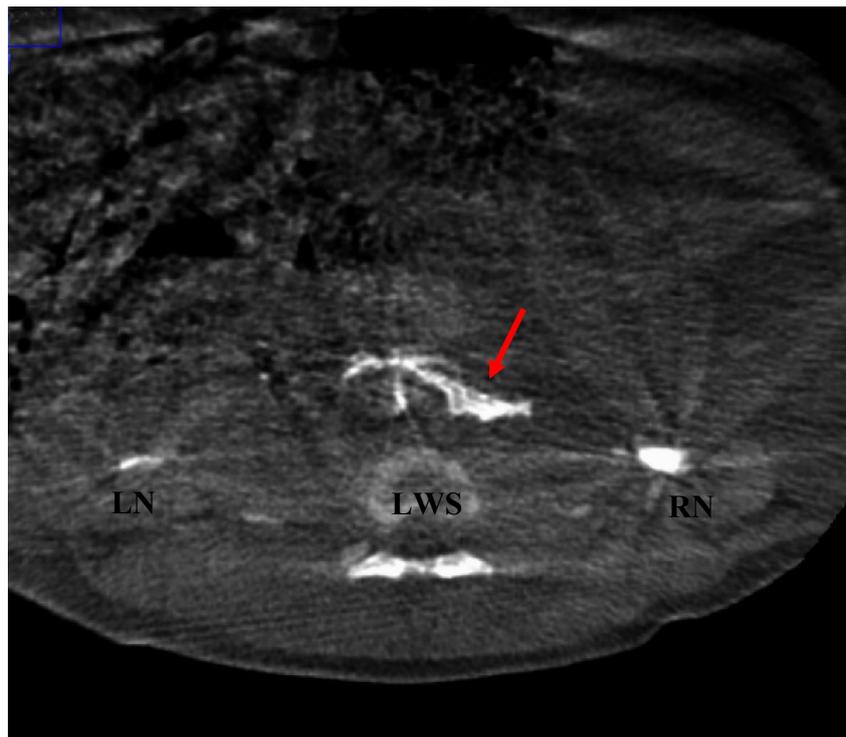
**Abbildung 13:** Angiogramme der Intervention. **A** - Einführen des steuerbaren Führungskatheters in die Aorta abdominalis in gerader Position bei Schwein 1. **B** - Anwinkeln der Spitze des Führungskatheters und Positionierung der Spitze gegen die Wand der Aorta kurz oberhalb des Ostiums der A. renalis (schwarzer Pfeil). Die gewünschte Deflektion des Katheters und Ausrichtung der Nadel ist bei diesem Tier (Schwein 2) suboptimal auf Grund des zu geringen Durchmessers der Aorta. **C** - Optimale Position des Führungskatheters im 90° Winkel zur Aortenwand kurz oberhalb der Abzweigung der Nierenarterie (schwarzer Pfeil) bei Schwein 5, mit eingeführter Punktionsnadel, aber nicht ausgefahrter Spitze. **D** - wie Bild C, aber mit ausgefahrter Spitze, welche die Wand der Aorta abdominalis penetriert (schwarzer Pfeil). **E** - Verteilung des Ethanol-Kontrastmittel-Gemischs um die Nadelspitze (schwarzer Pfeil)

Zur Kontrolle blieb die kontralaterale Seite unbehandelt. Bei 7 von 11 Schweinen wurde die linke, bei den restlichen 4 die rechte A. renalis behandelt. Zum Schluss wurden die Katheter wieder entfernt und die Punktionsstelle in der A. femoralis mittels Angio-Seal® (Terumo Medical Corporation, 2101 Cottontail Lane Somerset, NJ, USA), einem Gefäßverschlussystem, verschlossen. In einem Schwein musste über die Punktionsstelle zusätzlich eine Einzelknopfnahm gesetzt werden, da die Schleuse einen größeren Durchmesser als das Verschlussystem hatte und die Blutung nicht vollständig sistierte.

### 3.6. Postinterventionelles CT

Nach erfolgter Intervention wurde der Fentanylperfusor gestoppt und die Sauerstoffmaske entfernt. Im Anschluss wurde das Tier mittels Trage in den CT-Raum transportiert. Dort angekommen, wurde es über die Maske wieder an den Sauerstoff angeschlossen und der Blutdruck mittels Manschette, wie oben beschrieben, gemessen. Die postinterventionelle Bildgebung erfolgte in einem 64-Multislice Computertomographen (64-MSCT, SOMATOM® Definition AS; Siemens, Erlangen, Germany). Die Tiere wurden dafür in Brustbauchlage positioniert und mittels Klebeband fixiert. Es erfolgte eine native-CT-Spirale, um die periinterventionelle Injektatsverteilung zu beurteilen. Weiterhin ging es um die Feststellung von eventuell aufgetretenen Komplikation wie subaortale Blutungen, Aortendissektionen oder Nierenarterienstenosen.

Bei den Schweinen 10 und 11 wurde statt des CTs ein Cone-Beam-CT (XperCT, Philips, Niederlande) direkt im Angiographieraum durchgeführt. In Abbildung 14 ist ein solches Cone-Beam-CT-Bild von Schwein 10 zu sehen. Es ist gut zu sehen, wie sich das Injektat im Verlauf der Nierenarterie verteilt. Die Nierenarterie selber ist nicht zu erkennen, da keine intraarterielle Kontrastmittelinjektion erfolgte.



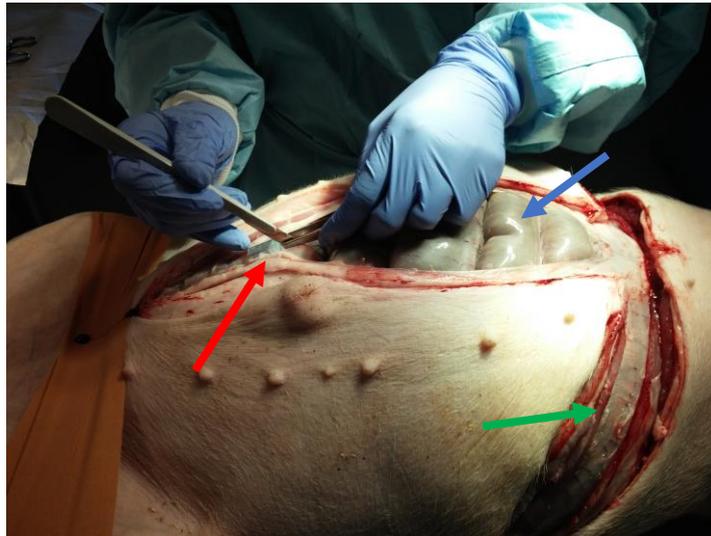
**Abbildung 14:** Postinterventionelles Cone-Beam-CT, transversal, Schwein 10. Roter Pfeil: Verteilung des Ethanol-Kontrastmittel-Gemischs entlang der rechten A. renalis. RN - rechte Niere; LN - linke Niere; LWS - Lendenwirbelsäule

Nach dem Rücktransport in den Stall erwachten die Tiere - unter Beobachtung - aus der Narkose. Hierbei erlitt Schwein 4 einen Herzstillstand, bei dem jegliche Reanimationsversuche erfolglos blieben.

Als die Tiere wieder selbstständig stehen und gehen konnten, wurde ihnen eine kleine Menge Futter angeboten. Am darauffolgenden Tag erfolgte die Fütterung wie gewohnt. Die nun folgende 4-wöchige Standzeit erfolgte unter intensiver Beobachtung der Tiere auf behandlungswürdige Interventionsfolgen. Die entsprechende Therapie erfolgte nach Tierarztanordnung über die Tierpfleger. Ein Tier benötigte eine medikamentöse Therapie aufgrund von Husten und einer verminderten Perfusion der rechten Hintergliedmaße nach der Intervention. Ein anderes Tier wies eine ggr. Stützbeinlahmheit hinten links auf, welche nicht behandlungswürdig war. Die restlichen 8 Schweine wiesen neben einem unterschiedlich stark ausgeprägten Hämatom in der Leistengegend auf der Seite der Punktion keinerlei sichtbare Folgeschäden durch die Intervention auf. Die Futteraufnahme, das Wachstum sowie Kot- und Harnabsatz waren in der physiologischen Norm. Auch in der Interaktion mit ihren Artgenossen waren keine Veränderungen zu beobachten.

### **3.7. Kontroll-CT und Euthanasie**

4 Wochen nach erfolgter Intervention wurden die Tiere erneut gewogen, in Narkose gelegt und dann zum Untersuchungsraum transportiert. Das Vorgehen entsprach dem des Interventionstages. Auch hier war die Narkoseaufrechterhaltung durchgehend über die wirkungsadaptierte Propofolgabe gesichert und die Narkoseüberwachung erfolgte durch Reflexprüfung und Kontrolle der Vitalparameter. Ab Schwein 6 erhielten die Tiere zusätzlich Sterofundin® Infusionslösung intravenös während der Narkosedauer. Im CT-Raum angekommen, wurde zunächst der Blutdruck wieder an der linken Hintergliedmaße mit einer Blutdruckmanschette drei Mal hintereinander gemessen und darauffolgend ein Mittelwert gebildet. Danach wurde das Schwein in Brustbauchlage auf der Liegefläche des CTs positioniert, mittels Klebeband fixiert und über die selbstgebaute Plastikbecherkonstruktion an den Sauerstoff angeschlossen. Die biphasische Computertomographie (Flussrate 2.5 ml/s, 50 ml Xenetix 350, Guerbet, Villepinte, Frankreich, arterielle Phase: Delay: SURE© Start, Delay ca. 15 Sekunden; venöse Phase: 40 Sekunden delay) sollte zeigen, ob es durch die Intervention zu Spätfolgen bzw. Komplikationen wie Nierenarterienstenosen, Thrombosen, Nierenatrophie, Hydronephrosen oder sonstigen pathologischen Veränderungen rund um die Stelle der Injektatsfreisetzung gekommen war. Nach erfolgtem CT wurden die Tiere zurücktransportiert in die Räumlichkeiten der tierexperimentellen Einrichtung der Charité und dort euthanasiert. Dies geschah, an den tief in Narkose liegenden Schweinen, durch die intravenöse Gabe von 60 mg/kg Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, 16g/100 ml, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland). Nach dem Atem- und Herzstillstand wurden die Tiere in Rückenlage auf einem Operationstisch mittels Klebeband fixiert. Zuerst wurde mit einem Skalpell die Haut mittig entlang einer gedachten Linie zwischen Sternum und Regio pubica inzisiert. Darauffolgend wurde die Bauchhöhle entlang der Linea alba eröffnet. Zur Verbesserung der Sicht und des Bewegungsradius wurden 2 Entlastungsschnitte jeweils rechts und links caudal der letzten Rippe gesetzt. In Abbildung 15 ist zu sehen, wie die Bauchhöhle mittels Schnitt entlang der Linea alba eröffnet wird. Die 2 Entlastungsschnitte caudal des Rippenbogens sind ebenso sichtbar.



**Abbildung 15:** Eröffnung der Bauchhöhle zur makroskopischen Beurteilung und Entnahme der Zielstrukturen. Roter Pfeil- Schnittführung entlang der Linea alba; blauer Pfeil - Colon; grüner Pfeil - linksseitiger Entlastungsschnitt

Es folgte eine makroskopische Beurteilung der Bauchorgane, insbesondere der beiden Nieren und deren Umgebung inklusive den Nebennieren, Lymphknoten, Ureteren und den versorgenden Gefäßen. Gefundene Auffälligkeiten wie Verklebungen, Entzündungen, Fibrosen, Niereninfarkte, Nierenzysten oder Größenunterschiede der beiden Nieren wurden dokumentiert. Im Anschluss wurden beide Nieren inklusive der Ureteren, der Aa. renales und der angrenzenden Aorta abdominalis freipräpariert und im Ganzen entnommen. Zur Unterscheidung wurde die rechte Niere mit einem X gekennzeichnet. Der nicht mehr benötigte Tierkadaver wurde entsprechend der Richtlinien der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, CVK entsorgt. Dann wurden die entnommenen Organe genauer untersucht. Zuerst wurde die Aorta abdominalis mittig von caudal nach cranial durchtrennt. Hierbei wurde nach Veränderungen an der Tunica intima der Aorta, besonders an den Abgängen der Nierenarterien, gesucht. Danach wurden die Nierenarterien am Hilus von der Niere abgetrennt. Die jeweilige Nierenarterie mit angrenzendem Gewebe, der Aorta und dem Ureter, wurden in einen entsprechend beschrifteten Urinbecher mit Schraubdeckel (125 ml) gelegt. Dieser wurde dann mit einer Formaldehydlösung (Formalin Solution 4 %, Avantor Performance Materials B.V; Deventer, Niederlande) zur Fixierung aufgefüllt. Zusätzlich wurde das Behältnis mit einer Verschlussfolie (Parafilm "M"® 5 x 5 cm, BRAND GMBH + CO KG, Otto-Schott-Str. 25, Wertheim, Deutschland) versiegelt und bei Raumtemperatur bis zur weiteren Bearbeitung gelagert. Für die Bestimmung des Noradrenalin-Wertes wurden die Nieren einzeln mit der Präzisionswaage Talent TE6100 (Sartorius AG, Weender Landstraße 94-108, 37075 Göttingen, Deutschland) gewogen und anschließend in ein Edelstahlbehältnis gelegt. Hinzugefügt wurden 5 ml/g 0,2 molare Ameisensäure (Avantor Performance Materials B.V, Teugseweg 20, AM Deventer, Niederlande). Mit Hilfe eines handelsüblichen Mixers entstand so ein Homogenisat, welches möglichst mit wenig Schaum in je 3 Gefäße pro Niere gefüllt wurde. Ein jedes dieser Gefäße hatte ein Fassungsvermögen von 50 ml und wurde entsprechend beschriftet (Falcon® 50 ml High Clarity PP Centrifuge Tube, Conical Bottom, Corning B.V. Life Sciences, Fogostraat 12, LJ Amsterdam, Niederlande). So gab es pro Schwein 6 Probengefäße, welche nach der Befüllung sofort bei -20 °C vor Ort tiefgefroren wurden. Am nächsten Tag wurden die Probengefäße dem Labor zur Bestimmung des Noradrenalin-Wertes übergeben.

### 3.8. Bestimmung Noradrenalin-Wert (NA-Wert)

Die Bestimmung des NA-Wertes fand mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) und Massenspektrometrie (MS) im Labor Anakat Institut für Biotechnologie GmbH (Leiter Prof. Dr. Ulrich Speck), Berlin statt. Die Durchführung geschah nach der Methode von Bauch et al [124]. Dafür wurden 2ml zentrifugiertem Nierenextrakt, 10 µl einer 10 µg/ml Noradrenalin(d6)-Lösung ((±)-Norepinephrine-2, 5, 6, α, β, β - d6 zugesetzt und mit 1 ml (2 mol/L Ammoniumchlorid-/Ammoniumhydroxid; 8 mmol/L Diphenylborsäure-Ethanolaminkomplex; 13,4 mmol/L EDTA; pH 8,5) und 5 ml (4,57 mmol/L Tetra-Octyl-Ammoniumbromid in 25 % Chloroform: 75 % n-Heptan) 2 min intensiv gemischt. Danach wurde die Mischung für 5 Minuten zentrifugiert und anschließend die obere, organische Phase abgenommen, quantitativ in ein neues Gefäß überführt und mit 2 ml n-Okтанol und 0,5 ml einer 0,2 M Essigsäure erneut intensiv vermischt. Nach Zentrifugation dieser Mixtur wurde die obere, organische Phase verworfen und zur Messung des NA-Wertes die saure, wässrige Phase verwendet. Die Probe wurde auf diese Art und Weise um den Faktor 4 aufkonzentriert.

Für die Bestimmung des NA-Wertes wurden 20 µl der Probe durch die Säule Luna® 5µm, C18(2), 100Å, 150 x 4,6 mm von Phenomenex (Zeppelinstr. 5, 63741 Aschaffenburg, Deutschland) gepumpt. Das Fließmittel war 95 % Ameisensäure (0,2 %) und 5 % Methanol und die Flussrate betrug 0,2 ml/min. Die Retentionszeit lag bei  $8 \pm 0,5$  min. Bei dem Detektor handelte es sich um API 2000™ LC/MS/MS System (Applied Biosystems, Frankfurter Str. 129, Darmstadt, Deutschland). NA wurde detektiert bei einer Masse im Q1 von 170,05 AMU und einem Übergang auf 107,1 AMU im Q3. Bei dem internen Standard Noradrenalin (d6) fand ein Übergang von 176,166 AMU auf 111,2 AMU statt.

### 3.9. Anfertigung der histologischen Präparate

Die Gewebeproben wurden im Labor der experimentellen Radiologie der Charité (Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, Berlin, Deutschland) aus dem Plastikgefäß in ein größeres, mit Formaldehyd gefülltes, Glasgefäß überführt. In diesem verblieben sie für mindestens 24 Stunden. War die Zeit vergangen und das Gewebe gut mit Formaldehyd durchtränkt, wurden rosafarbene Histologiekassetten (20 x 15 x 5 mm) mit einem Drucker (Leica IPC V1.8 Deutsch 06/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) beschriftet, so dass die Nummer des Schweines, die jeweilige Seite und die anatomische Struktur erkenntlich waren. Außerdem wurde jede Struktur aufsteigend durchnummeriert. So starteten die proximal der Niere gelegenen Abschnitte von Ureter und Nierenarterie mit der Nummer 1. Die Aorta wurde von cranial nach caudal durchnummeriert.

Dann wurde die Gewebeprobe aus dem Formalin entnommen und die Aorta, der Ureter und die Nierenarterie jeweils mit einem Skalpell in kleine, ca. 0,5 cm lange Stücke geschnitten und in die Kassetten gelegt. Die Einbettung in Paraffin geschah in einer Histokinette vollautomatisch (Leica TP 1020, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland). Dafür wurden die Histologiekassetten mit den Gewebestücken in einen Metallbehälter der Histokinette gegeben. Dieser, mit Löchern versehene Behälter, bewegte sich kreisförmig durch 12 Stationen. Jede Station bestand aus einem Becher mit der entsprechenden Flüssigkeit, in dem die Proben je 1 Stunde verweilten. Zu Beginn musste das Gewebe durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert werden. Danach nutzte man Xylol als Zwischenmedium, um den Alkohol zu entfernen und um dieses zum Abschluss durch verflüssigtes Paraffin zu ersetzen. Als nächstes wurden die Gewebestücke in Paraffinblöcke gegossen. Dazu wurden die Kassetten in der Arbeitsstation (Leica EG 1140H, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) erwärmt, das zu bearbeitende Gewebestück entnommen und in einer Ausgießform aus Edelstahl mit einer Pinzette in Position gehalten. Dann wurde die Form mit flüssigem, ca. 60 °C warmen, Paraffin gefüllt und die Pinzette vorsichtig entfernt. Zur Kennzeichnung wurde das beschriftete untere Stück der Histologiekassette auf das noch flüssige Paraffin gesetzt. Zum Aushärten wurde die Metallform auf die angrenzende Kühlplatte

(Leica EG 1140C, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) gelegt. In Abbildung 16 sind diese 2 Stationen zu sehen. Am Ende wurden die fertigen Paraffinblöcke vorsichtig aus der Gusschale gelöst und bis zur weiteren Verarbeitung in Pappkartons aufbewahrt.



**Abbildung 16:** 1 - Arbeitsstation; 2 - Kühlplatte; 3 - Histologiekassetten mit Gewebestücken; 4 - Gusschalen; 5 - fertige Paraffinblöcke in Gießformen zum Aushärten

Die Herstellung der einzelnen Histologieschnitte erfolgte am Rotationsmikrotom (Leica RM2125RT, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland). Dafür wurde der jeweilige Paraffinblock vorher noch einmal auf der Kühlplatte gekühlt und dann im Mikrotom eingespannt. Die Schnittstärke betrug  $5\mu\text{m}$ . Die so gefertigten Paraffinschnitte wurden zum Strecken vorsichtig auf die Wasseroberfläche eines  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  warmen Wasserbades (Leica HI 1210, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) mit destilliertem Wasser gelegt. Von dort wurden je 2 Schnitte auf einen Objektträger (Super Frost® Plus Objektträger, R. Langenbrinck Labor- und Medizintechnik, Emmendingen, Deutschland) platziert. Pro Block wurden so je 3 Objektträger angefertigt. Diese wurden dann mit einem vorab gedruckten Aufkleber (Cognitive Cxi Etikettendrucker, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) beschriftet. Die Trocknung fand in einem Heizschrank (Thermo Scientific Heraeus BK 6160, M.u.T. GmbH, Berlin, Deutschland) für mindestens 24h bei  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  statt.

### 3.9.1. Histologische Färbungen

Für die bessere Beurteilung von pathologischen Veränderungen der anatomischen Strukturen wurden die Präparate gefärbt. Vor allem ging es dabei um den Nachweis von Nervendegenerationen als Hinweis auf eine erfolgreiche RDN durch die Ethanolinjektion. Darüber hinaus wurde auch nach ungewollten Schädigungen durch die Intervention und den Alkohol gesucht. In Absprache mit dem Institut für Neuropathologie (Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte, Berlin, Deutschland) wurde die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) als Übersichtsfärbung und die Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung) als Spezialfärbung gewählt. Zusätzlich wurden ausgesuchte Präparate auch immunhistologisch gefärbt.

## HE-Färbung

Die HE-Färbung wurde im Labor der experimentellen Radiologie (Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, Berlin, Deutschland) im Färbeautomaten (Leica Autostainer XL, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) mit dem Programm 14 angefertigt.

In den Färbeautomaten wurden nacheinander Objektträgerhalter mit je ca. 26 Objektträgern eingebracht, welche das HE-Färbeprotokoll nach Romeis mit Mayers Hämalaun durchliefen. So wurden die Schnitte zuerst mittels Xylol für 10 Minuten entparaffiniert, anschließend in einer absteigenden Alkoholreihe und destilliertem Wasser in 30 Minuten rehydratisiert und dann für 5 Minuten in Mayers Hämalaun gefärbt. Nach 10-minütigem bläuen der Schnitte in fließendem Leitungswasser erfolgte die Gegenfärbung für 5 Minuten in 0,1%-igen Eosin. Nach einer Minute in destilliertem Wasser wurden die Präparate am Ende wieder dehydratisiert mittels aufsteigender Alkoholreihe für 6,5 Minuten und Xylol für 6 Minuten. Nach dem Färbevorgang gelangten die Objektträger zum Eindecken in den vollautomatischen Glaseindeckautomat (Leica CV5030, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland). Die Lagerung der fertigen Präparate fand in Objektträgerboxen statt.

Die HE-Färbung in der Histopathologie ist schon lange bekannt und bewährt [125]. Der natürliche Farbstoff Hämatoxylin aus dem Blauholzbaum (*Haematoxylum campechianum*) entfaltet erst dann seine färbende Eigenschaft, wenn es zu Hämatein oxidiert und zusammen mit Metallionen das basische Hämalaun bildet [126]. Dieses wird von basophilen Strukturen in der Zelle, wie zum Beispiel dem Zellkern oder dem rauen endoplasmatischen Retikulum gebunden und färbt diese tief blauviolett. Das synthetische Eosin hingegen färbt alle Strukturen die azidophil sind rot. Dazu gehören unter anderem die Proteine des Zellplasmas, Mitochondrien, das glatte endoplasmatische Retikulum und Kollagen [126].

## EvG-Färbung

Die Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung) ist eine Kombination aus der Elastica-Färbung nach Weigert und der van-Gieson-Färbung. In dieser stellen sich elastische Fasern dunkelviolett, Zellkerne schwarzbraun und Kollagenfasern rot dar [127]. So sieht man besonders gut eine Zunahme von Kollagen im Nervenfaszikel als Anzeichen einer Fibrosierung und somit einer Neurodegeneration.

Die Färbung der Präparate fand manuell im Labor der Neuropathologie der Charité (Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte, Berlin, Deutschland) statt. Zunächst wurden die Präparate in Xylol entparaffiniert, gefolgt von einer absteigenden Alkoholreihe zur Rehydratation. Im Anschluss erfolgte die Färbung mit einer Resorcin-Fuchsin-Lösung für 20 Minuten. Nach kurzem Spülen mit destilliertem Wasser wurden die Präparate für 5 Minuten in Hämatoxylin nach Weigert gefärbt und dann unter fließendem Leitungswasser gebläut. Die Gegenfärbung mit Picofuchsin dauerte 3 Minuten. Abschließend erfolgte die Dehydratation in einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol. Das Eindecken geschah vollautomatisch.

## Neurofilament (NF)-Färbung und S100-Färbung

Die immunhistochemischen Färbungen wurden im Institut für Neuropathologie der Charité (Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte, Berlin, Deutschland) nach einem Standardprotokoll erstellt. Dabei werden zell- oder gewebspezifische Proteine (Antigene) mittels an Antikörper gebundener Farbstoffe dargestellt. Für die spezielle Fragestellung dieser Arbeit wurden zum einen Neurofilamente (NF) und zum anderen S100-Proteine angefärbt. Dabei stellen sich die markierten Strukturen jeweils braun dar.

**Neurofilamente** gehören, neben Mikrotubuli und Aktinfilamenten, zu den Zytoskelett-Proteinen von Nervenzellen und sind maßgeblich an der Struktur und dem Durchmesser des Axons beteiligt [128]. Bei einer Schädigung der Nerven durch Ethanol werden auch die

Neurofilamente mit angegriffen und können so je nach Grad der Degeneration weniger gut bis gar nicht angefärbt werden.

Die **S100 Proteine** sind Kalzium-bindende Proteine mit einer relativ geringen molekularen Masse. Sie nehmen eine Vielzahl von intra- und extrazellulären Funktionen wahr [129, 130]. Ihr Name leitet sich von der Eigenschaft ab, dass sie in 100 % gesättigter Ammoniumsulfat-Lösung löslich bleiben und nicht, wie andere Proteine, ausfallen [129]. S100-Proteine finden sich, je nach Subtyp, im Zytoplasma unterschiedlicher Zellen, vor allem in den Gliazellen des zentralen Nervensystems (ZNS) und des peripheren Nervensystems (PNS), aber auch in Melanozyten, Kardiomyozyten und Chondrozyten [130]. Für diese Arbeit war die Detektion der S100-Proteine in der Glia des PNS, den Schwann-Zellen, wichtig. Bei den postganglionären Nervenfasern, die die Nierenarterie umgeben, handelt es sich um unmyelinisierte Nerven. Bei diesen lassen sich, im Gegensatz zu myelinisierten Nerven, deutlich weniger S100-Proteine anfärben, da die Anzahl der Schwann-Zellen auch deutlich weniger ist [131]. Trotzdem kann man auch mit dieser Färbemethode, die durch Ethanol geschädigten Nervenfaszikel, anhand einer schwächeren Braunfärbung gut erkennen.

Am Hochleistungslichtmikroskop (Zeiss Axio Observer, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) in den Räumlichkeiten der experimentellen Radiologie der Charité (Institut für Radiologie, Campus Charité Mitte, Berlin, Deutschland) wurden die histologische Auswertung und die Anfertigung der digitalen Histologiebilder, in Rücksprache mit einem Facharzt für Neuropathologie, durchgeführt.

### 3.10. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung von GraphPad Prism 7.04 und 8.4.3 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien USA). Das Signifikanzniveau wurde bei  $p < 0,05$  festgelegt. Die Testung auf Normalverteilung erfolgte mittels Kolmogorow-Smirnow-Test. Entsprechend dem Ergebnis wurde zur Auswertung der gepaarten Blutdruckwerte der nichtparametrische Friedman-Test und bei dem Vergleich der NA-Werte und ihre Assoziationen der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test angewendet. Außerdem wurde für die Korrelation von NA-Reduktion und Eindringtiefe der nichtparametrische Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman bestimmt. Dieser gibt die ungerichtete lineare Beziehung zwischen 2 Variablen an. Die Werte können zwischen -1 und 1 liegen. Bei  $r = 0$  besteht kein, bei  $r < 0$  ein negativer und bei  $r > 0$  ein positiver Zusammenhang [132]. Dabei gilt je größer die Zahl desto stärker der Zusammenhang.

Für die analytische Beurteilung wurden verschiedene Parameter miteinander in Bezug gesetzt, um festzustellen ob ein Zusammenhang besteht. Bei diesen Parametern handelt es sich um die Reduktion des NA-Gehalts und der Nervenanzahl, welche jeweils im Vergleich zum Degenerationsgrad und der Zirkumferenz gesetzt wurden. Zur graphischen Darstellung wurden Streudiagramme genutzt. Bei diesen werden die einzelnen Messwerte als Punkte dargestellt. Die mittlere horizontale Linie zeigt den Median an und die obere und untere Linie markiert jeweils das 95%-Konfidenzintervall.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Allgemeine Daten

Für die Versuchsreihe wurden insgesamt 11 Schweine verwendet. Es handelte sich um männlich kastrierte, normotone Hausschweine. Bei der ersten Wiegung betrug das Gewicht im Mittel 34 kg ( $\pm 10,3$  kg). Am Tag der Euthanasie wogen die verbliebenen 10 Schweine durchschnittlich 44,1 kg ( $\pm 14,5$  kg). Alle Tiere wurden einseitig mittels Injektion von 95%-igen Ethanol renal denerviert.

### 4.2. Technische Durchführbarkeit

Das Auffinden der A. femoralis mittels Ultraschallsonde und deren Punktion war bei 9 von 11 Tieren gut durchführbar. Nur bei 2 Schweinen musste wegen Schwierigkeiten die andere Seite punktiert werden. Mittels Fluoroskopie war auch das Platzieren des Pigtail-Katheters auf Höhe des Diaphragmas bei allen Tieren gut möglich. Das Verschieben des Führungskatheters in die Aorta und das Anwinkeln der Spitze, so dass sie im rechten Winkel an der Wand der Aorta über der Abzweigung der A. renalis zu liegen kommt, war bei 10 von 11 Tieren gut praktikabel. Einzig bei Schwein 2 war es aufgrund eines zu geringen aortalen Gefäßdurchmessers schwierig, den Führungskatheter in die optimale Position zu bringen. So betrug der Winkel der Spitze des deflektierten Führungskatheters weniger als  $90^\circ$ . Injiziert wurde zunächst Kontrastmittel und darauffolgend ein Gemisch, welches aus Ethanol, Lokalanästhetikum und Kontrastmittel bestand. Bei 7 Tieren wurde die linke, bei 4 Tieren die rechte Niere behandelt. Es wurde darauf geachtet, zuerst eine Testinjektion mit Kontrastmittel vorzunehmen, um den korrekten Sitz der Nadelspitze sicherzustellen. Bei Schwein Nummer 3 wurde versehentlich eine geringe Menge des Ethanolgemischs intraarteriell injiziert. Dadurch kam es zur Thrombusbildung in der A. renalis und folglich aufgrund der mangelnden Durchblutung zur Nephrozirrhose auf der behandelten Seite. Die Testinjektion erfolgte bei Schwein 8 versehentlich in die V. cava caudalis. Nach Korrektur der Nadelposition und Punktion der Aorta oberhalb des Nierenarterienostiums wurde die Intervention fortgesetzt. Es gab keinerlei Hinweise auf Kurz- oder Langzeitschäden. Des Weiteren konnte bei 3 Tieren im postinterventionellen CT gesehen werden, dass eine Verteilung des Injektats auch um die kontralaterale Nierenarterie stattgefunden hat, welche nicht beabsichtigt war.

Die CT-Scans postinterventionell und am Tag der Euthanasie konnten ohne besondere Vorkommen durchgeführt werden.

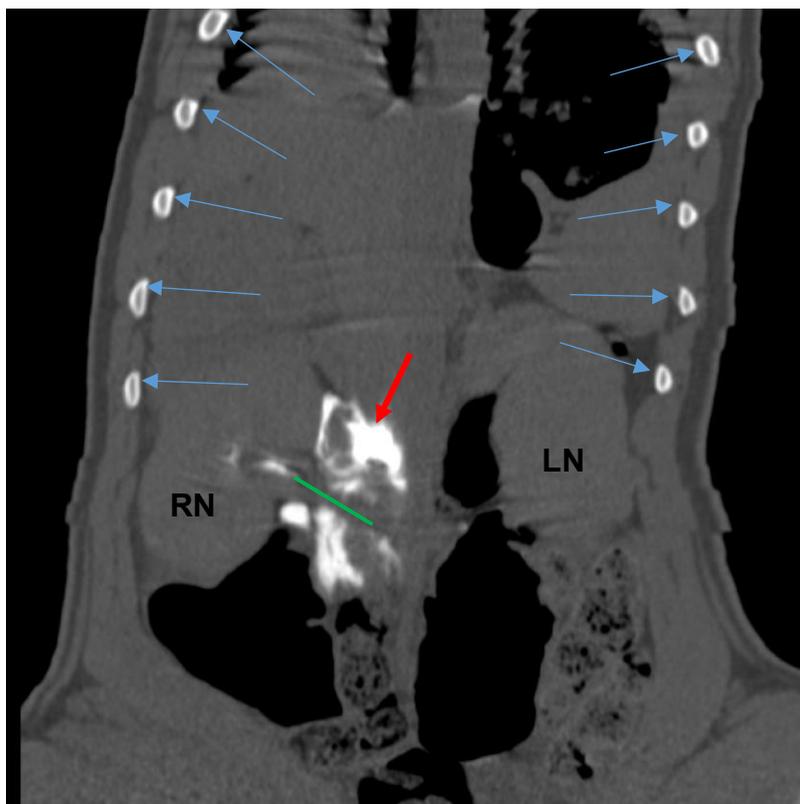
Der Erfolg der Injektion wurde mithilfe eines Score Systems von 1-3 bewertet. Die Auswertung der postinterventionellen CT-Bilder erfolgte durch 2 erfahrene Radiologen. Eine optimale zirkumferenzielle Verteilung des Injektats um den Ursprung der A. renalis bis zu ihrer Mitte oder weiter distal und, wenn vorhanden, den Nebenästen wurde mit einer 3 (exzellent) bewertet. Wurde die Abzweigung der A. renalis von der Aorta und ihre proximalen Anteile umspült, zählte dies als Scorewert 2 (gut). Ein Wert von 1 (insuffizient) wurde vergeben, wenn die Verteilung ungenügend war, das heißt weder das Ostium, noch Teile der Nierenarterie wurden mit dem Injektat abgedeckt. In der nachfolgenden Tabelle 2 sind die Scorewerte für jedes behandelte Schwein abgebildet. Die Markierung in Klammern entspricht dem Scorewert der kontralateralen Seite bei den Tieren, bei welchen sich das Injektat auch auf der unbehandelten Seite verteilt hat.

**Tabelle 2:** Bewertung der Injektatdistribution auf der behandelten Seite von 1 - 3 für jedes Tier; Score 3 = optimale Verteilung, Score 2 = gute Verteilung, Score 1 = unzureichende Verteilung; ( ) - Scorewert der kontralateralen Seite

Tiernummer	Score 1	Score 2	Score 3
Schwein 1		(x)	x
Schwein 2		x (x)	
Schwein 3			x
Schwein 4			x
Schwein 5			x
Schwein 6			x
Schwein 7			x
Schwein 8			x
Schwein 9		x	
Schwein 10		x	
Schwein 11	(x)		x

Die Auswertung der Schnittbilder in verschiedenen Ebenen ergab, dass bei 8 von 11 Tieren eine exzellente Verteilung des Ethanolgemischs auf der behandelten Seite erreicht werden konnte. Bei Schwein 2, 9 und 10 erzielte man eine gute Verteilung. Die Distribution auf der kontralateralen Seite war bei einem Tier ungenügend und bei zwei Tieren gut.

Abbildung 17 zeigt beispielhaft das postinterventionelle CT von Schwein 7, bei welchem die Distribution des Injektats ein Scorewert von 3 erhielt. Man sieht deutlich, dass die gesamte Länge der Nierenarterie zirkumferenziell von dem Ethanolgemisch umgeben ist.



**Abbildung 17:** Postinterventionelles CT-Bild, coronar, Schwein 7. Score 3. Roter Pfeil: Verteilung des Injektats um rechte Nierenarterie (grüne Linie); RN - rechte Niere; LN - linke Niere; blaue Pfeile - Rippen

### 4.3. Sicherheit und Nebenwirkungen

Die Versuchstiere wurden während des gesamten Zeitraums, von der Einstellung bis zur Euthanasie, von Tierärzten und Tierpflegern beobachtet und überwacht. 10 der 11 Tiere überstanden sowohl die Intervention als auch die Narkose gut. Bei Schwein Nummer 4 verlief der Eingriff selbst gut und komplikationslos, jedoch verstarb es perakut in der Aufwachphase. Es wurde von einem Kreislaufproblem ausgegangen. Daher erhielten die Tiere, welche danach narkotisiert wurden, während der Intervention zusätzlich ca. 1 Liter Sterofundin® ISO Infusionslösung intravenös. In den 4 Wochen nach der Intervention bis zum Zeitpunkt der Euthanasie gab es keine behandlungswürdigen Ereignisse, welche mit der renalen Denervation in Zusammenhang gebracht wurden. Futter- und Wasseraufnahmen blieben unverändert, genauso wie das Verhalten der meisten Tiere. 2 Tiere zeigten Auffälligkeiten bedingt durch die Punktion der A. femoralis und deren Verschluss mit dem AngioSeal-System®. Neben einer deutlichen Hämatombildung in der Leiste war bei Tier Nummer 3 das rechte Hinterbein 3 Tage lang kühler und leicht bläulich verfärbt. Nach 5 Tagen medikamentöser Therapie war es wieder vollständig genesen. Schwein 5 wies eine geringgradige Stützbeinlahmheit hinten links 3 Tage lang nach der Intervention auf. Da das Fress- und Ausscheidungsverhalten sonst unauffällig war und es keine weiteren Auffälligkeiten gab, war eine Therapie nicht notwendig. Alle Tiere waren nach spätestens 5 Tagen wieder komplett unauffällig in ihrem Verhalten und in ihrer weiteren Entwicklung.

Kurz nach der Intervention, sowie am Tag der Euthanasie wurde ein Kontroll-CT angefertigt, um Nebenwirkungen oder anatomische Veränderungen durch die Intervention aufzuzeigen. Bei Schwein 10 und 11 wurde statt eines herkömmlichen CT-Scans ein Cone Beam CT (CBCT) nach dem Eingriff durchgeführt. Der Vorteil ist, dass bei dieser Art der Bildgebung der Patient nicht in einen anderen Raum gebracht werden muss, sondern dass, bei unveränderter Position, das Gerät 360° um den Patienten rotiert.

Bei den Kontroll-CTs direkt post interventionem gab es keine besonderen Befunde bis auf Schwein 3. Bei diesem waren die Thrombosierung der Nierenarterie und ein Teilinfarkt der linken Niere bereits zu erkennen. Die Auswertung der CT-Bilder nach 4-wöchiger Standzeit am Tag der Euthanasie ergaben wiederum nur bei Schwein 3 Nebenwirkungen der Fehlinjektion. So war eine deutliche Thrombosierung der A. reanlis sichtbar und eine hochgradige Größenreduktion der behandelten linken Niere. Die Fehlinjektion in die V. cava caudalis bei Schwein 8 blieb ohne ersichtliche Langzeitfolgen. Es gab auch keinen Hinweis auf pathologische Veränderungen der Ureteren wie z.B. einer Stenose oder die Bildung einer Hydronephrose.

#### 4.4. Renale Denervation mittels Ethanol

Die 4 Tiere, bei denen der Eingriff nicht wie geplant stattgefunden hat, wurden aus der Wertung ausgeschlossen. Dies betraf die Tiere 1, 2 und 11, bei denen das Injektat teilweise auch auf die kontralaterale Seite gelaufen ist und Tier 3, bei welchem versehentlich ein Teil des Injektats intraarteriell appliziert wurde. Außerdem ist Schwein 4 auch nicht aufgelistet, da dieses perakut in der Aufwachphase nach dem Eingriff verstorben ist. Die erhobenen Daten dieser 5 Tiere sind tabellarisch im Anhang auf Seite VI aufgelistet.

##### 4.4.1. Blutdruck

Die Blutdruckwerte wurden in Vollnarkose jeweils kurz vor und kurz nach der Intervention, sowie am Tag der Euthanasie erhoben. Die Messungen erfolgten nichtinvasiv immer mit der gleichen Manschette, am gleichen Hinterbein und in gleicher Lageposition. Dabei wurden automatisch 3 Messungen durchgeführt und aus den einzelnen Ergebnissen der arithmetische Mittelwert gebildet. Die im Folgenden erwähnten Blutdrücke sind immer die gemittelten Werte. In Tabelle 3 sind die Blutdruckwerte der Tiere und der Zeitpunkt der Messung aufgelistet.

**Tabelle 3:** Blutdruckwerte als arithmetisches Mittel für jedes Tier vor und nach der Intervention, sowie am Tag der Euthanasie

<b>Tiernummer</b>	<b>Blutdruck präinterventionell in mmHg (systolisch/diastolisch)</b>	<b>Blutdruck postinterventionell in mmHg (systolisch/diastolisch)</b>	<b>Blutdruck final in mmHg (systolisch/diastolisch)</b>
Schwein 5	140/29	68/29	100/38
Schwein 6	123/41	128/24	160/55
Schwein 7	106/45	133/87	175/60
Schwein 8	151/81	109/41	114/45
Schwein 9	87/25	149/47	92/30
Schwein 10	115/37	158/29	98/36

Man kann aus Tabelle 3 erkennen, dass bei Schwein 5, 8, und 10 der systolische Finalwert geringer ist als der systolische Ausgangswert vor der Intervention. Die Differenz liegt gemittelt bei -31 mmHg. Bei Schwein 8 und 10 liegt der diastolische Blutdruckwert am Tag der Euthanasie unter dem diastolischen Wert präinterventionell. Hierbei beträgt die gemittelte Differenz -19 mmHg. Bei den anderen Tieren war der Finalwert jeweils höher als der Ausgangswert. Der systolische Wert lag im Mittel bei 37 mmHg über dem präinterventionellen Wert und der diastolische Wert war im Durchschnitt um 11 mmHg erhöht.

Mittelt man die Blutdruckwerte dieser 6 Tiere ergeben sich ein Blutdruck von 120/43 ( $\pm$  21/18) mmHg präinterventionell, 124 / 43 ( $\pm$  30/21) mmHg post interventionem und am Tag der Euthanasie 123/44 ( $\pm$  32/11 ) mmHg.

Es gab keinen statistisch signifikanten Abfall der Blutdruckwerte, weder systolisch noch diastolisch, direkt nach der Intervention oder am Tag der Euthanasie.

#### 4.4.2. Noradrenalinwerte

Die Messung des Noradrenalins im Nierenparenchym ist ein primärer Outcomeparameter und ein Surrogatmarker für die Aktivität der sympathischen Nerven [34]. In Tabelle 4 sind für jedes Tier die NA-Werte der behandelten Seite und der unbehandelten Seite gegenübergestellt. Die Differenz wurde zwecks besserer Vergleichbarkeit nicht in absoluten Zahlen sondern in Prozent angegeben. Man sieht in Tabelle 4, dass der NA-Wert in allen auswertbaren Tieren auf der behandelten Seite niedriger war als auf der Kontrollseite. Die Spannweite liegt zwischen -39,53 % und -25,99 %. Der arithmetische Mittelwert der Reduktion liegt bei -32,64 %.

**Tabelle 4:** NoardrenalinKonzentrationen (in ng/g) der behandelten und unbehandelten Niere sowie der prozentuale Unterschied zwischen den beiden Werten pro Tier. NA = Noradrenalin

Tiernummer	NA-Wert behandelte Seite in ng/g	NA-Wert unbehandelte Seite in ng/g	Reduktion in %
Schwein 5	324	478	-32,15
Schwein 6	355	523	-32,19
Schwein 7	265	385	-31,07
Schwein 8	204	314	-34,93
Schwein 9	537	888	-39,53
Schwein 10	454	614	-25,99

Die mittlere NA-Konzentration der absoluten Werte beträgt 357 ng/g ( $\pm$  112 ng/g) auf der behandelten Seite und 534 ng/g ( $\pm$  185 ng/g) auf der unbehandelten Seite. Die Reduktion der NA-Werte ist nicht signifikant ( $p = 0,13$ ).

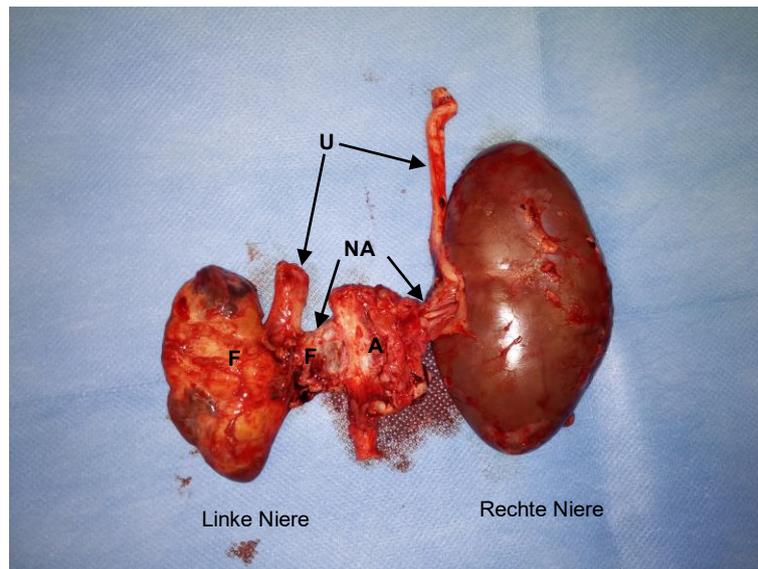
#### 4.4.3. Makroskopische Beurteilung

Nach Euthanasie der Tiere mit anschließender Laparotomie erfolgte die makroskopische Betrachtung des Abdomens, mit Schwerpunkt auf die Aorta abdominalis, die V.cava caudalis, die Nieren, die Nierenarterien, die Ureteren und das Gewebe rings um die Injektionsstelle. Zusätzlich wurde die Leistengegend inspiziert, da dort der arterielle Zugang gewählt wurde. Diese war bei keinem der 10 Tiere auffällig. Abbildung 18 zeigt die gut verheilte Punktionsstelle eines der Tiere.



**Abbildung 18:** Die gut verheilte Punktionsstelle im rechten Inguinalbereich von Schwein 1 (roter Pfeil)

Im Folgenden werden nur die Auffälligkeiten bei der makroskopischen Untersuchung genannt. Die nicht erwähnten Strukturen waren von physiologischer Morphologie. Tier Nummer 3, bei dem die versehentliche Fehlinjektion in die linke A. renalis geschehen war, zeigte eine deutlich verkleinerte und fibrosierte linke Niere. Auf den Abbildungen 19 und 20 sind die linke und rechte Niere vergleichend zu sehen. In Abb. 19 sieht man die kompletten Nieren, mit einem Teil der Aorta und der Ureteren. Darauf erkennt man die fibrotisch geschrumpfte linke Niere. Die linke Nierenarterie ist ebenfalls von fibrotisch veränderten Gewebe umgeben und kaum abzugrenzen. Abb. 20 zeigt die beiden Nieren nach einem Sagittalschnitt, wobei hier wiederum die hochgradige Fibrose der linken Niere, welche einen Großteil der Nierenrinde und auch das Nierenmark betrifft, zu sehen ist. Physiologisches Nierengewebe ist kaum vorhanden. Die rechte Niere inklusive der hilären Strukturen erscheint unauffällig.

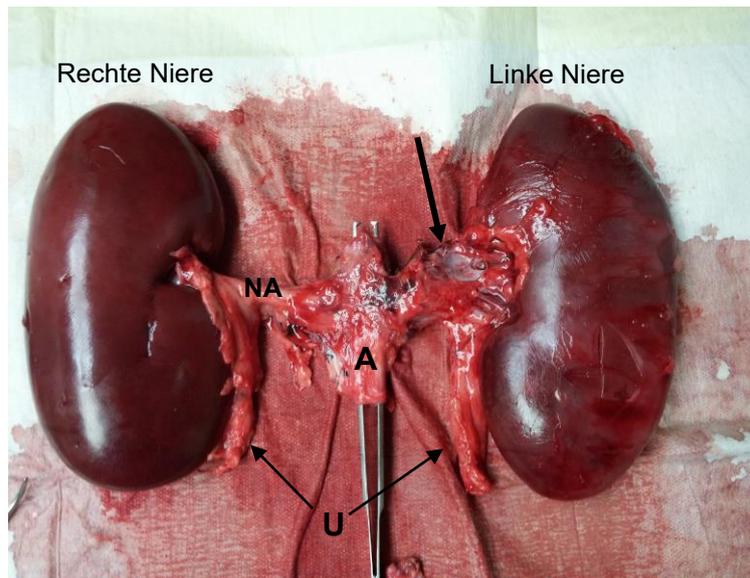


**Abbildung 19:** Darstellung der beiden entnommenen Nieren von Schwein 3 mit den angrenzenden Zielstrukturen. Die linke, behandelte Niere ist stark atrophiert, wohingegen die rechte Niere ohne besonderen Befund ist. **A** - Aorta; **NA** - Nierenarterie; **U** - Ureter; **F** - Fibrose



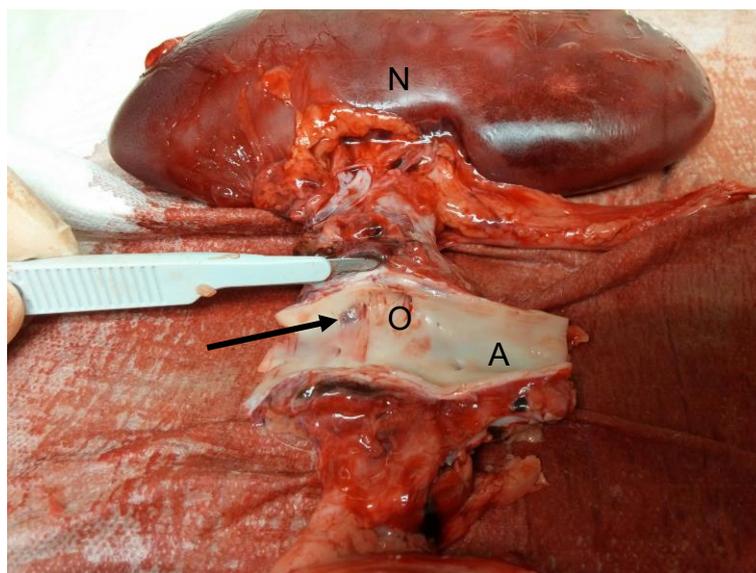
**Abbildung 20:** Vergleich der linken, atrophierten Niere mit der kontralateralen Seite von Schwein 3 nach einem Sagittalschnitt. **F** - Fibrose

Schwein 5 wies auf der rechten, unbehandelten Niere 1 kleine Zyste (ca. 1 x 1 x 0,5 cm) auf. Diese befand sich im caudalen Drittel auf der lateralen Seite. Weiterhin fielen mittelgradige Fibrosierungen am cranialen Nierenpol und entlang der Nierenarterie auf. Auch bei Schwein 6 war fibrotisches Gewebe rings um die A. renalis der behandelten, linken Niere sichtbar (s. Abb. 21).



**Abbildung 21:** Beide Nieren von Schwein 6 inklusive den angrenzenden Zielstrukturen. Beide Nieren sind von physiologischer Form und Farbe. Ebenso die Ureteren (U). Auffällig ist das fibrotische Gewebe um die linke, behandelte Nierenarterie (**scharzer Pfeil**). Die rechte Nierenarterie (NA) ist ohne besonderen Befund.

Des Weiteren wurde bei der Inspektion der Aorta eine kleine bläulich-bräunlich gefärbte Stelle nahe der Abzweigung der A. renalis gefunden (s. Abb. 22). Schwein 8 hatte geringgradige Fibrosierungen rings um die Nierenarterie. Bei der Inspektion der Innenseite der Aorta war eine kleine, punktuelle bräunliche Verfärbung der Gefäßintima, welche sich durch alle Schichten der Aorta zog, auffällig. Die V. cava caudalis war unauffällig, obwohl es während der Intervention zu einer Fehlinjektion von Kontrastmittel in selbige gekommen war.



**Abbildung 22:** Blick auf die Intima der längs aufgeschnittenen Aorta von Schwein 6. Auffällig ist eine bräunliche Verfärbung (**schwarzer Pfeil**) cranial des Ostium renalis (O). A - Aorta; N - linke Niere

Bei Schwein 10 und 11 waren weiterhin nur die mittelgradigen Fibrosierungen am cranialen Nierenpol und um die Aa. renales der behandelten Seite auffällig. In Abbildung 23 ist eine solche Verklebung des vorderen Nierenpols mit dem umliegenden Gewebe zu erkennen. Es ist die behandelte rechte Niere von Schwein 11 zu sehen.



**Abbildung 23:** Fibrosierungen cranial am Nierenpol der rechten Niere von Schwein 11 (**roter Pfeil**). **N** - rechte Niere; **B** - Vesica urinaria; **G** - A. und V. renalis

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass 5 von 10 Schweinen gering- bis mittelgradig fibrotisches Gewebe am cranialen Nierenpol und um die Nierenarterie der jeweils behandelten Seite aufwiesen. Die Ureteren waren bei allen Tieren unauffällig. Es gab keine Hinweise auf Stenosen oder Hydroureter. Ein Tier zeigte eine kleine Zyste im Nierengewebe. Bei 2 der 10 Schweine war ein kleines Hämatom in der Aortenwand, an der Penetrationsstelle der Nadel, zu finden. Die schwersten unerwünschten Nebenwirkungen zeigte Schwein 3, bei welchem die linke, behandelte Niere durch einen Infarkt größtenteils fibrotisch verändert war.

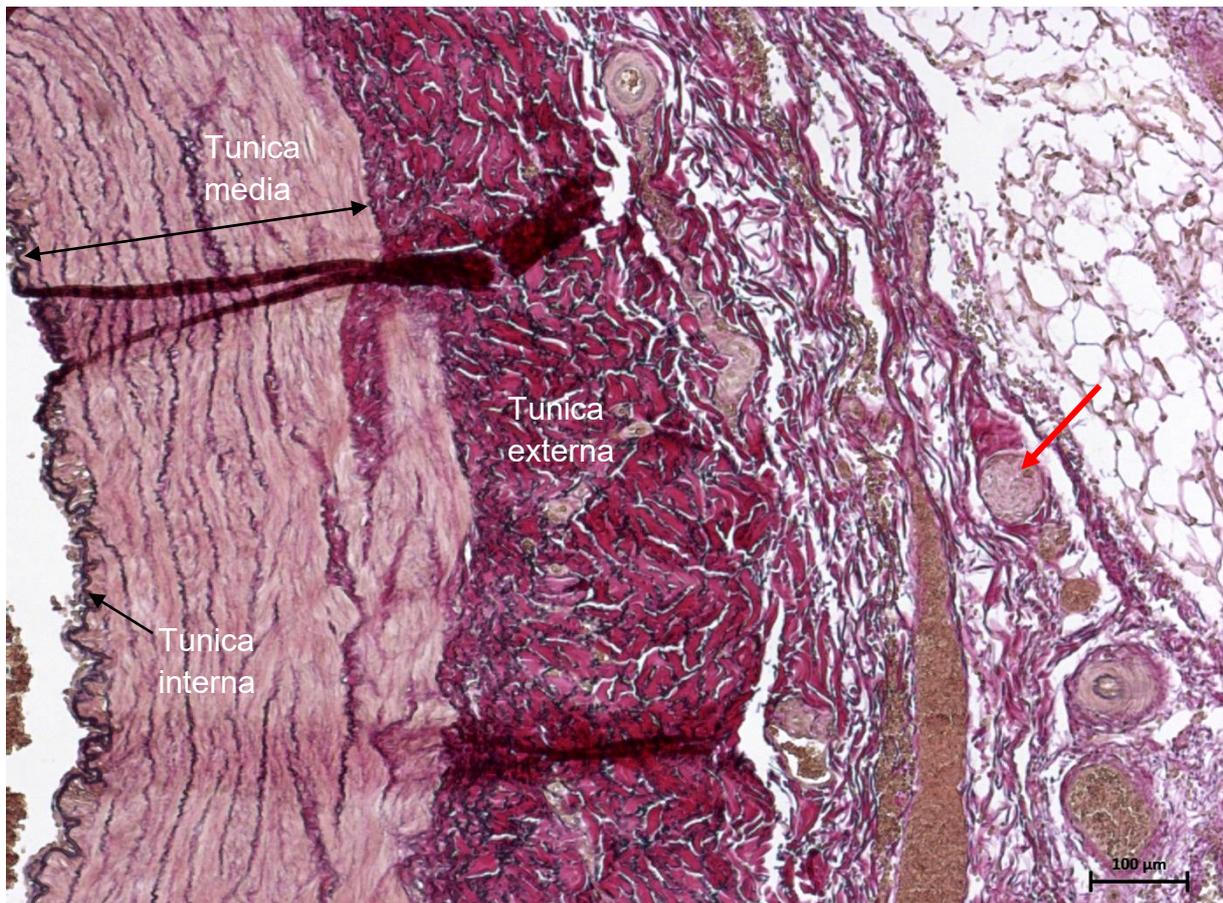
#### 4.4.4. Histologische Auswertung

Neben den NA-Werten ist die histologische Auswertung der neuronalen Schädigungen durch die Ethanolinjektion ein primärer Outcomeparameter dieser Arbeit. Bei der Beurteilung der Zielstrukturen wurde das Augenmerk vor allem auf die Degeneration der Nervenfasern entlang der Aa. renales gelegt. Weiterhin wurden eventuelle pathologische Veränderungen auf Grund der Substanzapplikation in den angrenzenden Strukturen, wie den Ureteren und der Aorta, eruiert.

Insgesamt wurden ca. 1400 Schnitte angefertigt und begutachtet. Die Begutachtung geschah gemeinsam mit einem Facharzt für Neuropathologie vom Institut für Neuropathologie an der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte. Für eine objektivere Beurteilung wurden die Schäden an den Nervenfasern in 4 Grade unterteilt. Als Anhaltspunkt diente die Einteilung nach Sakakura et al. [133]. In Tabelle 5 findet man den Grad der Schädigung und die jeweils dazugehörige Definition.

**Tabelle 5:** Einteilung der neuronalen Schäden in verschiedene Grade und deren Definition

<b>Grad der Degeneration</b>	<b>Definition</b>
Grad 0 - keine Schädigung	Es sind keine Schäden am Nervenfaszikel zu sehen. Das Peri- und Epineurium sind klar voneinander abzugrenzen. Es sind keine fibrotischen Veränderungen ersichtlich. Der Nerv ist voll funktionsfähig.
Grad 1 - milde Schädigung	Es gibt eine leichte perineurale Fibrose, d. h. das Perineurium erscheint geringgradig verdickt. Eine Differenzierung zwischen Perineurium und umliegenden Bindegewebe (Epineurium) wird schwieriger, ist aber möglich. Eine Endoneurofibrose ist nicht oder nur minimal vorhanden. Die Funktionsfähigkeit des Nervs ist leicht eingeschränkt.
Grad 2 - moderate Schädigung	Die perineurale Fibrose ist zunehmend ausgeprägt und deutlich zu sehen. Eine Differenzierung zwischen Perineurium und Epineurium ist nicht mehr möglich. Außerdem ist das Endoneurium markant verdickt. Somit ist die Struktur des Nervenfaszikels verändert. Mineralisierungen können auftreten. Der Nerv kann nur noch eine Restfunktion ausüben.
Grad 3 - schwere Schädigung	Es kommt zu einer schweren peri- und endoneuralen Fibrose. Die Faszikelmorphologie ist komplett verändert und kaum bzw. gar nicht mehr zu erkennen. Eine Funktion des Nervs ist nicht mehr gegeben.

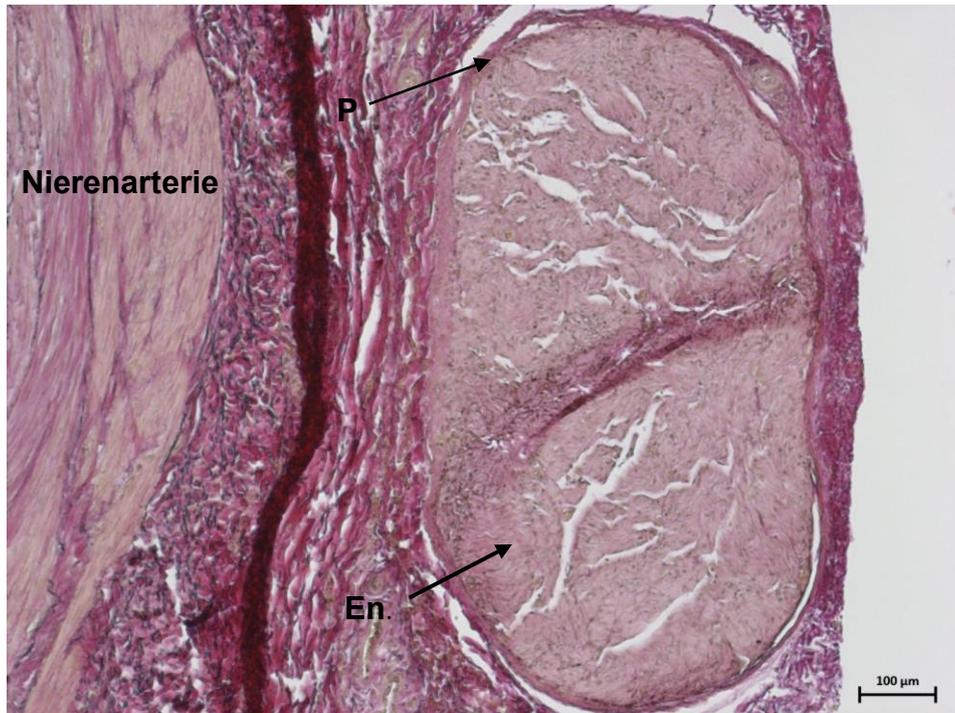


**Abbildung 24:** A. renalis mit einem gesunden, in der Peripherie liegenden Nervenfaszikel (**roter Pfeil**). Schwein 1, rechte Seite, 5-fache Vergrößerung, EvG-Färbung

Abbildung 24 zeigt exemplarisch einen Teil der rechten, unbehandelten Nierenarterie von Schwein 1 in der EvG-Färbung. Der typische dreischichtige Aufbau einer Arterie ist gut zu erkennen. Die innere Schicht ist die Tunica interna mit einer dünnen, lumenseitigen Endothelschicht. Anschließend folgt die Tunica media, welche aus glatter Muskulatur besteht. Abschließend bildet eine Bindegewebsschicht die Tunica externa. Diese geht in das umliegende Bindegewebe fließend über. In der Adventitia liegen die Nervenfasern des Plexus renalis. So sieht man auf der rechten Bildhälfte u.a. einen gesunden Nervenfaszikel.

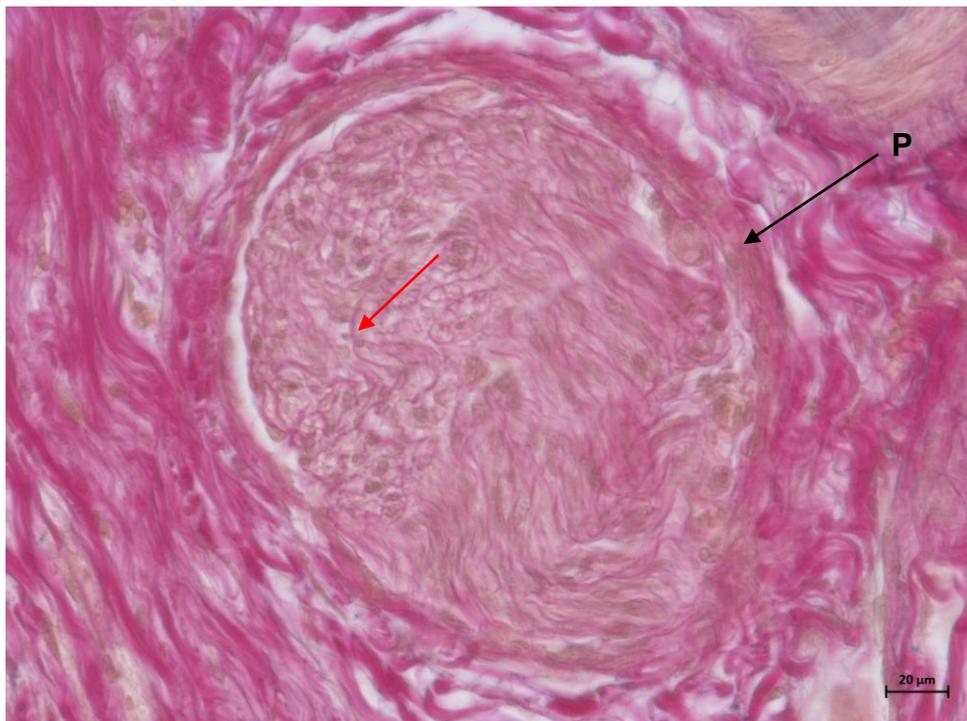
#### 4.4.4.1. Degenerationsgrad

Veränderungen der Nervenstruktur waren in der EvG-Färbung besser zu beurteilen, als in der HE-Färbung. Das ist der Fall, da sich Kollagenfasern in der EvG-Färbung deutlich rötlich darstellen und diese bei fibrotischen Veränderungen vermehrt vorliegen. Weiterhin sind Zellkerne schwarzbraun und elastische Fasern dunkelviolettl gefärbt. In den folgenden Abbildungen 25 bis 29 wird für jeden Degenerationsgrad ein Beispiel in der EvG-Färbung abgebildet. Bei den hellen Zwischenräumen handelt es sich um fixationsbedingte Artefakte.



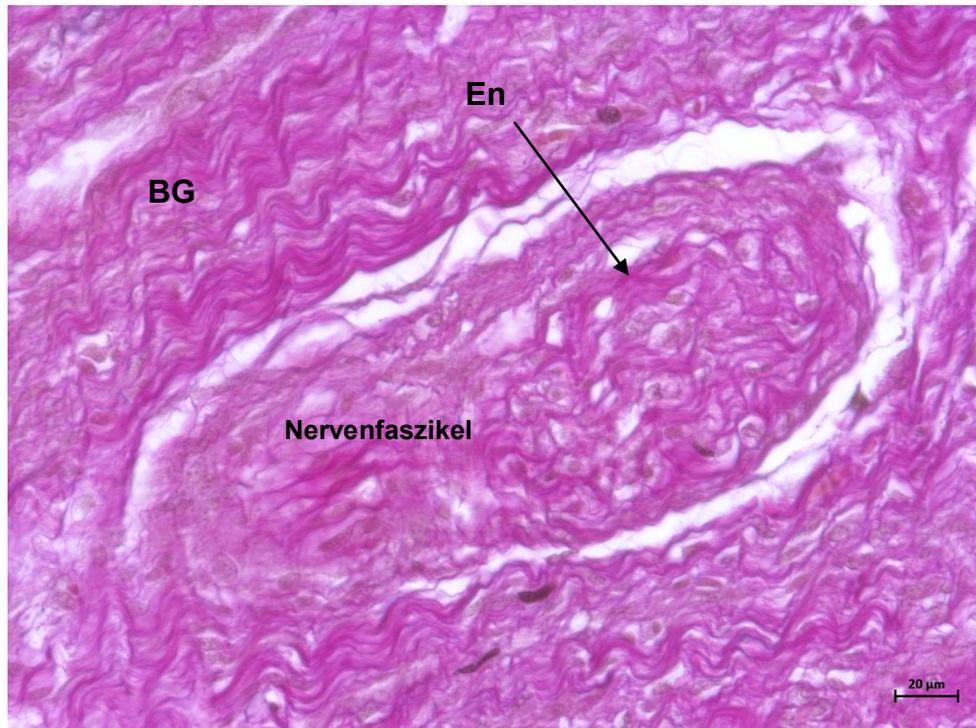
**Abbildung 25:** Degenerationsgrad 0 = gesunde Nerven; **En** - physiologische Axone mit Endoneurium, **P** - Perineurium; Schwein 3: linke Nierenarterie, 5-fache Vergrößerung, EvG-Färbung

In Abb. 25 sieht man rechts neben der Nierenarterie einen großen intakten Nervenfaszikel. Dieser zeigt keinerlei Hinweise auf fibrotische Veränderungen. Sein Aufbau ist vollkommen physiologisch.



**Abbildung 26:** Degenerationsgrad 1 = ggr. Schädigung, **P** - ggr. Perineurofibrose, **roter Pfeil** - minimale Endoneurofibrose, Schwein 5, linke Nierenarterie, 20-fache Vergrößerung, EvG-Färbung

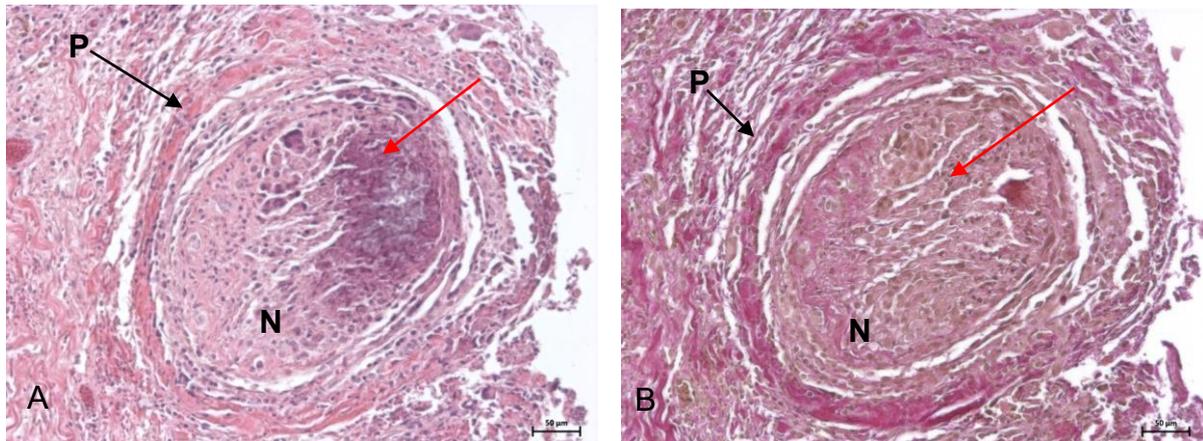
Eine milde Schädigung eines Nervenfaszikels ist in Abb. 26 beispielhaft zu sehen. Das Perineurium ist durch Fibrose geringgradig verdickt und teilweise nicht gut vom umliegenden Bindegewebe zu unterscheiden. Das Endoneurium der einzelnen Axone ist zum Großteil noch unverändert. Lediglich an einer Stelle sieht man eine minimale Verdickung, welche hinweisend auf eine geringgradige Endoneurofibrose ist.



**Abbildung 27:** Degenerationsgrad 2 = moderate Schädigung, **En** - deutliche Endoneurofibrose, **BG** - Bindegewebe, Schwein 10, rechte NA, 20-fache Vergrößerung, EvG-Färbung

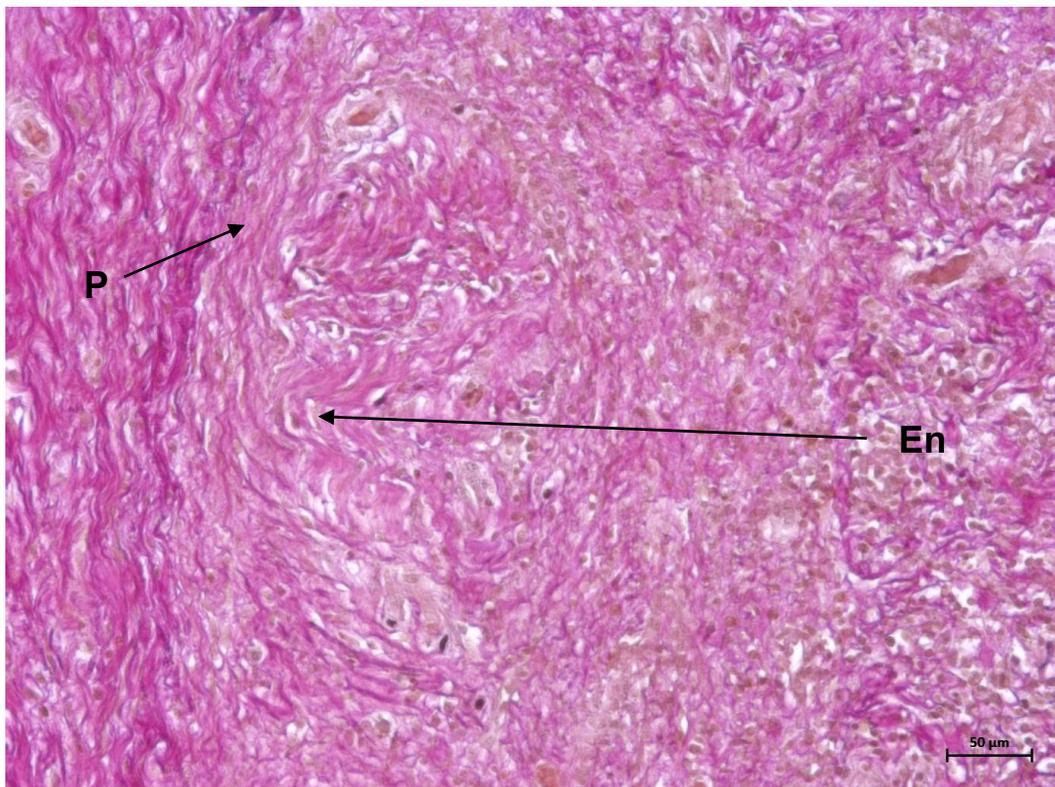
Abbildung 27 zeigt ein Beispiel für einen moderat geschädigten Nervenfaszikel. Dieser stammt von der rechten, behandelten Nierenarterie von Schwein 10. Man sieht die deutliche Endoneurofibrose um die Nervenfasern. Eine Abgrenzung zwischen Perineurium und umliegendem Bindegewebe ist nicht mehr möglich. Auch ist das Perineurium nicht mehr vom Endoneurium abgrenzbar.

Eine Besonderheit der Degeneration ist bei Schwein 2 aufgetreten. Bei diesem ist es zur Mineralisierung eines Nervenfaszikels gekommen. Dies ist in der HE-Färbung etwas deutlicher als in der EvG-Färbung zu sehen. Abbildung 28 zeigt die Veränderungen in beiden Färbungen. In der HE-Färbung stellt sich die Mineralisation dunkellila dar. Fast 50 % des Nervs scheint betroffen. In der EvG-Färbung ist die Mineralisation durch ein Fehlen der normalen Endoneuriumstruktur gekennzeichnet.



**Abbildung 28:** Degenerationsgrad 2 - Mineralisierung eines Nervenfaszikel. Schwein 2, linke Nierenarterie, 10-fache Vergrößerung. **A** - HE-Färbung: **N** - Nervenfaszikel, **P** - Perineurium, Mineralisation (**roter Pfeil**); **B** - Evg-Färbung: **N** - Nervenfaszikel, **P** - Perineurium, Mineralisation (**roter Pfeil**)

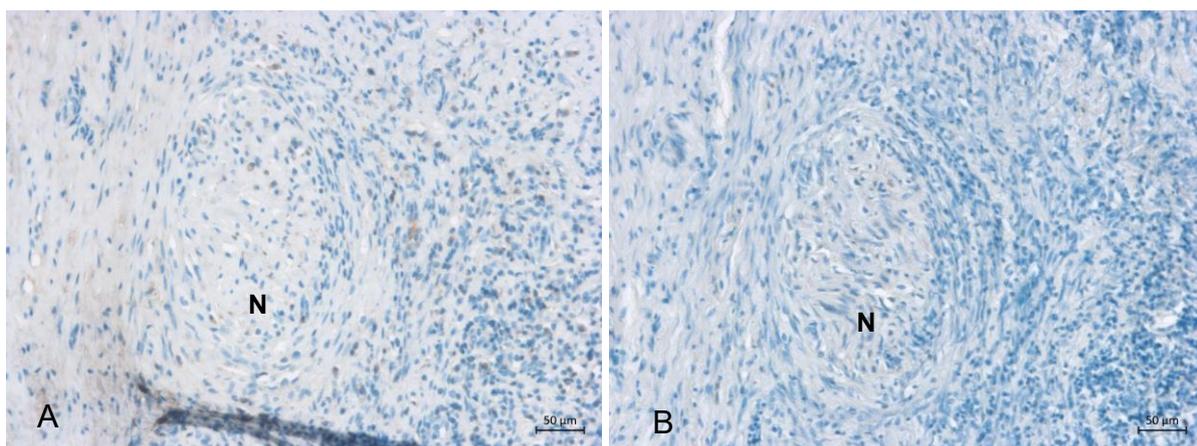
Die schwerste Schädigung ist Grad 3. Diese ist beispielhaft in Abbildung 29 zu sehen. Es handelt sich um die rechte, behandelte Nierenarterie von Schwein 10. Dabei ist eine hochgradige Endoneurofibrose, welche den gesamten Nervenfaszikel betrifft, deutlich erkennbar. Außerdem ist das Perineurium hochgradig verdickt. Der strukturelle Aufbau des Nervs ist deutlich verändert. Er lässt sich kaum noch vom umliegenden Bindegewebe unterscheiden. Eine Funktion desselbigen ist nicht mehr zu erwarten.



**Abbildung 29:** Degenerationsgrad 3 = schwere Schädigung. Schwein 10, rechte Nierenarterie, 10-fache Vergrößerung, EvG-Färbung. **En** - hgr. Endoneurofibrose; **P** - hgr. Perineurofibrose

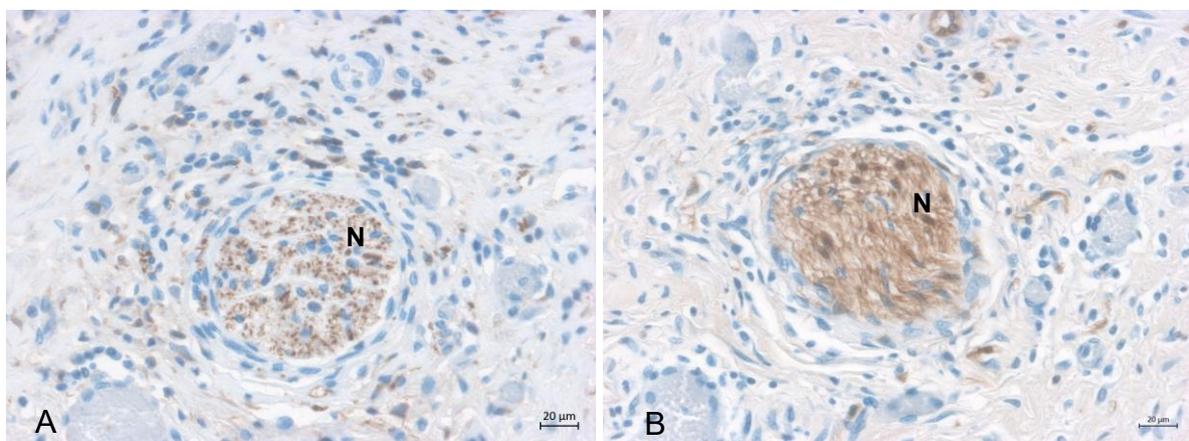
Auch in den immunhistologischen Färbungen waren die unterschiedlichen Degenerationsgrade gut zu erkennen. Das Besondere bei diesen Färbungen ist, dass gewisse Proteine mittels Antikörper angefärbt werden. Diese stellen sich dann braun, wie in unseren Präparaten, oder rot dar. Mittels Hämalaun wird das restliche Präparat blau gefärbt. Eine der 2 immunhistologischen Färbungen war das Neurofilament (NF). Neurofilamente sind wichtige strukturelle Bestandteile von Axonen und Dendriten der Nervenzellen. Je geschädigter der Nerv, desto weniger Neurofilamente sind vorhanden und desto weniger werden sie farblich dargestellt. Die zweite immunhistologische Färbung ist die S100-Protein-Färbung (S-100). S-100-Proteine binden Calcium und haben diverse andere Aufgaben in den Zellen. Dementsprechend werden sie von einer Vielzahl von Zelltypen exprimiert, u.a. gehören die Schwann-Zellen des peripheren Nervensystems dazu. Auch bei dieser Färbung gilt: je höher der Degenerationsgrad, desto weniger S-100-Proteine sind vorhanden und desto weniger können farblich sichtbar werden.

In Abbildung 30 ist der von Abbildung 29 schwer geschädigte Nerv in der S-100 und der NF-Färbung dargestellt. Es ist so gut wie keine Braunfärbung der gewählten Proteine sichtbar.



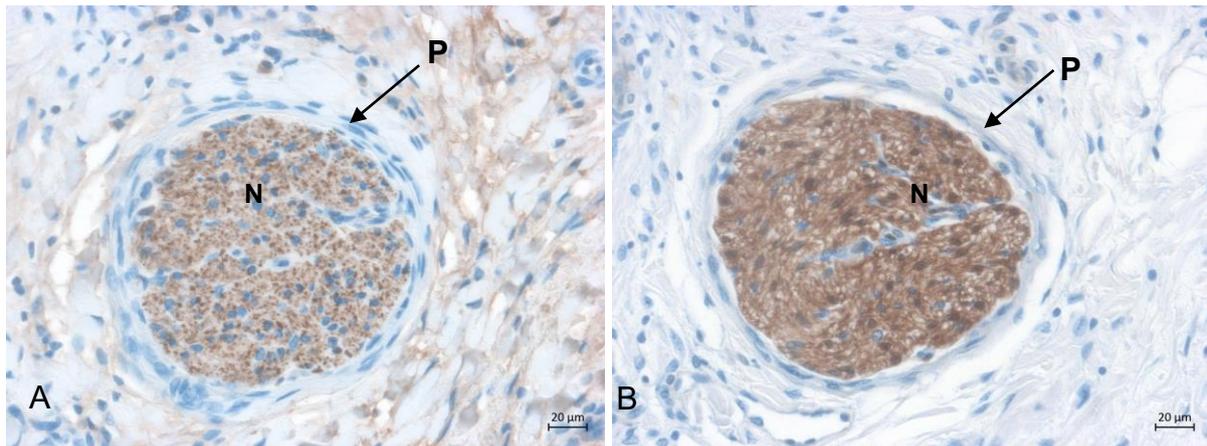
**Abbildung 30:** Schwein 10, rechte Nierenarterie, Degenerationsgrad 3 **A:** NF-Färbung, 10-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel. **B:** S-100-Färbung, 10-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel

Abbildung 31 zeigt einen Nervenfaszikel mit moderater Schädigung der behandelten Seite von Tier 1. In der S-100-Färbung und der NF-Färbung sind jeweils nur geringgradig braun gefärbte Axone zu erkennen.



**Abbildung 31:** Schwein 1, linke Nierenarterie, Degenerationsgrad 2. **A:** NF-Färbung, 20-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel. **B:** S-100-Färbung, 20-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel

Ein nur mild geschädigter Nervenfaszikel von Schwein 3 wird in Abbildung 32 gezeigt. Deutlich ist die Braunfärbung der Axone bei beiden immunhistologischen Färbungen erkennbar.



**Abbildung 32:** Schwein 3, linke Nierenarterie, Degenerationsgrad 1. **A:** NF-Färbung, 20-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel, **P** - Perineurium **B:** S-100-Färbung, 20-fache Vergrößerung, **N** - Nervenfaszikel, **P** - Perineurium

Tabelle 6 stellt, als Übersicht, den maximalen Grad der Degeneration pro Tier und Seite dar.

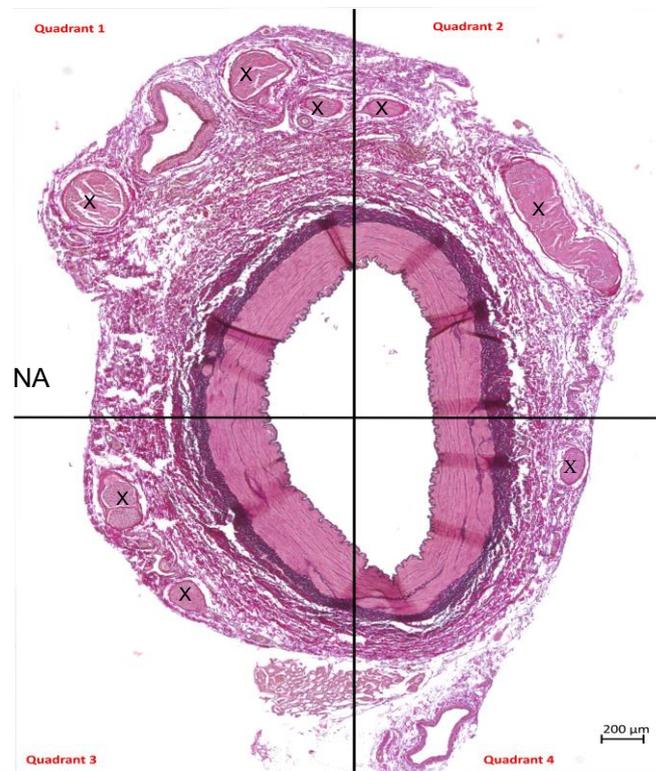
**Tabelle 6:** Übersicht der maximalen Degenerationsgrade der Nerven pro Tier und pro Seite

<b>Tiernummer</b>	<b>Maximaler Degenerationsgrad der Nerven auf der behandelten Seite</b>	<b>Maximaler Degenerationsgrad der Nerven auf der unbehandelten Seite</b>
Schwein 5	3	0
Schwein 6	1	0
Schwein 7	2	0
Schwein 8	1	0
Schwein 9	3	0
Schwein 10	1	0

Aus Tabelle 6 ist ersichtlich, dass bei allen 6 Tieren eine Schädigung von Nervenfasern um die jeweils behandelte Nierenarterie durch das Ethanolgemisch erreicht werden konnte. Bei 2 von 6 Tieren waren diese Schädigungen maximal. Der mittlere Schädigungsgrad bei den 6 Tieren beträgt  $1,8 (\pm 0,9)$ .

#### 4.4.4.2. Zirkumferenz

Ein weiteres Kriterium der Auswertung war die Beurteilung der zirkumferenziellen Verteilung des Injektats um die behandelte Nierenarterie. Dafür wurden die Nierenarterie und das angrenzende Gewebe in 4 Quadranten unterteilt. Je nachdem in wie vielen Quadranten sich geschädigte Nerven befanden, wurde die Verteilung mit 0 %, 25 %, 50 %, 75 % oder 100 % bezeichnet. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 33 zu sehen.



**Abbildung 33:** Nierenarterie inklusive des umgebenden Bindegewebes mit Nerven (X) des Plexus renalis von Schwein 11, rechte Nierenarterie, EvG-Färbung. Einteilung in 4 gleich große Quadranten (1 - 4). Den Mittelpunkt bildet die Mitte des Lumen der Nierenarterie (NA). Keine Schädigung der Nerven sichtbar (= 0 % Verteilung).

Die Tabelle 7 zeigt pro Tier und pro Seite die jeweilige zirkumferenzielle Verteilung anhand betroffener Quadranten.

**Tabelle 7:** Zirkumferenzielle Verteilung in % pro Tier und pro Seite

<b>Tiernummer</b>	<b>Zirkumferenzielle Verteilung in % auf der behandelten Seite</b>	<b>Zirkumferenzielle Verteilung in % auf der unbehandelten Seite</b>
Schwein 5	50	0
Schwein 6	25	0
Schwein 7	25	0
Schwein 8	50	0
Schwein 9	50	0
Schwein 10	75	0

Bei 4 von 6 Schweinen sind 50 % oder mehr betroffen, das heißt es gab 2 oder mehr Quadranten, in denen sich geschädigte Nerven befanden. 100 % wurde bei keinem der Tiere erreicht. Die durchschnittliche Verteilung lag bei 46 % ( $\pm 17$  %) auf der behandelten Seite.

#### 4.4.4.3. Nervenanzahl

Ein weiteres Kriterium bei der Auswertung war die Anzahl der Nerven pro Nierenarterie. Dafür wurden alle sichtbaren Nerven rings um die jeweilige Nierenarterie in der EvG-Färbung gezählt. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse aufgelistet.

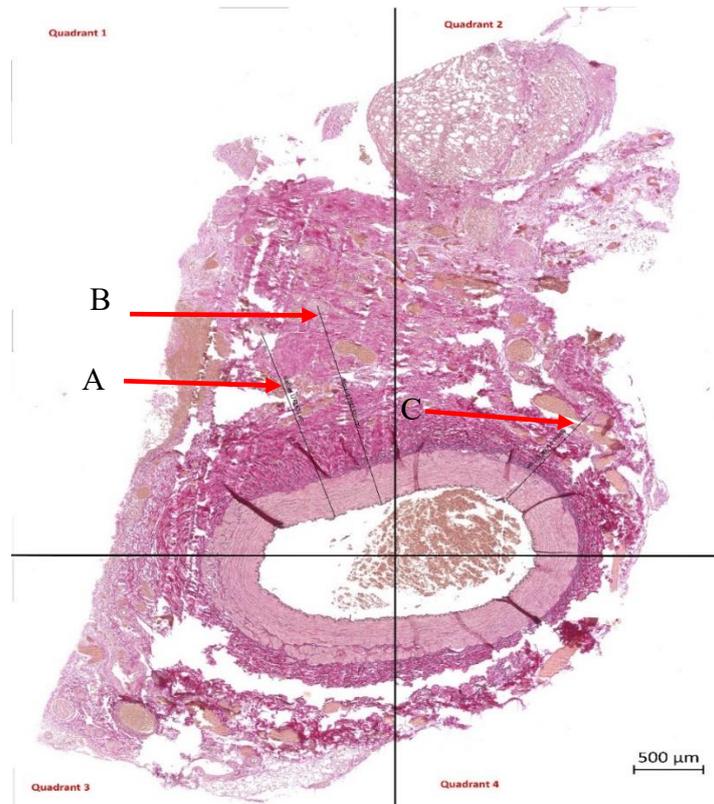
**Tabelle 8:** Übersicht der Nervenanzahl pro Nierenarterie und pro Tier, sowie die Angabe der Differenz zwischen den beiden Seiten

<b>Tiernummer</b>	<b>Anzahl der Nerven auf der behandelten Seite</b>	<b>Anzahl der Nerven auf der unbehandelten Seite</b>	<b>Differenz</b>
Schwein 5	41	47	-6
Schwein 6	54	52	2
Schwein 7	23	22	1
Schwein 8	30	52	-22
Schwein 9	23	99	-76
Schwein 10	23	65	-42

Die durchschnittliche Nervenanzahl von allen 6 Tieren beträgt auf der behandelten Seite 32,3 ( $\pm 11,6$ ) und auf der unbehandelten 56,2 ( $\pm 23,1$ ). Die meisten Nerven waren bei Schwein 9 auf der unbehandelten Seite zu finden (99) und die wenigsten bei Schwein 7 auf der unbehandelten Seite (22). Bei Schwein 5, 8, 9 und 10 ist die Nervenanzahl auf der behandelten Seite geringer, als auf der unbehandelten. Statistisch gesehen ist die Reduktion nicht signifikant, da  $p = 0,16$ .

#### 4.4.4.4. Maximale Schädigungstiefe

Des Weiteren wurde gemessen, bis in welche Tiefe Schädigungen im Gewebe nachgewiesen werden konnten. Dafür wurde die weiteste Strecke zwischen der Lamina interna der Nierenarterie und der Mitte eines geschädigten Nervs bestimmt. Dies ist beispielhaft in Abbildung 34 zu sehen.



**Abbildung 34:** Übersichtsdarstellung der linken, behandelten Nierenarterie von Schwein 1, EvG-Färbung. Einteilung in 4 Quadranten. Geschädigte Nerven sind in Quadrant 1 und 2 vorhanden. Bei diesen wurde der Abstand zum Lumen der Nierenarterie gemessen (rote Pfeile A, B und C). Pfeil B hat die größte Entfernung.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

**Tabelle 9:** Übersicht der maximalen Entfernung geschädigter Nerven zum Lumen der Nierenarterie pro Tier.

Tiernummer	Maximale Entfernung geschädigter Nerven zum Lumen der Nierenarterie in mm
Schwein 5	4,8
Schwein 6	0,9
Schwein 7	1,4
Schwein 8	2,1
Schwein 9	4,2
Schwein 10	2,7

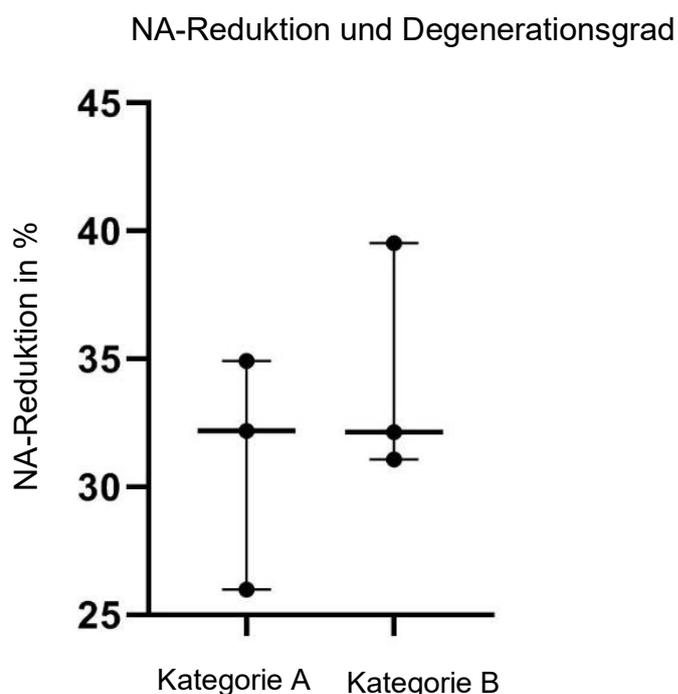
Die Entfernungen lagen zwischen 0,9 mm bei Schwein 6 und 4,8 mm bei Schwein 5. Im Durchschnitt betrug die maximale Entfernung 2,7 mm ( $\pm 1,4$  mm).

#### 4.4.5. Analytische Beurteilung

Im nun folgenden Abschnitt wurden die erhobenen Daten in Bezug zueinander gesetzt. Bei den dargestellten Streudiagrammen markiert die mittlere horizontale Linie den Median und die obere und untere kürzere Linie zeigt das 95%-Konfidenzintervall an.

##### 4.4.5.1. NA-Reduktion und Degenerationsgrad

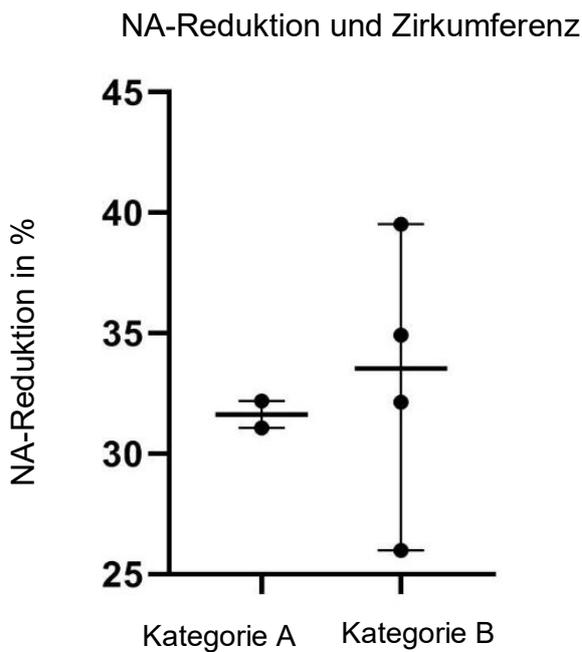
Die Noradrenalinreduktion in % pro Tier wurde in Bezug gesetzt mit dem Degenerationsgrad. Dafür wurde der jeweilige Degenerationsgrad einer Kategorie zugeordnet. Die Degenerationsgrade 0 - 1 gehören zu Kategorie A und die Degenerationsgrade 2 - 3 gehören zu Kategorie B. Je Kategorie gab es jeweils 3 Tiere. Zu sehen ist dies in Abbildung 35. Die Reduktion des NA-Wertes ist in Kategorie B nicht signifikant größer als in Kategorie A ( $p > 0,9$ ).



**Abbildung 35:** NA-Reduktion in % und Degenerationsgrade nach Kategorie

##### 4.4.5.2. NA-Reduktion und Zirkumferenz

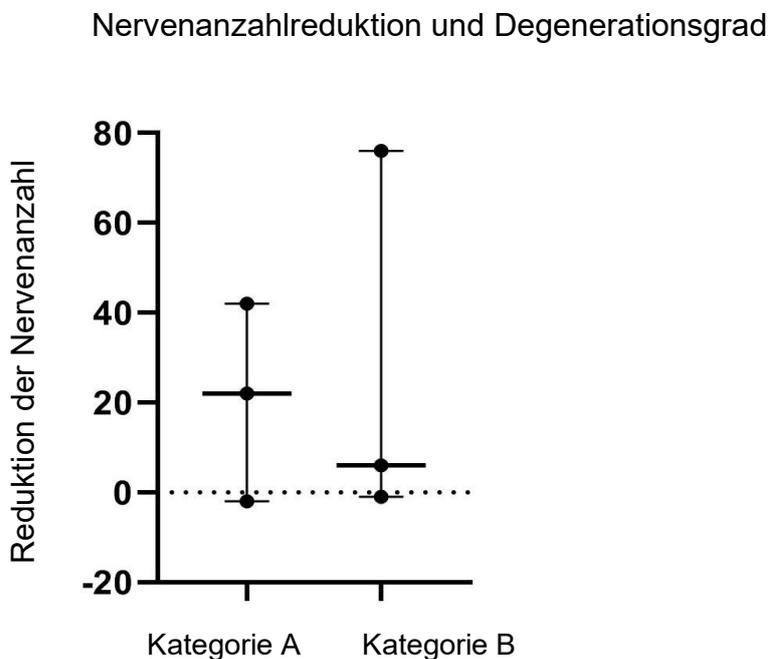
Die NA-Reduktion in % wurde außerdem zur Zirkumferenz in Bezug gesetzt. Dafür wurde die Zirkumferenz in 2 Kategorien A und B unterteilt. Zu Kategorie A gehören die Tiere, bei denen kein oder ein Quadrant degenerative Nervenbündel zeigt. Man kann auch sagen Tiere mit einer zirkumferentiellen Verteilung von 0 oder 25 %. In Kategorie B wurden die Tiere eingeordnet, welche in 2, 3 oder 4 Quadranten degenerative Veränderungen zeigten und somit eine zirkumferentielle Verteilung von 50, 75 oder 100 % zeigten. Dabei gehörten 2 Tiere zu Kategorie A und 4 Tiere zu Kategorie B. Graphisch wird dies in Abbildung 36 deutlich. Statistisch gab es keine signifikant höhere NA-Reduktion in Kategorie B als in Kategorie A ( $p = 0,8$ ).



**Abbildung 36:** NA-Reduktion in % und die Zirkumferenz nach Kategorien

#### 4.4.5.3. Nervenanzahlreduktion und Degenerationsgrad

Des Weiteren wurde die Differenz der Nervenanzahl auf der behandelten Seite mit dem Degenerationsgrad in Bezug gesetzt. Die Degenerationsgrade wurden wieder, wie oben beschrieben, in 2 Kategorien eingeteilt. Die Reduktion der Nervenanzahl der behandelten zur unbehandelten Seite wird als positive Zahl auf der Y-Achse angegeben. Sind auf der unbehandelten Seite mehr Nerven gezählt worden, werden diese als negative Zahl angegeben. Abbildung 37 stellt den Vergleich graphisch dar.

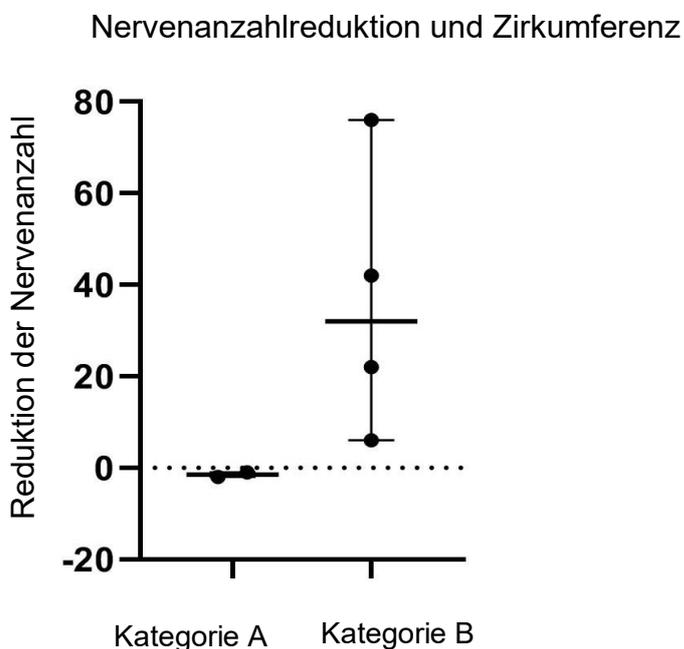


**Abbildung 37:** Differenz der Nervenanzahl und die Degenerationsgrade nach Kategorie

P ist größer als 0,9 und somit gab es keine signifikant größere Reduktion der Nervenanzahl in Kategorie B.

#### 4.4.5.4. Nervenanzahlreduktion und Zirkumferenz

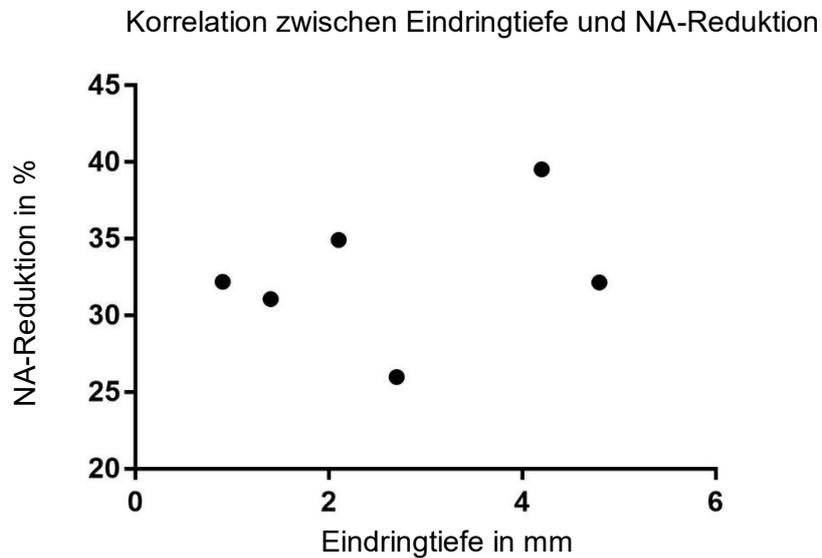
Die Differenz der Nervenanzahl wurde außerdem mit der Zirkumferenz in Zusammenhang gesetzt. Dafür wurde die Zirkumferenz der Injektatsverteilung wieder in die oben beschriebenen zwei Gruppen aufgeteilt. Dies ist in Abbildung 38 graphisch dargestellt. Die Reduktion der Nervenanzahl in Kategorie B ist nicht signifikant höher als in Kategorie A ( $p = 0,13$ ).



**Abbildung 38:** Differenz der Nervenanzahl und die Zirkumferenz nach Kategorie

#### 4.4.5.5. Korrelation Eindringtiefe und NA-Reduktion der behandelten Seite

Als letztes wurde der Spearmansche Korrelationskoeffizient bestimmt. Dafür wurde die Eindringtiefe der 6 gelungenen Injektionen in Bezug zu den jeweiligen NA-Reduktionswerten der behandelten Seite gesetzt. Der errechnete Koeffizient betrug  $r = 0,09$ . Der Koeffizient bedeutet, dass nur ein sehr geringgradig positiver Zusammenhang zwischen den 2 Variablen Eindringtiefe und NA-Wert absolut besteht. Graphisch ist dies in Abb. 39 veranschaulicht. Dabei befindet sich auf der X-Achse die Eindringtiefe in mm und auf der Y-Achse die NA-Reduktion in %.



**Abbildung 39:** Korrelation zwischen der Eindringtiefe in mm und der Noradrenalin (NA)-Reduktion in %

## **5. Diskussion**

### **5.1. Allgemeine Überlegungen**

Wieso eine erfolgreiche Therapie von Patienten mit refraktärer arterieller Hypertonie so überaus wichtig ist, wurde bereits unter 2.2. und 2.3. genau erläutert. Ebenso wurde die bedeutende Rolle des sympathischen Nervensystems bei der Pathophysiologie der arteriellen Hypertonie unter 2.1. beschrieben.

Die Idee der renalen Denervation mittels minimalinvasiver katheterapplizierter Radiofrequenzenergie wurde in den ersten großen Studien (Symplicity HTN-1 und HTN-2) scheinbar vielversprechend umgesetzt [15, 16]. Jedoch waren die Ergebnisse der randomisiert-kontrollierten Symplicity HTN-3 Studie weniger überzeugend [17] und führten in Fachkreisen zu kritischen Diskussionen.

Darum galt und gilt es nach neuen, alternativen Methoden zu forschen, um das Ziel einer erfolgreichen renalen Sympathikolyse zu erreichen. Neben verschiedenen thermischen Methoden, wurden auch diverse chemische Substanzen untersucht, welche katheterbasiert oder ohne Katheter direkt perkutan appliziert wurden [15, 16, 18, 21, 23]. So widmete sich auch unsere Arbeitsgruppe der Erprobung einer chemischen Substanz zur RDN. Dabei handelte es sich um Ethanol, das zum ersten Mal im Schweinmodell katheterbasiert transaortal um die Nierenarterie injiziert wurde. Aufgrund der Schonung der Nierenarterie werden die damit verbundenen anatomischen Limitationen potentiell umgangen.

### **5.2. Diskussion von Material und Methoden**

#### **5.2.1. Das Versuchstiermodell**

Das Tier der Wahl war das Hausschwein. Dieses entspricht in der Physiologie, der renalen Gefäßanatomie sowie der renalen Gefäßgröße dem Menschen am besten [134]. Schon in ähnlichen vorangegangenen Studien hat sich das Schwein, im Alter von ca. 3 Monaten, als gut geeignet erwiesen [23,108]. Der Gefäßdurchmesser der A. renalis in diesem Alter liegt bei durchschnittlich 3,7 mm [108]. Der Durchmesser der Nierenarterie des adulten Menschen liegt zwischen 4 - 6 mm [135]. Außerdem ist auch die eigentliche Zielstruktur, die sympathischen Nervenfasern entlang der Nierenarterie, mit denen des Menschen vergleichbar. So zeigten Tellez et al. 2013, dass im proximalen Segment der porzinen Nierenarterie die Nervendichte am größten ist und sie nach distal langsam abnimmt [28]. Weiterhin befanden sich mehr als 50 % der gesamten Nerven 0 - 3 mm vom Lumen der Nierenarterie entfernt. Überdies gab es deutlich mehr efferente sympathische Nervenfasern als afferente [28]. Sakakura et al. fanden 2014 sehr ähnliche Ergebnisse bei der Untersuchung von 20 humanen Nierenarterien [29]. Diese stammten von normotensiven und hypertensiven Patienten. Auch hier fand man proximal eine höhere Nervenanzahl als distal. Die mittlere Distanz zwischen Nerven und Arterienlumen lag zwischen 3,4 mm proximal und 2,6 mm distal [29]. Die Zahl der efferenten Nervenfasern lag, wie bei den Schweinen, deutlich über denen der afferenten Fasern [29]. Ferner konnte gezeigt werden, dass ventral mehr Nerven vorkommen als dorsal. Dies ist bei porzinen Nierenarterien gleichermaßen der Fall [29,133].

Durch diese vielen Ähnlichkeiten sind die Ergebnisse der Intervention also gut auf den Menschen übertragbar. Zu Bedenken ist die eventuelle Regeneration der Neuronen bei Jungtieren im Gegensatz zum erwachsenen Menschen. Darüber gibt es jedoch bislang keine aussagekräftigen Studien.

### **5.2.2. Sedation und Narkose**

Bei der Sedierung entschieden wir uns für eine Kombination von Midazolam und Ketamin. Da man diese Wirkstoffe als Mischspritze verabreichen kann, mussten wir die Tiere nur einmal Stechen und konnten so den Stress minimal halten. Wichtig zu beachten ist, dass Midazolam als Benzodiazepin eine blutdrucksenkende Wirkung hat [136]. Ketamin als dissoziatives Anästhetikum hat eine starke analgetische Wirkung, welche aber nicht über den gesamten Zeitraum des Eingriffs anhält. Es wirkt stimulierend auf Herz und Kreislauf, führt aber auch zu einem erhöhten Muskeltonus. Letzterer wird durch die muskelrelaxierende Wirkung von Midazolam wieder ausgeglichen [137]. Diese Prämedikation war nötig um einen Venenzugang am Ohr des Tieres zu legen. Darüber erfolgte dann die Propofolgabe zur Aufrechterhaltung der Narkose. Auch Propofol hat eine blutdrucksenkende Wirkung [138]. Trotzdem wurde Propofol als Injektionsanästhetikum gewählt, da es durch seine kurze Halbwertszeit die Narkose sehr gut steuerbar macht und kaum kardiale Nebenwirkungen aufweist [138]. Zudem bergen Inhalationsanästhetika beim Schwein das Risiko, eine maligne Hyperthermie auszulösen. Propofol hingegen wirkt nicht aktivierend an den sarkoplasmatischen Calciumionenkanälen [139]. Für eine ausreichende Analgesie während des Eingriffs wurde zusätzlich das synthetische Opioid Fentanyl verabreicht. Dies geschah aufgrund des schnellen Wirkungseintritts und der kurzen Wirkdauer als Dauertropf [140]. Auch Fentanyl wird eine blutdrucksenkende Wirkung zugeschrieben [140]. Dies ist eine mögliche Erklärung für die teilweise sehr niedrigen diastolischen und systolischen Blutdruckwerte der Tiere prä- und postinterventionell sowie am Finalisierungstag.

### **5.2.3. Wirkstoffwahl - Ethanol**

Als Wirkstoff für die chemische RDN (cRDN) fiel die Wahl auf Ethanol. Ethanol ist ein sehr potentes Neurolytikum und wird in der Medizin seit langem vor allem zur Behandlung extrem starker chronischer Schmerzzustände, wie zum Beispiel bei Tumorerkrankungen, benutzt [116]. Eine Zerstörung der Nervenzellen findet durch Ausfällung von Muko- und Lipoproteinen statt [116]. In der Schmerztherapie werden zur Analgesie Konzentrationen von 40 - 100 % verwendet [115]. In unserem Versuch wurde 95%-iger Ethanol eingesetzt. Er breitet sich durch seine gute Löslichkeit relativ schnell in das umliegende Gewebe aus, macht eine genaue Applikation dadurch aber auch schwieriger [116].

Da die Injektion von Ethanol alleine einen brennenden Schmerz auslöst, wird kurz vorher oder gleichzeitig ein Lokalanästhetikum verabreicht. In der vorliegenden Arbeit wurde Bupivacain für diesen Zweck verwendet.

Ethanol hatte sich zudem schon in vorangegangenen Studien als potentes Mittel zur RDN gezeigt. Streitparth et al. konnten 2013 erfolgreich eine RDN mittels MRT-gesteuerter periarterieller Ethanolinjektion an 6 Schweinen durchführen [21]. 2014 folgte die erste cRDN im Menschen. Nach CT-gestützter periarterieller Ethanolinjektion bei einem 50-jährigen Patienten mit therapierefraktärer aHT wurde eine Blutdrucksenkung nach einem Monat von 29 / 14 mmHg erreicht [117]. 2016 konnte auch eine Phase-II-Pilot Studie die Effektivität von Ethanol bei einer cRDN bestätigen [141]. Diese Studien konnten zeigen, dass der perkutane Zugangsweg eine wirksame Alternative zum endovaskulären Ansatz darstellt.

Daneben gab es auch Studien mit einer endovaskulären Herangehensweise, bei welcher Ethanol effektiv benutzt wurde. Fischell et al. setzten 2015 erfolgreich einen 3-Nadel-Katheter im präklinischen Schweinmodell und auch in ersten klinischen Studien ein [142]. Über diesen erfolgte eine Ethanolinjektion durch die Wand der Nierenarterie in das umliegende Gewebe.

Ein weiterer Vorteil gegenüber anderen möglichen Substanzen wie z.B. Vincristin ist der günstigere Einkaufspreis.

All dies führte zu der Entscheidung, dass Ethanol als Wirkstoff zur cRDN in unserem Versuch dienen sollte.

#### 5.2.4. Katheterwahl

Ein Nachteil vieler Kathetersysteme zur RDN ist die nötige Eignung der Sondierung der Nierenarterien. Diese müssen zum Beispiel einen gewissen Durchmesser oder eine gewisse Länge haben. Dazu kommt, dass eine nicht zu vernachlässigende Anzahl von Patienten mehr als eine Hauptnierenarterie pro Seite aufweist [118]. Um möglichst viele Patienten mit refraktärer aHT in Zukunft zu behandeln, haben wir einen experimentellen Katheter getestet, welcher nur bis in die Aorta, genauer gesagt bis zur Abzweigung der jeweiligen Nierenarterie vorgeschoben werden muss um dann die Aortenwand zu penetrieren. So sind anatomische Besonderheiten oder Vorerkrankungen der Nierenarterien selbst kein Ausschlusskriterium mehr. Um ein sicheres Vorschieben bis zum Ostium renale zu gewährleisten, musste die Nadelspitze ein- und ausziehbar sein. Darüber hinaus war es für die optimale Ausrichtung der Nadel zur Penetration der Aortenwand nötig, dass die Spitze des Führungskatheters nach allen Seiten bis zu 90° beweglich ist. All diese Kriterien vereinte der verwendete experimentelle Katheter. Die flektierbare Schleuse findet bereits Anwendung in verschiedenen klinischen Bereichen. Sie wird z.B. zur peripheren, renalen und intrakardialen Platzierung von Therapie- und Diagnosegeräten genutzt und dementsprechend in verschiedenen Längen und mit verschiedenen Durchmessern angeboten [143].

#### 5.2.5. Bestimmung von Noradrenalin

Ein Abfall des NA-Wertes korreliert positiv mit dem Erfolg der renalen Denervation [9]. Da eine Zerstörung der sympathischen Nervenfasern entlang der Nierenarterien eine Senkung des NA-Wertes im Nierenparenchym zu Folge hat [9, 15, 144]. Darum ist der prozentuale NA-Abfall der primäre Outcomeparameter dieser Arbeit, er dient als Effektivitätsnachweis.

Die Bestimmung des NA-Gehaltes im Nierenparenchym erfolgte in dieser Arbeit mittels HPLC. Jedoch gibt es bei dieser Untersuchung 2 verschiedene Methoden. Zum einen die Nutzung eines elektrochemischen Detektors und zum anderen die Nutzung eines Tandem-Massenspektrometers. Der elektrochemische Detektor weist zwar eine hohe Sensitivität auf, jedoch fehlt ihm die Massenspezifität. Die Nutzung des Massenspektrometers ist ebenfalls sehr sensitiv. Zusätzlich kann dadurch Noradrenalin von Adrenalin und anderen endogenen Katecholaminen unterschieden werden und es kommt zu keiner Interferenz [133]. Darum ist diese Methode zu präferieren. In der vorliegenden Studie wurde HPLC und ein Tandem-Massenspektrometer (MS) genutzt. Diese Methode ist sehr sensitiv und durch die MS auch spezifisch. Als Goldstandard wird die Spillover Methode gesehen. Mit Hilfe eines Radiotracers werden dabei die sympathischen Efferenzen zu einem Organsystem gemessen [144]. In klinischen Studien, wie zum Beispiel der HTN-1-Studie, wurde die Noradrenalin-Spillover Methode angewandt [15]. Da diese Methode jedoch sehr aufwendig und teuer ist, stand sie für diese Arbeit nicht zur Verfügung. NA-Werte unterschiedlicher Studien zu vergleichen, ist also nur unter Beachtung des angewandten Messverfahrens möglich.

Die absoluten NA-Werte der 10 Tiere in unserem Versuch lagen auf der unbehandelten Seite zwischen 314 und 888 ng/g. Diese breite Streuung der Kontrollwerte wurde auch schon in vorangegangenen Versuchsreihen mit dem gleichen NA-Messverfahren beobachtet [21, 23, 108]. Gründe dafür sind zum einen individuelle Unterschiede, aber auch die Tatsache, dass Katecholamine wie das Noradrenalin sehr anfällig für äußere Stressoren sind. So können schon geringfügige Unterschiede in der Narkosetiefe oder ein nicht optimales Schmerzmanagement während der Intervention den NA-Wert deutlich verändern [134]. Hinzukommen schnelle metabolische Prozesse und eine ungleiche Verteilung im Nierenparenchym [144]. Dies hat hohe Anforderungen an die Entnahmetechnik zur Folge, um Messfehler zu vermeiden. Zum einen muss das Nierenparenchym ausreichend homogenisiert

werden und zum anderen ist ein umgehendes Einfrieren des Homogenisats von Nöten, um einen weiteren Abbau des NA zu vermeiden.

Ein genauer Grenzwert des NA-Abfalls zur Bewertung der erfolgreichen Denervation ist nicht bekannt. Jedoch sollte der Abfall deutlich und reproduzierbar sein.

### **5.2.6. Histologische Aufarbeitung**

Die angefertigten Präparate von der Aorta abdominalis, den Ureteren und den Nierenarterien wurden mittels HE-, EvG-, und zum Teil auch mittels S100- und NF-Färbung genauer untersucht. Alle Färbungen dienten dazu, möglichst eindeutig Prozesse von Nervendegeneration aufzuzeigen. Je geringer der Durchmesser der Nerven war, desto schwieriger wurde es ihn zu graduieren. Zudem ist eine hochgradige Degeneration, die zur kompletten Auflösung der Nervenstruktur führt und somit keine anfärbbaren Strukturen hinterlässt, nicht identifizierbar. Auch lässt keine der angewandten Färbungen Rückschlüsse auf die Funktionsfähigkeit der Nerven zu. Die HE- und die EvG-Färbung dienten zur Identifizierung der neuralen Schädigungen. Dort waren die fibrotischen Veränderungen als Indikation der Degeneration deutlich zu sehen, aber auch eventuelle Auffälligkeiten an der Aortenwand oder im Weichteilgewebe waren gut zu beurteilen. Die zwei immunhistochemischen Färbungen S-100 und Neurofilament wurden zur besseren Darstellung und genaueren Beurteilung der geschädigten Nervenfaszikel angefertigt. Wir entschieden uns gegen die Tyrosinhydroxylase (TH)-Färbung, welche sich zur Erkennung der An- oder Abwesenheit der NA-Synthese eignet. Das Enzym TH katalysiert die Umwandlung von L-Tyrosin in Levodopa, welches die Vorstufe der Katecholamine wie Noradrenalin ist [145]. Allerdings ist die Aufbereitung der Proben sehr aufwendig, da Frischmaterial nötig ist. Dieses ist aber auch anfälliger für Fehler, da Enzyme schnell abgebaut werden. Die Verwendung der in Paraffin gebetteten Schnitte hingegen bot ein gleichbleibendes Ergebnis, welches weniger fehleranfällig ist.

### **5.2.7. Blutdruckmessung**

Alle behandelten Schweine waren normoton vor der Intervention und die RDN wurde nur einseitig durchgeführt. Diese beiden Tatsachen sind der Grund dafür, dass kein signifikanter Abfall des Blutdrucks erwartet wurde und auch nicht eingetreten ist. So kommt es auch bei einer unilateralen Nephrektomie, wie zum Beispiel bei einem Nierentumor oder einer Organspende, zu keinem signifikanten Blutdruckabfall [146]. Die verbliebene, gesunde Niere übernimmt alle wichtigen Aufgaben wie die Urinausscheidung und die Blutdruckregulation [147]. Aus diesem Grund waren die Blutdruckwerte keine primären Outcome Parameter dieser Arbeit. Erfolgt eine RDN beim Menschen, geschieht dies immer bilateral. Nur wenn beide Seiten behandelt werden, kann man einen Blutdruckabfall erwarten.

## **5.3. Diskussion der Ergebnisse**

### **5.3.1. Technische Durchführbarkeit**

Das Auffinden und Punktieren der A. femoralis mittels Ultraschall war, wie unter 4.3. beschrieben, bei allen Tieren möglich. Lediglich bei zwei Schweinen musste für die erfolgreiche Punktion auf die kontralaterale Seite gewechselt werden. Die Positionierung des Führungskatheters unter Angiographiekontrolle war bei ausreichendem Durchmesser der Aorta abdominalis auch problemlos möglich. Schwein 2 wies einen kleineren Aortendurchmesser auf als die übrigen 9 Tiere. Daher war die Positionierung des Katheters bei diesem Tier nicht ganz optimal möglich. Der Durchmesser der Aorta abdominalis beim erwachsenen Menschen beträgt im Durchschnitt ca. 2 cm und würde somit genügend Platz für die korrekte Ausrichtung des Katheters bieten [148]. Die richtige Platzierung der

ausgefahrenen Nadel war bei 8 von 10 Schweinen direkt beim ersten Versuch gut durchführbar. Um die korrekte Position der Injektionsnadel sicherzustellen, ist eine Kontrastmittelinjektion vorab sehr wichtig. Da die Angiogramme nur ein zweidimensionales Bild erzeugen, war die korrekte Beurteilung der Position erschwert. So zeigte die Kontrastmittelgabe bei Schwein 8 eine Punktion der V. cava caudalis. Dies konnte durch Repositionierung der Nadel einfach korrigiert werden.

Bei Schwein 3 kam es nach positiver Testinjektion durch Dislokation der Injektionsnadel zur versehentlichen Fehlinjektion des Wirkstoffgemisches in die A. renalis.

Bei 3 Schweinen ist das Kontrastmittel nach der Injektion auch auf die kontralaterale Seite gelaufen. Dies könnte auf eine suboptimale Punktion der Aorta zurückzuführen sein. Zeigt die Nadelspitze nach Punktion der Aorta zu weit nach dorsal und nicht, wie gewünscht, nach lateral, läuft das Injektat auch leichter auf die kontralaterale Seite.

Eine weitere mögliche Erklärung, ist die relativ geringe Viskosität des Ethanolgemisches und in Folge dessen seine Eigenschaft sich weitläufig im Gewebe zu verteilen. Aus diesem Grund wurde dem Ethanolgemisch bei einer anderen Studie Polyacryl zugesetzt um die Viskosität zu erhöhen [22]. Dies führte auch teilweise zu einer besseren "Anhaftung" des Injektats an die Nierenarterie. Jedoch war der NA-Abfall bei diesen Tieren geringer als bei denen ohne Polyacrylzusatz [22].

Ein anderer Grund könnte die seitliche Lagerung der Tiere sofort nach der Intervention sein, um diese im Anschluss in den CT-Raum zu transportieren. Auch der Transport zurück in die Stallbox erfolgte auf der Seite liegend. Dies war nötig, da es kreislaufschonender für die Tiere war. Bei einem vergleichbaren Eingriff beim Menschen wäre eine angemessen längere Liegezeit auf dem Rücken nach der Intervention ohne Bedenken durchführbar. Des Weiteren weist die Nierenarterie des erwachsenen Menschen eine dünne Fettgewebsschicht auf, welche die Diffusion des Alkohols voraussichtlich besser eindämmen würde. Bei den verwendeten juvenilen Hausschweinen war dies nicht der Fall.

### 5.3.2. Sicherheit

Wie bereits unter Punkt 4.4. erörtert, kam es zu einem perakuten Versterben eines der 11 Tiere in der Aufwachphase. Da die Intervention planmäßig verlief und auch das post interventionelle CT keine Auffälligkeiten, wie zum Beispiel eine retroperitoneale Blutung oder ähnliches zeigte, kann man davon ausgehen, dass es sich um Kreislaufversagen gehandelt hat und nicht in Verbindung mit dem Eingriff zu sehen ist. Schweine sind allgemein eher kreislauffähige Tiere, welche einer kardial bedingten Kreislaufstörung schnell erliegen können [150]. Das Schweineherz hat neben einem geringen relativen Gewicht, auch eine schlechte subendokardiale Blutversorgung. Dazu kommt noch ein ungünstiges Verhältnis von Systolen- zu Diastolendauer [150]. Zur Unterstützung des Kreislaufs bekamen alle nachfolgenden Tiere daher eine Kochsalzinfusion intravenös während der Narkose. Es kam zu keinen weiteren Todesfällen.

Die Injektion des Ethanols, wenn korrekt appliziert, führte zu keinen Komplikationen. Makroskopisch auffällig waren lediglich Fibrosierungen rings um die Nierenarterie und bei 2 Tieren ein kleines Hämatom in der Wand der Aorta abdominalis durch die Injektionsnadel. Da der Katheter nicht in die Nierenarterie eingeführt wird, kann es zu keiner Schädigung der Intima oder Media der Nierenarterie kommen. So ist das Risiko einer interventionsassoziierten Nierenarterienstenose nicht gegeben. Eine solche Nierenarterienstenose gehörte zu den unerwünschten, wenn auch seltenen, Nebenwirkungen der RDN mittels Symplicity-Katheter [95].

Eines der Tiere wies eine Nierenzyste auf. Diese sind bei juvenilen Schweinen jedoch nicht ungewöhnlich, da sie autosomal-dominant vererbt werden können [151]. Daher ist es als

unwahrscheinlich anzusehen, dass das Auftreten einer solchen Zyste interventionsassoziiert ist.

Alle Ureteren wiesen weder makroskopisch noch histologisch Auffälligkeiten aufgrund der Intervention auf. Im Gegensatz dazu kam es bei der MRT-gesteuerten perkutanen Ethanolinjektion von Streitparth et al. zu Hydronephrosen aufgrund von Stenosierung des Ureters auf der behandelten Seite [21].

Eine Fehlpositionierung der Injektionsnadel in die V. cava caudalis konnte bei Schwein 8 durch die Testinjektion festgestellt und korrigiert werden. Es kam dadurch zu keinen makroskopisch sichtbaren Folgeschäden.

Die einzige schwere Komplikation in dieser Studie trat bei Schwein 3 auf. Bei dem auf Grund der Nadeldislokation eine versehentliche Fehlinjektion in die A.renalis stattfand. Dies führte zur Thrombosierung der Nierenarterie und anschließender Infarzierung der behandelten Niere.

Bis auf die zuletzt erwähnte Fehlinjektion war die Intervention bei allen Tieren sicher durchführbar. Damit es zu keiner Fehlinjektion kommt, ist es wichtig eine Testinjektion mit Kontrastmittel durchzuführen, um sich der korrekten Position der Nadel zu vergewissern. Darauf folgend darf die Nadelposition nicht mehr verändert werden bis die Ethanolinjektion abgeschlossen ist.

### **5.3.3. Histologische Ergebnisse**

Der dritte Parameter, welcher in dieser Arbeit untersucht wurde, ist die histopathologische Auswertung der Gewebeschnitte. Obwohl es vorkommen kann, dass eine erfolgreiche Denervation mit NA-Abfall erzielt wird ohne dass dabei größere histologische Veränderungen zu finden sind, zeigen diese, wenn sie vorhanden sind, zuverlässig den Erfolg einer Denervation. Denn von einem geübten Betrachter lassen sich fixationsbedingte Artefakte oder normale milde Entzündungen des Gewebes sehr gut von den ethanolbedingten Degenerationen unterscheiden. NA-Werte können individuellen Schwankungen unterliegen und so falsch-positive Ergebnisse erzeugen. Werden aber Anzeichen von Nervendegeneration wie Peri- und Endoneurofibrose nachgewiesen, kann man von einer erfolgreichen Denervation ausgehen.

Die neurale Degeneration wurde nach dem Vorbild von Sakakura et al. in 3 Grade eingeteilt (s.S.53). Dies machte eine Beurteilung der vorgefundenen Schädigungen objektiver und es hilft bei der Standardisierung präklinischer Studien zur RDN. Denn nur mit einheitlichen Kategorisierungen werden die Ergebnisse der vielen Studien zu diesem Thema vergleichbarer.

#### Aorta, Ureter und Nierenarterie

Alle Schnitte der Aorta und der Ureteren waren beidseits unauffällig. Auch die Nierenarterie selber zeigte, bis auf eine Ausnahme, keine Besonderheiten. Bei Schwein 3, bei welchem versehentlich eine kleine Menge Ethanol intraarteriell injiziert wurde, kam es zur Bildung eines Thrombus in der A. renalis. Histologisch war ein organisierter Thrombus mit Bildung eines kleinen zentralen sekundären Lumens zu sehen.

#### Nervendegeneration

Bei allen Tieren waren Degenerationen auf der behandelten Seite nachweisbar. Die Grade waren unterschiedlich. Bei 4 der 10 Schweine wurde eine Grad-3-Schädigung auf der behandelten Seite gefunden. Bei weiteren 2 Tieren waren die Degenerationen 2. Grades. Das heißt bei mehr als 50 % der Tiere lag eine moderate bis schwere Schädigung der periarteriellen Nerven der behandelten Seite vor.

Schwein 11, bei welchem das Injektat auf die kontralaterale Seite gelaufen ist, zeigten sich Degenerationen 3. Grades auf der kontralateralen Seite, jedoch keine auf der behandelten Seite. Auch bei Schwein 1 und 2, bei denen ebenfalls das Injektat kontralateral verlaufen ist, zeigten sich Degenerationen 1. und 2. Grades auf der unbehandelten Seite. Von den 6 Tieren, bei denen das Injektat auf der behandelten Seite verblieben ist, konnten keine Degenerationen auf der kontralateralen Seite nachgewiesen werden. Von diesen 6 Schweinen wiesen 2 Tiere eine Schädigung 3. Grades, 1 Tier eine Grad 2 Schädigung und 2 Tiere eine Degeneration 1. Grades. Also führte die Ethanolinjektion bei 50 % der Tiere zu einer deutlichen nervalen Degeneration auf der behandelten Seite. Sakakura et al. sagt, dass man ab Grad 2 von einem Erfolg der Denervation sprechen kann, da milde neurale Schädigungen auch bei gesunden Schweinen präsent sein können [133].

Digestionskammern wie bei Sakakura et al. erwähnt, wurden nicht vorgefunden [133]. Eventuell war der Zeitpunkt zu spät gewählt und diese degenerierten Myelinscheiden deshalb nicht mehr nachweisbar. Außerdem zeigte Sakakura et al. im Schweinmodell, dass der Grad der Schädigungen mit der Zeit abnimmt. So konnte er im Schweinmodell mit 28 Tieren nachweisen, dass 7 Tage nach der Intervention der Schädigungsgrad bei durchschnittlich 3,9 und nach 30 Tagen nur noch bei 2,5 lag. Nach 180 Tagen war der Grad der nervalen Denervation auf 1,9 gesunken [152]. Dies könnte an dem Abbau degenerierter Nerven bzw. an der einsetzenden Reinnervation liegen. Die Datenlage lässt zurzeit nur Vermutungen zu. Mehr Studien zu dieser Fragestellung werden benötigt.

Eine Besonderheit ist bei Schwein 2 in Form einer Mineralisation aufgetreten. Bei diesem Tier hat sich der pH-Wert in einem Nervenfaszikel auf der behandelten Seite durch den applizierten Alkohol so verschoben, dass es zur Ausfällung mineralischer Stoffe kam. Die Funktion des betroffenen Nerven ist zwar fraglich, aber nicht ausgeschlossen. Darum wurde diese Veränderung als Grad 2 eingestuft.

Da es bei allen Tieren, bei denen die Ethanolinjektion optimal durchgeführt werden konnte, zu Degenerationen der periarteriellen Nerven gekommen ist und da bei 50 % die Schädigung Grad 2 oder höher betrug, kann man sagen, dass das getestete Verfahren effektiv war.

### Zirkumferenz

Ein weiteres Kriterium bei der Beurteilung eines neuen Denervationsverfahrens ist die Lokalisation der geschädigten Nerven. Das Ziel der Intervention sollte immer eine vollständige zirkumferentielle Verteilung der neurolytischen Substanz oder der angewandten Energie sein, um möglichst alle, in der Adventitia liegenden, Nerven erreichen zu können.

Sakakura et al. beschreiben in ihrer Arbeit über die Anatomie der periarteriellen Nerven im Menschen, dass die Verteilung der Nerven ventral der A. renalis größer ist als dorsal [29]. Das heißt eine ungleichmäßige Verteilung des Injektats, könnte je nach Lokalisation eine unterschiedliche Anzahl von intakten Nerven zurücklassen.

Von unseren 6 Tieren waren bei einem Tier 3 Quadranten, bei drei Tieren 2 Quadranten und bei zwei Tieren nur 1 Quadrant betroffen. Keines der Schweine zeigte in allen 4 Quadranten Nervendegenerationen. Die durchschnittliche Quadrantenanzahl betrug 1,8. Dies entspricht 46 %. Obwohl der Verteilungsscore anhand der CT-Bilder bei 4 Tieren 3 betrug und bei 2 Tieren 2, scheint das Ethanol nicht gleichmäßig um die Nierenarterie herum gewirkt zu haben. Eine mögliche Erklärung könnte eine unterschiedliche Ausrichtung der Nadel während der Ethanolinjektion sein.

Jedoch belegen auch aktuelle Studien, dass der zirkumferentielle Effekt bei den RFA-Systemen nicht immer optimal ist. So zeigte sich bei Al Raisi et al. bei der Benutzung des Symplicity Spyrax Katheters eine Zirkumferenz von 23 % [153]. Sakakura et al. zeigten im Schweinmodell, dass die Zirkumferenz nach erfolgter RDN mittels RFA nach 30 Tagen  $31 \pm 6$  % betrug [152].

Aufgrund der Präparationstechnik war es uns nicht möglich, nachträglich die Ausrichtung der A. renalis zu bestimmen. Eine Markierung der dorsalen und ventralen Bereiche wäre sehr aufwendig gewesen und ist aus diesem Grund nicht veranlasst worden.

### Eindringtiefe

Tellez et al. zeigte im Schweinemodell, dass mehr als 50 % aller periarteriellen Nerven innerhalb einer Distanz von 0 - 3 mm vom Lumen der Nierenarterie entfernt liegen [28]. Sakakura et al. kam zu einem ähnlichen Ergebnis für den Menschen [29]. Bei ihm lagen 75 % der Nerven zwischen 0 - 4,28 mm vom Nierenarterienlumen entfernt.

Bei unserem Versuch betrug die maximale Eindringtiefe 4,8 mm (Schwein 5). Dies ist ein besseres Ergebnis, als die durch das bekannte RFA-System Symplicity erzielte Eindringtiefe. Denn bei der Nutzung des Symplicity-Katheters zur RDN konnte nur eine durchschnittliche Eindringtiefe von 2 - 3,8 mm festgestellt werden [154, 122]. Auch die neuere Generation der Ablationskatheter scheint keine größeren Eindringtiefen zu erreichen. So wurde für den EnligHTN-Katheter eine mittlere Eindringtiefe von  $2,32 \pm 0,02$  bis  $3,44 \pm 0,03$  mm festgestellt und für den Symplicity Spyral-Katheter von  $2,15 \pm 0,02$  mm [122, 123]. Jedoch zeigen andere Systeme wie der katheterbasierte Ultraschall eine Eindringtiefe von 7,5 mm, die perkutane Ethanolapplikation im Schweinemodell wies Nervenschädigungen in 7,6 mm Tiefe auf und die katheterbasierte transarterielle Injektion von Ethanol konnte Schäden in einer Tiefe von 8,2 mm verursachen [22, 121, 155].

Eine mögliche Erklärung für unser Ergebnis wäre, dass die erzielten Schäden in größeren Tiefen so maximal waren, dass man sie nicht mehr darstellen konnte und daher nicht gesehen hat. Eventuell hat man tiefere Veränderungen auch aufgrund der gewählten Schnittabstände nicht gesehen. Bei feineren Abständen wäre dies möglicherweise nicht der Fall gewesen.

Bei der Untersuchung der Korrelation von Eindringtiefe und NA-Reduktion war in unserem Fall nur eine geringgradig positive Korrelation nachweisbar. Für die Belegung der These: je höher die Eindringtiefe, desto höher die NA-Reduktion, müsste eine größere Fallzahl vorhanden sein.

### Nervenanzahl

Für die Zählung der vorhandenen Nerven wurden die Nerven pro Objektträger gezählt und addiert. Im Schnitt waren dies ca. 5 Schnitte pro Nierenarterie. Die durchschnittliche Anzahl von Nerven auf der unbehandelten Seite in unserer Arbeit war  $56,2 \pm 23,1$  und somit deutlich weniger als die von Tellez et al. Diese zählten bei gesunden Tieren rechts  $190 \pm 10,39$  und links  $138,6 \pm 7,49$ . Dies zeigt, dass die Anzahl der Nerven schon in gesunden Schweinen je nach Seite sehr unterschiedlich sein kann. Eventuell ist die bei 2 Tieren höherer Nervenanzahl auf der behandelten Seite auf eine grundsätzlich höhere Nervenanzahl auf dieser Seite zurückzuführen. Da die Nervenanzahl scheinbar sehr variabel ist, sollte man den Erfolg einer RDN nicht allein an einer Reduktion der Nervenanzahl festmachen wie z.B. Stefanadis et al. [112].

Unsere Anzahl der gezählten Nerven war durchgängig bei allen Tieren weniger als bei Tellez et al. und daher in sich schlüssig. Obwohl keine Signifikanz bestand, konnte man dennoch einen Unterschied zwischen durchschnittlich 56 Nerven auf der unbehandelten und 32 auf der behandelten Seite erkennen.

### Analytische Beurteilung

Wenn man sich die NA-Reduktion im Vergleich zum Degenerationsgrad ansieht, kann man keinen signifikanten Unterschied feststellen. Die Streuung der Werte war groß und die Anzahl der Werte lag nur bei 6. Vergleicht man die NA-Reduktion mit der Zirkumferenz, zeigte sich die Tendenz, dass der NA-Abfall in der Gruppe mit einer Zirkumferenz von 50 % oder mehr höher ist, als in der Gruppe, bei der die Zirkumferenz 0 % oder 25 % betrug. Doch dieser Unterschied war nicht signifikant.

Die Differenz der Nervenanzahl zwischen behandelter und unbehandelter Seite schien nicht in positiver Verbindung mit dem Degenerationsgrad zu stehen. Tendenziell war die Reduktion der Nerven in der Gruppe der niedrigen Degenerationsgrade (0-1) sogar höher, als in der Gruppe der höheren Degenerationsgrade (2-3). Man muss jedoch beachten, dass die Werte sehr stark gestreut waren. Im Vergleich der Nervenzahlreduktion mit der Zirkumferenz sah man die Tendenz, dass bei den Tieren, bei denen die zirkumferenzielle Verteilung 2 oder mehr Quadranten betraf, auch die Nervenzahlreduktion höher war.

Die Korrelation zwischen der Eindringtiefe und dem NA-Abfall war nur geringgradig positiv. Ob also eine größere Eindringtiefe auch eine höhere NA-Reduktion bedingt, war nicht deutlich sichtbar.

Es werden noch mehr Studien mit höheren Fallzahlen und mit einer eingehenden histopathologischen Untersuchung und deren Kategorisierung nach dem Vorbild von Sakakura et al. benötigt, um eventuelle Beziehungen zwischen den einzelnen Parametern besser evaluieren zu können [133].

#### **5.3.4. Noradrenalin**

Wie bereits erwähnt war die Messung der Noradrenalinwerte einer der primären Outcome Parameter dieser Arbeit. Seitenvergleichend wurden die Werte miteinander verglichen um einen eventuellen Abfall zu erkennen.

Bei allen Tieren, bei denen die Ethanolinjektion planmäßig durchgeführt wurde, war ein NA-Abfall sichtbar. Im Durchschnitt lag dieser bei -32,64 %. Dies ist etwas geringer als in anderen Studien. So betrug der NA-Abfall bei der perkutanen Ethanol-Sympathikolyse im Schweinemodell von Streitparth et al. bei einer Teilgruppe 53 % [22]. Die cRDN mittels perkutaner Ethanolinjektion im Schafsmodell bei Firouznia et al. konnte einen NA-Abfall von 40 % aufzeigen [156]. Bei der katheterbasierten cRDN mit Ethanol von Fischell et al. wurde je nach Menge des injizierten Ethanols eine 54 - 88%-ige Reduktion des Noradrenalins beobachtet [155]. Alle 3 Studien nutzten die HPLC zur Messung des Noradrenalins. Jedoch verwendeten Fischell et al. und Firouznia et al. einen elektrochemischen Detektor. Streitparth et al. setzten zum einen den elektrochemischen Detektor und zum anderen ein Tandem-Massenspektrometer mit einer Abweichung beider Systeme von 12,5 % ein [149]. Eine Vergleichbarkeit der NA-Reduktion verschiedener Studien ist folglich nur eingeschränkt möglich.

Ein Grund für den geringeren NA-Abfall, könnte die geringere Eindringtiefe sein. Die durchschnittliche Tiefe in der geschädigte Nerven bei der histologischen Auswertung zu finden waren, betrug in dieser Arbeit 2,7 mm. Dies ist vergleichbar mit den gängigen RFA-Kathetern [122, 123]. Sympathische Nervenfasern sind jedoch in bis zu 10 mm Abstand zum Nierenarterienlumen zu finden [28]. In der bereits erwähnten Studie der MRT-gesteuerten perkutanen Sympathikolyse mittels Ethanol konnte eine Eindringtiefe von 7,6 mm erreicht werden [22]. Die Versuchsreihe mit dem 3-Nadel-Katheter (Peregrine™) um Fischell erzielte eine Eindringtiefe von bis zu 8 mm [142]. Das bedeutet es könnten eine höhere Zahl intakter Nervenfaszikel in der Tiefe verblieben sein.

Eine weitere Überlegung ist der Messzeitpunkt des NA-Gehaltes in den Nieren. Studien haben gezeigt, dass 2 bzw. 3 Stunden nach der Intervention noch kein messbarer NA-Abfall stattfindet, obwohl es histologisch darstellbare Nervendegenerationen gibt [22, 157]. In der Studie mit 18 Mäusen von Bello-Reuss et al., in welcher 12 Mäuse einseitig mit 10%-igen Phenol denerviert wurden und 6 Mäuse eine Scheinprozedur mit Kochsalzlösung erhielten, wurde erst 3 - 6 Tage nach der Intervention ein signifikanter NA-Abfall in den behandelten Nieren festgestellt [157]. Eine weitere Untersuchung an 12 Ratten zeigte 3 Tage nach cRDN mittels 10%-igen Phenol einen signifikant größeren NA-Abfall als nach 7 Tagen [158]. Die Autoren erklären dies mit einer einsetzenden Regeneration der Nerven. Ebenso zeigt eine Studie mit 16 adulten Schweinen Abstufungen in der NA-Reduktion. Diese war nach 7 Tagen mit 66 % am größten, nach 14 Tagen lag sie bei 59 % und nach 30 Tagen nur noch bei 46 % [159]. Da in der vorliegenden Arbeit der renale NA-Gehalt nur zu einem Zeitpunkt gemessen wurde, könnte man eventuell größere Unterschiede im NA-Gehalt verpasst haben. Ein möglicher Grund dafür könnte die einsetzende neuronale Regeneration sein.

Auch die nicht ganz optimale Verteilung des Injektats bei Schwein 10 könnte zu einem niedrigeren NA-Abfall (-26 %) geführt haben. Bei diesem Tier wurde die Verteilung nur mit 2 von 3 bewertet. Allerdings war auch die Verteilung bei Schwein 9 mit 2 von 3 nicht ausgezeichnet und trotzdem zeigte sich ein relativ hoher NA-Abfall mit 40 %. Auf der anderen Seite zeigte sich trotz optimaler Verteilung bei allen anderen Tieren auch kein signifikanter NA-Abfall. Es gilt zu beachten, dass zwischen der Injektion und somit dem Erstkontakt des Ethanol und der CT-Aufnahme eine gewisse Zeit vergangen war. Eventuell war der Erstkontakt mit dem Gewebe nicht ideal. Durch die Diffusion des Ethanol in das umliegende Gewebe erscheint die Verteilung auf den CT-Scans gut, jedoch nimmt mit zunehmender Ausbreitung auch die Verdünnung des Injektats zu.

Bei der Fehlinjektion von Tier 3, bei der eine geringe Menge Ethanol intraarteriell appliziert wurde, kam es zu einem starken NA-Abfall von 68 %. Da die behandelte Niere extrem geschrumpft war und so kaum noch physiologisches Nierenparenchym erkennbar war, liegt die Vermutung nahe, dass auch der messbare NA-Gehalt stark abgenommen hat.

Eine Übertragbarkeit auf den Menschen ist aufgrund der verschiedenen Messtechniken differenziert zu sehen. Zu beachten ist, dass in klinischen Studien der NA-Gehalt immer mittels Spillover-Methode gemessen wird, da eine Entnahme der Organe für die HPLC keine Option ist. Krum et al. untersuchten die Machbarkeit der RDN mittels Radiofrequenzablation [15]. In präklinischen Studien mit juvenilen Schweinen konnten sie einen NA-Abfall von > 85 % erzielen. In der klinischen Studie im Menschen zeigte sich hingegen ein NA-Abfall von 47 %. Trotzdem führte die Intervention zu einem Blutdruckabfall von durchschnittlich 22/12 mmHg [15].

### 5.3.5. Limitationen

Bei der Beurteilung der erhobenen Daten und für die Übertragbarkeit auf den humanen Patienten mit refraktärer aHT gibt es einige Limitationen zu beachten.

Als erstes ist die geringe Anzahl der Versuchstiere zu nennen. Insgesamt wurde bei 11 Tieren die Intervention durchgeführt. Ein Tier verstarb perakut an Kreislaufversagen, was nicht in Verbindung mit dem Eingriff zu sehen ist. Bei den 10 verbliebenen Tieren waren die Ergebnisse von 6 optimal verlaufenen Interventionen gut auswertbar. Zu diesen wurden jene Tiere gezählt bei denen das Ethanolgemisch wie geplant transaortal kurz oberhalb der zu behandelnden Nierenarterie injiziert wurde, ohne dass eine Verteilung auch auf der kontralateralen Seite stattfand. Jedoch fallen „Ausreißer“ einzelner Messwerte mehr ins Gewicht, als bei einer größeren Anzahl. Für bessere Rückschlüsse und eventuell signifikante Ergebnisse, wären größere Fallzahlen notwendig. Aus ethischer Sicht versucht man jedoch nur die Zahl der minimal notwendigen Versuchstiere zu nutzen.

Der Zeitpunkt der Euthanasie wurde 4 Wochen post interventionem gewählt. Für eine erste Evaluation der Machbarkeit und Sicherheit ein guter Zeitrahmen. Jedoch haben einige Studien gezeigt, dass der NA-Abfall gegebenenfalls schon zeitiger am größten ist und dann wieder nachlässt [158,159]. So zeigte sich bei Consigny et al., welche im Rattenmodell eine cRDN durch topische Applikation verschiedener Substanzen durchführten, dass die NA-Reduktion nach 3 Tagen größer war als nach 7 Tagen [158]. Heuser et al. führte bei 16 Schweinen eine RDN mittels RFA über das Nierenbecken durch. Der gemessene NA-Abfall lag nach 7 Tagen bei durchschnittlich -66 %, nach 14 Tagen bei -59 % und nach 30 Tagen nur noch bei -46 % [159]. Da in der vorliegenden Arbeit nur ein Zeitpunkt nach der Euthanasie untersucht wurde, kann über den chronologischen Verlauf der NA-Konzentration und einen eventuell größeren NA-Unterschied zu einem zeitigeren Zeitpunkt keine Aussage getroffen werden. Dies gilt auch für die histopathologischen Ergebnisse. Die Frage ob zu einem zeitigeren Zeitpunkt die Nervenschädigungen schwerwiegender waren, kann nicht beantwortet werden. Auch ob ein kompletter Abbau degenerierter Nerven oder eine eventuelle Regeneration von Nervengewebe stattgefunden hat, konnte nicht beurteilt werden. Alle Tiere zeigten, bis auf eine leichte Lahmheit, keine Auffälligkeiten in der 4-wöchigen Standzeit. Ihr Habitus und ihre Futteraufnahme waren gut und auch die CT-Scans am Finalisierungstag waren, bis auf eine Ausnahme, ohne pathologischen Befund. So ist es dennoch nicht möglich, etwas über das Risiko von Langzeitschäden zu sagen. Beispielsweise wurde auch erst innerhalb des mehrjährigen Beobachtungszeitraums der HTN-1 Studie eine neue Nierenarterienstenose diagnostiziert [95].

Ferner ist die Messung der Aktivität sympathischer Nervenfasern schwierig. Als wichtigster Parameter dabei gilt die NA-Konzentration im Nierenparenchym, welche mittels HPLC beidseits vergleichend gemessen wurde. Doch haben Studien gezeigt, dass die NA-Konzentration sehr anfällig für Schwankungen ist. So können, wie unter 5.2.5. erörtert, Schmerzen, Stress oder die Narkosetiefe den NA-Wert deutlich verändern. Außerdem sind die NA-Werte bei jedem Individuum leicht verschieden. Dies macht einen Vergleich verschiedener Tiere miteinander nicht sinnvoll. Eher kann man die Werte seitenvergleichend betrachten. Doch auch da kann es bei gesunden, unbehandelten Tieren zu einem Konzentrationsgefälle der NA-Werte kommen. Dies alles kann teilweise zu Maskierungen von den gemessenen Werten geführt haben.

Als letzte Limitation dieser Arbeit ist der Durchmesser der Aorta zu sehen. Für eine optimale Auslenkung der Katheterspitze, so dass diese im 90°-Winkel an der Aortenwand anliegen kann, ist ein gewisser Platz nötig. Ist die Aorta in ihrem Durchmesser zu klein, wie es bei Schwein 2 der Fall war, kann die Nadelspitze nicht im optimalen Winkel ausgefahren werden. Idealerweise sollte sie plan zur Nierenarterie liegen. Schon eine geringe Abweichung des Winkels, führt zu einem suboptimalen Erstkontakt des Injektats mit dem Zielgewebe. Bei adulten Schweinen, wäre dieses Problem wahrscheinlich nicht vorhanden, jedoch ist ihre Haltung aufwendiger. In einem optimalen Setting hätte man Schleusen mit verschiedenen Kurvenradien und Biegegraden zur Verfügung.

Weiterhin sollte man bedenken, dass es sich bei dem Großteil der Hypertoniepatienten um ältere Menschen handelt, bei denen eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht Kalzifizierungen oder atherosklerotischen Plaques an der Intima der Aorta vor zu finden [160]. Diese könnten die Platzierung des Katheters erschweren und den Durchmesser der Aorta zusätzlich verkleinern oder die Penetration der Nadel durch die Aortenwand erschweren bzw. gar unmöglich machen. Für zukünftige Patienten könnte die Definierung eines Mindestdurchmessers der Aorta abdominalis nötig sein bzw. müssten Mindestanforderungen an einen weiterentwickelten, für die klinische Anwendung optimierten, transaortalen Injektionskatheter gestellt werden.

### 5.3.6. Schlussfolgerung

Die chemische renale Denervation mittels katheterbasierter transaortaler Ethanolinjektion erwies sich im Tierversuch mit einem überschaubaren Kollektiv als technisch machbares und sicher durchführbares Verfahren. Eine NA-Reduktion im Nierenparenchym auf der behandelten Seite konnte bei allen 6 Tieren, bei denen die Intervention technisch optimal verlaufen ist, nachgewiesen werden. Diese war jedoch nicht signifikant. Pathohistologisch konnten entsprechende Nervendegenerationen auf der behandelten Seite vorgefunden werden. Auch bei einem der 3 Tiere, bei denen das Injektat auf die kontralaterale Seite gelaufen ist, konnte eine NA-Reduktion gemessen werden. Jedoch gab es histologisch nachweisbare Degenerationen nur auf der kontralateralen Seite und nicht auf der behandelten. Schwein 3, bei welchem es zur Fehlinjektion in die Nierenarterie gekommen ist, zeigte ebenfalls eine starke NA-Reduktion und degenerierte Nerven auf der behandelten Seite.

Der größte Vorteil des Verfahrens besteht in der Schonung der Nierenarterie. So besteht eine Unabhängigkeit von deren Größe, Verlauf und eventuellen Vorerkrankungen. Auch ist die Anzahl der versorgenden Nierenarterien unerheblich. Ferner ist die Gefahr einer Stenosierung durch Manipulation in der größeren Aorta abdominalis viel kleiner, als in der A. renalis mit geringerem Durchmesser. Es sind weitere präklinische und klinische Studien notwendig um eine Aussage darüber treffen zu können, in wie weit das getestete Kathetersystem und der neue transaortale Zugang eine Alternative zu den bestehenden Verfahren, wie die RDN mittels Radiofrequenzenergie oder die cRDN mittels perkutaner Ethanolapplikation, bilden kann.

### 5.3.7. Ausblick

Die Zahl der Menschen, die an aHT erkranken, wird in den kommenden Jahren steigen und damit auch der Prozentsatz der therapierefraktären Hypertoniker. Da alle Bluthochdruckpatienten ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen wie einen myokardialen Infarkt oder cerebrovaskulär wie einen ischämischen Schlaganfall aufweisen, ist es elementar wichtig, den Blutdruck effektiv und sicher zu senken und die Zielrichtwerte von unter 140/90mmHg zu erreichen. Neben der medikamentösen Therapie ist die renale Denervation mittels minimalinvasiver Technik eine sehr vielversprechende Alternative. Alle bisherigen katheterbasierten Verfahren wirken endoluminal an der A.renalis oder durch Penetration der Nierenarterienwand. Diese Arbeit mit ihren bestehenden Limitationen und potentiellen Komplikationen hat gezeigt, dass eine Applikation von chemischen Stoffen um die Nierenarterie auch durch einen transaortalen Zugang möglich ist. Die katheterbasierte transaortale Applikation von Ethanol um die Nierenarterie hatte einen NA-Abfall und Nervendegenerationen zirkulär um die Nierenarterie zur Folge. Es gilt weitere präklinische und klinische Studien mit größeren Fallzahlen und längeren Beobachtungszeiträumen durchzuführen. Anhand solcher Studien könnte man die Langzeitwirkung und eventuelle Langzeitschäden adäquat evaluieren. Auch ob und wann es zu neuronalen Regenerationen kommt ist noch nicht umfassend bekannt. Die Durchführung vergleichender Studien mit der Zielsetzung, eine Energieform oder eine chemische Substanz mit dem besten Sicherheits-Wirksamkeits-Profil zu finden, ist notwendig. Dies gilt ebenso für die Vergleichbarkeit von katheterbasierten oder nicht-katheterbasierten Verfahren und auch für endovaskuläre oder perkutane Zugänge. Außerdem muss das Preis-Leistungs-Verhältnis mitkalkuliert werden, da die Anzahl der Betroffenen sehr groß ist und es sich um ein globales Gesundheitsproblem handelt. Eventuell ist es nötig, für verschiedene Verfahren gewisse Ein- und Ausschlusskriterien zu definieren, um so die Patientenauswahl zu optimieren. Ist bei bestehenden Vorerkrankungen wie zum Beispiel einer Nierenarterienstenose ein endovaskuläres Katheterverfahren in der Nierenarterie nicht realisierbar, sollte ein transaortaler oder perkutaner Zugang als Alternative gewählt werden. Idealerweise sollte also individuell entschieden werden, welches Verfahren indiziert ist.

Studien sollten auch untersuchen ob die RDN, neben einer effektiven BD-Senkung, eventuell auch einen protektiven bzw. positiven Einfluss auf kardiale Erkrankungen hat, welche ebenfalls mit einer erhöhten Sympathikusaktivität einhergehen.

## 6. Zusammenfassung

Bluthochdruckpatienten haben ein deutlich erhöhtes Risiko einen Schlaganfall oder Herzinfarkt zu erleiden. Aber auch andere Endorgane wie die Nieren oder die Augen können durch den langanhaltend erhöhten Blutdruck schwerwiegende Schäden davon tragen. Seit den 50er Jahren stehen als Therapie sehr potente orale Medikamente zur Verfügung. Jedoch sind bis zu einem Drittel der Menschen mit arterieller Hypertonie therapierefraktär. Für diese Patientengruppe ist es dringend notwendig, dass neue effektive und sichere Therapieansätze entwickelt werden. In den letzten Jahren hat man daher das Konzept der renalen Denervierung wieder entdeckt und mit den neuen minimalinvasiven Techniken weiterentwickelt. Sie basiert auf dem Hintergrundwissen, dass die sympathischen Nervenfasern, welche periarteriell in der Adventitia der Nierenarterie verlaufen, maßgeblich an der Regulation des Blutdrucks beteiligt sind. Diese so zu schädigen, dass sie ihre Funktion verlieren, ist das Ziel der renalen sympathischen Denervation. 2009 schien man mit der Einführung des Symplicity-Katheters dieses Ziel erreicht zu haben. Dieser Katheter wird über einen femoralen Zugang bis in die Nierenarterie vorgeschoben um mittels einer Elektrode punktuell Radiofrequenzenergie an das umliegende Gewebe abzugeben. So werden die dort verlaufenden Nerven durch die Wärmeentwicklung deaktiviert. Die Symplicity HTN-3-Studie, welche erstmals randomisiert und verblindet war, konnte keine überzeugenden Ergebnisse hinsichtlich der Effektivität des Verfahrens liefern. Daher folgten diverse Studien, um neue Methoden zur renalen Denervierung zu erproben. Neben den thermischen Verfahren wie die RFA oder HIFU, ist auch die Verwendung neurotoxischer Substanzen erfolgreich in präklinischen sowie klinischen Studien getestet worden.

Aus anatomischen Gründen sind jedoch nicht alle refraktären Hypertoniker für den Einsatz des Symplicity-Katheters geeignet. Die Nierenarterie muss für diesen Eingriff z. B. eine vorgeschriebene Größe und Länge aufweisen. Zudem sind auch bestimmte Vorerkrankungen der Nierenarterien ein Ausschlusskriterium. Um diese Limitationen der Nierenarterie zu umgehen und den potentiellen zukünftigen Patientenkreis zu erweitern, untersuchten wir in dieser Arbeit einen neuartigen Zugangsweg zur Applikation der neurotoxischen Substanz. Ziel dieser Arbeit war es die Machbarkeit der renalen Denervation mittels katheterbasierter transaortaler Ethanolapplikation im Schweinemodell zu evaluieren. Dafür wurden 11 normotensive Tiere in Allgemeinnarkose behandelt. Über die A. femoralis wurde unter Fluoroskopie ein Katheter mit steuerbarer Spitze und einer experimentellen ein- und ausfahrbaren Injektionsnadel bis in die Aorta vorgeführt. Nach Penetration der Aortenwand knapp oberhalb des Ostium renalis wurde ein Gemisch aus Kontrastmittel, Lokalanästhetikum und Ethanol injiziert. Die unbehandelte Seite diente als Kontrolle. Nach 4 Wochen Standzeit wurden die Tiere euthanasiert und der NA-Gehalt im Nierenparenchym gemessen, sowie die Nierenarterie und ihre umliegenden Strukturen histologisch untersucht. Außerdem wurde der Blutdruck unmittelbar vor und nach der Intervention sowie am Tag der Euthanasie nicht invasiv am narkotisierten Tier gemessen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass das Verfahren bei 10 von 11 Tieren technisch durchführbar war. Ein Tier verstarb aufgrund von Kreislaufversagen in der Aufwachphase, was aber nicht in Verbindung mit der Intervention zu sehen ist. Bei einem anderen Tier kam es infolge einer versehentlichen intraarteriellen Ethanolinjektion zur Thrombosierung und Infarzierung der behandelten Niere. Bei 3 Schweinen ist das Injektat auch auf die kontralaterale Seite geflossen. Betrachtet man die technisch optimal durchgeführten Eingriffe, gab es einen messbaren NA-Abfall auf der behandelten Seite, jedoch war dieser nicht signifikant. Histologisch waren auf der behandelten Seite deutlich degenerierte Nerven nachweisbar. Der Blutdruck hat sich, wie bei einer einseitigen Denervation zu erwarten war, über die Zeit nicht verändert. Es sind weitere Studien nötig, um festzustellen ob die Ethanolinjektion über einen transaortalen Zugang eine Alternative zu der perkutanen oder transarteriellen Applikation darstellen kann.

## 7. Summary

### **Renal denervation by transaortic periarterial ethanol injection: an experimental study in porcines**

Arterial hypertension is a serious world wide health problem. Hypertension is a major risk factor for cardiovascular morbidity and mortality like stroke or heart failure. Furthermore it increases the risk for the progression of chronic kidney disease and vision loss. Life style changes and oral medications are prescribed to lower the blood pressure < 140/90 mmHg. Unfortunately there are estimated 10 - 30 % of patients whose blood pressure is uncontrolled despite taking antihypertensive drugs. Such therapy-resistant hypertension is defined as high blood pressure > 140/90 mmHg in spite of taking 3 or more antihypertensive agents at optimal dose, with at least one being a diuretic. To find a safe and effective therapy for people with resistant hypertension is essential because of the severe consequences of this illness. The concept of renal denervation with minimal invasive techniques seems a viable option since 2009. The background is the knowledge of the sympathetic nervous system and its effect on blood pressure regulation in the body. To destroy the afferent and efferent nerves laying in the adventitial space around the renal arteries is the aim of renal denervation. 2010 the first study of the Simplicity catheter was published and seemed promising. A catheter applies radiofrequency energy to the intima of the renal artery. Multiple ablations lead to severe sympathetic nerve damage and drop of blood pressure. 2014 this system suffered a major set back with publishing the disappointing results of the HTN-3 trial. So scientists were looking for different catheter and non-catheter-based methods to accomplish renal denervation. Next to heat, cold and ultrasound the use of neurotoxic substances seemed promising. Especially ethanol was successfully used in preclinical animal studies.

Using the Simplicity-catheter inside the renal artery has several anatomical limitations like the length and the diameter of the vessel. To bypass these limitations we are using a new access path to inject the ethanol. This might help to broaden the spectrum of future patients. The aim of this study is to evaluate the safety, feasibility and efficacy of endoluminal transaortal ethanol injection to denervate renal sympathetic nerves in a porcine model. 11 normotensive pigs underwent general anesthesia. A 7 F steerable sheath was inserted via the femoral artery and advanced within in the aorta. Then the tip was flexed so it was pointed against the aortal wall just above the origin of the renal artery. An experimental 21 G needle with an extendable and retractable tip punctured the aortic wall and injected the ethanol into the periarterial space of the renal artery. After 4 weeks the pigs were euthanized and the norepinephrine concentration in the renal parenchyma was determined. Furthermore the renal arteries and the surrounding tissue were pathohistologically examined to find potential nerve damage. The blood pressure was measured noninvasively straight before and after the procedure as well as after 4 weeks on the day of euthanasia.

Our findings were that in 10 of 11 pigs the intervention was technical successfully feasible. One pig got a major complication since a little amount of the ethanol got injected into the renal artery. It caused formation of a thrombus and subsequent infarction of the kidney. Pig 4 died of cardiac arrest while waking up from anesthesia not related to the intervention. Within 3 animals the ethanol mixture ran also onto the contralateral side.

Looking at the optimal treated pigs the efficiency was shown by the nerve damage found histologically on the treated side. While the norepinephrine concentration was lower on the treated side, the difference was not significantly. Further preclinical and clinical studies are necessary to discuss whether the transaortic ethanol injection is a reasonable alternative to the percutan or transarterial approach.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018.
2. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, Amann M, Anderson HR, Andrews KG, Aryee M, Atkinson C, Bacchus LJ, Bahalim AN, Balakrishnan K, Balmes J, Barker-Collo S, Baxter A, Bell ML, Blore JD, Blyth F, Bonner C, Borges G, Bourne R, Boussinesq M, Brauer M, Brooks P, Bruce NG, Brunekreef B, Bryan-Hancock C, Bucello C, Buchbinder R, Bull F, Burnett RT, Byers TE, Calabria B, Carapetis J, Carnahan E, Chafe Z, Charlson F, Chen H, Chen JS, Cheng AT, Child JC, Cohen A, Colson KE, Cowie BC, Darby S, Darling S, Davis A, Degenhardt L, Dentener F, Des Jarlais DC, Devries K, Dherani M, Ding EL, Dorsey ER, Driscoll T, Edmond K, Ali SE, Engell RE, Erwin PJ, Fahimi S, Falder G, Farzadfar F, Ferrari A, Finucane MM, Flaxman S, Fowkes FG, Freedman G, Freeman MK, Gakidou E, Ghosh S, Giovannucci E, Gmel G, Graham K, Grainger R, Grant B, Gunnell D, Gutierrez HR, Hall W, Hoek HW, Hogan A, Hosgood HD 3rd, Hoy D, Hu H, Hubbell BJ, Hutchings SJ, Ibeanusi SE, Jacklyn GL, Jasrasaria R, Jonas JB, Kan H, Kanis JA, Kassebaum N, Kawakami N, Khang YH, Khatibzadeh S, Khoo JP, Kok C, Laden F, Lalloo R, Lan Q, Lathlean T, Leasher JL, Leigh J, Li Y, Lin JK, Lipshultz SE, London S, Lozano R, Lu, Y, Mak J, Malekzadeh R, Mallinger L, Marcenes W, March L, Marks R, Martin R, McGale P, McGrath J, Mehta S, Mensah GA, Merriman TR, Micha R, Michaud C, Mishra V, Mohd Hanafiah K, Mokdad AA, Morawska L, Mozaffarian D, Murphy T, Naghavi M, Neal B, Nelson PK, Nolla JM, Norman R, Olives C, Omer SB, Orchard J, Osborne R, Ostro B, Page A, Pandey KD, Parry CD, Passmore E, Patra J, Pearce N, Pelizzari PM, Petzold M, Phillips MR, Pope D, Pope CA 3rd, Powles J, Rao M, Razavi H, Rehfuss EA, Rehm JT, Ritz B, Rivara FP, Roberts T, Robinson C, Rodriguez-Portales JA, Romieu I, Room R, Rosenfeld LC, Roy A, Rushton L, Salomon JA, Sampson U, Sanchez-Riera L, Sanman E, Sapkota A, Seedat S, Shi P, Shield K, Shivakoti R, Singh GM, Sleet DA, Smith E, Smith KR, Stapelberg NJ, Steenland K, Stockl H, Stovner LJ, Straif K, Straney L, Thurston GD, Tran JH, Van Dingenen R, van Donkelaar A, Veerman JL, Vijayakumar L, Weintraub R, Weissman MM, White RA, Whiteford H, Wiersma ST, Wilkinson JD, Williams HC, Williams W, Wilson N, Woolf AD, Yip P, Zielinski JM, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M, AlMazroa MA, Memish ZA.. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2224-60.
3. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A, International Society of H. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* 2008;371:1513-8.
4. 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.
5. Neuhauser H, Kuhnert R, Born S. 12-Monats-Prävalenz von Bluthochdruck in Deutschland. Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung; 2017.
6. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Roccella EJ and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure - The JNC 7 Report. *Jama-J Am Med Assoc* 2003;289:2560-72.

7. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm 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. 2013 ESH/ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *Blood pressure* 2014;23:3-16.
8. Prugger C, Heuschmann PU, Keil U. Epidemiology of hypertension in Germany and worldwide. *Herz* 2006;31:287-93.
9. Saleh A. [Renal denervation. Current developments]. *Der Radiologe* 2013;53:216-22.
10. Schirpenbach C, Reincke M. [Epidemiology and etiology of therapy-resistant hypertension]. *Der Internist* 2009;50:7-16.
11. Fagard RH. Resistant hypertension. *Heart* 2012;98:254-61.
12. Smith PA, Graham LN, Mackintosh AF, Stoker JB, Mary DASG. Relationship between central sympathetic activity and stages of human hypertension. *American journal of hypertension* 2004;17:217-22.
13. Smithwick RH. Surgical treatment of hypertension. *The American journal of medicine* 1948;4:744-59.
14. Newcombe CP, Shucksmith HS, Suffern WS. Sympathectomy for hypertension; follow-up of 212 patients. *Br Med J* 1959;1:142-4.
15. 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.
16. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Bohm M. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:1903-9.
17. 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. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *The New England journal of medicine* 2014;370:1393-401.
18. Prochnau D, Figulla HR, Romeike BFM, Franz M, Schubert H, Bischoff S, Lauten A, Kuehnert H, Surber R. Percutaneous catheter-based cryoablation of the renal artery is effective for sympathetic denervation in a sheep model. *International journal of cardiology* 2011;152:268-70.
19. Mabin T, Sapoval M, Cabane V, Stemmett J, Iyer M. First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2012;8:57-61.
20. Wang QF, Guo R, Rong SK, Yang G, Zhu Q, Jiang YH, Deng CM, Liu DC, Zhou Q, Wu Q, Wang SH, Qian J, Wang Q, Lei H, He TC, Wang ZB, 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.

21. Streitparth F, Walter A, Stolzenburg N, Heckmann L, Breinl J, Rinnenthal JL, Beck A, De Bucourt M, Schnorr J, Bernhardt U, Gebauer B, Hamm B, Gunther RW. MR-guided periarthral ethanol injection for renal sympathetic denervation: a feasibility study in pigs. *Cardiovascular and interventional radiology* 2013;36:791-6.
22. Freyhardt P, Haage P, Walter A, Aufmesser-Freyhardt B, Guenther RW, Streitparth F. Renal Sympathetic Denervation by Image-Guided Percutaneous Ethanol Injection - Histopathologic Characteristics, Efficacy and Safety. *RoFo : Fortschritte auf dem Gebiete der Rontgenstrahlen und der Nuklearmedizin* 2020.
23. Freyhardt P, Donners R, Riemert A, Schnorr J, Stolzenburg N, Rinnenthal JL, Bernhardt U, Hamm B, Gunther RW, Streitparth F. Renal denervation by CT-guided periarthral injection of hyperosmolar saline, vincristine, paclitaxel and guanethidine in a pig model. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2017;12:E2262-E70.
24. Schmidt R, Lang F, Heckmann M: *Physiologie des Menschen*. 31.Auflage. Berlin: Springer Verlag; 2010. Kapitel 26-29.
25. Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S: *Physiologie*. 7. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014. Kapitel 6.
26. Atlas SA. The renin-angiotensin aldosterone system: Pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manage Care Pharm* 2007;13:S9-S20.
27. Brandt MC, Mahfoud F, Bohm M, Hoppe UC. [Renal sympathetic denervation. A novel interventional treatment option for therapy-resistant arterial hypertension]. *Herz* 2011;36:8-11.
28. Tellez A, Rousselle S, Palmieri T, Rate WR 4th, Wicks J, Degrange A, Hyon CM, Gongora CA, Hart R, Grundy W, Kaluza GL, Granada JF. Renal artery nerve distribution and density in the porcine model: biologic implications for the development of radiofrequency ablation therapies. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* 2013;162:381-9.
29. 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.
30. Froeschl M, Hadziomerovic A, Ruzicka M. Renal sympathetic denervation for resistant hypertension. *The Canadian journal of cardiology* 2013;29:636-8.
31. Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 1999;34:724-8.
32. Sobotka PA, Mahfoud F, Schlaich MP, Hoppe UC, Bohm M, Krum H. Sympatho-renal axis in chronic disease. *Clinical Research in Cardiology* 2011;100:1049-57.
33. Goldstein DS. Plasma Catecholamines and Essential Hypertension - an Analytical Review. *Hypertension* 1983;5:86-99.
34. Grassi G. Role of the sympathetic nervous system in human hypertension. *Journal of hypertension* 1998;16:1979-87.
35. Krum H, Sobotka P, Mahfoud F, Bohm M, Esler M, Schlaich M. Device-based antihypertensive therapy: therapeutic modulation of the autonomic nervous system. *Circulation* 2011;123:209-15.

36. Straus SE, Majumdar SR, McAlister FA. New evidence for stroke prevention: scientific review. *JAMA* 2002;288:1388-95.
37. Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, Satterfield S, Hebert P, O'Connor GT, Buring JE, Hennekens CH. The primary prevention of myocardial infarction. *The New England journal of medicine* 1992;326:1406-16.
38. Middeke M: Arterielle Hypertonie: Empfohlen von der Deutschen Hochdruckliga/Deutsche Hypertonie Gesellschaft. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2004. S. 5-6.
39. DiNicolantonio JJ, Fares H, Niazi AK, Chatterjee S, D'Ascenzo F, Cerrato E, Biondi-Zoccai G, Lavie CJ, Bell, DS. beta-Blockers in hypertension, diabetes, heart failure and acute myocardial infarction: a review of the literature. *Open heart* 2015;2:e000230.
40. Lemmer B, Brune K: Pharmakotherapie: Klinische Pharmakologie. 13.Auflage, Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007. S. 199.
41. Gasse C, Hense HW, Stieber J, Doring A, Liese AD, Keil U. Assessing hypertension management in the community: trends of prevalence, detection, treatment, and control of hypertension in the MONICA Project, Augsburg 1984-1995. *Journal of human hypertension* 2001;15:27-36.
42. Neuhauser H, Thamm M, Ellert U. [Blood pressure in Germany 2008-2011: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2013;56:795-801.
43. Bramlage P, Pittrow D, Wittchen HU, et al. Hypertension in overweight and obese primary care patients is highly prevalent and poorly controlled. *American journal of hypertension* 2004;17:904-10.
44. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003;290:199-206.
45. Calhoun DA. Resistant or difficult-to-treat hypertension. *Journal of clinical hypertension* 2006;8:181-6.
46. Basile JN, Bloch MJ. NHANES Data Highlight the Clinical Characteristics of Those With Poorly Controlled Hypertension. *Journal of clinical hypertension* 2012;14:267-8.
47. de la Sierra A, Segura J, Banegas JR, Gorostidi M, de la Cruz JJ, Armario P, Oliveras A, Ruilope LM. Clinical features of 8295 patients with resistant hypertension classified on the basis of ambulatory blood pressure monitoring. *Hypertension* 2011;57:898-902.
48. 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. 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.
49. Isaksson H, Ostergren J. Prognosis in therapy-resistant hypertension. *J Intern Med* 1994;236:643-9.
50. Schmieder RE. End organ damage in hypertension. *Deutsches Arzteblatt international* 2010;107:866-73.
51. Messerli FH, Schmieder RE, Weir MR. Salt. A perpetrator of hypertensive target organ disease? *Arch Intern Med* 1997;157:2449-52.

52. Schmieder RE. The role of non-haemodynamic factors of the genesis of LVH. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2005;20:2610-2.
53. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *Journal of nephrology* 2000;13:205-10.
54. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, Hughes AD, Thurston H, O'Rourke M. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation* 2006;113:1213-25.
55. Schlaich MP, Kaye DM, Lambert E, Sommerville M, Socratous F, Esler MD. Relation between cardiac sympathetic activity and hypertensive left ventricular hypertrophy. *Circulation* 2003;108:560-5.
56. Gradman AH, Alfayoumi F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Progress in cardiovascular diseases* 2006;48:326-41.
57. Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Burnier M, Caulfield MJ, Cifkova R, Clément D, Coca A, Dominiczak A, Erdine S, Fagard R, Farsang C, Grassi G, Haller H, Heagerty A, Kjeldsen SE, Kiowski W, Mallion JM, Manolis A, Narkiewicz K, Nilsson P, Olsen MH, Rahn KH, Redon J, Rodicio J, Ruilope L, Schmieder RE, Struijker-Boudier HA, Van Zwieten PA, Viigimaa M, Zanchetti A. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *Journal of hypertension* 2009;27:2121-58.
58. Gaciong Z, Sinski M, Lewandowski J. Blood pressure control and primary prevention of stroke: summary of the recent clinical trial data and meta-analyses. *Current hypertension reports* 2013;15:559-74.
59. Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, Moran AE, Sacco RL, Anderson L, Truelsen T, O'Donnell M, Venketasubramanian N, Barker-Collo S, Lawes CM, Wang W, Shinohara Y, Witt E, Ezzati M, Naghavi M, Murray C. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2014;383:245-54.
60. Lawes CM, Bennett DA, Feigin VL, Rodgers A. Blood pressure and stroke: an overview of published reviews. *Stroke* 2004;35:1024.
61. Sleight P, Redon J, Verdecchia P, Mancia G, Gao P, Fagard R, Schumacher H, Weber M, Bohm M, Williams B, Pogue J, Koon T, Yusuf S. Prognostic value of blood pressure in patients with high vascular risk in the Ongoing Telmisartan Alone and in combination with Ramipril Global Endpoint Trial study. *Journal of hypertension* 2009;27:1360-9.
62. Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *Lancet* 2007;370:591-603.
63. Eftekhari H, Uretsky S, Messerli FH. Blood pressure, cognitive dysfunction, and dementia. *Journal of the American Society of Hypertension : JASH* 2007;1:135-44.
64. Benesch L, Bjarnason-Wehrens B, Cordes C, Franz IW, 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.

65. The Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group. Effects of weight loss and sodium reduction intervention on blood pressure and hypertension incidence in overweight people with highnormal blood pressure. *Arch Intern Med.* 1997;157:657-667.
66. He J, Whelton PK, Appel LJ, Charleston J, Klag MJ. Long-term effects of weight loss and dietary sodium reduction on incidence of hypertension. *Hypertension* 2000;35:544-9.
67. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, Obarzanek E, Conlin PR, Miller ER 3rd, Simons-Morton DG, Karanja N, Lin PH. for the DASH-Sodium Collaborative Research Group. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N Engl J Med.* 2001;344:3-10.
68. Jung O, Gechter JL, Wunder C, Paulke A, Bartel C, Geiger H, Toennes SW. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis. *Journal of hypertension* 2013;31:766-74.
69. Kelley GA, Kelley KS. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 2000;35:838-43.
70. Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2002;136:493-503.
71. Middeke M. Antihypertensive drug therapy. Where do we stand? *Internist* 2015;56:230-239.
72. Claxton AJ, Cramer J, Pierce C. A systematic review of the associations between dose regimens and medication compliance. *Clinical Therapeutics* 2001;23:1296-310.
73. Holzgreve H. Combination versus monotherapy as initial treatment in hypertension. *Herz* 2003;28:725-32.
74. Holzgreve H. Die Kooperation des Patienten bei der Hochdrucktherapie. *Münch Med Wochenschr* 1980;122:267-70.
75. Lopez-Sendon J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, Tendera M, Waagstein F, Kjekshus J, Lechat P, Torp-Pedersen C. Expert consensus document on angiotensin converting enzyme inhibitors in cardiovascular disease. The Task Force on ACE-inhibitors of the European Society of Cardiology. *European heart journal* 2004;25:1454-70.
76. Hernandez-Hernandez R, Sosa-Canache B, Velasco M, Armas-Hernandez MJ, Armas-Padilla MC, Cammarata R. Angiotensin II receptor antagonists role in arterial hypertension. *Journal of human hypertension* 2002;16 Suppl 1:S93-9.
77. Kulenthiran S, Ewen S, Bohm M, Mahfoud F. Hypertension up to date: SPRINT to SPYRAL. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society* 2017;106:475-84.
78. Masuo K, Lambert GW, Esler MD, Rakugi H, Ogihara T, Schlaich MP. The role of sympathetic nervous activity in renal injury and end-stage renal disease. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* 2010;33:521-8.
79. Barrese V, Taglialatela M. New advances in beta-blocker therapy in heart failure. *Frontiers in physiology* 2013;4:323.

80. McNeely W, Goa KL. Nebivolol in the management of essential hypertension: a review. *Drugs* 1999;57:633-51.
81. Cockcroft J. A review of the safety and efficacy of nebivolol in the mildly hypertensive patient. *Vasc Health Risk Manag* 2007;3:909-17.
82. Spiering W, Van der Heyden J, Kroon AA, van den Meiracker AH, Devireddy C, Foster MT, Ghali MGH, Mendelsohn FO, Reuter H, Bates MC. Controlling and Lowering Blood Pressure with the Mobiushd Device: First-in-Man Interim Results (Calm-Fim Study). *Journal of hypertension* 2016;34:E105-E105.
83. Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Burnier M, Caulfield MJ, Cifkova R, Clément D, Coca A, Dominiczak A, Erdine S, Fagard R, Farsang C, Grassi G, Haller H, Heagerty A, Kjeldsen SE, Kiowski W, Mallion JM, Manolis A, Narkiewicz K, Nilsson P, Olsen MH, Rahn KH, Redon J, Rodicio J, Ruilope L, Schmieder RE, Struijker-Boudier HA, van Zwieten PA, Viigimaa M, Zanchetti A. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *Blood pressure* 2009;18:308-47.
84. Reilly RF, Peixoto AJ, Desir GV. The evidence-based use of thiazide diuretics in hypertension and nephrolithiasis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2010;5:1893-903.
85. Tölle M, Scheurig-Münkler C, van der Giet M. Der ROX-Coupler zur Therapie des therapieresistenten arteriellen Hypertonus. *CardioVasc* 2014;14:46-49.
86. Faul J, Schoors D, Brouwers S, Scott B, Jerrentrup A, Galvin J, Luitjens S, Dolan E. Creation of an iliac arteriovenous shunt lowers blood pressure in chronic obstructive pulmonary disease patients with hypertension. *Journal of vascular surgery* 2014;59:1078-83.
87. Faul JL, Galindo J, Posadas-Valay R, Elizondo-Riojas G, Martinez A, Cooper CB. An arteriovenous fistula increases exercise capacity in patients with copd. *Chest* 2010;138:52-8.
88. Ott C, Lobo MD, Sobotka PA, Mahfoud F, Stanton A, Cockcroft J, Sulke N, Dolan E, van der Giet M, Hoyer J, Furniss SS, Foran JP, Witkowski A, Januszewicz A, Schoors D, Tsioufis K, Rensing BJ, Saxena M, Scott B, Ng GA, Achenbach S, Schmieder RE. Effect of Arteriovenous Anastomosis on Blood Pressure Reduction in Patients With Isolated Systolic Hypertension Compared With Combined Hypertension. *Journal of the American Heart Association* 2016;5:1-8.
89. Lobo MD, Sobotka PA, Stanton A, Cockcroft JR, Sulke N, Dolan E, van der Giet M, Hoyer J, Furniss SS, Foran JP, Witkowski A, Januszewicz A, Schoors D, Tsioufis K, Rensing BJ, Scott B, Ng GA, Ott C, Schmieder RE. Central arteriovenous anastomosis for the treatment of patients with uncontrolled hypertension (the ROX CONTROL HTN study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2015;385:1634-41.
90. Wachter R, Menne J. [Interventional strategies in hypertension management.] *Internist* 2015;56:240-247.
91. 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.

92. 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 rheos pivotal trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2011;58:765-73.
93. Smithwick RH, Thompson JE. Splanchnicectomy for essential hypertension; results in 1,266 cases. *J Am Med Assoc* 1953;152:1501-4.
94. Weil, J. Blutdrucksenkung durch selektive Denervierung der Nierenarterien. *CardioVasc* 2010;10: 53-56.
95. 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.
96. Kandzari DE, Bhatt DL, Sobotka PA, O'Neill WW, Esler M, Flack JM, Katzen BT, Leon MB, Massaro JM, Negoita M, Oparil S, Rocha-Singh K, Straley C, Townsend RR, Bakris G. Catheter-based renal denervation for resistant hypertension: rationale and design of the SYMPLICITY HTN-3 Trial. *Clinical cardiology* 2012;35:528-35
97. 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 SYMPLICITY HTN-3 trial. *European heart journal* 2015;36:219-27.
98. Tsioufis CP, Papademetriou V, Dimitriadis KS, Kasiakogias A, Tsiachris D, Worthley MI, Sinhal AR, Chew DP, Meredith IT, Malaiapan Y, Thomopoulos C, Kallikazaros I, Tousoulis D, Worthley SG. Catheter-based renal denervation for resistant hypertension: Twenty-four month results of the EnligHTN I first-in-human study using a multi-electrode ablation system. *International journal of cardiology* 2015;201:345-50.
99. Cohen-Mazor M, Mathur P, Stanley JR, Mendelsohn FO, Lee H, Baird R, Zani BG, Markham PM, Rocha-Singh K. Evaluation of renal nerve morphological changes and norepinephrine levels following treatment with novel bipolar radiofrequency delivery systems in a porcine model. *Journal of hypertension* 2014;32:1678-91; (discussion 91-2).
100. 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.
101. Medtronic Inc., Perfect Simplicity: Symplicity Spyral™- Multielektroden Katheter zur renalen Denervierung, 2013. [https://www.medtronic.com/content/dam/medtronic-com/de-de/hcp/documents/renale-denervation/symplicity-spyral\\_renale-denervierung\\_produktdroschuere\\_medtronic.pdf](https://www.medtronic.com/content/dam/medtronic-com/de-de/hcp/documents/renale-denervation/symplicity-spyral_renale-denervierung_produktdroschuere_medtronic.pdf) (Zugriff am 11.06.2020 um 14:45 Uhr)

102. Townsend RR, Mahfoud F, Kandzari DE, Kario K, Pocock S, Weber MA, Ewen S, Tsioufis K, Tousoulis D, Sharp ASP, Watkinson AF, Schmieder RE, Schmid A, Choi JW, East C, Walton A, Hopper I, Cohen DL, Wilensky R, Lee DP, Ma A, Devireddy CM, Lea JP, Lurz PC, Fengler K, Davies J, Chapman N, Cohen SA, DeBruin V, Fahy M, Jones DE, Rothman M, Böhm M. Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial. *Lancet* 2017;390:2160-70.
103. Kandzari DE, Bohm M, Mahfoud F, Townsend RR, Weber MA, Pocock S, Tsioufis K, Tousoulis D, Choi JW, East C, Brar S, Cohen SA, Fahy M, Pilcher G, Kario K. Effect of renal denervation on blood pressure in the presence of antihypertensive drugs: 6-month efficacy and safety results from the SPYRAL HTN-ON MED proof-of-concept randomised trial. *Lancet* 2018;391:2346-55.
104. Ji M, Shen L, Wu YZ, et al. Short-term safety and efficiency of cryoablation for renal sympathetic denervation in a swine model. *Chinese medical journal* 2015;128:790-4.
105. Kandzari DE. Renal denervation for hypertension: what is needed, and what is next. *European heart journal* 2019.
106. ReCor Medical Inc., The Radiance HTN Study: A Study of the ReCor Medical Paradise® System in Clinical Hypertension, 2015. [https://www.recormedical.com/wp-content/uploads/sites/10/2016/04/ReCor\\_Clinical-brochure\\_US.pdf](https://www.recormedical.com/wp-content/uploads/sites/10/2016/04/ReCor_Clinical-brochure_US.pdf) (Zugriff am 11.06.2020 um 14:46 Uhr)
107. Azizi M, Schmieder RE, Mahfoud F, Weber MA, Daemen J, Davies J, Basile J, Kirtane AJ, Wang Y, Lobo MD, Saxena M, Feyz L, Rader F, Lurz P, Sayer J, Sapoval M, Levy T, Sanghvi K, Abraham J, Sharp ASP, Fisher ND, Bloch MJ, Reeve-Stoffer H, Coleman L, Mullin C, Mauri L. Endovascular ultrasound renal denervation to treat hypertension (RADIANCE-HTN SOLO): a multicentre, international, single-blind, randomised, sham-controlled trial. *Lancet* 2018;391:2335-45.
108. 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. *Journal of therapeutic ultrasound* 2014;2:12.
109. Neuzil P, Ormiston J, Brinton TJ, et al. Externally Delivered Focused Ultrasound for Renal Denervation. *JACC Cardiovascular interventions* 2016;9:1292-9.
110. Schmieder RE, Ott C, Toennes SW, Bramlage P, Gertner M, Dawood O, Baumgart P, O'Brien B, Dasgupta I, Nickenig G, Ormiston J, Saxena M, Sharp ASP, Sievert H, Spinar J, Starek Z, Weil J, Wenzel U, Witkowski A, Lobo MD. Phase II randomized sham-controlled study of renal denervation for individuals with uncontrolled hypertension - WAVE IV. *Journal of hypertension* 2018;36:680-9.
111. Bunte MC, de Oliveira EI, Shishehbor MH. Endovascular Treatment of Resistant and Uncontrolled Hypertension Therapies on the Horizon. *Jacc-Cardiovasc Inte* 2013;6:1-9.
112. Stefanadis C. Renal denervation in resistant hypertension: radiofrequency ablation and chemical denervation. *Hellenic journal of cardiology : HJC = Hellenike kardiologike epitheorese* 2011;52:481-2.

113. Manning PT, Powers CW, Schmidt RE, Johnson EM, Jr. Guanethidine-induced destruction of peripheral sympathetic neurons occurs by an immune-mediated mechanism. *J Neurosci* 1983;3:714-24.
114. Owens C, Gasper WJ, Seward K, Misra S, Jacobson SB, Jones RM. Percutaneous Peri-Adventitial Guanethidine Delivery Induces Renal Artery Sympathectomy: Preclinical Experience and Implication for Refractory Hypertension. *Journal of vascular surgery* 2011;53:87s.
115. Sharma M, Gupta S, Bennett M, KH S: Practical management of complex cancer pain. 1st ed. Oxford: Oxford University Press; 2014. S. 32.
116. Rowe D. Neurolytic techniques for pain management. *Pain Clin* 1995;8:107–15.
117. 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.
118. Schonherr E, Rehwald R, Nasser P, Luger AK, Grams AE, Kerschbaum J, Rehder P, Petersen J, Glodny B.. Retrospective morphometric study of the suitability of renal arteries for renal denervation according to the Symplicity HTN2 trial criteria. *BMJ Open* 2016;6:e009351.
119. Mauri L, Kario K, Basile J, Daemen J, Davies J, Kirtane AJ, Mahfoud F, Schmieder RE, Weber M, Nanto S, Azizi M. A multinational clinical approach to assessing the effectiveness of catheter-based ultrasound renal denervation: The RADIANCE-HTN and REQUIRE clinical study designs. *American heart journal* 2018;195:115-29.
120. Kandzari DE, Kario K, Mahfoud F, Cohen SA, Pilcher G, Pocock S, Townsend R, Weber MA, Bohm M. The SPYRAL HTN Global Clinical Trial Program: Rationale and design for studies of renal denervation in the absence (SPYRAL HTN OFF-MED) and presence (SPYRAL HTN ON-MED) of antihypertensive medications. *American heart journal* 2016;171:82-91.
121. Pathak A, Coleman L, Roth A, Stanley J, Bailey L, Markham P, Ewen S, Morel C, Despas F, Honton B, Senard JM, Fajadet J, Mahfoud F. Renal sympathetic nerve denervation using intraluminal ultrasound within a cooling balloon preserves the arterial wall and reduces sympathetic nerve activity. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2015;11:477-84.
122. Al Raisi SI, Pouliopoulos J, Barry MT, Swinnen J, Thiagalingam A, Thomas SP, Sivagangabalan G, Chow C, Chong J, Kizana E, Kovoor P. Evaluation of lesion and thermodynamic characteristics of Symplicity and EnligHTN renal denervation systems in a phantom renal artery model. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology* 2014;10:277-84.
123. Al Raisi SI, Barry MT, Qian P, Bhaskaran A, Pouliopoulos J, Kovoor 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.
124. Bauch HJ, Kelsch U, Hauss WH. A Rapid, Selective and Quantitative-Determination of Epinephrine and Norepinephrine from Plasma Using Solvent-Extraction Combined with Hplc-Separation and Electrochemical Detection. *J Clin Chem Clin Bio* 1986;24:651-8.

125. King DF, King LA. A brief historical note on staining by hematoxylin and eosin. *Am J Dermatopathol* 1986;8:168.
126. Chan JK. The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *Int J Surg Pathol* 2014;22:12-32.
127. Carson FL, Cappellano CH: *Histotechnology: a self-instructional text*. 4th Edition. Chicago: ASCP; 1990. S.140-141.
128. Hoffman PN, Lasek RJ. The slow component of axonal transport. Identification of major structural polypeptides of the axon and their generality among mammalian neurons. *J Cell Biol* 1975;66:351-66.
129. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965;19:739-44.
130. Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, Geczy CL. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med* 2013;13:24-57.
131. Mata M, Alessi D, Fink DJ. S100 is preferentially distributed in myelin-forming Schwann cells. *J Neurocytol* 1990;19:432-42.
132. Universität Zürich,  
[https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse\\_spss/zusammenhaenge/rangkorrelation.html](https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss/zusammenhaenge/rangkorrelation.html) (Zugriff am 11.06.2020 um 14:47 Uhr)
133. 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.
134. Hannon JP, Bossone CA, Wade CE. Normal Physiological Values for Conscious Pigs Used in Biomedical-Research. *Lab Anim Sci* 1990;40:293-8.
135. Oberhuber A, Vonend O, Radermacher J, Rump LC, Richter GM, Nitzsche EU, Hupp T. Leitlinie - S2K Erkrankungen der Nierenarterie 004-008. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/004-008l\\_S2k\\_Erkrankungen-der-Nierenarterien\\_2020-01\\_01.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/004-008l_S2k_Erkrankungen-der-Nierenarterien_2020-01_01.pdf) (Zugriff am 11.06.2020 14:48 Uhr)
136. 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.
137. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S: *Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier*. 2. Auflage. Stuttgart: Schattauer Verlagsgesellschaft; 2011. S. 94-95.
138. Coetzee A, Fourie P, Coetzee J, Badenhorst E, Rebel A, Bolliger C, Uebel R, Wium C, Lombard C. Effect of various propofol plasma concentrations on regional myocardial contractility and left ventricular afterload. *Anesth Analg* 1989;69:473-83.
139. Fruen BR, Mickelson JR, Roghair TJ, Litterer LA, Louis CF. Effects of propofol on Ca<sup>2+</sup> regulation by malignant hyperthermia-susceptible muscle membranes. *Anesthesiology* 1995;82:1274-82.
140. Freye, E: *Opioide in der Medizin*. 2. Auflage. Berlin: Springer Verlag; 1991. S. 37-40 + 110-111.

141. 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. *Cardiovascular and interventional radiology* 2016;39:251-60.
142. 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;36:2219–27.
143. Oscor Inc., <http://www.oscor.com/wp-content/uploads/2015/10/DESTINO-TWIST-Uni-Directional-Deflectable-Guiding-Sheath.pdf> (Zugriff am 11.06.2020 um 14:50 Uhr)
144. Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, Anderson W, Lambert G. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* 1988;11:3-20.
145. Burgi K, Cavalleri MT, Alves AS, Britto LRG, Antunes VR, Michelini LC. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity: simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats. *Am J Physiol-Reg I* 2011;300:R264-R71.
146. Lawrentschuk N, Trottier G, Mayo K, Rendon RA. Effects of partial nephrectomy on postoperative blood pressure. *Korean J Urol* 2012;53:154-8.
147. Fleck C, Braunlich H. Kidney function after unilateral nephrectomy. *Exp Pathol* 1984;25:3-18.
148. Clevert DA, Horng A, Reiser MF. [Ultrasound imaging of the abdominal aorta]. *Der Radiologe* 2009;49:1024-32.
149. Walter, A (2014): MRT-gesteuerte periarterielle Alkohol-Injektion zur renalen Sympathikusdenervierung - Machbarkeitsstudie im Schweinemodell, Charité - Universitätsmedizin Berlin, unv. Diss.
150. Ruhl B. [Weight, fibre thickness and number of nuclei in the heart muscle and their relation to body weight and skeletal muscle weight in 205-day-old pigs of five breeds]. *Zentralbl Veterinarmed A* 1971;18:151-73.
151. Baumgärtner W, Gruber AD: *Spezielle Pathologie für die Tiermedizin*. Stuttgart: Enke bei Thieme; 2015. S. 209.
152. 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. *Circulation Cardiovascular interventions* 2015;8:e001813.
153. Al Raisi SI, Pouliopoulos J, Barry MT, Qian P, Thiagalingam A, Swinnen J, Kovoor P. Renal Artery Branch Denervation: Evaluation of Lesion Characteristics Using a Thermochromic Liquid Crystal Phantom Model. *Heart Lung Circ* 2019.
154. 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.

155. 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.
156. Firouznia K, Hosseininasab 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. *Cardiovascular and interventional radiology* 2015;38:977-84.
157. Bello-Reuss E, Colindres RE, Pastoriza-Munoz E, Mueller RA, Gottschalk CW. Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. *J Clin Invest* 1975;56:208-17.
158. Consigny PM, Davalian D, Donn R, Hu J, Rieser M, Stolarik D. Chemical Renal Denervation in the Rat. *Cardiovascular and interventional radiology* 2014;37:218-23.
159. 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.
160. Gunenc Beser C, Karcaaltincaba M, Celik HH, Basar R. The prevalence and distribution of the atherosclerotic plaques in the abdominal aorta and its branches. *Folia Morphol (Warsz)* 2016;75:364-75.



## Anhang

**Tabelle 10:** Erhobene Daten der Tiere, bei denen die Intervention technisch nicht wie geplant verlaufen ist. () - Werte der kontralateralen Seite

Tier-nummer	NA-Konzentration behandelte Seite in ng/g	NA-Konzentration kontralaterale Seite in ng/g	NA-Differenz in %	Injektat-distribution	Nerven-anzahl behandelte Seite	Nerven-anzahl kontralaterale Seite	Grad der max. Degeneration	Eindring-tiefe behandelte Seite in mm	Anzahl der Quadranten mit geschädigten Nerven	BD prä interventionem in mmHg	BD post interventionem in mmHg	BD final in mmHg
1	640,5	513	19,91	3 (2-3)	22	30	2 (2)	1,8	2 (1)	85/33	69/24	100/47
2	654	423	35,32	2 (2)	27	17	3 (1)	1,7	3 (2)	94/38	104/47	96/46
3	75,9	235,5	-67,77	3	31	31	3	3,4	3	94/24	75/52	104/21
4	X	X	X	3	X	X	X	X	X	76/33	97/39	X
11	504	678	-25,68	3 (1)	26	61	0 (3)	1,3	1 (1)	103/39	135/32	87/38

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Vereinfachte Darstellung der Blutdruckregulation durch das RAAS. „+ / ↑“ bedeutet Zunahme und „- / ↓“ Abnahme, BD - Blutdruck, ACE - Angiotensin converting enzyme, NNR - Nebennierenrinde, H<sub>2</sub>O - Wasser, BV - Blutvolumen, TPW - Totaler peripherer Widerstand. Die unterstrichenen Größen und tw. deren Rezeptoren stellen Angriffspunkte für Antihypertensiva dar.....4
- Abbildung 2:** Darstellung der renalen afferenten und efferenten Nervenfasern. Modifiziert nach [30].....5
- Abbildung 3:** Physiologische und pathophysiologische Wirkungen der renalen Afferenzen und Efferenzen auf die Nieren, das ZNS, das Gefäßsystem und das Herz. LVH - linksventrikuläre Hypertonie. Modifiziert nach [35].....5
- Abbildung 4:** Behandlungsstrategien bei therapierefraktärer arterieller Hypertonie nach [48].....8
- Abbildung 5:** Mögliche Kombinationen der antihypertensiven Wirkstoffe. Grün durchgezogen: bevorzugte Kombinationen; Grün gestrichelt: sinnvolle Kombination; schwarz gestrichelt: mögliche, aber weniger gut untersuchte Kombinationen; rot durchgezogen: nicht empfohlene Kombination (nach [7]).....10
- Abbildung 6:** Schema über die verschiedenen Verfahren der renalen Denervation. RFA - Radiofrequenzablation; NaCl - Natriumchlorid; HIFU - Hochintensiver fokussierter Ultraschall.....14
- Abbildung 7:** Vergleichende Darstellung der systolischen Blutdrucksenkung bei der 24-Stunden-Messung in unterschiedlichen RDN-Studien. Modifiziert nach [105]. HTN-1 bis HTN-3 wurden mit dem Symplicity™- Katheter, Symplicity Off Med mit dem Symplicity Spyral™ - Katheter und die Radiance Studie mit dem Paradise™ - Katheter durchgeführt.....17
- Abbildung 8:** Haltung der Versuchstiere in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK.....22
- Abbildung 9:** Fertig vorbereitetes Tier kurz vor der Intervention, 1 - Ultraschallgerät; 2 - Perfusor mit Propofol; 3 - Perfusor mit Fentanyl; 4 - Sauerstoffzufuhr über einen Plastikbecher; 5 - Venenverweilkanüle mit 3-Wege-Hähnen; 6 - Blutdruckmessegerät; 7 - Bildschirm des CTs; 8 - steril vorbereitete Punktionsstelle.....23
- Abbildung 10:** Die 3 Schritte der transaortalen periarteriellen Ethanol-Sympathikolyse zur renalen Denervation mittels endovaskulärem Injektionskatheter. 1: Vorführen des steuerbaren Katheters in der Aorta über die A. femoralis kommend bis zur Abzweigung der A. renalis. 2: Abbiegen der Spitze des Katheters bis sie im 90°-Winkel, kurz oberhalb des Ostium renalis, an der Gefäßwand anliegt. 3: Einführen der Injektionsnadel und Ausfahren der Spitze aus dem Führungskatheter, um die Wand der Aorta kurz oberhalb der A. renalis zu punktieren. Nach erfolgreicher Testinjektion zur Sicherstellung der korrekten extravasalen Position der Nadel, erfolgt die Ethanolinjektion.....24
- Abbildung 11:** Die experimentelle 21 G Nadel mit ausgefahrener Spitze in dem weichen, schwarzen 5 F Berenstein-Katheter.....25
- Abbildung 12:** Schwein 11 während der Intervention. 1 - C-Bogen; 2 - Monitor zur Darstellung der Angiogramme; 3 - Operateur; 4 - Instrumententisch.....26

- Abbildung 13:** Angiogramme der Intervention. **A** - Einführen des steuerbaren Führungskatheters in die Aorta abdominalis in gerader Position bei Schwein 1. **B** - Anwinkeln der Spitze des Führungskatheters und Positionierung der Spitze gegen die Wand der Aorta kurz oberhalb des Ostiums der A. renalis (schwarzer Pfeil). Die gewünschte Deflektion des Katheters und Ausrichtung der Nadel ist bei diesem Tier (Schwein 2) suboptimal auf Grund des zu geringen Durchmessers der Aorta. **C** - Optimale Position des Führungskatheters im 90° Winkel zur Aortenwand kurz oberhalb der Abzweigung der Nierenarterie (schwarzer Pfeil) bei Schwein 5, mit eingeführter Punktionsnadel, aber nicht ausgefahrener Spitze. **D** - wie Bild C, aber mit ausgefahrener Spitze, welche die Wand der Aorta abdominalis penetriert (schwarzer Pfeil). **E** - Verteilung des Ethanol-Kontrastmittel-Gemischs um die Nadelspitze (schwarzer Pfeil).....26
- Abbildung 14:** Postinterventionelles Cone-Beam-CT, transversal, Schwein 10. Roter Pfeil: Verteilung des Ethanol-Kontrastmittel-Gemischs entlang der rechten A. renalis. RN - rechte Niere; LN - linke Niere; LWS - Lendenwirbelsäule.....27
- Abbildung 15:** Eröffnung der Bauchhöhle zur makroskopischen Beurteilung und Entnahme der Zielstrukturen. Roter Pfeil- Schnittführung entlang der Linea alba; blauer Pfeil - Colon; grüner Pfeil - linksseitiger Entlastungsschnitt.....29
- Abbildung 16:** 1 - Arbeitsstation; 2 - Kühlplatte; 3 - Histologiekassetten mit Gewebestücken; 4 - Gusschalen; 5 - fertige Paraffinblöcke in Gießformen zum Aushärten.....31
- Abbildung 17:** Postinterventionelles CT-Bild, coronar, Schwein 7. Score 3. Roter Pfeil: Verteilung des Injektats um rechte Nierenarterie (grüne Linie); RN - rechte Niere; LN - linke Niere; blaue Pfeile – Rippen.....36
- Abbildung 18:** Die gut verheilte Punktionsstelle im rechten Inguinalbereich von Schwein 1 (roter Pfeil).....39
- Abbildung 19:** Darstellung der beiden entnommenen Nieren von Schwein 3 mit den angrenzenden Zielstrukturen. Die linke Niere ist stark atrophiert, wohingegen die rechte Niere ohne besonderen Befund ist. **A** - Aorta; **NA** - Nierenarterie; **U** - Ureter; **F** – Fibrose...40
- Abbildung 20:** Vergleich der linken, atrophierten Niere mit der kontralateralen Seite von Schwein 3 nach einem Sagittalschnitt. **F** – Fibrose.....40
- Abbildung 21:** Beide Nieren von Schwein 6 inklusive den angrenzenden Zielstrukturen. Beide Nieren sind von physiologischer Form und Farbe. Ebenso die Ureteren (**U**). Auffällig ist das fibrotische Gewebe um die linke, behandelte Nierenarterie (**scharzer Pfeil**). Die rechte Nierenarterie (**NA**) ist ohne besonderen Befund.....41
- Abbildung 22:** Blick auf die Intima der längs aufgeschnittenen Aorta von Schwein 6. Auffällig ist eine bräunliche Verfärbung (**schwarzer Pfeil**) cranial des Ostium renalis (**O**). **A** - Aorta; **N** - linke Niere.....41
- Abbildung 23:** Fibrosierungen cranial am Nierenpol der rechten Niere von Schwein 11 (**roter Pfeil**). **N** - rechte Niere; **B** - Vesica urinaria; **G** - A. und V. renalis.....42
- Abbildung 24:** A.renalis mit einem gesunden, in der Peripherie liegenden Nervenfaszikel (**roter Pfeil**). Schwein 1, rechte Seite, 5-fache Vergrößerung, EvG-Färbung.....44
- Abbildung 25:** Degenerationsgrad 0 = gesunde Nerven; **En** - physiologische Axone mit Endoneurium, **P** - Perineurium; Schwein 3: linke Nierenarterie, 5-fache Vergrößerung, EvG-Färbung.....45

<b>Abbildung 26:</b> Degenerationsgrad 1 = ggr. Schädigung, <b>P</b> - ggr. Perineurofibrose, <b>roter Pfeil</b> - minimale Endoneurofibrose, Schwein 5, linke Nierenarterie, 20-fache Vergrößerung, EvG-Färbung.....	45
<b>Abbildung 27:</b> Degenerationsgrad 2 = moderate Schädigung, <b>En</b> - deutliche Endoneurofibrose, <b>BG</b> - Bindegewebe, Schwein 10, rechte NA, 20-fache Vergrößerung, EvG-Färbung.....	46
<b>Abbildung 28:</b> Degenerationsgrad 2 - Mineralisierung eines Nervenfaszikels. Schwein 2, linke Nierenarterie, 10-fache Vergrößerung. <b>A</b> - HE-Färbung: <b>N</b> - Nervenfaszikel, <b>P</b> - Perineurium, Mineralisation ( <b>roter Pfeil</b> ); <b>B</b> - Evg-Färbung: <b>N</b> - Nervenfaszikel, <b>P</b> - Perineurium, Mineralisation ( <b>roter Pfeil</b> ).....	47
<b>Abbildung 29:</b> Degenerationsgrad 3 = schwere Schädigung. Schwein 10, rechte Nierenarterie, 10-fache Vergrößerung, EvG-Färbung. <b>En</b> - hgr. Endoneurofibrose; <b>P</b> - hgr. Perineurofibrose.....	47
<b>Abbildung 30:</b> Schwein 10, rechte Nierenarterie, Degenerationsgrad 3 <b>A:</b> NF-Färbung, 10-fache Vergrößerung, <b>N</b> - Nervenfaszikel. <b>B:</b> S-100-Färbung, 10-fache Vergrößerung, <b>N</b> – Nervenfaszikel.....	48
<b>Abbildung 31:</b> Schwein 1, linke Nierenarterie, Degenerationsgrad 2. <b>A:</b> NF-Färbung, 20-fache Vergrößerung, <b>N</b> - Nervenfaszikel. <b>B:</b> S-100-Färbung, 10-fache Vergrößerung, <b>N</b> – Nervenfaszikel.....	49
<b>Abbildung 32:</b> Schwein 3, linke Nierenarterie, Degenerationsgrad 1. <b>A:</b> NF-Färbung, 20-fache Vergrößerung, <b>N</b> - Nervenfaszikel, <b>P</b> - Perineurium <b>B:</b> S-100-Färbung, 20-fache Vergrößerung, <b>N</b> - Nervenfaszikel, <b>P</b> – Perineurium.....	49
<b>Abbildung 33:</b> Nierenarterie inklusive des umgebenden Bindegewebes mit Nerven ( <b>X</b> ) des Plexus renalis von Schwein 11, rechte Nierenarterie, EvG-Färbung. Einteilung in 4 gleich große Quadranten (1 - 4). Den Mittelpunkt bildet die Mitte des Lumen der Nierenarterie ( <b>NA</b> ). Keine Schädigung der Nerven sichtbar (0 % Verteilung).....	50
<b>Abbildung 34:</b> Übersichtsdarstellung der linken, behandelten Nierenarterie von Schwein 1, EvG-Färbung. Einteilung in 4 Quadranten. Geschädigte Nerven sind in Quadrant 1 und 2 vorhanden. Bei diesen wurde der Abstand zum Lumen der Nierenarterie gemessen ( <b>rote Pfeile</b> ). Pfeil <b>B</b> hat die größte Entfernung.....	53
<b>Abbildung 35:</b> NA-Reduktion in % und Degenerationsgrad nach Kategorie.....	54
<b>Abbildung 36:</b> NA-Reduktion in % und die Zirkumferenz nach Kategorien.....	55
<b>Abbildung 37:</b> Differenz der Nervenanzahl und die Degenerationsgrade nach Kategorie...55	55
<b>Abbildung 38:</b> Differenz der Nervenanzahl und die Zirkumferenz nach Kategorie.....56	56
<b>Abbildung 39:</b> Korrelation zwischen der Eindringtiefe in mm und der Noradrenalin (NA)-Reduktion in %.....	57

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Kategorisierung und Definition von Blutdruckmesswerten (in mmHg) nach [7]. Die Gruppe wird bestimmt von dem jeweils höheren diastolischen oder systolischen Wert.....	6
<b>Tabelle 2:</b> Bewertung der Injektatverteilung auf der behandelten Seite von 1 - 3 für jedes Tier; Score 3 = optimale Verteilung, Score 2 = gute Verteilung, Score 1 = unzureichende Verteilung; ( ) - Scorewert der kontralateralen Seite.....	35
<b>Tabelle 3:</b> Blutdruckwerte als arithmetisches Mittel für jedes Tier vor und nach der Intervention, sowie am Tag der Euthanasie.....	37
<b>Tabelle 4:</b> NoardrenalinKonzentrationen (in ng/g) der behandelten und unbehandelten Niere sowie der prozentuale Unterschied zwischen den beiden Werten pro Tier. NA = Noradrenalin.....	38
<b>Tabelle 5:</b> Einteilung der neuronalen Schäden in verschiedene Grade und deren Definition.....	43
<b>Tabelle 6:</b> Übersicht der maximalen Degenerationsgrade der Nerven pro Tier und pro Seite.....	49
<b>Tabelle 7:</b> Zirkumferentielle Verteilung in % pro Tier und pro Seite.....	51
<b>Tabelle 8:</b> Übersicht der Nervenanzahl pro Nierenarterie und pro Tier, sowie die Angabe der Differenz zwischen den beiden Seiten.....	52
<b>Tabelle 9:</b> Übersicht der maximalen Entfernung geschädigter Nerven zum Lumen der Nierenarterie pro Tier.....	53
<b>Tabelle 10:</b> Erhobene Daten der Tiere, bei denen die Intervention technisch nicht wie geplant verlaufen ist. ( ) - Werte der kontralateralen Seite.....	VII

## Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Florian Streitparth bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, an einem so aktuellen und wichtigen Thema wie der renalen Denervation zu forschen und in diesem Rahmen meine Doktorarbeit zu verfassen. Ebenfalls gilt mein großer Dank Herrn Prof. Dr. med. vet. Karl Heinz Lahrmann als Betreuer vom Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. med. Patrick Freyhardt danken, der mir bei den Vor- und Nachbereitungen der Intervention und auch mit seinem Fachwissen sehr geholfen hat.

Mein Dank gilt auch dem gesamten Team der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, CVK, Berlin, welche sich immer optimal um die Bestellung, Fütterung, Unterbringung, Beschäftigung und wenn nötig auch Behandlung der Tiere gekümmert hat. Auch bei den Arbeiten im Labor des Institutes für Radiologie des Virchow Klinikums, Charité, Berlin möchte ich für die Nutzung der Geräte und für die Hilfe bei Problemen danken. Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Dr. Ing. Ulrich Bernhardt und dem Labor AnaKat Institut für Biotechnologie GmbH, Berlin, für die Bestimmung der Noradrenalinwerte.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meinen Vorgängern Frau Dr. med. vet. Alexandra Riemert und Herrn Dr. med. Ricardo Donners für die gute Einarbeitung in die Arbeitsabläufe und für ihre Tipps beim Umgang mit den Tieren.

Mein herzlicher Dank für die fachliche Unterstützung bei der Auswertung der vielen histologischen Präparate, auch weit nach Feierabend, gilt Herrn Dr. med. Jan Leo Rinnenthal vom Institut für Neuropathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte .

Ich danke auch der Firma Oscor für die Bereitstellung des Injektionskatheters Destino™ Twist.

Ein großer Dank geht auch an meine Freunde, die mich in dieser Zeit unterstützt haben und verständnisvoll meine Abwesenheit bei manchen Treffen zur Kenntnis genommen haben.

Vor allem aber gilt mein größter Dank meinem geliebten Ehemann Thomas Scholz, meinen Eltern und meiner Schwester und ihrem Partner für ihre Liebe und Geduld und dafür, dass sie mich die ganze Zeit unterstützt, mich aufgemuntert, mich motiviert und mir immer zur Seite gestanden haben. Danke, dass ihr an mich geglaubt habt!

## **Publikationen**

Freyhardt P, Schutze J, Donners R, et al. Renal Denervation by Transaortic Periarterial Ethanol Injection: An Experimental Study in Porcines. Cardiovascular and interventional radiology 2018.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Josephin Scholz

Neuenhagen, den 04.12.2020









9 783967 290981

**mbv**berlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-098-1