

Aus dem Institut für experimentelle Radiologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin und
der Klinik für Pferde des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**MAGNETRESONANZ GESTEUERTER HOCHINTENSIVER FOKUSSierter
ULTRASCHALL ZUR RENALEN DENERVATION IM SCHWEINEMODELL**

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

vorgelegt von
Lilian Suppan, geb. Heckmann

Tierärztin
aus Heidelberg

Berlin 2014
Journal-Nr.: 3722

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.- Prof. Dr. Johannes Handler
Zweiter Gutachter: PD Dr. Florian Streitparth
Dritter Gutachter: Univ.- Prof. Dr. Robert Klopffleisch

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs, animal models, hypertension, ultrasound, magnetic resonance imaging,
ultrasonics

Tag der Promotion: 14.11.2014

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86387-550-3

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2014

Dissertation, Freie Universität Berlin

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 2014

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meinen Zwilling

*Il semble que la perfection soit atteinte non quand il n'y a plus rien à ajouter, mais quand il n'y a plus rien à retrancher
(Antoine de Saint-Exupéry)*

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	iii
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Hypertonie	2
2.1.1 Essentielle Hypertonie	2
2.1.2 Therapieresistente Hypertonie	2
2.1.3 Renale Sympathikusaktivierung und RAAS	3
2.1.4 Auswirkungen der Hypertonie auf den Gesamtorganismus	3
2.2 Behandlungsformen bei Hypertonie	4
2.2.1 Änderungen der Lebensweise	5
2.2.2 Pharmakotherapie	5
2.2.3 Renale sympathische Denervation	6
2.3 Hochintensiver fokussierter Ultraschall	12
2.3.1 Effekte des HIFUS	12
2.3.2 HIFUS und MR Thermometrie	13
2.3.3 Anwendungsgebiete des HIFUS	13
3 Material und Methoden	18
3.1 Versuchstiere	18
3.2 Tierhaltung	18
3.3 Narkose und Tierpräparation	18
3.4 MRg HIFUS Intervention	19
3.4.1 Aufbau des HIFUS	19
3.4.2 Funktionsweise des HIFUS	20
3.4.3 Tierpositionierung im MRT	21
3.4.4 MRT Therapieplanung	21
3.4.5 HIFUS Anwendung	22
3.4.6 Kontrollaufnahmen post HIFUS	25
3.4.7 MRT Verlaufskontrolle	25
3.5 Finalisierung	26
3.5.1 Organentnahme	26
3.5.2 Nierenhomogenisierung	27
3.5.3 Noradrenalinwertbestimmung	27
3.6 Makroskopie	28
3.7 Histologische Untersuchung	28
3.7.1 Bestückung der Histologiekassetten	28
3.7.2 Einbettung der Gewebestücke	28
3.7.3 Ausgießen der Präparate	29
3.7.4 Zuschneiden der Präparate	29
3.7.5 Histologische Färbungen	29
3.8 Blutdruckmessungen	30
4 Ergebnisse	31
4.1 Allgemeine Daten	31
4.1.1 Technische Durchführbarkeit	31
4.1.2 Sicherheit	31
4.2 Technischer Erfolg - MRT Visualisierung HIFUS-bedingter Veränderungen	31
4.3 MR Angiographie	38

4.4	Makroskopische Auswertung	39
4.5	Histologische Auswertung	41
4.6	Noradrenalinwerte	51
4.7	Blutdruckwerte	52
5	Diskussion	54
5.1	Das Schweinmodell	54
5.1.1	Ultraschallverzerrung durch anatomische Besonderheiten im Schweinmodell	54
5.1.2	Auswirkungen des begrenzten Schallfensters	55
5.1.3	Temperaturüberwachung während der HIFUS Anwendung	56
5.1.4	Sicherheit	56
5.2	Therapieerfolg des MRg HIFUS zur renalen Denervation	56
5.2.1	NoradrenalinKonzentrationen	56
5.2.2	Histologische Auswertung	57
5.2.3	Blutdruckwerte	57
5.3	Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen	58
5.4	Schlussfolgerung	58
6	Zusammenfassung	59
7	Summary	60
8	Literaturverzeichnis	61
9	Tabellenverzeichnis	65
10	Abbildungsverzeichnis	66
11	Publikationen	69

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent	TE	Echozeit
°C	Grad Celsius	TR	Pulswiederholzeit
ACE	Angiotensin converting Enzym	V	Volt
Ag	Silber		
AMP	Adenosinmonophosphat		
ATP	Adenosintriphosphat		
°C	Grad Celsius		
Ca	Kalzium		
ca.	circa		
Cl	Chlorid		
cm	Zentimeter		
CT	Computertomograph		
d	Tag		
DMSO	Dimethylsulfoxid		
DNA	Desoxyribonukleinsäure		
EDTA	Ethylendiamin Tetraessigsäure		
EvG	Elastika van Gieson		
FOV	Field of view		
FSE	fast spin echo		
GRE	Gradient- recalled- echosequenz		
HE	Hämatoxylin Eosin		
HIFUS	hochintensiver fokussierter Ultra- schall		
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromato- graphie		
i.v.	intravenös		
L	Liter		
M	Mol		
min	Minuten		
mind.	Mindestens		
MIP	Maximum Intensity Projection		
ml	Milliliter		
mm	Millimeter		
mmol	Millimol		
µm	Mikrometer		
µl	Mikroliter		
mmHg	mm Quecksilbersäule		
MRg HIFUS	Magnetresonanz gesteuerter hochintensiver fokussierter Ultraschall		
MRT	Magnetresonanz Tomograph		
NA	Noradrenalin		
Na ⁺	Natrium		
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration		
PRF	Protonenresonanzfrequenz		
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron Sys- tem		
RFA	Radiofrequenzablation		
sec	Sekunden		
T2w	T2 gewichtet		

1 Einleitung

Bluthochdruck ist ein globales und wachsendes Gesundheitsproblem. Etwa 972 Millionen Menschen waren im Jahre 2000 weltweit an Hypertonie erkrankt. Aufgrund der steigenden Prävalenz wird erwartet, dass die Anzahl an Hypertonie erkrankter Patienten um bis zu 60%, auf 1,56 Milliarden Menschen im Jahre 2025 ansteigen wird [1]. Die direkten Kosten für das deutsche Gesundheitssystem beliefen sich 2006 auf 35,2 Mrd Euro, was in etwa 15,7% der Gesamtausgaben entsprach [2].

Eine effektive Therapie einer essentiellen Hypertonie ist äußerst wichtig, da sie ätiologisch mit erheblichen Endorganschäden wie Kardiomyopathien, Myokardinfarkten, chronischer Niereninsuffizienz und Schlaganfällen verbunden ist. Jede Erhöhung des systolischen Blutdrucks um 10-20 mmHg führt zu einer Verdopplung der kardiovaskulär bedingten Mortalität [3]. Bei einem Drittel der Patienten lässt sich eine therapierefraktäre Hypertonie diagnostizieren, welche sich durch einen mit Antihypertensiva nicht adäquat behandelbaren Bluthochdruck definiert. [4].

Ursachen für die Entwicklung einer essentiellen Hypertonie können vielseitig sein. Eine wichtige Ursache stellt eine Überaktivität des renalen sympathischen Systems dar. Hierbei kommt es zu einem Überschuss an renalem Noradrenalin [5].

Seit den 50er Jahren ist bekannt, dass eine radikale, chirurgische subdiaphragmale sympathische Splanchniektomie zu einem erheblichen Abfall des Blutdruckes führt. Aufgrund hoher Mortalitätsraten und starker Nebenwirkungen wie Synkopen, Impotenz und Mobilitätsstörungen wurde das Verfahren in den 60er Jahren wieder verlassen [6].

In den letzten Jahren wurden neue Therapiemöglichkeiten entwickelt, um einer Überaktivität des sympathischen Systems mit minimal invasiven Techniken entgegen zu wirken. Sympathische Nervenfasern, welche perivaskulär in der Tunica adventitia der Nierenarterien liegen, können über den Einsatz endovaskulärer Katheter mittels Radiofrequenzablation (RFA) in den Nierenarterien gezielt denerviert werden. Prospektive Studien zeigten, dass diese Methode bei geringer Komplikationsrate zu einem anhaltenden Blutdruckabfall über 24 Monate in 80% der Fälle führte [7]. Verzweigte oder zu kurze Nierenarterien als anatomische Variation schränken jedoch die Anwendung der Radiofrequenzablation bei manchen Patienten ein [8].

Eine nicht invasive Therapieoption könnte hier der MR- gesteuerte hochintensive fokussierte Ultraschall (MRg HIFUS) darstellen. Dieser hat sich klinisch zur Behandlung des Uterusmyoms etabliert und bietet dort eine effektive und sichere Behandlungsoption [9]. Die MRg HIFUS Behandlung zeichnet sich durch eine hohe Sicherheit der Methodik und einer guten Visualisierung auf Grund der Kombination mit dem MRT aus. Ziel dieser Studie war es die technische Machbarkeit, die Effektivität und Sicherheit des MR gesteuerten hochintensiven fokussierten Ultraschalls zur renalen sympathischen Denervation im Schweinemodell zu evaluieren.

2 Literaturübersicht

2.1 Hypertonie

Weltweit 1 Milliarde Menschen sind an Hypertonie erkrankt [3]. Carretero und Oparil definieren das Vorliegen einer Hypertonie, wenn zwei oder mehrere diastolische Blutdruckmessungen an zwei unterschiedlichen Besuchen über 90 mmHg liegen oder wenn der systolische Blutdruck bei mehrmaliger Messung an unterschiedlichen Besuchen konstant über 140 mmHg liegt. Eine isoliert systolische Hypertonie liegt vor, falls der systolische Blutdruck Werte von 140 mmHg oder höher erreicht und der diastolische Blutdruck hingegen weniger als 90 mmHg beträgt [10]. Es existieren verschiedene Formen der Hypertonie. Im Folgenden werden vor allem die essentielle und die refraktäre Hypertonie weiter beleuchtet.

2.1.1 Essentielle Hypertonie

Die essentielle Hypertonie wird auch arterielle idiopathische oder primäre Hypertonie genannt. Wie aus den verschiedenen Synonymen hervorgeht, handelt es sich um ein hypertones Geschehen ohne direkte, bekannte Ursache bei der es zu einer signifikanten, persistierenden Erhöhung des arteriellen Druckes über 140/90 mmHg kommt [11].

Man geht von einem multifaktoriellen Geschehen aus, dessen Ätiologie nicht spezifisch auf ein Organsystem beschränkt werden kann. Eine hereditäre Seite der essentiellen Hypertonie ist dabei wahrscheinlich. Genauere Mechanismen sind noch unbekannt, aber neue Erkenntnisse deuten daraufhin, dass unter anderem ein Polymorphismus im Angiotensin-Gen zu einer erhöhten Plasmakonzentration von Angiotensin führt [12, 13].

Neben anderen ist eine wichtige Ursache der essentiellen Hypertonie eine Überaktivität im sympathischen Nervensystem. Eine gesteigerte efferente Aktivität des renalen Sympathikus führt zur Freisetzung von Renin und über das Renin Angiotensin Aldosteron System (RAAS) zu einer Blutdruckerhöhung. Darüber hinaus setzt die Niere durch efferente Sympathikusstimulierung Noradrenalin frei, welches durch systemische Wirkung ebenfalls zum Blutdruckanstieg beiträgt.

Patienten mit essentieller Hypertonie weisen meist eine Überaktivität des sympathischen Systems auf und damit verbunden einen Überschuss an Noradrenalin [14]. Dieser Noradrenalinüberschuss konnte bei hypertonen Patienten am Herzen, in der Niere und im zerebrovasculären System festgestellt werden. Der Noradrenalinüberschuss ist auf eine erhöhte sympathische Nervenentladung zurückzuführen [5]. Die efferenten und afferenten Fasern des sympathischen Systems stellen daher ein ideales Ziel für eine antihypertensive Therapie dar.

Allgemein begünstigende Faktoren zur Entwicklung einer essentiellen Hypertonie sind hoher Alkohol- und Salzkonsum, sowie lang anhaltende Stresszustände [15]. Fettleibigkeit ist ein weiterer stark begünstigender Faktor. Jede 10% Abweichung vom Normalgewicht hin zur Fettleibigkeit kann zu einer Erhöhung des systolischen Blutdrucks um 6,5 mmHg führen [16]. Umgekehrt kann bei fettleibigen Menschen jedes verlorene Kilo zu einer Blutdrucksenkung um 1-2 mmHg führen [17].

Fettleibigkeit führt zudem zu einer schnelleren Entwicklung von Toleranzen und Resistenzen gegenüber Antihypertensiva. Solche Resistenzen sind weit verbreitet und sind Teil des Krankheitsbildes einer therapierefraktären Hypertonie [18].

2.1.2 Therapierefraktäre Hypertonie

Ein Drittel aller an Hypertonie erkrankten Patienten leiden unter der refraktären Form. Eine refraktäre Hypertonie oder auch resistente Hypertonie genannt, liegt dann vor, wenn ein Patient mit mindestens drei verschiedenen Antihypertensiva, wovon eines ein Diuretikum sein muss, mit optimaler Einstellung behandelt wird und weiterhin systolische Blutdruckwerte von über 140 mmHg und diastolische Blutdruckwerte von über 90 mmHg aufweist [19].

In den meisten Fällen kann die Hauptursache der refraktären Hypertonie nicht festgestellt werden. Es zeigt sich jedoch eine zunehmende Prävalenz im Alter [18].

Aufgrund der hohen Prävalenz der refraktären Hypertonie sind innovative nicht medikamentöse Behandlungsansätze in den vergangenen Jahren Gegenstand intensiver Forschung gewesen. Eine innovative vielversprechende Methode ist die renale sympathische Denervation mittels Katheterbasierter Radiofrequenzablation (RFA) [20].

2.1.3 Renale Sympathikusaktivierung und RAAS

Das RAAS spielt eine der wichtigsten Rollen in der Regulierung des Blutdrucks. Der Großteil der derzeit auf dem Markt verfügbaren Antihypertensiva setzt an verschiedenen Stellen dieses Systems an. Dies zeigt wie essentiell das Verständnis der verschiedenen Wirkungskaskaden des RAAS im Zusammenhang mit der Hypertonie ist [21].

Die Endopeptidase Renin wird von spezialisierten Zellen im juxtaglomerulären Apparat der Niere sezerniert. Das zirkulierende Substrat Angiotensinogen wird in der Leber hergestellt, durch Renin gespalten und zum Dekapeptid Angiotensin I umgewandelt. Angiotensin I wird durch das Angiotensin Converting Enzym (ACE) zum Oktapeptid Angiotensin II, welches das Haupteffektormolekül im RAAS ist. Es wirkt hauptsächlich am Angiotensin 1 Rezeptor der Arterien und wirkt dort vasokonstriktorisch. Weiter bewirkt es eine erhöhte Aldosteron Sekretion aus der Nebennierenrinde. Der Angiotensin 1 Rezeptor erleichtert außerdem die Freisetzung von Noradrenalin aus den sympathischen Nervenfasern [22, 23].

Als postganglionäre Neuronen sind die sympathischen Nervenfasern an den Nierenarterien, der juxtaglomeruläre Apparat und das Tubulussystem der Nieren rein adrenerg. Die Aktivierung dieser efferenten, sympathischen Nervenfasern mittels Noradrenalin über β_1 Adrenozeptoren führt zur Verdopplung bis Verdreifachung der Reninausschüttung aus dem juxtaglomerulären Apparat. Des Weiteren kommt es im Tubulussystem zu einer erhöhten Natriumreabsorption. Über die α_1 Adrenozeptoren wird ein verminderter, renaler Blutfluss hervorgerufen [24].

Die Renin Sekretion aus dem juxtaglomerulären Apparat der Niere wird durch verschiedene regulatorische Kaskaden gesteuert. Niedrige Druckverhältnisse im juxtaglomerulären Apparat bei renovaskulärer Hypertonie führen zu einer vermehrten Renin Sekretion. Ein niedriger, poststenotischer Blutdruck, gemessen vom juxtaglomerulären Apparat, führt dazu, dass das System von einem generalisierten, niedrigen, systemischen Blutdruck ausgeht und somit mit einer gesteigerten Renin Sekretion gegenreguliert. Die pathologische, renale Hypoperfusion bewirkt einen Anstieg des Renins im Blut, der zu einem sekundären Hyperaldosteronismus führt [25].

Eine weitere Steuerung der Renin Sekretion erfolgt über die Natrium Konzentration, gemessen in der Macula Densa, die sich im distalen Tubulus der Niere befindet. Über Prostaglandine und Adenosine wird eine Signalweiterleitung an den juxtaglomerulären Apparat getätigt, der je nachdem ob die Natrium Konzentration hoch oder niedrig ist, dafür sorgt, dass die Renin Sekretion inhibiert beziehungsweise stimuliert wird [26]. Die Hauptregulierung der Renin Sekretion geschieht über eine Rückkopplungsschleife. Bindet Angiotensin II am Angiotensin 1 Rezeptor kommt es zu einer Hemmung der Renin Sekretion aus den Zellen des juxtaglomerulären Apparates [27].

Eine Überaktivität der renalen sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien führt zu einer stark erhöhten Renin- und Noradrenalinausschüttung und hat somit durch die RAAS Kaskade einen deutlichen Blutdruckanstieg zur Folge.

2.1.4 Auswirkungen der Hypertonie auf den Gesamtorganismus

Die Auswirkungen einer hypertonen Erkrankung sind vielseitig. Endstromgebiete des vaskulären Systems sind vorrangig betroffen, da diese sehr sensitiv auf jegliche Druckveränderungen im Organismus reagieren. Lang anhaltende erhöhte Druckverhältnisse führen so im Gefäßsystem zu endothelialen Dysfunktionen [28]. Der erhöhte Stress durch die vermehrte

Druck-Volumen-Belastung führt weiter zu einem pathologischen Umbau am Herzmuskel, welcher Kardiomyopathien und Herzrhythmusstörungen zur Folge haben kann [29, 30]. Die Nieren hypertoner Patienten entwickeln bei andauernden erhöhten Druckverhältnissen eine chronische Niereninsuffizienz. Im zerebrovaskulären System können dauerhaft erhöhte Druckverhältnisse zu lakunären Infarkten, Mikroangiopathien und vaskulären Demenzen führen [31].

Das hypertone Herz

Das klassische Paradigma des hypertonen Herzens ist eine linksventrikuläre Hypertrophie als Kompensationsmechanismus gegenüber den erhöhten arteriellen Druckverhältnissen bei arterieller Hypertonie. Eine linksventrikuläre Hypertrophie ist als Verdickung des linksventrikulären Myokards definiert. Aus der linksventrikulären Hypertrophie kann sich über die Zeit eine linksventrikuläre dilatative Herzinsuffizienz entwickeln [32]. Die Senkung des systolischen Blutdrucks von 140 mmHg auf 130 mmHg bei hypertonen Patienten wirkt sich daher protektiv auf das Auftreten einer linksventrikulären Hypertrophie aus [33].

Hypertone Gefäßerkrankungen

Das Gefäßsystem hypertoner Patienten ist sich permanent veränderten Druckverhältnissen ausgesetzt. Es entstehen endotheliale Dysfunktionen und Umbauvorgänge an den kleineren- und größeren Arterien. Die Gefäße weisen durch Umbauprozesse eine verminderte Fähigkeit der Vasodilatation auf. Dies führt zu einem anhaltenden, erhöhten Widerstand im Gefäßsystem. Als Konsequenz dieser Widerstandserhöhung und der Umbauprozesse an den Gefäßen kann es zu generalisierten arteriosklerotischen Veränderungen und Stenosen kommen [34].

Häufig auftretende Komplikationen bei hypertonen Patienten im zerebrovaskulären System sind lakunäre Infarkte, Mikroangiopathien und vaskuläre Demenzen. Zerebrovaskuläre Veränderungen infolge einer nicht adäquat eingestellten arterieller Hypertonie sind die häufigsten Risikofaktoren für einen Schlaganfall, welcher in fast 80% der Fälle auf einen ischämischen Infarkt zurückzuführen ist [31].

Hypertone Nephropathie

Eine klinisch unbemerkte hypertone Nephropathie kann über den Zeitraum von mehreren Jahren in ein chronisches Nierenversagen übergehen. Das frühe Erkennen typischer Symptome wie zum Beispiel eine leichte Albuminurie oder eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate bei Normotension ist essentiell, um das Risiko eines chronischen Nierenversagens zu vermindern [35].

Funktionelle und strukturelle Umbauprozesse sowie eine erhöhte Permeabilität im Glomerulum führen zu einer Mikroalbuminurie. Die erhöhte Permeabilität beschränkt sich dabei nicht nur auf das renovaskuläre System, sondern wirkt sich zudem auch auf das kardiovaskuläre System aus. Somit kann eine Albuminurie nicht nur ein Anzeichen für ein chronisches Nierenversagen, sondern auch für kardiovaskuläre Prozesse sein [36].

Eine antihypertensive Therapie kann das Fortschreiten von Nephropathien zu einem chronischen Nierenversagen verhindern und verbessert die renovaskuläre und kardiovaskuläre Prognose hypertoner Patienten [34].

2.2 Behandlungsformen bei Hypertonie

Die chronisch degenerativen Effekte der Hypertonie erfordern eine effektive und zeitige Therapie. Auf Grund der multifaktoriellen Ätiologie der Hypertonie stehen verschiedene Behandlungsformen zur Verfügung. Therapieoptionen reichen von einfachen Modifikationen des Lebensstils, verschiedenen Antihypertensiva bis hin zu minimal invasiven Eingriffen.

2.2.1 Änderungen der Lebensweise

Präventive und therapeutische Maßnahmen gegen Hypertonie können einige simple Änderungen der Ess- und Lebensgewohnheiten beinhalten. Eine Gewichtsreduktion ist dabei eine der effektivsten präventiven und therapeutischen Methoden gegen Hypertonie [37].

Körperliche Aktivität wie moderates walken, schwimmen oder Rad fahren für mindestens 30 min drei Mal pro Woche, kann den systolischen Blutdruck um 4-9 mmHg senken [38].

Eine Ernährungsumstellung mit viel Obst, Gemüse und fettarmen Milchprodukten zeigte in der DASH Studie (Dietary Approaches to Stop Hypertension) einen Abfall des Blutdrucks von 11,5/5,5 mmHg bei hypertonen Patienten und 3,5/2,1 mmHg bei nicht hypertonen Patienten [39]. Eine Reduktion der alimentären Natrium Aufnahme von 150 mmol/l/d auf 100 mmol/l/d zeigte in einer weiteren Studie einen Abfall des systolischen Blutdrucks um 2,1 mmHg bei hypertonen Patienten [40]. Weiter bewirkte eine Einschränkung des täglichen Alkoholkonsums systolische Blutdruckabfälle zwischen 2 und 4 mmHg [41].

2.2.2 Pharmakotherapie

Die meisten auf dem Markt vorhandenen Antihypertensiva, wirken auf das RAAS. Hierzu gehören Beta-Blocker, ACE Inhibitoren, Angiotensin Rezeptor Blocker und Aldosteronantagonisten. Weitere Möglichkeiten einer pharmakologisch wirksamen Therapie gegen Hypertonie ohne direkt in das RAAS einzugreifen bieten Diuretika (ausgenommen Aldosteronantagonisten) und Kalzium Kanal Blocker bzw. Kalzium Antagonisten.

Thiazid Diuretika

Thiazid Diuretika wirken im proximalen Teil des distalen Tubulus der Niere. Dort hemmen sie reversibel den Natrium-Chlorid (Na-Cl) Kotransporter. Natrium und Chlorid können nicht resorbiert werden, konzentrieren sich im Harn und führen über osmotische Gesetzmäßigkeiten zu einer vermehrten Wasserausscheidung. Eine erhöhte Natriumkonzentration im Sammelrohr der Niere führt dazu, dass die Natrium- Kalium ATPase vermehrt Kalium aus den Zellen ins Lumen leitet.

Die Thiazid Diuretika werden oftmals als Anfangstherapeutikum bei Hypertonie verwendet oder in Kombination mit anderen Antihypertensiva [42].

Kalzium Kanal Blocker/ Kalzium Antagonisten

Kalzium (Ca) Antagonisten hemmen die spannungsabhängigen Ca-Kanäle der glatten Muskulatur der Gefäßwände. Es kommt zu einem verringerten Einstrom von Ca in die Muskelzelle und so zu einer verringerten Kontraktion der Zelle. Die Blockade von L-Typ Ca-Kanälen in der Glatten Muskulatur der Gefäße ruft so eine Vasodilatation hervor und der periphere Widerstand sinkt [43].

Beta Blocker

Adrenerge β Rezeptoren sind unter anderem am Herzen, an den Nieren und den Bronchien zu finden. Adrenerge β 1 Rezeptoren am juxtaglomerulären Apparat der Niere steuern die Produktion von zyklischem AMP durch die Adenylatzyklase. Es kommt zu einer Sekretion von Renin. Durch spezifisch wirksame β 1 Blocker, wird die Reninausschüttung an der Niere gezielt gesenkt [44].

ACE Inhibitoren

Angiotensin I wird durch ACE zu Angiotensin II umgewandelt. Die Hemmung dieses Enzyms führt zu einer Senkung des Angiotensins II am Angiotensin Rezeptor, die wiederum zu einer Senkung des Gefäßtonus führt, da Angiotensin II das stärkste im Organismus hergestellte

vasokonstriktorische Mittel ist. Die ACE Inhibitoren wirken sich protektiv auf die Entwicklung einer hypertonen Nephro- oder Kardiomyopathie aus und werden daher vorrangig eingesetzt [13].

Angiotensin Rezeptor Blocker

Die Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten sind sehr spezifisch wirksame Hemmstoffe an diesem Rezeptor. Der Einsatz dieser Rezeptor Blocker senkt das Risiko kardiovaskulärer und zerebrovaskulärer Erkrankungen bei hypertonen Patienten [45].

2.2.3 Renale sympathische Denervation

Die renalen sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien werden vom zentralen sympathischen System gesteuert und führen bei einer Aktivierung des efferenten, renalen sympathischen Systems zu einer erhöhten Renin- und Noradrenalinausschüttung, sowie einer Natrium Retention und einem reduzierten renalen Blutfluss (vgl. 2.1.3 renale Sympathikusaktivierung). Patienten mit essentieller Hypertonie weisen meist eine Überaktivität des sympathischen Systems auf und damit verbunden eine erhöhte Noradrenalinausschüttung. Das Ziel der verschiedenen ablativen Verfahren ist eine Ablation der efferenten und afferenten sympathischen Nervenfasern.

Schon in den 50er Jahren wurden radikale, chirurgische subdiaphragmale sympathische Splanchniektomien durchgeführt zur Senkung des Blutdrucks. Die Therapie war zum einen sehr effektiv für die Blutdrucksenkung, zum anderen aber mit starken Nebenwirkungen, wie Synkopen, Impotenz und Mobilitätsstörungen verbunden. Von den 1266 behandelten Patienten starben ca. 19% an den Folgen der Behandlung. Auf Grund dieser hohen Mortalitätsrate und der Entwicklung modernen Antihypertensiva wurde diese Behandlungsform in den 60er Jahren wieder verlassen [6].

In den letzten Jahren entwickelten weltweit verschiedene Arbeitsgruppen minimal invasive Verfahren zur renalen Denervation (siehe Abb. 1). Die gängigste Methode derzeit ist die Katheterbasierte Radiofrequenzablation.

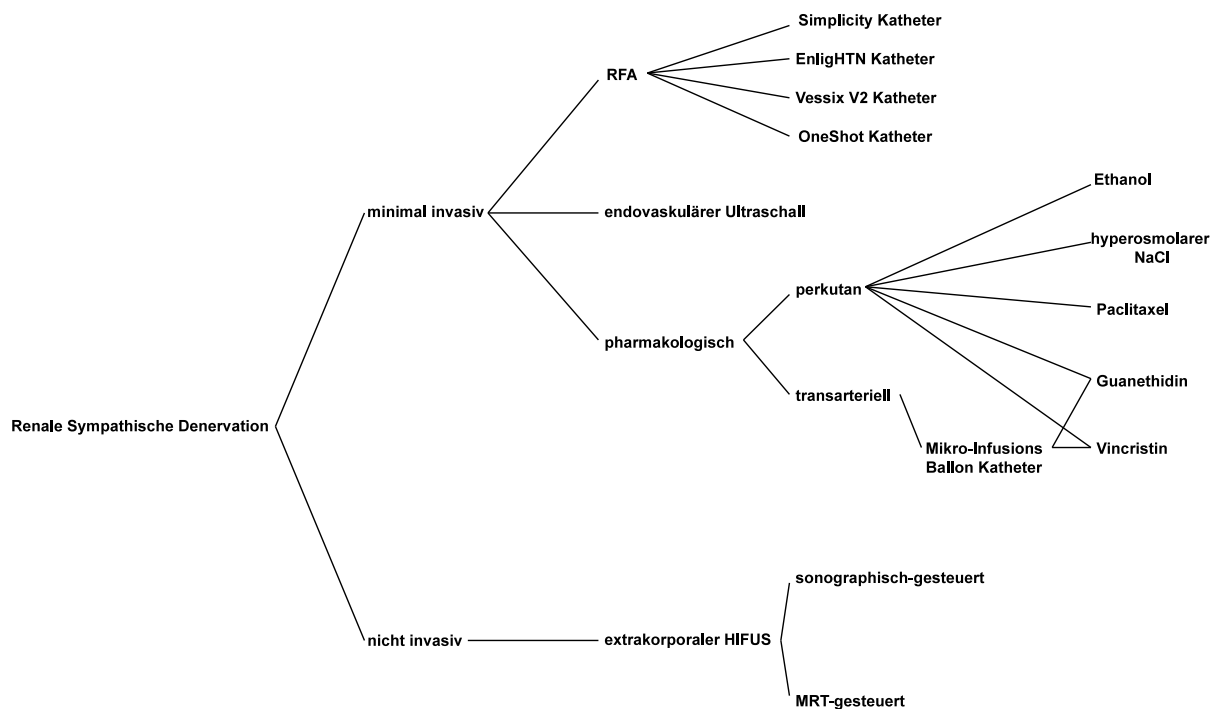


Abb. 1: Übersichtsschaubild renaler sympathischer Denervationsverfahren.

Das Schaubild zeigt die unterschiedlichen technischen Möglichkeiten der renalen Denervationsverfahren. Invasive, sowie nicht invasive Systeme sind derzeit verfügbar. Die minimal invasive Anwendung kann entweder katheterbasiert, endovaskulär, transarteriell oder perkutan erfolgen. Einige der genannten Verfahren wurden bereits am Menschen angewendet, während andere derzeit nur im Tiermodell erprobt sind. Die Radiofrequenzablation- (RFA) katheterbasierten Systeme und der endovaskuläre Ultraschall wurden größtenteils an einem großen Patientenpool erprobt, während perkutane- und transarterielle Guanethidin und Vincristin Applikationen, sowie die perkutane Ethanol Applikation eher in Einzelfällen am Patienten zur Anwendung kamen. Die nicht invasiven Denervationsverfahren mittels HIFUS sind derzeit nur im Tiermodell angewandt worden. Neben thermal-induzierten Läsionen der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien, können die oben genannten neurotoxisch-wirksamen Substanzen Guanethidin und Vincristin durch pharmakologische Wirkungen ebenso neurale Läsionen hervorrufen.

Katheterbasierte Radiofrequenzablation

Die Radiofrequenzablation (RFA) ist ein minimal invasives Verfahren bei dem endoluminal mittels eines Katheters die sympathischen Fasern um die Nierenarterie durch radiofrequente Energien denerviert werden. Radiofrequente Energien werden durch die Gefäßwand der Nierenarterien appliziert, um ausreichend Wärme in der Adventitia zu erzeugen, um die dort gelegenen sympathischen Fasern zu degenerieren.

Die größte Datenlage existiert für das System Symplicity der Firma Medtronic (Minneapolis, Minnesota). Ein perkutaner Zugang zur Femoralarterie wird genutzt um den RFA Katheter bis zur Nierenarterie vorzuschieben. In der Nierenarterie wird der Katheter nach jeder erfolgten Energieapplikation, die ca. 2 min dauert, 1-2 cm zurückgezogen, radial rotiert und nach ca. 8 Applikationen extrahiert und auf der kontralateralen Seite auf gleiche Weise eingesetzt [46].

Eine erste Anwendung am Patienten mit refraktärer Hypertonie zeigte, dass es durch die RFA an den Nierenarterien zu einem signifikanten Blutdruckabfall kam, einhergehend mit einer 42 % Reduzierung der sympathischen Aktivität, gemessen am Noradrenalin Spillover-Koeffizienten [47].

In mehreren Patientenstudien zur Anwendung der RFA (Symplicity HTN-1 Studie und Symplicity HTN-2 Studie) wurden Patienten mit therapierefraktärer Hypertonie mit der oben beschriebenen RFA-Methode behandelt. Mit einem durchschnittlichen systolischen Blutdruckabfall von 32 mmHg nach 6 Monaten und einem generellen Therapieansprechen erwies sich diese Methode als vielversprechend [48].

Die randomisierte, kontrollierte Symplicity HTN-2 Studie ergab nach 12 Monaten einen systolischen Blutdruckabfall von 28 mmHg im Vergleich zum systolischen Blutdruckwert vor der Behandlung und im Vergleich zur Kontrollgruppe. Somit konnte gezeigt werden, dass der Blutdruckabfall auch nach 12 Monaten anhielt. Ergebnisse der Symplicity HTN-1 Studie nach 24 Monaten wiesen bei 153 Patienten mit refraktärer Hypertonie, einen stärkeren Abfall des systolischen Blutdrucks im Vergleich zu Messungen nach 12 Monaten auf [7]. Schwerwiegende Komplikationen konnten bei der Anwendung der RFA-Methode nicht festgestellt werden. Während der radiofrequenten Energieapplikation kam es zu erhöhtem Schmerzempfinden im Anwendungsgebiet. Lediglich einmal wurde eine Nierenarterie disseziert, die mit einem Stent ohne weitere Spätfolgen behandelt werden konnte. Ebenso selten trat ein Pseudoaneurysma der Femoralarterie auf. Die Nierenfunktion, gemessen an dem Serum Kreatininhalt und der glomerulären Filtrationsrate, wurde durch die Behandlung nicht beeinträchtigt [46].

Nachteile der Symplicity-Methode sind die relativ lange Interventionszeit und der Durchmesser des Katheters. Derzeit kann der Symplicity Katheter nur bei Patienten eingesetzt werden, deren Durchmesser der Nierenarterien mindestens 4 mm beträgt. Diese Limitationen führten zur Innovation neuartiger Katheter mit verkürzter Ablationszeit und geringerem Durchmesser. Derzeit sind weitere sog. „next-generation“ RFA-Systeme auf dem Markt mit potentiell technischen Vorteilen im Vergleich zum Simplicity System.

Der EnligHTN Katheter der Firma St. Jude Medical (St. Paul, Minnesota) ermöglicht eine simultane, endoluminale Energieapplikation an vier verschiedenen Lokalisationen. Dies reduziert die Interventionszeit erheblich, so dass der Behandlungsschmerz weniger stark ausgeprägt ist. Die noch andauernde ARSENAL Studie mit 47 Patienten soll die Sicherheit und Effektivität des EnligHTN Katheters evaluieren. Vorläufige Ergebnisse zeigten, dass es bei 78% der behandelten Patienten zu einem Blutdruckabfall von 26/9 mmHg kam. Zwei Patienten litten nach Behandlung an Bradykardie und vier Patienten entwickelten ein Hämatom an der Zugangsstelle des Katheters [49].

Der Vessix V2 Katheter der Firma Vessix Vascular (Laguna Hills, Kalifornien) beinhaltet einen Niederdruckballon mit zwei bipolaren Oberflächen Elektroden, die vier Ablationspunkte in helikaler Anordnung besitzen. Die Ablationszeit wird auf 30 sec bemessen und der Katheter ermöglicht die Behandlung von Patienten deren Durchmesser der Nierenarterie 3 mm beträgt. Ergebnisse der laufenden REDUCE Studie nach 6 Monaten ergaben einen Blutdruckabfall von 24,6/10,3 mmHg [50].

Trotz genannter Erfolge kann nicht außer Acht gelassen werden, dass es bei der RFA dennoch zu nennenswerten Nebenwirkungen kommt wie Bradykardie, Pseudoaneurysmata der Femoralarterie, postinterventionelle Hypotonie, Parästhesien und Schmerz [51].

Verzweigte oder zu kurze Nierenarterien als anatomische Variation schränken die Anwendung der RFA weiter ein [8].

Der OneShot Katheter der Firma Covidien (Campbell, Kalifornien) ist ein bewässerter Radiofrequenz- Ballonkatheter, der eine renale Denervation durch eine einzelne 2-minütige Energieabgabe pro Nierenarterie ermöglicht. Eine monopolare Silberelektrode ist in einer helikalen Anordnung am Ballon angebracht, sodass eine spiralförmige Energieabgabe möglich ist, ohne den Katheter zu manipulieren. Während der Ablation tritt Kochsalzlösung aus den Be-

wässerungslöchern aus, um das umliegende arterielle Gewebe nicht zu beschädigen. Eine einzelne 25 W radiofrequente Energie wird beidseits in den Nierenarterien appliziert.

In einer ersten Anwendung am Menschen wurde über einen Femoralzugang ein 5 mm breiter OneShot Ballonkatheter an der rechten und linken Nierenarterie angewendet. Blutdruckmessungen 1 Monat nach Behandlung ergaben einen systolischen Blutdruckabfall von 27 mmHg. Dieser Blutdruckabfall blieb nach 6 Monaten weiter bestehen und es konnten keine Nierenfunktionseinschränkungen festgestellt werden.

Im Vergleich zur Symplicity RFA Methode muss der OneShot Katheter nicht an multiplen Stellen angewendet werden, sodass eine erhebliche Reduktion der Interventionszeit und eine weniger schmerzhaft Behandlung möglich sind [52].

Diese vielversprechenden Ergebnisse zur Blutdrucksenkung bei therapierefraktären Patienten führten dazu, dass weltweit verschiedene Arbeitsgruppen weitere minimal invasive Methoden erforschen mit dem Ziele der renalen Denervation.

Ethanolinjektion

Ethanol 95% ist ein bekanntes neurolytisches Mittel, das schon in den 70er Jahren zur paravertebralen Sympathikolyse und Coeliacus Blockade angewandt wurde. Ethanol bewirkt eine Dehydratation der Nervenzellen und eine Präzipitation des Protoplasmas [53].

Zur Anwendung als pharmakologische renale Denervation stellt die Ethanolinjektion ein neuartiges Verfahren dar, das im Tiermodell erprobt wurde und eine erste technische Mitteilung zur Anwendungsstudie am Patienten vorliegt. In einem offenen 1,0 Tesla MRT erfolgte die Ethanolinjektion unter Kontrolle mit Echtzeit Aufnahmen, periarteriell um die Nierenarterien. Das 95 % Ethanol degeneriert dabei sympathische Nervenfasern und vermindert so die Überaktivität des sympathischen Systems. Erste Ergebnisse zeigen, dass dies eine sichere und effektive Methode zur renalen Denervation darstellt. In einer initialen Studie mit sechs Schweinen, konnte ein signifikanter Abfall der NoradrenalinKonzentration von 53 % der behandelten Seite im Vergleich zur unbehandelten Seite festgestellt werden. Histologisch sah man bei 4 von 6 Schweinen Nervendegenerationen in Form von perineuralen Fibrosierungen [54].

Diese neuartige Methode könnte sich in der Zukunft als Alternative zur Radiofrequenzablation etablieren. In einer ersten Anwendungsstudie am Patienten wurde unter CT- gesteuerter Fluoroskopie 10 ml einer Mischspritze aus 95% Ethanol, Bupivacain und Kontrastmittel in einem Verhältnis von 7:2:1 am Ursprung und dem proximalen Teil der Nierenarterie beidseits injiziert. Kontrastmittel-verstärkte CT Scans nach erfolgter Behandlung bestätigten eine erfolgreiche technische Ausführung und eine akkurate Verteilung des Injektats im perivaskulären Raum der Nierenarterien. Es kam zu keinen Komplikationen und die Behandlung wurde sehr gut toleriert. Blutdruckmessungen 4 Wochen post Behandlung wiesen einen Abfall des Blutdrucks von 29/14 mmHg auf. Ein Kontrastmittel-verstärkter CT Scan wies keinerlei arterielle Stenosen oder Nierenparenchym Veränderungen auf. Diese erste erfolgreiche Anwendung am Patienten sollte mit weiteren Anwendungen bei einer größeren Patientenpopulation und längerem Follow-up weiter verfolgt werden [55].

Vincristin-Injektion

Eine weitere Möglichkeit die sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien zu denervieren, ist die lokale Applikation von neurotoxischen Stoffen wie Vincristin. Vincristin ist ein anti-neoplastischer Wirkstoff mit einem breiten Wirkungsspektrum bei malignen hämatologischen Erkrankungen und Weichteilsarkomen. Eine der Hauptnebenwirkungen von Vincristin ist die Neurotoxizität. Es kommt zu großflächigen, axonalen Schwellungen und sekundären Demyelinisierungen, vor allem am proximalen Anteil der peripheren Nerven, außerhalb des Spinalkanals [56].

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde einem Patienten mit therapierefraktärer Hypertonie ein 8 French Katheter über die Femoralarterie bis zum Ostium der linken Nierenarterie

vorgeschoben. Anhand des zuvor angefertigten Angiogramms der Nierenarterie wurde ein Segment der Nierenarterie für die chemische Denervation bestimmt.

Mit Hilfe eines Führungsdrahts wurde ein Ballonkatheter in den Hauptzweig der Nierenarterie vorgeschoben. 5000 Einheiten Heparin wurden als Bolus i.v. verabreicht. Der proximale Anteil der Nierenarterie wurde für die chemische Denervation bestimmt und der Durchmesser des Ballons so gewählt, dass ein Verhältnis von 1,2 Ballon zur Arterie entstand. Der Ballon wurde mit einer Mischung aus Vincristin und Kontrastmittel befüllt und nach einer Abgabe von 4 ml des Gemischs, das einer Dosis von 0,1 mg Vincristin entsprach, wurde die Befüllung abgebrochen. Im Anschluss an die Prozedur wurde ein finales Angiogramm durchgeführt und die kontralaterale Seite der Nierenarterie ebenso behandelt.

Das Verfahren wurde als sicher eingestuft und es kam zu keinen Komplikationen. Blutdruckmessungen nach 4 Wochen zeigten einen signifikanten Blutdruckabfall. Es bedarf umfangreicher Langzeitstudien um die Sicherheit und Effektivität dieses Verfahrens zu etablieren [57].

Paclitaxel-Injektion

Ein weiterer anti-neoplastischer Stoff ist das Paclitaxel. Ähnlich wie bei Vincristin wird Paclitaxel auf Grund seiner Neurotoxizität zur chemischen renalen Denervation eingesetzt.

In einer kürzlich veröffentlichten präklinischen Studie im Rattenmodell wurde Paclitaxel zur renalen Denervation eingesetzt. Perivaskulär im kranialen oder kaudalen Bereich der Nierenarterien wurde ein 150 µl Gemisch aus unterschiedlichen Konzentrationen Paclitaxel und 100% Dimethylsulfoxid (DMSO) oder 10% DMSO mittels einer Tuberkulinspritze und 28G Nadel injiziert. Es wurden vier Gruppen mit jeweils sechs Ratten gebildet, die mit einer Paclitaxel Konzentration von 10^{-2} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M und 10^{-6} M behandelt wurden. Drei Tage nach Injektion wurden beide Nieren entfernt und die NoradrenalinKonzentrationen mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographiemethode bestimmt. Die NoradrenalinKonzentrationen der vier Gruppen wurden mit NoradrenalinKonzentrationen von Sham-behandelten Ratten verglichen. Den höchsten Noradrenalinabfall dieser vier Gruppen, wies die Gruppe mit der 10^{-2} M Paclitaxel Konzentration auf. Dieser betrug 87,9 %.

In dieser Studie wurden weitere Substanzen zur chemischen renalen Denervation getestet. Dazu wurden jeweils sechs Ratten mit 10% Salicylsäure-Ethanol Lösung, hypertoner NaCl-Lösung und Guanethidin Lösung behandelt. Man ging für die Injektion der Substanzen genauso vor, wie oben beschrieben. Jedoch wurde nur die rechte Nierenarterie behandelt, sodass die linke Niere als Kontrolle dienen konnte. Ratten, die mit hypertoner NaCl-Lösung behandelt wurden zeigten einen Noradrenalinabfall von 100 % im Vergleich behandelte zu unbehandelte Seite. Ebenso hoch war der Noradrenalinabfall bei den Salicylsäure-behandelten Ratten. Die Guanethidin-behandelten Ratten wiesen einen durchschnittlichen Noradrenalinabfall von 98 ± 4.7 % auf [58].

Guanethidin-Injektion

Guanethidin ist ein antihypertensives Medikament, das durch eine immunvermittelte Kaskade in der Lage ist eine autonome Denervation zu induzieren.

Der Bullfrog Mikroinfusions-Katheter der Firma Mercator Med Systems (San Leandro, Kalifornien) wurde so konzipiert, dass therapeutische Wirkstoffe durch die Arterienwand in das perivaskuläre Gewebe injiziert werden können. Der Katheter besitzt eine 130 µm Mikronadel, die von einem Ballon umgeben ist. Sobald der Ballon gefüllt ist, kann die Nadel die Arterienwand durchdringen und therapeutische Wirkstoffe in das perivaskuläre Gewebe abgeben. In einer präklinischen Studie mit elf Schweinen wurde der Bullfrog-Katheter über die Femoralarterie in die Nierenarterie vorgeschoben. 2-3 ml Guanethidin mit Konzentrationen von 20 bis 30 mg mit 20% Kontrastmittellösung wurden unter fluoroskopischer Kontrolle in die Tunica adventitia der Nierenarterie appliziert.

18 Nierenarterien wurden behandelt und vier Nierenarterien dienten als Kontrolle. Der Erfolg der Behandlung wurde am Abfall der NoradrenalinKonzentrationen der behandelten zur un-

behandelten Niere durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gemessen. Weiterhin wurden histologische Schnitte angefertigt, die eine Denervation der renalen sympathischen Fasern sichtbar machen sollten.

Histologische Veränderungen konnten in Form von perineuralen Entzündungen und neuronalen Degenerationen bei den behandelten Nierenarterien festgestellt werden. Es zeigte sich ein dosisabhängiger Abfall der NoradrenalinKonzentration. Die Kontrollseiten wiesen im Mittelwert NoradrenalinKonzentrationen von 245 ± 34 ng/g auf. Bei der Behandlung mit 20 mg Guanethidin waren es Werte von 161 ± 18 ng/g und bei einer Dosis von 30 mg sank die NoradrenalinKonzentration auf 133 ± 16 ng/g [59].

Endovaskulärer Ultraschall

Die Firma ReCor Medical (NY, USA) hat mit ihrer PARADISE® Technologie einen Katheter auf den Markt gebracht, der einen zylindrischen Schallgeber besitzt und von einem aufgeblasenen Wasserballon mit 8 mm Durchmesser umgeben ist. Dieser Katheter ist in der Lage rundum Ultraschallenergien abzugeben. Ein direkter Kontakt des Gewebes zum Schallgeber wird nicht benötigt und ermöglicht die Konstruktion des Ballons um den Schallgeber. Dieser Ballon hat den Vorteil, dass während der Energieabgabe kühlende Flüssigkeit austreten kann und so die Arterienwand während der Anwendung gekühlt werden kann. Des Weiteren kann durch den Ballon eine ideale zentrale Position des Katheters in der Nierenarterie gewährleistet werden.

In einer Studie mit elf therapierefraktären Patienten wurde unter fluoroskopischer Kontrolle, der Katheter perkutan über die Femoralarterie bis zur Nierenarterie vorgeschoben. Ultraschallenergien wurden beidseits an drei verschiedenen Lokalisationen der Nierenarterien abgegeben um eine bilaterale Denervation zu erreichen. Angefangen im distalen Teil der Nierenarterie wurde der Katheter weiter in Richtung des Ostiums der Nierenarterie geführt.

Jede der drei Energieabgaben in der Nierenarterie bestand aus einer Ultraschallemission zwischen 25 und 30 Watt bei einer Dauer um die 50 sec. Optimaler Energiegehalt und Dauer der Emissionen wurden zuvor in einem Tiermodell getestet.

Zum Zeitpunkt der Insertion in die arterielle Hülle wurde den Patienten Heparin verabreicht um die Blutgerinnungszeit auf mindestens 250 sec heraufzusetzen. Vor der Ultraschallemission in den Nierenarterien wurden Nitrate zur Vasodilatation- und Spasmolyse in jede Nierenarterie appliziert. Im Durchschnitt lag die Zeit zwischen erster und letzter Emission bei 23 min.

Bei einem Patienten kam es zur Dissektion der Nierenarterie, die mit einem Stent behandelt wurde. Nach Abgabe der Energie konnten unter fluoroskopischer Kontrolle gelegentliche Spasmen der Nierenarterie festgestellt werden.

Direkt im Anschluss an die Behandlung und nach 2 und 4 Wochen wurde der Blutdruck der Patienten gemessen. Werte direkt nach der Intervention wiesen einen Abfall des Blutdrucks von 43/34 mmHg auf, nach 2 Wochen lagen die Werte bei 26/13 mmHg und nach 4 Wochen bei 30/15 mmHg im Vergleich zu den Ausgangswerten vor der Intervention.

Es kam zu keinerlei schwerwiegenden Nebenwirkungen auf Grund der Intervention. 63% der Patienten beschwerten sich über Abdominal- und Rückenschmerzen, die nach ein paar Tagen nicht mehr bemerkbar waren.

Der Endovaskuläre Ultraschall bietet somit eine weitere minimal invasive, sichere und effektive Behandlungsmöglichkeit bei therapierefraktärer Hypertonie [60].

Hochintensiver fokussierter Ultraschall (HIFUS)

Extrakorporaler HIFUS wurde unter Dopplersonographischer Kontrolle bei einer präklinischen Studie an 18 Hunden angewendet. Der HIFUS wurde bilateral an den Nierenarterien mit einer mittleren Emission von $36,3 \pm 2,8$ pro Tier appliziert. Therapeutische Sonifikationen mit 250 W bei einer Dauer von 2 sec wurden in 2 mm Abständen an der rechten Nierenarterie appliziert. Die Tiere wurden nach 6 oder 28 Tagen euthanasiert. Fünf Tiere dienten als Sham Tiere und somit als Kontrollgruppe zu den behandelten Tieren. Es konnte ein signifi-

kanter Abfall der NoradrenalinKonzentrationen von 55,4 % nach 28 Tagen festgestellt werden. Histologisch konnten nach 28 Tagen Schwannzellnekrosen und Zusammenhangstrennungen der Nervenfasern festgestellt werden. Es kam zu keinen therapieassoziierten Komplikationen. Eine effektive renale sympathische Denervation konnte in diesem Tiermodell durch die Anwendung des extrakorporalen HIFUS unter Dopplersonographischer Kontrolle gezeigt werden [61].

2.3 Hochintensiver fokussierter Ultraschall

Das Ziel der ablativen Therapien ist der Untergang des Zielgewebes bei intakt bleibendem, umliegendem Gewebe. Hochintensiver fokussierter Ultraschall (HIFUS) ist ein nicht invasives Verfahren zur Gewebeablation. Das Gewebe wird mit einem gezielten fokussierten hochenergetischen Ultraschallstrahl degeneriert. Die durch Ultraschall hervorgerufene Reibung der Partikel untereinander erzeugt in dem fokussiert-beschallten Areal ein Temperaturanstieg von 60 bis 90°C und führt so zu einem gezielten Weichteilgewebeuntergang. Im umliegenden Gewebe des Fokus findet ein steiler Temperaturabfall statt, sodass kein zytotoxischer Effekt zustande kommt. Die Energie muss dabei ausreichend schnell das Zielgewebe erreichen, um dort eine Koagulationsnekrose hervorrufen zu können, damit die Wärme nicht über das Gefäßsystem abtransportiert werden kann [62].

2.3.1 Effekte des HIFUS

HIFUS bewirkt durch Absorption der akustischen Energie im Weichteilgewebe des beschallten Areals einen Temperaturanstieg von 60°C bis 90°C. Dies führt meist zu einer Koagulationsnekrose, Zellapoptose oder Lyse. Der geringe Durchmesser des Fokus (1-9 mm) und die starke Bündelung des Ultraschalls macht es möglich, dass es im Gewebe zwischen Schallgeber und Fokuspunkt nicht zu einer starken Wärmeentwicklung und demnach nicht zu einer Gewebeschädigung kommt.

Koagulationsnekrose

Die Koagulationsnekrose ist die am häufigsten auftretende Veränderung im Gewebe beim Einsatz des HIFUS. Um eine Koagulationsnekrose in Geweben zu verursachen, muss das Gewebe Temperaturen über 60°C mindestens eine Sekunde lang ausgesetzt werden. Das nekrotische Gewebe wird abhängig vom Gewebetyp in ca. 14 Tagen von Granulationsgewebe ersetzt. An den Übergängen von behandeltem zu unbehandeltem Gewebe kommt es zur Bildung von Bindegewebe. [63]

Zellapoptose

Unter Umständen kann es beim Einsatz des HIFUS neben einer Koagulationsnekrose auch zur Zellapoptose kommen. Beim programmierten Zelltod wird der Zellkern von der Zelle selbst aufgelöst und die DNA wird durch Endonukleasen abgebaut. Dies geschieht vor allem bei Anwendungen mit niederfrequenten Energieapplikationen. Die Apoptose kann ein wichtiger biologischer Erneuerungsprozess sein, der vor allem bei langsam regenerierenden Geweben, wie zum Beispiel Neuronen einen positiven Effekt haben kann. Es muss dennoch beachtet werden, dass es so im angrenzenden Gewebe des HIFUS-behandelten Areals auch zur ungewollten Apoptose kommen kann. Beim Untergang des Gewebes kommt es zur Freisetzung von Apoptose-Mediatoren, die sich auf das angrenzende Gewebe auswirken. Bei der Anwendung des HIFUS kann es so zu einem höheren Gewebeuntergang kommen, als zunächst vermutet [64].

Nicht-lineare Effekte

Nicht-lineare Effekte entstehen, wenn eine hochfokussierte Schallwelle sich durch Wasser oder Gewebe verbreitet, dabei verzerrt wird und aus einem Sinuskurvenverlauf, ein Sägezahnkurvenverlauf wird. Grundschrwingungen werden durch eine Verwandlung der Energie zu Oberwellen, die schneller absorbiert werden. Dies kann dazu führen, dass die Wärmeverteilung im Gewebe anders ausfällt als vorhergesehen.

Zusammenspiel der Effekte

Das Zusammenspiel all dieser genannten Effekte beim Einsatz des HIFUS wird weiterhin nicht ausreichend verstanden. So kann bei der Anwendung des HIFUS nicht genau vorausgesagt werden, wie wahrscheinlich das Gewebe durch eine Koagulationsnekrose oder einer Apoptose zu Grunde geht. Die ankommende Energiedosis im Zielgewebe hängt vom Schallfeld, der Energiezufuhr und der Schallschwächung des Gewebes ab. Weitere Studien sind in der Planung und Durchführung um besser abschätzen zu können, wann welche Effekte zutreffen. Zu diesem Zeitpunkt geht man von einer Kombination aller genannten Effekte aus, die dem HIFUS seinen ablativen Effekt verschaffen [65].

2.3.2 HIFUS und MR Thermometrie

Während des Einsatzes des HIFUS ist eine Kontrolle der Temperaturerhöhung im Gewebe nur durch die Kombination mit dem MRT möglich. Diese liefert kontrastreiche Aufnahmen, bei denen das Zielgebiet der Behandlung genauestens definiert werden kann. Echtzeit Temperatur Überwachung im Ziel- und umliegenden Gewebe des HIFUS werden über Thermosequenzen mit Hilfe der Protonenresonanzfrequenzmethode (PRF) ermöglicht. Die temperaturabhängige PRF wird über eine schnelle Gradientenechosequenz (GRE) berechnet. Thermosensitive Akquisitionssequenzen mit unterschiedlichen Echozeiten (TE) können für die thermometrische Überwachung so evaluiert werden, dass eine optimale Differenzierung des anatomischen Gebietes und der wärmeinduzierten Bildveränderung möglich ist. Die Verschiebung der PRF unterliegt in dem mit fokussiertem Ultraschall erzeugten Temperaturbereich von 40 bis 90°C einer Linearität. Die Änderung der PRF berechnet sich aus dem Produkt der gemessenen Phasenänderung und dem Quotienten aus Echozeit (TE) und 2π . Die Echozeit ist dabei die Zeit, zwischen Anregung und Messung des MR Signals.

Obwohl zeitaufwendiger und kostenintensiver ist die Kombination aus HIFUS und MR Thermometrie eine vielversprechende Methode auf dem Gebiet der nicht invasiven Behandlungsmöglichkeiten [66].

2.3.3 Anwendungsgebiete des HIFUS

Die Bedeutung des HIFUS auf dem Gebiet der nicht invasiven Therapiemöglichkeiten hat in den letzten Jahren zugenommen. Zahlreiche Anwendungen werden durchgeführt vor allem im Bereich der Tumorablationen. Die häufigste Anwendung des MR- gesteuerten HIFUS (MRg HIFUS) liegt in der Behandlung des Uterusmyoms.

Uterusmyome

Das Uterusmyom ist ein häufig auftretender Tumor der inneren weiblichen Geschlechtsorgane und führt bei ca. 25 % der Frauen zu Myom-assoziierten Symptomen, wie Hypermenorrhoe und Dysmenorrhoe. Frauen mit Kinderwunsch suchen meist eine alternative Therapie zur Hysterektomie, sodass minimal invasive Verfahren in den letzten Jahren verbreiteter eingesetzt wurden. Hochintensiver fokussierter Ultraschall ist eine neue nicht invasive Technik, die es ermöglicht an präzisen Fokuspunkten, Koagulationsnekrosen auszulösen. Das Ausmaß und die Lokalisation der Behandlung können über Echtzeit MRT Sequenzen überwacht und geplant werden. In einer interkontinentalen Studie wurden 55 Patientinnen, die

unter symptomatischen Uterusmyomen litten, mit dem MRg HIFUS behandelt. 28 der 55 Patientinnen wurden im Anschluss an die MRg HIFUS Anwendung innerhalb eines Monats hysterektomiert. T2 gewichtete FSE Sequenzen zur Therapieplanung wurden angefertigt und im Anschluss erste Testsonifikationen mit 10-50 W zur Kalibrierung der Zielgenauigkeit des Ultraschalls appliziert. Die applizierte akustische Power zur thermalen Ablation des Uterusmyoms hing von der Gewebetiefe und Vaskularisation des Myoms ab. Durchschnittlich wurden 100-200 W kutan appliziert, die eine Energiedichte von 500-700 W/cm² am Fokuspunkt entwickelten. 72 h post Intervention wurden Gadolinium-verstärkte MR Sequenzen angefertigt, die das Volumen nicht vorhandener Perfusion des Tumors nach Behandlung darstellte. MRT Aufnahmen und histopathologische Ergebnisse des behandelten Tumolvolumens wurden ausgewertet.

Die Auswertung des behandelten Volumens auf Basis der Gadolinium-Sequenzen ergab, dass ein größeres Areal des Tumors nicht mehr durchblutet war als zunächst erwartet. Der Vergleich mit der Histopathologie ergab eine Verdreifachung des nekrotischen Volumens des Tumors im Vergleich zum behandelten Volumen. Während der Behandlung kam es bei den Patientinnen zu leichten bis mittelschweren Schmerzen, die mit Analgetika behandelt wurden. Eine Patientin erlitt Hautverbrennungen 1. Grades beim Einsatz des HIFUS.

MRg HIFUS bietet eine erfolgreiche Ablationsmethode des Uterusmyoms mit einer exzellenten Sicherheit. Einige Ausschlusskriterien schränken das potentielle Patientenkollektiv jedoch ein. In der vorgesehenen Behandlungsregion dürfen keinerlei Narben, Tattoos oder Hautabnormalitäten der Bauchwand vorhanden sein. Liegen Myome zwischen der Bauchwand und den Darmschlingen oder weniger als 4 cm vom Kreuzbein entfernt, können diese nicht mittels MRg HIFUS behandelt werden [9, 67]

Mammakarzinome

Jedes Jahr erkranken eine Millionen Frauen weltweit an Brustkrebs, der zweithäufigsten Tumorart bei Frauen [68]. In einer Studie zur MRg HIFUS Behandlung bei Mammakarzinomen wurden 30 Patientinnen vor partieller oder totaler Mastektomie mittels HIFUS behandelt. Die durchschnittliche Tumorgöße betrug 13 mm, mit einem durchschnittlichem Abstand von 16,6 mm zur Haut und 24,7 mm zum Brustkorb. T1 gewichtete kontrastmittelverstärkte MR Sequenzen wurden vor MRg HIFUS Behandlung erstellt, um die Größe des Tumors und dessen Entfernung zur Haut akkurat messen zu können. Der Umriss des zu behandelnden Volumens hatte mindestens einen 5 mm Sicherheitsrand in alle Richtungen.

Im Zentrum der Läsion wurde zunächst eine subtherapeutische Dosis von 20-60 W appliziert um die genaue Fokussierung des Gerätes zu gewährleisten. Im Anschluss daran wurden therapeutische Sonifikationen solange wiederholt bis das gesamte Zielvolumen abladiert war. Durchschnittlich wurden 48 Sonifikationen abhängig von der jeweiligen Tumorgöße bei einer Dauer von 2 min pro Sonifikation appliziert.

Anschließend wurden MR Sequenzen zur Beurteilung des ablativen Effektes am Tumor durchgeführt. Nach der MRg HIFUS Anwendung wurde eine partielle oder totale Mastektomie durchgeführt.

Applikation von Kontrastmittel erlaubte eine Beurteilung des Durchblutungsstatus des Tumors. Nach chirurgischer Entfernung des abladierten Gewebes wurden Behandlungs- Nekrose- und Tumorgrenzen gemessen. Die Messungen wurden evaluiert, um einen prozentualen Tumoranteil im Behandlungsbereich zu errechnen. Arithmetisches Mittel der Tumornekrose betrug 96,9±4 %. Während der Behandlung kam es bei einer Patientin zu Verbrennungen 3. Grades der Haut nach Anwendung des HIFUS.

Die Vorteile des MRg HIFUS im Vergleich zu anderen ablativen Verfahren zur Behandlung des Mammakarzinoms sind die Visualisierung und Echtzeit Überwachung des Behandlungsgebiets mit Hilfe des MRT sowie die nicht invasive Therapiemöglichkeit. MRg HIFUS hat das Potential als nicht invasive Therapieoption die Mastektomie bei gewählten Indikationen zu ersetzen [69].

Prostatahyperplasien

Behandlungen der benignen Prostatahyperplasie wurden bereits 1993 mittels HIFUS unter sonographischer Kontrolle vorgenommen. Am häufigsten werden endorektale Sonden genutzt mit denen entweder die gesamte Prostata ablatiert wird oder eine fokale Ablation erfolgt.

In einer Phase 1 Studie mit 8 Patienten wurde ein extrakorporaler HIFUS unter sonographischer Kontrolle in der perinealen Region appliziert. Energiedichten lagen zwischen 2384-3676 W/cm² bei durchschnittlich 10 Sonifikationen während der Behandlung. Nach Applikation des extrakorporalen HIFUS wurden Prostataadenome enukleiert. Der HIFUS induzierte einen stark begrenzten, demarkierten Gewebsuntergang in der Prostata. Die Behandlung war mit keinen Komplikationen verbunden. Die Darstellung des Zielgewebes war unter sonographischer Kontrolle nicht möglich, da es zu Streuungen durch den HIFUS kam, die den diagnostischen Ultraschall übersteuerten und so lediglich ein weißes Bild im B-Mode zusehen war. In naher Zukunft sind weitere Verbesserungen beim Einsatz des HIFUS auf diesem Gebiet zu erwarten [70].

Hepatozelluläre Karzinome

Therapie der Wahl bei hepatozellulären Karzinomen ist die chirurgische Entfernung. Hohe Inzidenzraten und niedrige Erfolgsraten nach multipler chirurgischer Tumorentfernung führten zur Entwicklung weniger invasiver- lokaler ablativer Therapien. Perkutane Ethanolinjektion, Radiofrequenz- Mikrowellen- und Laserablationen sowie Kryotherapie werden eingesetzt. Eine nicht invasive Alternative zu den genannten Verfahren ist der MRg HIFUS. In tierexperimentellen Studien an der Leber konnten gut abgegrenzte, demarkierte Koagulationsnekrosen mit irreversiblen Untergang von Tumorzellen und Verletzungen der Blutgefäße des Tumors festgestellt werden. Bei einem weiteren Experiment an Schweinen wurde ein Respirator eingeführt um die Bewegung der Leber zu minimieren. So konnten akkurate thermosensitive Sequenzen mit Hilfe der Protonenresonanzfrequenz erstellt werden und Temperaturänderungen überwacht werden. Nach gezielten Sonifikationen des tumorösen Gewebes verifizierten kontrastmittelverstärkte MR Sequenzen und pathologische Auswertungen, dass große Gewebevolumen ablatiert werden konnten.

Die akkurate Behandlung durch thermosensitive Überwachung, die nicht invasive Therapie und die Möglichkeit der kostengünstigen ambulanten Behandlung könnten zu signifikanten Veränderungen bei der Behandlung des hepatozellulären Karzinoms führen. Für die Zukunft müsste die Bewegung der Leber zu einem Minimum reduziert werden, damit eine akkurate thermometrische Überwachung gewährleistet werden kann. Des Weiteren müsste das Schallfenster zur Applikation des HIFUS erweitert werden, da derzeit Großteile der Leber auf Grund der Rippenbögen nicht zugänglich sind [71].

Knochenmetastasen

Nach Lunge und Leber ist Knochen das dritthäufigste Metastasenorgan. Eine Linderung der Schmerzsymptome ist bei Knochenmetastasen das Hauptziel. Die meisten medikamentösen Therapien sind dabei nicht lang anhaltend, mit Nebenwirkungen verbunden oder müssen über einen langen Zeitraum verabreicht werden. 15 Patienten mit Knochenmetastasen wurden mit dem MRg HIFUS behandelt. Zunächst wurden subtherapeutische Sonifikationen zur akkuraten Verifizierung des Fokuspunkts in das Weichteilgewebe um den Knochen appliziert. Nach Feststellung eines geringen Temperaturanstiegs am Fokuspunkt wurden therapeutische Sonifikationen auf das Weichteilgewebe von Knochenmetastasen appliziert. Jede Sonifikation wurde dabei mit Echtzeit MR Sequenzen mit Hilfe der Protonenresonanzfrequenz überwacht. Sonifikationen lagen zwischen 19-95 W und 11-30 Sonifikationen wurden pro Patient appliziert bei einer durchschnittlichen Interventionsdauer von 80 min. Nach der Behandlung wurden T1 gewichtete kontrastmittelverstärkte MR Sequenzen angefertigt, um das ablatierte Areal zu evaluieren. 3 Tage, 2 Wochen und 1,3 und 6 Monate wurden die Pa-

tienten überwacht. Patienten mussten dabei einen Schmerzfragebogen ausfüllen und Veränderungen in der Einnahme von Analgetika wurden kontrolliert.

Es kam zu keinen unerwünschten Nebenwirkungen aufgrund der Anwendung des HIFUS. Auswertungen des Schmerzfragebogens und der Einnahme von Analgetika zeigten eine klare Schmerzreduktion seitens der behandelten Patienten. Der nicht invasive MRg HIFUS erzielte eine lokale Analgesie durch thermale Ablation des Weichteilgewebes von Knochenmetastasen und könnte in Zukunft eine alternative Therapieoption bei Knochenmetastasen darstellen [72].

Hämostase

Eine Arbeitsgruppe der Universität Washington hat sich über Jahre hinweg mit der Anwendung des HIFUS zur Hämostase beschäftigt. Versuche zur intraoperativen Hämostase unter visueller Kontrolle und zur Hämostase bei traumatischen Verletzungen unter sonographischer Kontrolle wurden durchgeführt.

In präklinischen Studien an Kanninchen wurden Trauma-bedingte Leberschäden verursacht, die intraoperativ mit einem Titan-HIFUS Applikator mit einer Energiedichte von 2000 W/cm^2 behandelt wurden. Nach 15 min HIFUS Anwendung konnte eine komplette Hämostase festgestellt werden. Des Weiteren entstand ein Koagulum an der Wundseite, das zusätzlich zu einer effektiven Hämostase der parenchymalen, arteriellen und venösen Verletzungen beitrug.

Erste Versuche zur Hämostase bei traumatischen Verletzungen unter sonographischer Kontrolle wurden an großen Schweinegefäßen durchgeführt. Aorta abdominalis, Femoralarterien und die Jugularvene wurden chirurgisch freigelegt, punktiert und anschließend unter Dopplersonographie mit HIFUS behandelt. Unter Dopplersonographischer Kontrolle konnte eine komplette Hämostase 13 sec nach HIFUS Applikation festgestellt werden. Auf Grund der Kombination aus HIFUS und Dopplersonographischer Kontrolle konnte eine zielgenaue Einsetzung des HIFUS an der Punktionsstelle gewährleistet werden.

Weitere Versuche am Schwein mit Echtzeit Ultraschall ermöglichten die Darstellung des hyperechogenen Gewebes im B-Mode während der fokalen Applikation des HIFUS. Dabei wurden verschiedene Blutungen in der Tiefe des Gewebes ausgelöst. Die Blutung einer 4 cm tiefen, 0,5 cm langen Verletzung der Arterienwand wurde mit einem 1,1 MHz starkem Schallgeber innerhalb von 70 sec gestillt. Die Ergebnisse zeigten, dass HIFUS ein effektives Mittel zur Behandlung von unzugänglichen Blutungen sein kann [73].

Arterielle Okklusion

Versuche zur renalen arteriellen Okklusion mittels HIFUS wurden an 9 Kaninchen durchgeführt. Flow-sensitive Echogradientsequenzen wurden zur Darstellung der Nierenarterien genutzt.

Testsonifikationen mit 7 W wurden in das perivaskuläre Gewebe appliziert. In einem vorherigen Versuch konnte festgestellt werden, dass es zu einer Reduktion bis Unterbrechung des Blutflusses bei einer Energiedichte von 4400 W/cm^2 kommt. Der HIFUS wurde auf einen Zweig der Nierenarterie mit 0,6 mm Durchmesser appliziert. Mit einer Energiedichte von 6500 W/cm^2 und einer Dauer von 1 sec wurde der HIFUS am proximalen Teil des Gefäßes appliziert. Nach jeder Applikation wurden erneut Flow-sensitive Echogradientsequenzen durchgeführt, um den Blutfluss zu kontrollieren. Bei bestehendem Blutfluss wurden weitere Sonifikationen mit gleicher Einstellungen, an gleicher Stelle an der Arterie appliziert. Konnte eine Reduktion des Blutflusses festgestellt werden, applizierte man 10 sec lang mit 2800 W/cm^2 an einer weiter distal gelegenen Lokalisation. Dies geschah in 3 bis 4 Reihen an der Arterie, wobei in jeder Reihe 3 bis 4 Sonifikationen appliziert wurden. Temperaturanstiege wurden mit Hilfe der Protonenresonanzfrequenz (siehe 2.3.2 MR Thermometrie) gemessen. Sieben Tage post Intervention wurde Kontrastmittel in die Niere appliziert und ein MR-Angiogramm der Niere angefertigt.

Bei 7 von 9 behandelten Kaninchen konnte ein keilförmiger Verschluss der Nierenarterie festgestellt werden. Bei 2 Kaninchen kam es zu einem Durchbruch der Arterienwände. HIFUS kann kleinere Arterien verschließen und zeigt dadurch großes Potential für die Traumatologie. Ein Problem stellt weiterhin die lange Interventionsdauer dar, die bei dieser Studie durchschnittlich 4 h betrug [74].

Weitere Anwendungsmöglichkeiten des MRg HIFUS

Ein weiteres potentiell Anwendungsbereich des MRg HIFUS stellt die renale sympathische Denervation dar. Sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien könnten perkutan mit hochfokussierten Ultraschallwellen degeneriert werden.

Ziel dieser Studie war es die technische Machbarkeit, die Effektivität und Sicherheit des MR gesteuerten hochintensiven fokussierten Ultraschalls zur renalen sympathischen Denervation im Schweinmodell zu evaluieren.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Im folgenden Versuch wurden 10 männliche kastrierte Schweine der Rasse Deutsche Landrasse verwendet. Diese stammten aus dem Betrieb H.G.E Service GmbH Langerwisch, Kirschallee 32, 14552 Michendorf. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere betrug zum Zeitpunkt der Intervention 27 ± 2 kg und das Alter ca. 3 Monate. Gründliche Kontrollen des gesundheitlichen Zustandes und des Wohlbefindens erfolgten regelmäßig. Es handelte sich bei den Schweinen um herkömmliche, normotone Hausschweine.

3.2 Tierhaltung

Die Schweine wurden in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum zu zweit gehalten. Die Boxengröße betrug $9,2 \text{ m}^2$ mit einem 2 m^2 großen Fenster. Zusätzlich wurde ein Lichtregime von morgens um 5 Uhr bis abends um 17 Uhr eingeschaltet. Die Boxen wurden mit Allspan® Hobelspänen (Allspan Spanverarbeitung GmbH, Karlsruhe, Deutschland) eingestreut und 1 bis 2 Mal wöchentlich komplett ausgewechselt. Die Reinigung der Boxen erfolgte zweimal täglich. Neben der Hobelspäne bat man etwas Stroh und Heu, Bälle, Ketten, Kaustangen, sowie wöchentlicher Auslauf auf dem Gang zur Beschäftigungstherapie an. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich mit Mast Solo S1 pelletiert (Agravis Raiffeisen AG, Münster, Deutschland), ca. 1 kg Futter pro Tier pro Tag bei einem Gewicht zwischen 25 und 40 kg. Des Weiteren erhielten die Tiere 1-2 Äpfel pro Tier pro Tag. Einmal wöchentlich wurden die Tiere gewogen.

3.3 Narkose und Tierpräparation

Narkoseeinleitung

Für die Einleitung der Narkose wurden 5 ml Ketamin (Ketamin 10%®, 100 mg/ml, Bela Pharm GmbH Co KG, Vechta, Deutschland), 1 ml Midazolam (Dormicum®, 5 mg/ml, Roche Pharma AG, Grenzach- Wyhlen, Schweiz) und 1 ml Droperidol (Xomolix®, 2,5 mg/ml, Pro Strakan Pharma GmbH, Düsseldorf, Deutschland) als Mischspritze über eine Original Perfusor Leitung PE (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in die Nackenmuskulatur verabreicht. Nach etwa 15-20 min Wartezeit war es möglich einen Venenverweilkatheter (BD Venflon Pro 22 GA, BD Infusion Therapy AB, Helsingborg, Sweden) in eine lateral gelegene Ohrvene vorzuschieben. Dies geschah meist auf einer herkömmlichen Transportliege der tierexperimentellen Einrichtung. Nach Spülung des Venenverweilkatheters mit etwas NaCl-Lösung (NaCl 0,9% Braun Injektionslösung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), um die intravenöse Lage des Venenverweilkatheter sicher zustellen, wurden etwa 1-2 ml Propofol 2% (Propofol-Lipuro® 2%, 20 mg/ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) als Bolus in den Venenverweilkatheter verabreicht.

Tierpräparation

Zur weiteren Vorbereitung wurde das Tier auf die linke Körperseite gelegt. Die rechte Körperseite wurde von der letzten Rippe bis hin zur Flanke und auf Höhe der Querfortsätze der Lendenwirbel bis zur Gesäugeleiste gründlich rasiert, um thermale Hautläsionen aufgrund akustischer Kopplung mit den Borsten, beim Einsatz des HIFUS zu vermeiden. Im Anschluss wurde das Tier gewogen und zum MRT 2 der Klinik für Radiologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, transportiert.

Narkose

Für die Dauer der MRg HIFUS Intervention wurde die Propofol Narkose mit Hilfe eines Perfusorautomaten (IVAC® P 4000 Anästhesie- Spritzenpumpe, Cardinal Health, Baesweiler, Deutschland) aufrecht erhalten. Für die Propofol Applikation wurde eine 50 ml Perfusorspritze (Original Perfusor® Syringe 50 ml Luer lock, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) mit 5 Original Perfusor Leitungen (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verbunden und diese am Venenverweilkatheter der Ohrvene über einen 3-Wege Hahn befestigt. Ein weiterer Perfusorautomat IVAC® P 4000 Anästhesie- Spritzenpumpe (Cardinal Health, Baesweiler, Deutschland) mit einer 50 ml Perfusorspritze (Original Perfusor® Syringe 50 ml Luer lock, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurde mit 5 Original Perfusor Leitungen PE (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verbunden und ebenfalls am Venenverweilkatheter befestigt. Dieser Perfusorautomat diente zur späteren Applikation des Fentanyl (Fentanyl-Janssen®, 0,5 mg/ml, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) zum Zeitpunkt der Applikation der Sonifikationen, da man Schmerzen während der Behandlung mit dem MRg HIFUS nicht mit Sicherheit ausschließen konnte. Für die Sauerstoffzufuhr wurde eine Konstruktion aus einem herkömmlichen Plastikbecher gebaut, der um den Rüssel des Schweins passte, das Sauerstoffgerät wurde auf 3 l/min eingestellt.

Die Überwachung der Sauerstoffsättigung und des Pulses erfolgte mit Hilfe eines Pulsoxymeters (7500 fiber optic pulse oxymeter, Nonin Medical, Plymouth, Minnesota, USA) an der Phalanx distalis des Os metacarpale V am Übergang vom Horn zur Epidermis.

3.4 MRg HIFUS Intervention

Die Intervention bestand aus der korrekten Lagerung der Versuchstiere auf dem HIFUS-System, der MRT-basierten Therapieplanung, sowie der korrekten Anwendung des HIFUS. Die verwendeten MRT Protokolle finden sich in Tabelle 1. Zum besseren Verständnis der HIFUS Intervention werden zunächst Aufbau und Funktion des HIFUS erklärt.

Tab. 1 MRT Protokoll der MRg HIFUS Intervention

MRT Therapieplanung	T2 gewichtete fettgesättigte (T2-w FSE) sagittal, koronar, transversal TR/TE 2700/102 ms, ETL 20, Bandbreite 15,6 kHz, FOV (Field of view) 36 cm, matrix 256x256, NEX 1,5, SL 4 mm
MR Thermometrie	Fast spoiled gradient-recalled-echosequence (FSGRE), TR/TE 26,4/13,1 ms, flip angle 30°, Bandbreite 5,7 kHz, matrix 256x128, FOV 36cm, SL 3-5 mm
Kontrollaufnahmen post HIFUS	T2-w FSE fettgesättigte TR/TE 2700/101 ms, ETL 20, Bandbreite 15,6 kHz, FOV 36 cm, matrix 256x256, NEX 1,5, SL 4 mm
MR Angiographie	T1w kontrastmittelverstärkte MR Angiographie FGRE 3D, TR/TE 3,45/1,2 ms, SL 1 mm, Bildfrequenz 63,8 kHz, pixel Bandbreite 420, FOV 36 cm, matrix 384x376, flip angle 25°

3.4.1 Aufbau des HIFUS

Die Ultraschall Einheit Exablate 2000 (Insightec, Haifa, Israel) ist in einem in der Diagnostik eingesetzten 1.5 Tesla MRT (Signa, General Electric Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin)

sin, USA) integriert. Die Ultraschall Einheit ist in ein 83 x 34 x 11 cm großes Becken eingebettet, das mit entgastem Wasser gefüllt und mit einer Polyvinylchlorid Membran bedeckt ist. Auf dieser Membran liegt ein Gel Pad und entgastes Wasser, das durch thermische Entgasung keinen Sauerstoff und Kohlendioxid Anteil mehr besitzt, um die akustische Kopplung des Patienten, in diesem Falle des Schweins, auf der Membran zu gewährleisten. Es war darauf zu achten, dass zwischen den Schichten keinerlei Luftblasen vorhanden sind, da diese zu Hautläsionen durch akustische Impedanzsprünge führen können.

Der Ultraschallkopf kann in longitudinale und horizontale Richtung bewegt und in beide Richtungen bis zu 20° geneigt werden. Die Ultraschalltiefe liegt zwischen 5-22 cm, die Größe des Fokuspunkts (Spot) zwischen 2 x 2 x 4 mm – 6 x 6 x 45 mm. Die maximale Energie, die vom Schallgeber abgegeben werden kann, liegt bei 1.300 Watt bei einer Frequenz zwischen 1-1,5 MHz [75].

3.4.2 Funktionsweise des HIFUS

Die Ultraschallwelle ausgehend von einem Schallgeber außerhalb des Körpers muss verschiedenste Gewebeschichten des Körpers (z.B. Haut, Muskel und Fett) durchdringen, um am Zielgewebe anzukommen. Bei jeder Gewebeoberfläche wird ein Teil der Energie der Schallwelle reflektiert, während der andere Teil der Energie übertragen wird [76].

Der Übertragungskoeffizient hängt dabei von den unterschiedlichen akustischen Impedanzen der Gewebe ab. Diese sind das Produkt aus der Dichte, der Geschwindigkeit der Schallwelle zwischen den Gewebeschichten und deren Dicke. Oberflächen zwischen Geweben mit ähnlichen akustischen Eigenschaften haben einen fast einheitlichen Übertragungskoeffizienten, was dazu führt, dass fast keine Energie der Schallwelle reflektiert wird [76].

Die meisten Gewebe im menschlichen Körper haben ähnliche akustische Eigenschaften wie Wasser. Ausnahmen bilden dabei Fett, Luft und Knochen. Wasserartige Gewebe sind deshalb ideal für die Übertragung der Ultraschallwelle von Schallgeber zum Zielort, da es so nur zu sehr geringen Reflektionen der Energie an den Gewebeoberflächen kommt [76].

Des Weiteren wird beim Durchdringen des Ultraschalls durch eine spezifische Gewebeschicht durch Scherkräfte Reibungswärme hervorgerufen, die auf Grund von Druckschwankungen nur innerhalb des Gewebes entsteht. Teile dieser mechanischen Energien werden in Wärme umgewandelt. Diese Wärme wird als primärer Mechanismus der Ultraschall-induzierten Hyperthermie gesehen. In einem inhomogenen Medium, werden kleinere Regionen mit anderen akustischen Eigenschaften, die auftreffende Ultraschallwelle in verschiedene Richtungen streuen. Der Verlust der auftreffenden, akustischen Energie eines Mediums wird durch seinen Abschwächungskoeffizienten gekennzeichnet [76].

Für die meisten Gewebe gilt ein potentieller Zusammenhang zwischen Abschwächungskoeffizienten und Ultraschallfrequenz. Diese Abhängigkeit zwischen Abschwächung und Frequenz führt dazu, dass sich Ultraschall auf dem Gebiet der nicht invasiven Therapiemöglichkeiten gut eignet und gleichzeitig aber auch Herausforderungen birgt. Anders als bei anderen hyperthermischen physikalisch-technischen Verfahren, wie zum Beispiel der Radiofrequenzablation, ist die Abschwächung des Schalls in Wasser-ähnlichen Medien bei Ultraschallfrequenzen gering genug, sodass adäquate Energieniveaus in der Tiefe des Gewebes durch andere Gewebe hindurch erreicht werden können [76].

Eine Erhöhung der Ultraschallfrequenz führt zu einer potentiellen Erhöhung des Absorptions- und Abschwächungskoeffizienten. Dies führt wiederum zu einer höheren Wärmeabgabe, aber gleichzeitig auch zu einer niedrigeren Eindringtiefe des Ultraschalls. Die optimale Wahl der therapeutischen Ultraschallfrequenz ist daher indikationsabhängig und stellt einen Kompromiss zwischen Wärmeentwicklung und Eindringtiefe dar [76].

Parametereinstellungen für diese Intervention wurden anhand des bestehenden Protokolls für die Behandlung des Uterusmyoms der Klinik für Radiologie der Charité übernommen [9]. Die maximale akustische Power lag zwischen 100 und 166 W, mit durchschnittlichen Werten von 133 W. (siehe Tab. 3)

3.4.3 Tierpositionierung im MRT

Im Anschluss an eine standardmäßige Gerätekalibrierung, bei dem das System von einem Phantom ausging, dessen Schalldurchlässigkeiten bekannt sind, wurde das Schwein in rechter Halbseitenlage auf den MRT Tisch mit integriertem oben beschriebenen Becken gelegt. Vom kaudalen Ende der letzten Rippen bis hin zum Tuber coxae wurde das Schwein in das Becken positioniert. Eine ST Multipurpose Oberflächenspule (Philips Electronics, Eindhoven, Niederlande) wurde um das Schwein herumgelegt.



Kontaminationen des Beckens mit Schmutz oder Borsten mussten vermieden werden, da es sonst zu thermalen Hautläsionen durch akustische Impedanzsprünge kommen konnte.

Abb. 2: Schwein 5 Tierpositionierung im MRT zur MRg HIFUS Intervention roter Pfeil zeigt Sauerstoffmaskenkonstruktion, grüner Pfeil Oberflächenspule, schwarzer Pfeil Venenverweilkatheter am rechten Ohr.

Abb. 2 zeigt Schwein 5 in rechter Halbseitenlage im 1,5 Tesla MRT. Die Oberflächenspule war im Bereich der letzten Rippe bis hin zum Tuber coxae des Schweins angebracht. Die Sauerstoffmaskenkonstruktion diente der ständigen Sauerstoffzufuhr unter bestehender Propofolnarkose über den Ohrvenenverweilkatheter.

3.4.4 MRT Therapieplanung

Es wurden T2 gewichtete Fast-Spin-Echo (FSE) Sequenzen in allen drei Schnittebenen (sagittal, koronar, transversal) angefertigt, um die Lage der Nierenarterie zum integrierten HIFUS zu bestimmen. Diese Aufnahmen sind nötig, um mit Hilfe der System Software Planungsbilder zur genauen Applikation der Sonifikationen am Tier zu erstellen. Durch die gegebene Halbseitenlage des Tiers resultierten parasagittale und parakoronare Ebenen.

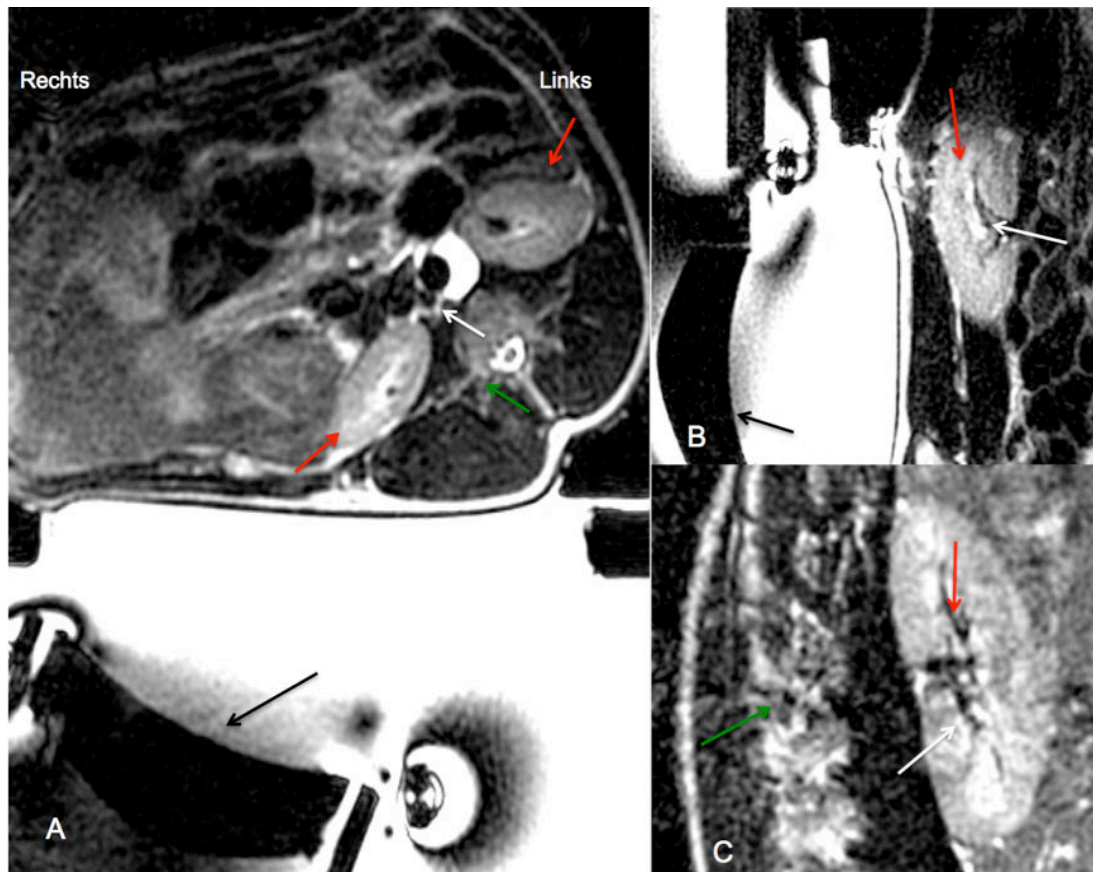


Abb. 3: Schwein 3 T2w FSE transversal (A), parasagittal (B), parakoronar (C) roter Pfeil zeigt auf die rechte Niere, weißer Pfeil auf die rechte Nierenarterie und schwarzer Pfeil auf den Schallgeber, grüner Pfeil auf den Lendenwirbel.

Alle drei genannten Ebenen dienen zur Orientierung und Planung des Schallgebers zur rechten Niere, Nierenarterie und den umliegenden Strukturen. In der transversalen Schnittebene (Abb. 3 A) ist der Abgang der Nierenarterie von der Aorta abdominalis gut sichtbar.

In den parasagittalen Sequenzen (Abb. 3 B) sind in der Umgebung der Niere Darmschlingen zu sehen, die bei der Planung der MRg HIFUS Intervention berücksichtigt werden mussten. HIFUS sollte nicht durch Darmteile appliziert werden, da es durch die vorhandene Luft im Darm zu akustischen Impedanzsprüngen kommen könnte, die Perforationen des Darms verursachen könnten. In den parakoronaren Sequenzen (Abb.3 C) ist der Schallgeber nicht zu sehen.

Im Anschluss wurden die Sequenzen der drei orthogonalen Ebenen auf die System Software des MRg HIFUS übertragen, zusammenhängend dargestellt und das Zielvolumen erfasst.

3.4.5 HIFUS Anwendung

Zur Gewährleistung genauer Fokussierung des HIFUS im Zielgewebe der Nierenarterie wurde eine Kalibrierung vor der Behandlung durchgeführt. Diese beinhaltete 1-5 Testsonifikationen in den M. longissimus lumborum. Nachdem der Temperaturanstieg am Fokuspunkt über die Echtzeit Protonenresonanzfrequenzmethode der MR-Thermometrie (siehe 2.3.2 MR-Thermometrie) festgestellt wurde, fokussierte man den HIFUS auf das renale, periarterielle Gewebe.

Zur renalen Denervation wurde die erste Sonifikation am Ostium der rechten Nierenarterie gesetzt. Die darauffolgenden Sonifikationen wurden in 5 mm Abstand überlappend, entlang der rechten Nierenarterie appliziert. Sonifikationsspot wurden visuell ausgewählt, um das gesamte periarterielle Gewebe abzudecken.

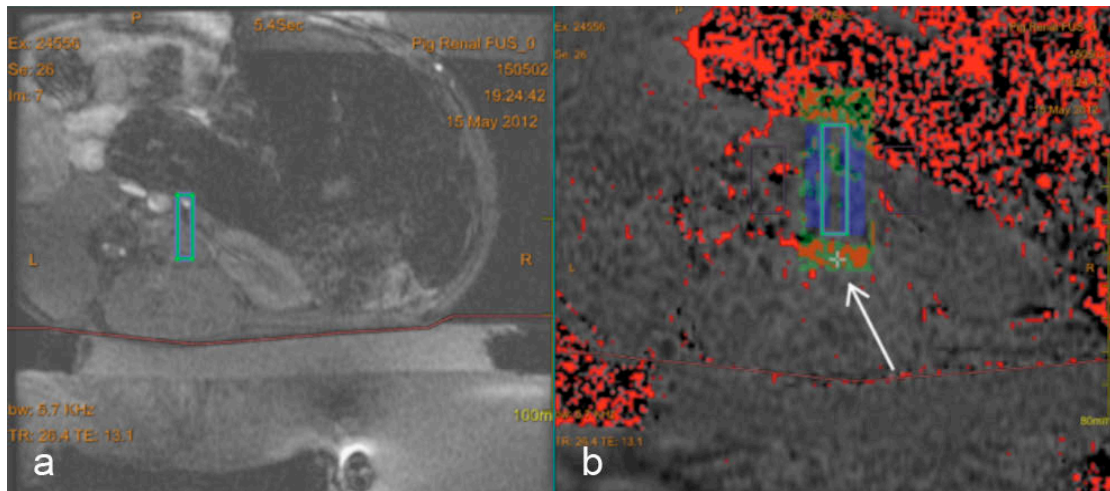


Abb. 4: Planungsbild Sonifikationen der rechten Nierenarterie Schwein 5. T2w FSE transversal Sequenz, türkiser Balken repräsentiert den Sonifikationsbereich (a). Echtzeit Fast spoiled gradient-recalled-echo (FSGR) Sequenz mit farbkodiertem Temperaturunterschied im Sonifikationsbereich (b).

Der Sonifikationsbereich (türkiser Balken) liegt in Abb. 4 a über der rechten Nierenarterie und beinhaltet das umliegende periarterielle Gewebe. Abb. 4 b zeigt Echtzeit Temperatursequenzen mit farbkodierten Temperaturunterschieden. Eine rote Färbung steht für hohe Temperaturen. Eine fokale Erhitzung im dorsalen periarteriellen Gewebe ist mit einem weißen Pfeil markiert.

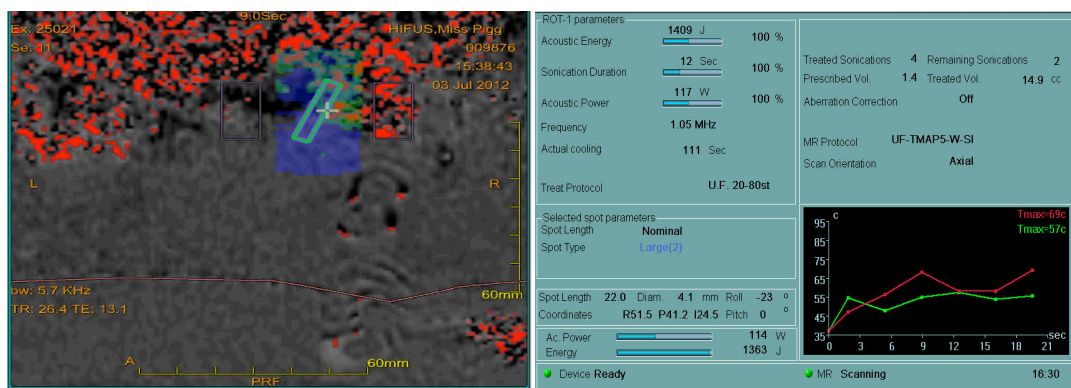


Abb. 5: Benutzeroberfläche des MRg HIFUS Systems. Linke Bildseite zeigt vergrößerte thermosensitive Darstellung eines sonifizierten Areals. Rechte Bildseite stellt die Sonifikationsparameter und Temperatur-Zeit Verläufe dar.

Der linke Bildabschnitt in Abb. 5 zeigt eine vergrößerte thermosensitive Darstellung eines sonifizierten Areals. Der türkise Balken stellt dabei das Areal dar, in dem eine Sonifikation appliziert wird. Der kreuzförmige Cursor ist der Messpunkt zu dem jeweilig der Graph und die genannten Parameter auf der rechten Seite angezeigt werden. Blau unterlegte Abschnitte auf dem Bild sind zuvor sonifizierte Areale. Rot unterlegte Abschnitte weisen auf einen Temperaturanstieg hin. Im rechten Abschnitt von Abb. 5 werden wichtige Sonifikationsparameter angegeben: die akustische Energie und Frequenz, Dauer der Sonifikation, Größe des Fokuspunkt und Anzahl der bereits erfolgten Sonifikationen. Neben diesen Informationen ist eine Temperaturkurve zu sehen in grüner und roter Farbe. Die rote Kurve stellt dabei ein Pixel dar, während die grüne Kurve mehrere Pixel über gemittelte Werte darstellt. Ähnliche Verläufe beider Kurven sind wünschenswert und zeigen, dass Pixel einzelner Sonifikationen im Mittel mit Pixel weiterer Sonifikationen übereinstimmen. Für jede einzelne Sonifikation

musste zuvor über ein solches Planungsbild wie in Abb. 5 genau vorgegeben werden, wo der Sonifikationsspot liegen sollte.

Schwein 1 und 2 wurden an rechter und linker Nierenarterie behandelt. Für die Behandlung der linken Nierenarterie mussten Schwein 1 und 2 in linke Halbseitenlage umgelagert werden. Schwein 1 und 2 erhielten neben den 1-5 Kalibrierungstestsonifikationen in den M. longissimus lumborum, auch 2-3 Therapeutische Sonifikationen in diesen Muskel mit durchschnittlichen Werten von 121 W (siehe Tab. 3). Diese Applikation therapeutischer Sonifikationen in die Lendenmuskulatur wurden vorgenommen um postmortal feststellen zu können, ob die applizierte Energie tatsächlich an der zuvor geplanten Stelle eingetroffen war. Des Weiteren wurden Schwein 1 und 2 direkt im Anschluss an die MRg HIFUS Behandlung euthanasiert, um die unmittelbaren Auswirkungen des HIFUS auf die Nierenarterien und das perivaskuläre Gewebe zu ermitteln.

Schwein 3 bis 9 wurden entlang der rechten Nierenarterien behandelt und erhielten nur Kalibrierungstestsonifikationen in den M. longissimus lumborum. Schwein 10 wurde bis zur Tierpositionierung im MRT gleich gehandhabt wie Schwein 1-9 jedoch im Anschluss an die Positionierung keiner HIFUS Behandlung unterzogen. Die Nutzung eines Sham Schweins sollte klären, ob sichtbare ödematöse Veränderungen auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention tatsächlich auf die Applikation von Sonifikationen zurückzuführen sind.

Die Interventionsdauer wurde als Intervall zwischen der ersten Planungssequenz und der letzten Kontrollsequenz post HIFUS Anwendung definiert. Die Präparation der Schweine, so wie die Positionierung des Schweins im MRT wurde nicht mit einberechnet.

Eine ausführliche Dokumentation von Testsonifikationen und therapeutischen Sonifikationen finden sich in Tabellen 2 und 3.

Tab. 2 Testsonifikationen Schwein 1-9 mit Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD).

Schwein	Sonifikationen	Power (W)	Energie (J)	Dauer (s)	Spot	Spot
					Länge (mm)	Durchmesser (mm)
1	3	26,3	525,3	20	17	4,1
2	5	25,8	514,8	20	17	4,1
3	2	39	465	12	24	4,9
4	2	33	319	12	24	5,6
5	2	30	599,5	20	26	6,4
6	1	27	542	20	26	6,4
7	2	25,5	507,5	20	26	6,4
8	2	30,5	614,5	20	27	6,4
9	3	23	463,3	20	27	6,4
MW	2,4	28,9	505,7	18,2	23,8	5,6
SD	1,1	4,9	87,3	3,5	4,0	1,0

Tab. 3 Therapeutische Sonifikationen Schwein 1-9. Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD).

Schwein	Sonifikationen	Power (W)	Energie (J)	Dauer (s)	Spot	Spot
					Länge (mm)	Durchmesser (mm)
1	15	100,4	2291,3	22	17	4,1
2	10	141,7	3208	22,8	28,2	6,6
3	8	146,6	1759,8	12	25,1	4,8
4	12	136,8	2355,5	17,2	27,8	5,8
5	7	165,6	3309,3	20	28,9	7,2
6	7	141,6	2827,1	20	26,9	6,6
7	9	103,3	2578,8	25	23,8	6,4
8	9	113,3	2755	23,9	27,5	6,2
9	11	147,2	2947,3	20	27,1	6,7
MW	9,8	132,9	2670,2	20,3	25,8	6,0
SD	2,6	22,2	485,5	3,9	3,7	1,0

3.4.6 Kontrollaufnahmen post HIFUS

T2w FSE Sequenzen in allen drei Schnittebenen (sagittal, koronar, transversal) post HIFUS dienten der Beurteilung des Gewebes nach Behandlung. Es sollte festgestellt werden, dass eine ausreichende Menge an Energie in das Zielgewebe eingetragen wurde und in welchem Ausmaß eine Gewebeablation stattgefunden hatte. Eine erfolgreiche Behandlung wurde angenommen, wenn Signalanhebungen in den T2w FSE Sequenzen im perarteriellen Gewebe der behandelten Nierenarterie zu sehen waren, als Zeichen eines Ödems und damit als Folge einer thermalen Gewebeablation durch den HIFUS. Schäden an Organen der Bauchhöhle sollten zudem ausgeschlossen werden.

3.4.7 MRT Verlaufskontrolle

Schwein 3-10 wurden nach 28 Tagen erneut wie in 3.3 beschrieben in Narkose gelegt und zur Klinik für Radiologie der Charité MRT 2 transportiert. Neben den T2w FSE Sequenzen wurden kontrastmittelverstärkte MR-angiographische und urographische T1 gewichtete dreidimensionale Gradientenchosen mit integrierter Fettsättigung angefertigt (siehe Tab. 1 MRT Protokoll). Ureterstenosen, Thrombosen, Hydronephrosen und andere mögliche Beschädigungen der nahegelegenen Organe sollten durch diese Untersuchung ausgeschlossen werden. Es wurden 15 ml Kontrastmittel (Dotarem® 0,5mmol/ml, Guerbet GmbH, Sulzbach, Deutschland) in den Venenverweilkatheter der Ohrvene appliziert. Repräsentativ für die MR-angiographische Untersuchung ist die Aufnahme von Schwein 6. Die angiographische Untersuchung war essentiell, um eine mögliche Beschädigung oder Verletzung der Nierenarterien- und venen sowie der Ureteren durch die MRg HIFUS Behandlung auszuschließen.

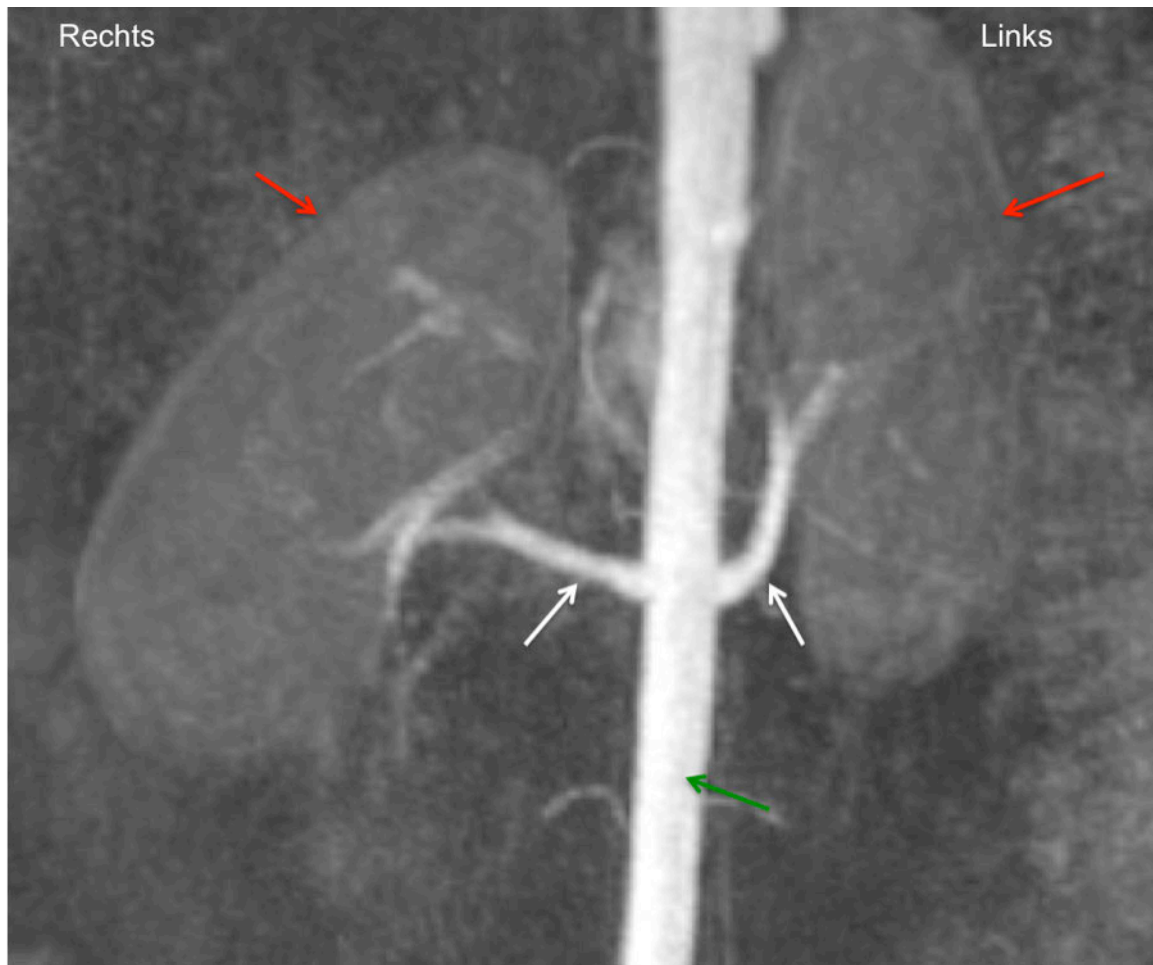


Abb. 6: Schwein 6 MR-Angiographie MIP (maximum intensity projection) koronar, rote Pfeile kennzeichnen die rechte und linke Niere, weiße Pfeile die rechte und linke Nierenarterie und grüner Pfeil die Aorta abdominalis.

3.5 Finalisierung

Die Finalisierung von Schwein 1 und 2 erfolgte im Anschluss an die MRg HIFUS Intervention in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Campus Virchow- Klinikum. Schwein 3 bis 10 wurden jeweils nach 28 Tagen nach Anfertigung der MR Angiographie in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Campus Virchow-Klinikum euthanasiert.

3.5.1 Organentnahme

Zunächst wurde unter bestehender Propofol Narkose, Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, 16g/100ml, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) in den Venenverweilkatheter der Ohrvene injiziert. Das Pentobarbital-Natrium rufte einen Atem- und Herzstillstand hervor. Zunächst musste der Herzstillstand mit Hilfe eines Stethoskop festgestellt werden, bevor die Bauchhöhle durch einen Schnitt entlang der Linea alba von der Regio abdominis cranialis bis zur Regio abdominis caudalis eröffnet wurde. Kaudal der letzten Rippen wurden beidseitig Entlastungsschnitte gesetzt, um sich eine bessere Übersicht der Bauchhöhlenorgane verschaffen zu können.

Nach Eröffnung der Bauchhöhle und Aufsuchen beider Nieren wurden diese samt Nierenarterien, Ureteren und Teilen der Aorta abdominalis entnommen. Ureteren und Nierenarterien mit dazugehörigem Teil der Aorta abdominalis wurden von den Nieren gelöst und in ein Probengefäß mit 4 % Formaldehyd (Formalin Solution 4%, Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) zur Fixierung gegeben.

3.5.2 Nierenhomogenisierung

Zur Bestimmung des Noradrenaliningehalts wurden linke und rechte Niere (ohne Nierengefäße) jeweils mit einer handelsüblichen Waage gewogen und deren jeweiliges Gewicht mit dem Faktor 5 multipliziert, um das benötigte Volumen an 1 % Ameisensäure (Avantor Performance Materials B.V, Deventer, Niederlande) zu ermitteln. Niere und Ameisensäure wurden zusammen in einem Gefäß mit einem handelsüblichen 750 W starken Pürierstab homogenisiert. Das Homogenisat wurde in 50 ml Probengefäße (BD Falcon 50 ml Polypropylene Conical Tube, BD Biosciences, Franklin Lakes, USA) gefüllt und bei - 18 °C in den Gefrierschrank gelegt.

3.5.3 Noradrenalinwertbestimmung

Die Bestimmung des Noradrenaliningehalts der Nieren wurde im Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH, Robert- Koch-Platz 4, 10115 Berlin durchgeführt. Die NoradrenalinKonzentrationen der Nieren wurde nach der Methodik von Bauch et al. mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und elektrochemischer Detektion ermittelt [77]. Zunächst wurde das Nierenhomogenisat abzentrifugiert. 2 ml des Überstandes wurden mit 1 ml der Lösung A (2 mol/l Ammoniumchlorid-/Ammoniumhydroxid; 8 mmol/l Diphenylborsäure-Ethanolaminkomplex; 13,4 mmol/l EDTA, pH 8,5 mit konzentrierter Salzsäure) und 5 ml der Lösung B (4,57 mmol/l Tetra-octyl-animoniumbromid in 25 % Chloroform und 75 % n-Heptan) versetzt und dreimal 20 sec auf dem Vortexer geschüttelt. Nach 15-minütiger Zentrifugation zur Phasentrennung wurde die obere, organische Phase abgenommen und in ein neues Gefäß überführt. 2 ml n-Okтанol und 0,5 ml einer 1 % Essigsäure wurden zu der organischen Phase hinzu gegeben. Dieses Gemisch wurde wiederum auf dem Vortexer dreimal für je 20 sec geschüttelt und anschließend 15 min lang zentrifugiert. Die obere, organische Phase konnte dann abgenommen und verworfen werden. Die untere, wässrige Phase wurde aus dem Gefäß entnommen und in ein Eppendorfgefäß überführt und bei 14.000 Umdrehungen/min, 10 min lang zentrifugiert. Das entstandene Gemisch wurde bis zur Analyse bei - 18 °C eingefroren. Durch dieses Vorgehen wurde das Noradrenalin in der Probe um den Faktor 4 aufkonzentriert.

Nach der Aufkonzentrierung des Noradrenalins wurde die Probe in eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) gegeben. Diese bestand aus einer Luna® C 18 Säule, 5 µm, 150 mm x 4.6 mm (Phenomenex®, Aschaffenburg, Deutschland), einer HPLC Pumpe (Waters 515, Waters Corporation, Milford, MA, USA) und einem Einspritzventil (Rheodyne® 7125 (Chromtech, Apple Valley, MN, USA) mit 50 µl Probenschlaufe. Der Detektor Chromsystems CLC 100 (Chromsystems, Gräfelfing, Deutschland) mit einer Glas Karbon Elektrode und einer Ag/AgCl- Referenzelektrode. Die Detektoreinstellungen waren wie folgt: Potential 0,8 V, Range 5 nA, Offset 0,01 V, Rise Time 2 sec. Als Fließmittel diente ein Gemisch aus 62,43 mmol/l Methansulfonsäure, 29,59 mmol/l Phosphorsäure, 0,093 mmol/l Octansulfonsäure und 0,097 mmol/l EDTA (Titriplex III). Der pH-Wert wurde mit 5 M NaOH auf 2,1 eingestellt. Die Fließrate betrug 1,3 ml/min isokratisch. Der erhaltene Messwert der unbekanntenen Proben wurde auf einen Standard mit bekannter NoradrenalinKonzentration bezogen.

3.6 Makroskopie

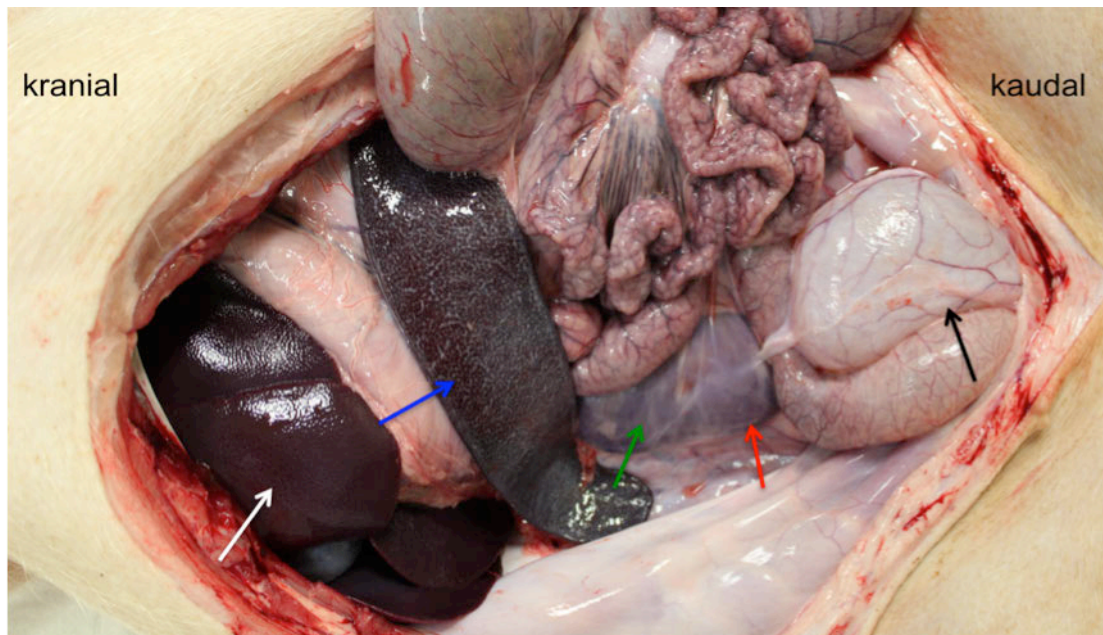


Abb. 7: Schwein 5 nach Eröffnung der Bauchhöhle. Grüner Pfeil zeigt auf die rechte Niere, roter Pfeil auf den Ureter, blauer Pfeil auf die Milz, weißer Pfeil auf die Leber. Schwarzer Pfeil zeigt auf die Blase.

Abb.7 zeigt die retroperitoneal gelegene Niere und weitere Organe des Abdomens nach Eröffnung des Schweins entlang der Linea alba. Beide Nieren wurden zur Bestimmung des Noradrenalingehalts entnommen und Nierenarterien- und -venen entfernt zur histologischen Weiterverarbeitung.

3.7 Histologische Untersuchung

Zur histologischen Untersuchung wurden Nierenarterien und -venen, Ureteren und Teile der Aorta abdominalis am Abgang der Nierenarterien in Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet.

3.7.1 Bestückung der Histologiekassetten

Nach einer ca. 48-stündigen Formalinfixierung (Formalin Solution 4%, Avantor Performance Materials B.V. Deventer, Niederlande) konnten Nierenarterien mit Teilen der Aorta und Ureteren zurechtgeschnitten und in rosafarbene Histologiekassetten gegeben werden. Die Kassetten wurden zuvor mit einem Drucker für Histologiekassetten (Leica IPC V1.8 Deutsch 06/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) bedruckt und gekennzeichnet.

Für die Zuordnung der Nierenarterienstücke in den Kassetten, musste eine skizzenhafte Zeichnung angefertigt werden, auf der erkennbar war, welche Stücke der Nierenarterien in den einzelnen Kassetten, die dazugehörige Lokalisation im Tierkörper hatten. Die Gewebestücke in den Kassetten durften eine Größe von 20 x 15 x 5 mm nicht überschreiten. Gleiche Vorgehensweise galt für die Ureteren und Teile der Aorta.

3.7.2 Einbettung der Gewebestücke

Für die Anfertigung sehr dünner Schnitte war es notwendig die zurechtgeschnittenen Gewebestücke mit Paraffin einzubetten. Die Einbettung der Gewebestücke übernahm hierbei ein Einbettautomat (Leica TP 1020, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutsch-

land), der die notwendigen Arbeitsschritte voll automatisch durchführte. Zunächst wurden die Präparate schrittweise mit einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Anschließend folgte Xylol als Intermedium. Im Anschluss wurden die Präparate mit Paraffin durchtränkt indem das Paraffin sich mit Xylol mischte und es dann ersetzte. Das Paraffin musste in flüssiger Form vorliegen und wurde auf ca. 60° C erhitzt [78].

3.7.3 Ausgießen der Präparate

Das modular individuell kombinierbare Einbettsystem (Leica EG 1150 H V 2.0 Deutsch 10/2002, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) mit dazugehöriger Kühlplatte (Leica EG 1140 C V1.3 Deutsch 03/2000, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland), ermöglichte es die Präparate in Stahlblechformen auszugießen. Die Einbettkassetten wurden geöffnet, die Gewebestücke aus der Kassette entnommen und auf den Boden der mit flüssigen Paraffin bedeckten Stahlblechformen gelegt. Der Deckel der Einbettkassetten wurde entfernt und der Kassettenboden auf die Stahlblechformen gelegt. Zur Härtung des Paraffins wurden die Stahlblechformen samt Kassetten auf die Kühlplatte gelegt und nach ausreichender Kühlung konnten die Paraffinblöcke aus der Stahlblechform entnommen werden.

3.7.4 Zuschneiden der Präparate

Die ausgehärteten Paraffinblöcke wurden in das Rotationsmikrotom (Leica RM 2125 V1.0 Deutsch 07/97, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) eingespannt und auf 5 µm Dicke zugeschnitten. Diese 5 µm dicken Schnitte wurden direkt in ein 40°C warmes Wasserbad (Leica HI 1210, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) gegeben und gleich im Anschluss auf einen Objektträger (Super Frost® Plus Objektträger, R. Langenbrinck Labor- und Medizintechnik, Emmendingen, Deutschland) gezogen. Die Objektträger wurden zuvor mit einem Aufkleberdrucker (Cognitive Cxi Labelprinter, Cognitive TPG Headquarters, Lincolnshire, USA) beschriftet. Bevor die Präparate gefärbt werden konnten, mussten sie trocknen. Dies erfolgte entweder durch eine 24-stündige Lufttrocknung oder eine 2-stündige Trocknung bei 37°C im Trockenschrank (Heraeus Kendro Laboratory Products, Langenselbold, Deutschland).

3.7.5 Histologische Färbungen

Der Fokus der Histologie lag auf der Erkennung möglicher Nervendegenerationen der sympathischen Nervenfasern im umliegenden Gewebe der Nierenarterien. Dementsprechend wurden in Absprache mit dem Institut für Neuropathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, geeignete histologische Färbungen ausgearbeitet, die eine Degeneration der Nervenfasern deutlich darstellen könnten. Die gängige Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung diente als gute Übersichtsfärbung der einzelnen Schnitte. Eine weitere Färbung, die Elastika van Gieson Färbung (EvG), wurde als Spezialfärbung genutzt um mögliche Fibrosierungen der Nervenfasern besser erkennen zu können.

Hämatoxylin- Eosin Färbung

Die in der Histologie standardmäßig verwendete HE Färbung ermöglichte einen guten Gesamtüberblick über das Gewebe. Die Färbung wurde von einem Färbeautomaten durchgeführt (Leica Auto Stainer XL V2.2 Deutsch 03/2009, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland). Das Färbeprotokoll entsprach den gängigen HE- Färbeprotokollen, wonach die Schnitte zunächst entparaffiniert und rehydratisiert wurden, bevor sie in Mayers-Hämatoxylin Lösung gegeben wurden. Anschließend erfolgte die Spülung unter fließendem Leitungswasser und daraufhin die Färbung mit 1 % Eosin Lösung. Zum Schluss folgte eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol. Hämatoxylin ist ein basischer Farbstoff und reagiert mit sauren Bestandteilen der Zellen wie den Nukleinsäuren des Zellkerns und dem rauen Endo-

plasmatischen Retikulum und färbte diese blau an. Das saure Eosin färbte die basischen Bestandteile der Zelle wie das Zytoplasma und die Interzellularsubstanz rot an.

Elastika van Gieson Färbung

Die Elastika van Gieson Färbung setzte sich aus der Weigerts-Eisenhämatoxylin, Pikrofuchsin nach van Gieson und der Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert zusammen.

Die Schnitte wurden zunächst entparaffiniert und rehydratisiert, bevor sie 20 min in die Resorcin-Fuchsin Lösung gegeben wurden. Nach kurzer Spülung mit destilliertem Wasser wurden sie 5 min in die Weigert'sche Hämatoxylin Lösung A + B gegeben, welche im Verhältnis 1:1 gemischt wurden. Es folgte eine erneute kurze Spülung unter fließendem Leitungswasser. Anschließend wurden die Schnitte in das Pikrofuchsin nach van Gieson gegeben. Daraufhin folgte eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol. Diese Färbung erlaubte eine genauere Differenzierung von nicht zellulären Bestandteilen. Elastische Fasern wurden violett- und kollagene Fasern rot angefärbt [79].

3.8 Blutdruckmessungen

Blutdruckmessungen wurden direkt vor Beginn jeder MRg HIFUS Interventionen und direkt im Anschluss durchgeführt. Unter bestehender Propofol Narkose wurde jeweils dreimal hintereinander am linken Hinterbein mit dem Gerät Dinamap Vital Daten Monitor 8100 (Critikon GmbH, Norderstedt, Deutschland) der Blutdruck gemessen und der Mittelwert sowie Standardabweichung ermittelt. Das Schwein lag hierfür in rechter Seitenlage auf einer Transportliege (Abb. 8).

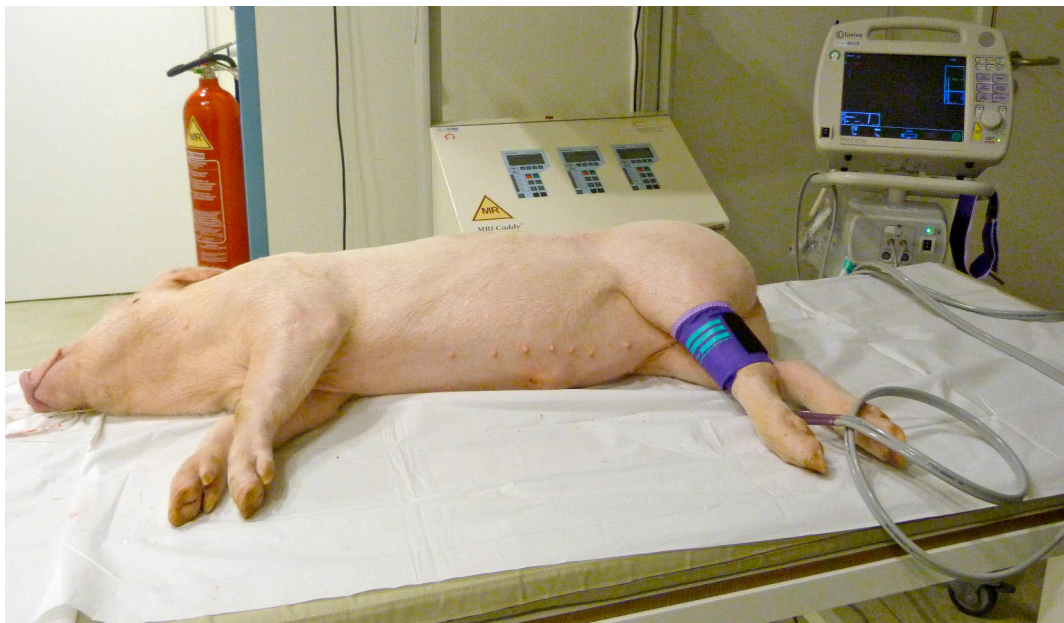


Abb. 8: Schwein 5 Blutdruckmessungen unter Propofol Narkose prä MRg HIFUS Intervention.

4 Ergebnisse

Ziel der Arbeit war es die Durchführbarkeit, Sicherheit, sowie die Wirksamkeit einer renalen Denervation mittels MRg HIFUS am Schweinemodell zu testen. Dafür wurden neben allgemeinen Daten, Signalanhebungen in T2w FSE Sequenzen, histologische Färbungen, NoradrenalinKonzentrationen in behandelten und unbehandelten Nieren und der Blutdruck der Tiere untersucht. Wenn nicht anders vermerkt, werden Daten mit Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

4.1 Allgemeine Daten

Insgesamt wurden für die Versuche zehn Schweine im Alter von ca. 3 Monaten verwendet. Das durchschnittliche Anfangsgewicht der Schweine am Tag der Intervention betrug $27,2 \pm 1,8$ kg Lebendmasse. Ein erneutes Wiegen kurz vor der Finalisierung nach $28 \pm 1,5$ Tagen ergab ein Lebendgewicht von durchschnittlich $42,6 \pm 4,9$ kg Lebendmasse, dies entspricht einer Zunahme des Gewichts von $15,4 \pm 3,1$ kg. Schwein 1 und 2, die direkt im Anschluss der MRg HIFUS Intervention euthanasiert wurden, hatten das gleiche Gewicht bei der Finalisierung wie zum Zeitpunkt der Intervention. Die Schweine 3 bis 10 wurden im Durchschnitt nach $28 \pm 1,5$ Tagen euthanasiert.

4.1.1 Technische Durchführbarkeit

Die Bildqualität der MRT Sequenzen war bei allen Schweinen ausreichend und erlaubte eine sehr gute Darstellung der Nierenarterien. Eine Planung der Sonifikationssots entlang der Nierenarterie konnte gut gewährleistet werden. Die Testschüsse, appliziert in den M. longissimus lumborum, führten bei Schwein 1-9 zu einem Temperaturanstieg und einer deutlichen Signalanhebung in den T2 gewichteten FSE Sequenzen bei Schwein 1 und 2, die ein Ödem im Bereich der Testschuss Applikation erkennen ließen. Eine Temperaturüberwachung mit thermosensitiven Sequenzen war im perivaskulären Gewebe der Nierenarterien aufgrund des umliegenden Fettgewebes nicht möglich. Die Interventionsdauer betrug $90,4 \pm 20,8$ min. Für die renale Denervation mittels HIFUS wurden durchschnittlich $9,8 \pm 2,6$ Sonifikationen mit einer akustischen Power von $132,9 \pm 22,2$ W in das perivaskuläre Gewebe der rechten Nierenarterien appliziert.

4.1.2 Sicherheit

Alle zehn Schweine waren vor, während und nach der Behandlung in einem den Umständen entsprechenden, guten gesundheitlichen Zustand. Es konnten bei der Organentnahme makroskopisch keine anatomischen und physiologischen Abweichungen festgestellt werden. Bei Schwein 7 zeigte sich, dass die linke Niere nicht angelegt war.

Die MRg HIFUS Intervention wurde von allen Schweinen sehr gut toleriert. Lediglich bei drei Schweinen kam es zu milden, fokalen Hautverbrennungen am Eintrittspunkt des Ultraschalls in der Regio abdominis caudalis (siehe Abb. 31).

4.2 Technischer Erfolg - MRT Visualisierung HIFUS-bedingter Veränderungen

Signalanhebungen in den T2w FSE Sequenzen entsprechen ödematösen Veränderungen infolge der Thermoablation durch den HIFUS. Post MRg HIFUS Intervention sind Ödembildungen in verschiedenen Lokalisationen zu sehen. Schwein 1-9 zeigen Signalanhebungen im Bereich periösär des Proc. transversus des Lendenwirbels. Perivaskuläre Signalanhebungen um die behandelte Nierenarterie sind bei insgesamt drei Schweinen festzustellen (siehe Tab. 4). Schwein 1 und 2 zeigen Signalanhebungen ebenfalls in der Muskulatur des

M. longissimus lumborum, da diesen Schweinen therapeutische Sonifikationen zwischen 130-160 W (siehe Tab. 3) in die Lendenmuskulatur appliziert wurden.

Tab. 4 Signalanhebungen Schwein 1-10 der T2w FSE Sequenzen transversal post Intervention.

Schwein	M.longissimus lumborum	Perioassär/Proc. transv.	Perivaskulär	Keine
1	x	x		
2	x	x		
3		x		
4		x	x	
5		x		
6		x	x	
7		x	x	
8		x		
9		x		
10				x

Tab. 4 zeigt die unterschiedlichen Lokalisationen der ödematösen Veränderungen durch die Thermoablation des HIFUS von Schwein 1 bis 10. Schweine 4, 6 und 7 weisen perivaskuläre sowie perioassäre Signalanhebungen auf. Auf den T2w FSE Sequenzen von Schwein 10 sind post MRg HIFUS Intervention keinerlei Signalanhebungen zu sehen, da es als Sham Schwein nicht behandelt wurde. Die Nutzung eines Sham Schweins sollte zeigen, ob sichtbare ödematöse Veränderungen auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention tatsächlich auf die Applikation von Sonifikationen zurückzuführen sind.

Nachfolgend werden die in Tab. 4 erwähnten Signalanhebungen in den unterschiedlichen Lokalisation anhand von T2w FSE Aufnahmen prä und post MRg HIFUS Intervention bildlich dargestellt.

M. longissimus lumborum und perioassär

Exemplarisch werden in Abb. 9 und Abb. 10 Bilder von Schwein 1 gezeigt. Schwein 2 wies ähnliche Veränderungen auf den MRT Sequenzen auf.

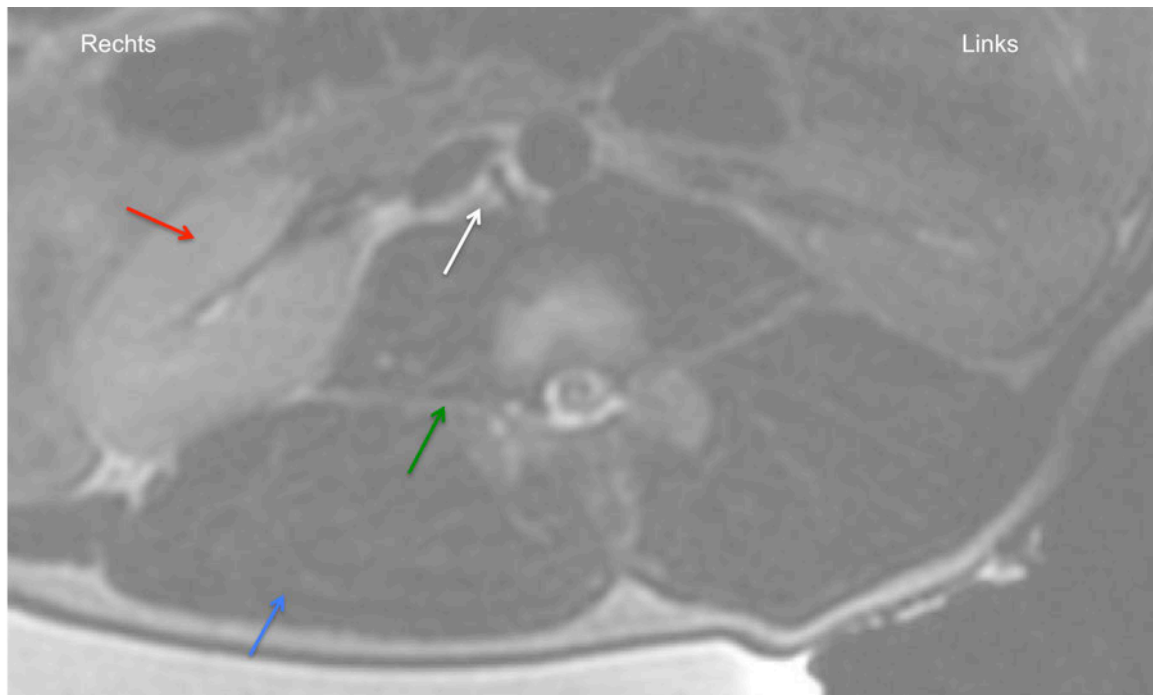


Abb. 9: Schwein 1, Planungs MRT, T2w FSE transversal prä Intervention. Roter Pfeil markiert die rechte Niere, weißer Pfeil die perivaskuläre Region der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den verhältnismäßigen langen Proc. transversus des Lendenwirbels und blauer Pfeil den M. longissimus lumborum.

Prä Intervention sind keinerlei Veränderungen der anatomischen Gegebenheiten oder Verletzungen von Gewebestrukturen zu erkennen.



Abb. 10: Schwein 1, T2w FSE transversal post Intervention, weiße Pfeile kennzeichnen die perivaskuläre Region der behandelten Nierenarterien, grüne Pfeile ödematös ver-

änderte Areale im Bereich der Querfortsätze des Lendenwirbels und blaue Pfeile Signalanhebungen des M. longissimus lumborum.

Ödematöse Veränderungen sind bei Schwein 1 und 2 beidseits im Bereich des M. longissimus lumborum und der Querfortsätze des Lendenwirbels und dessen umliegendem Gewebe sichtbar. Die ödematösen Veränderungen stellen thermische Gewebeschädigungen dar, die durch die MRg HIFUS Behandlung zustande gekommen sind. Perivaskulär, im Bereich der behandelten, rechten und linken Nierenarterien sind keinerlei Signalanhebungen zu erkennen, die auf eine thermische Gewebeschädigung hinweisen. Die Applikation der beiden Testschüsse mit therapeutischer Energie in den M. longissimus lumborum bei Schwein 1 und 2 sind auf den T2 FSE transversal Sequenzen in Form von ödematösen Veränderungen in Folge der Thermoablation durch den HIFUS deutlich sichtbar.

Perivaskulär und periostär

Perivaskuläre Signalanhebungen sind bei Schwein 4, 6 und 7 festzustellen (Abb. 11-12). Diese drei Schweine zeigen ebenso Signalanhebungen periostär des Proc. transversus. Die Aufnahmen von Schwein 6 sind repräsentativ, da Schwein 4 und 7 post Intervention ähnliche Veränderungen in gleicher Lokalisation aufweisen.

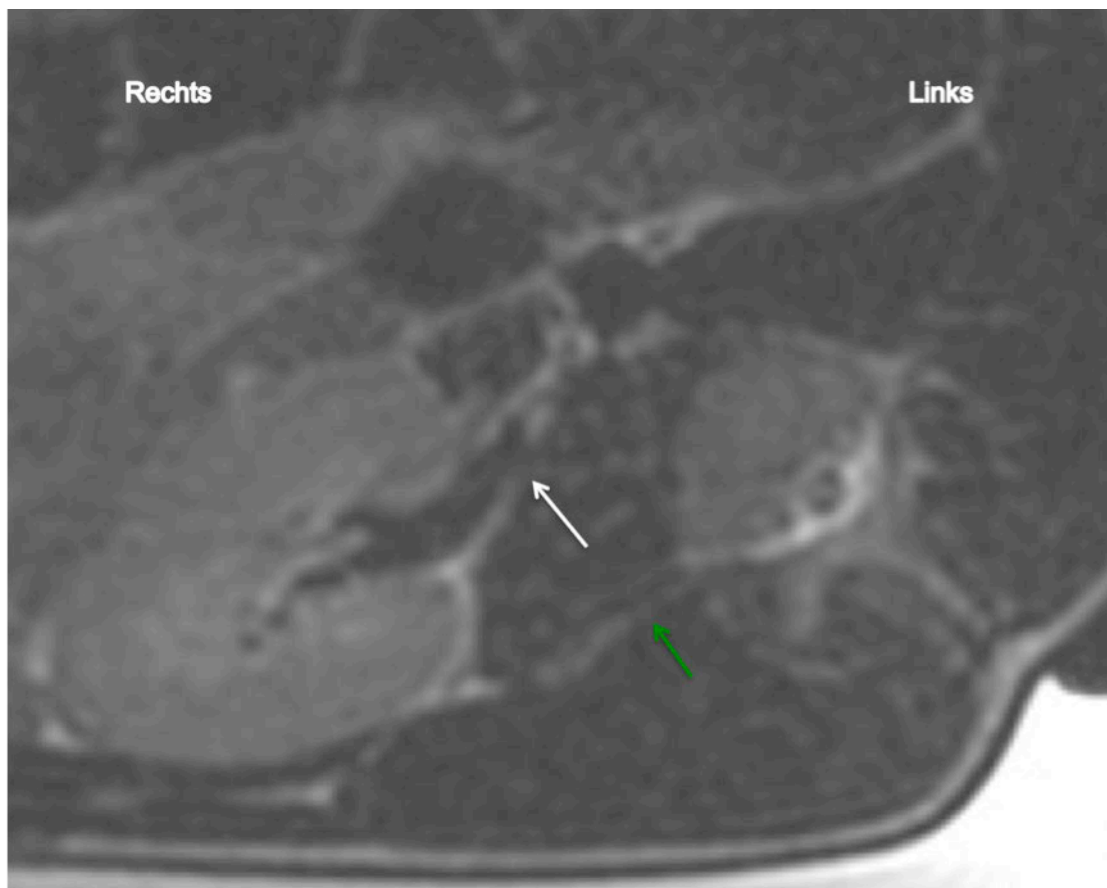


Abb. 11: Schwein 6 T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil zeigt auf den mit Fettgewebe ausgekleideten schmalen perivaskulären Raum der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil auf den Querfortsatz des Lendenwirbels.

T2w FSE Aufnahmen prä Intervention (Abb. 11) von Schwein 6 zeigen keinerlei ödematös veränderte Areale im perivaskulärem Gewebe der rechten Nierenarterie und um den Proc. transversus des Lendenwirbels.

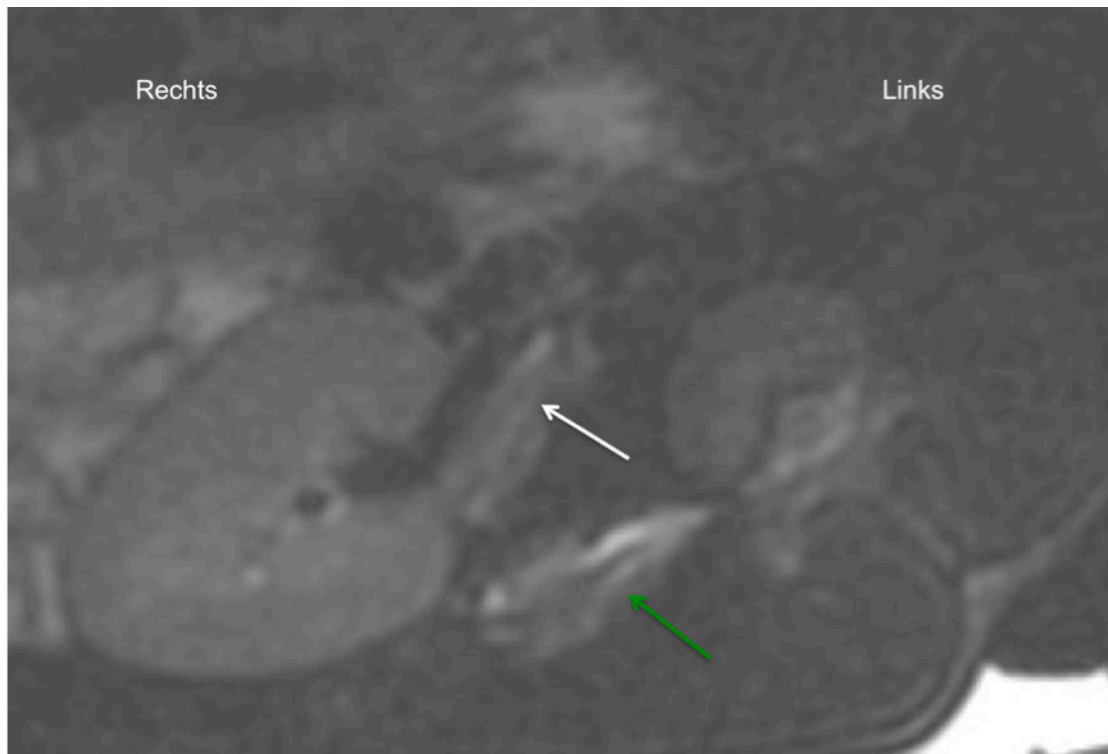


Abb. 12: Schwein 6 T2w FSE transversal post Intervention, weißer Pfeil deutet auf ödematös veränderte Areale perivaskulär der behandelten Nierenarterie als Therapieerfolg, grüner Pfeil auf ödematös veränderte Areale um den Querfortsatz des Lendenwirbels.

Post Intervention sind bei Schwein 4, 6 und 7 flächige Signalanhebungen perivaskulär im Bereich des sonifizierten Areals der rechten Nierenarterie zu erkennen (siehe Abb. 12). Diese Signalanhebungen können als Ödeme gewertet werden, die auf Grund von thermischen Gewebeschädigungen nach MRg HIFUS Behandlung entstanden sind. Ähnliche ödematöse Gewebemodifikationen sind im umliegenden Gewebe des Querfortsatzes des rechten Lendenwirbels zu sehen. Dieses Gebiet weist bei allen behandelten Schweinen lineare Temperaturveränderungen des Gewebes auf. Sonifikationen erreichen vor allem das periösäre Gebiet des Proc. transversus des Lendenwirbels.

Periösär

Wie in Tab. 4 beschrieben sind periösäre Signalanhebungen bei Schwein 1-9 festzustellen. Schwein 3, 5, 8 und 9 weisen ausschließlich periösäre ödematöse Veränderungen im Bereich des Proc. transversus auf. Diese sind exemplarisch in repräsentativen Aufnahmen von Schwein 5 gezeigt (Abb. 13 u. 14).

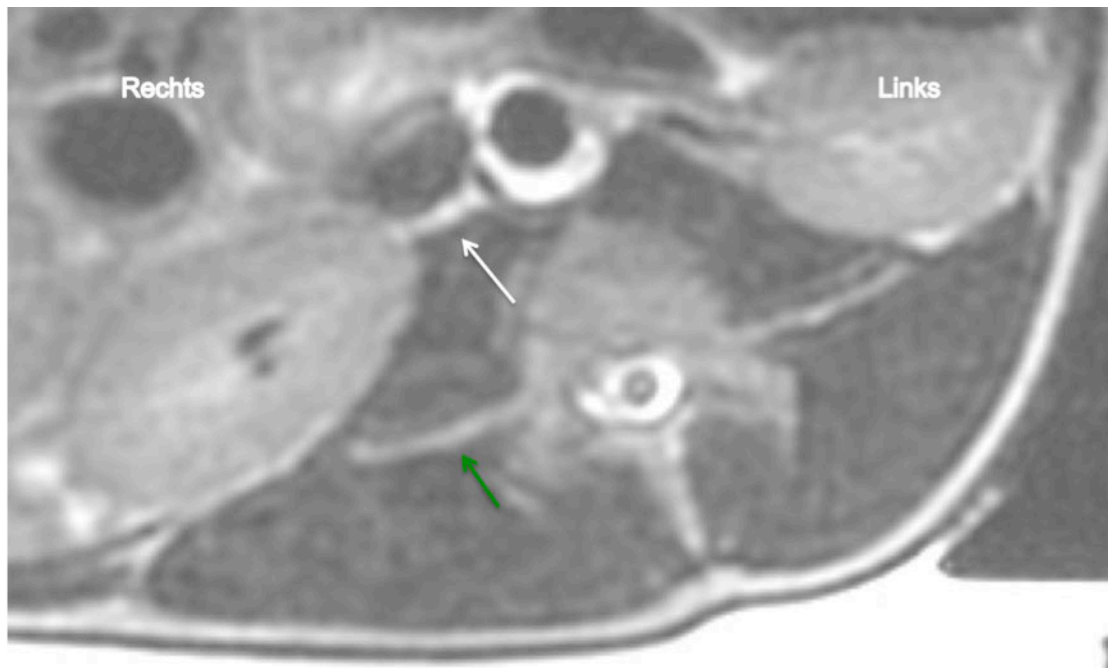


Abb. 13: Schwein 5 T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil markiert perivaskulären Bereich der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den Querfortsatz des Lendenwirbels.

Prä Intervention sind bei Schwein 5 im umliegenden Gewebe des Querfortsatzes des Lendenwirbels und perivaskulär um die rechte Nierenarterie keinerlei Modifikationen des Gewebes zu sehen (siehe Abb. 13).

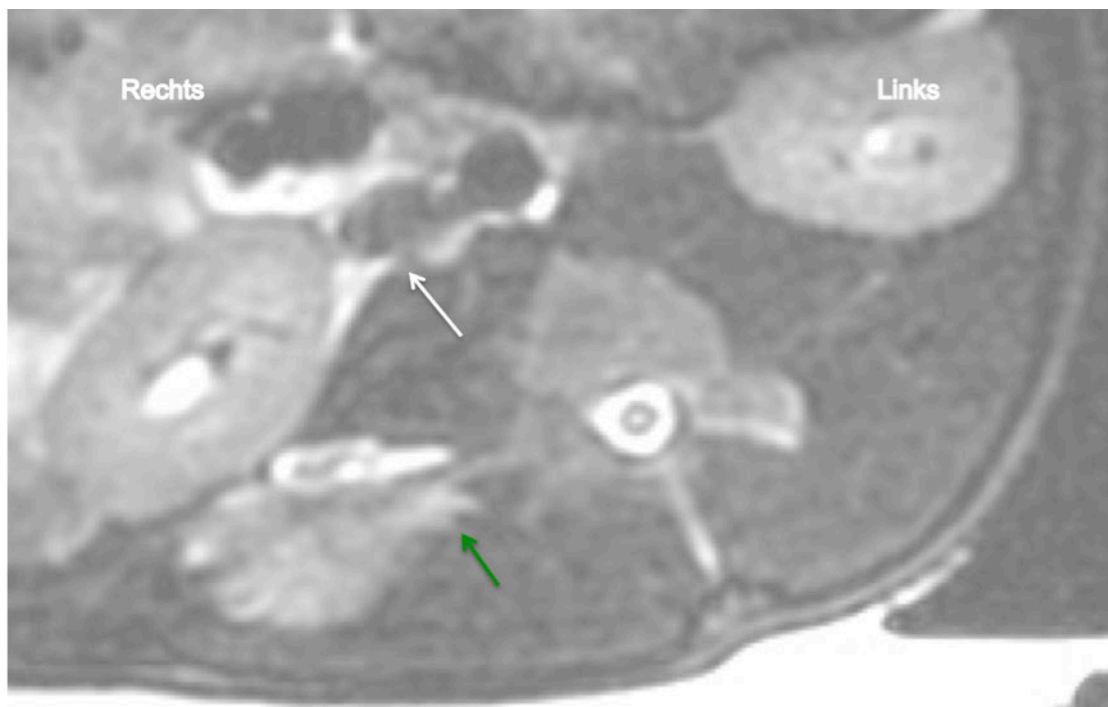


Abb. 14: Schwein 5 T2w FSE transversal post Intervention, weißer Pfeil zeigt auf perivaskuläre Areale der behandelten Nierenarterie, grüner Pfeil auf Signalanhebungen im Bereich des Querfortsatz des Lendenwirbels.

Post Intervention sind bei Schwein 3, 5, 8 und 9 flächige Signalanhebungen im umliegenden Gewebe des rechten Querfortsatzes des Lendenwirbels zu sehen. Perivaskulär der behan-

derten Nierenarterie sind jedoch keinerlei thermische Gewebeschädigungen zu erkennen (siehe Abb. 14).

Keine Veränderungen

Schwein 10 weist als Sham Schwein (siehe 3.4.5) keinerlei Veränderungen post Intervention auf und zeigt dadurch, dass die Signalanhebungen bei Schwein 1-9 tatsächlich auf die Behandlung mittels HIFUS zurückzuführen sind (Vgl. Abb. 15 und 16 mit Abb. 9-14).

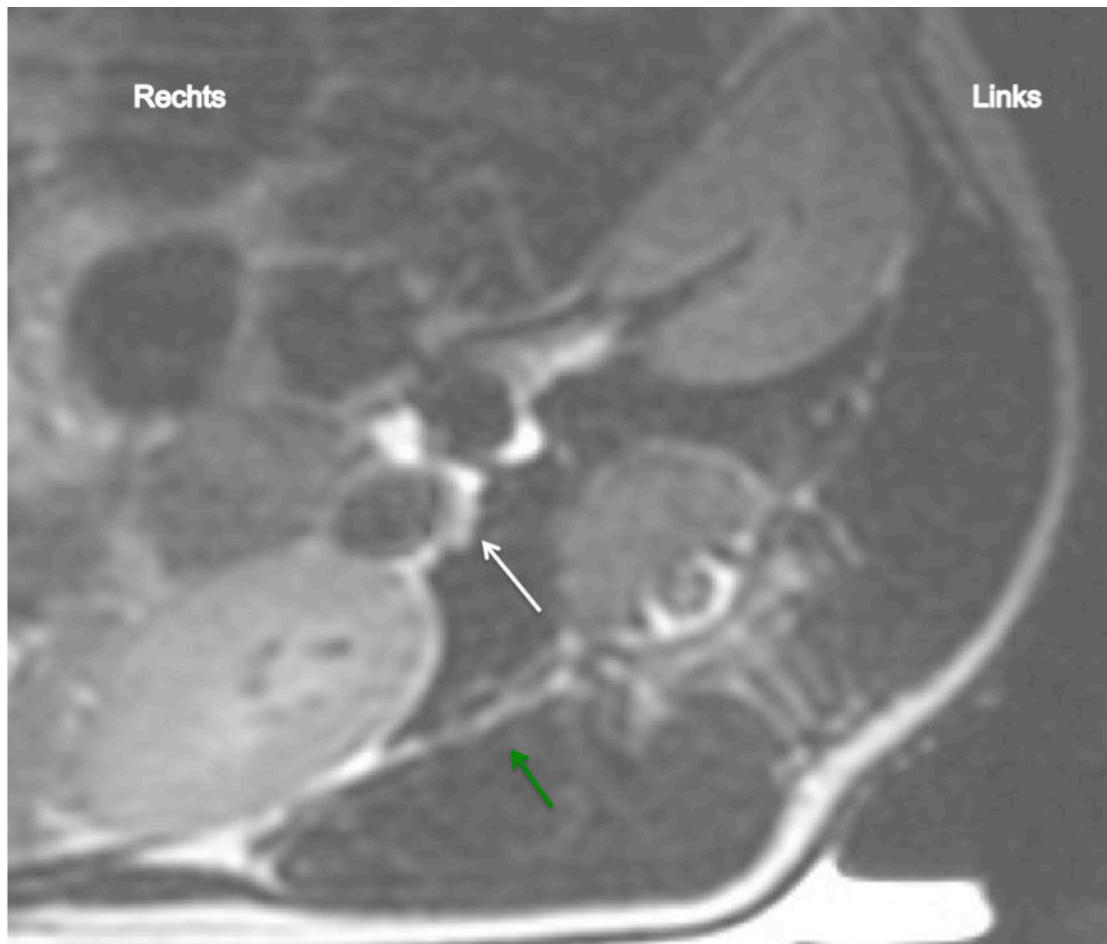


Abb. 15: Schwein 10. T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil kennzeichnet perivaskuläres Gebiet der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den Querfortsatz des Lendenwirbels.

Im Bereich des Querfortsatzes des Lendenwirbels und perivaskulär der rechten Nierenarterie sind bei Schwein 10, so wie bei Schwein 1-9 prä Intervention keinerlei Veränderungen sichtbar (siehe Abb. 15).



Abb. 16: Schwein 10, T2w FSE transversal post Intervention, mit weißem Pfeil gekennzeichnet sind unveränderte Areale perivaskulär der rechten Nierenarterie, der grüne Pfeil zeigt auf das Gebiet um den Querfortsatz des Lendenwirbels.

Diese Aufnahmen von Schwein 10 weisen post MRg HIFUS Intervention keinerlei Veränderungen in Form von Signalanhebungen auf, die auf thermische Gewebeschädigungen hinweisen könnten (siehe Abb. 16). Es wurden keinerlei Sonifikationen um die rechte Nierenarterie und den M. longissimus lumborum appliziert. Demnach können ödematöse Gewebeveränderungen in der Muskulatur, um den Proc. transversus und perivaskulär der behandelten Nierenarterie nur auf den Einsatz des HIFUS zurückgeführt werden.

4.3 MR Angiographie

Schwein 3-10 wurden nach 28 Tagen, vor der Euthanasie, angiographisch im MRT untersucht. Fettgesättigte T2w FSE Sequenzen und kontrastmittelverstärkte T1 gewichtete dreidimensionale Gradientechosequenzen mit integrierter Fettsättigung wurden angefertigt (siehe Tab. 1 MRT Protokoll). Verletzungen der Nierenarterien- und -venen, Ureteren, Nieren und dessen umliegendem Gewebe durch die MRg HIFUS Behandlung sollten durch diese Untersuchung ausgeschlossen werden. Die Aufnahme von Schwein 6 ist repräsentativ für die angiographischen Untersuchungen der Schweine 3-10 (siehe Abb. 17).

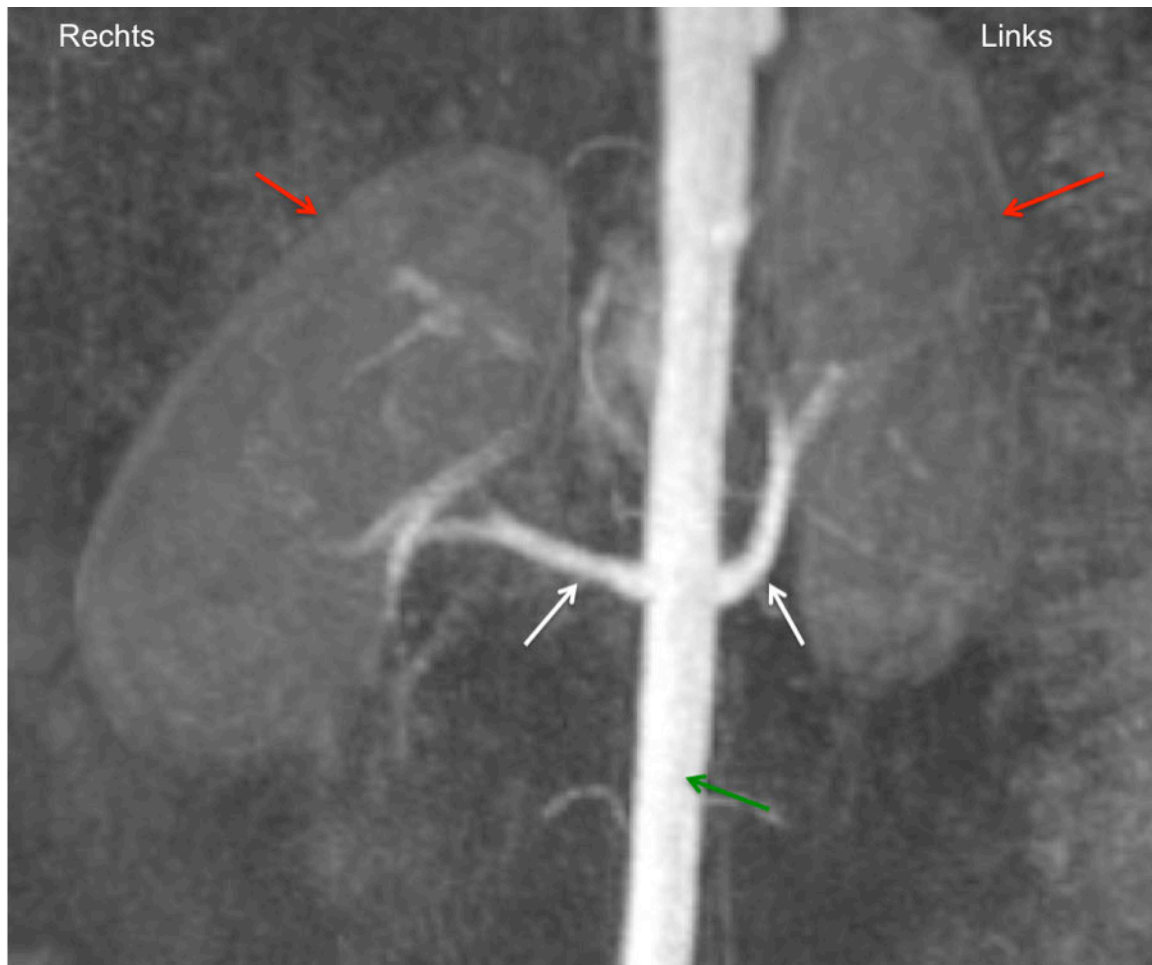


Abb. 17: Schwein 6 MR Angiographie MIP (maximum intensity projection) koronar, rote Pfeile zeigen auf rechte und linke Niere, weiße Pfeile auf rechte und linke Nierenarterie, grüner Pfeil auf die Aorta abdominalis.

Schwein 3-10 zeigten bei der angiographischen Untersuchung keinerlei Auffälligkeiten im Gefäßsystem (siehe Abb. 17). Die Nierenarterien- und -venen, Ureteren waren alle samt durchlässig und wiesen keinerlei Verletzungen oder Beschädigungen auf. Im gesamten dargestellten Gefäßsystem konnten keinerlei thrombotische oder stenotische Veränderungen festgestellt werden. Die Nieren wiesen keinerlei Beschädigungen auf. Hydronephrosen konnten zudem nicht festgestellt werden.

4.4 Makroskopische Auswertung

Die Applikation der beiden Testschüsse mit therapeutischer Energie in den M. longissimus lumborum bei Schwein 1 und 2 sind auf den T2w FSE transversal Sequenzen in Form von ödematösen Veränderungen in Folge der Thermoablation durch den HIFUS deutlich sichtbar. Dies veranlasste uns dazu post mortem den Muskel anzuschneiden, um diese Veränderungen makroskopisch nachvollziehen zu können. Die in Abb. 18 sichtbaren koagulationsnekrotischen Veränderungen im M. longissimus lumborum dexter sind auf Wärmeentwicklungen in der Muskulatur nach Applikation der Testsonifikationen durch den HIFUS zurückzuführen.

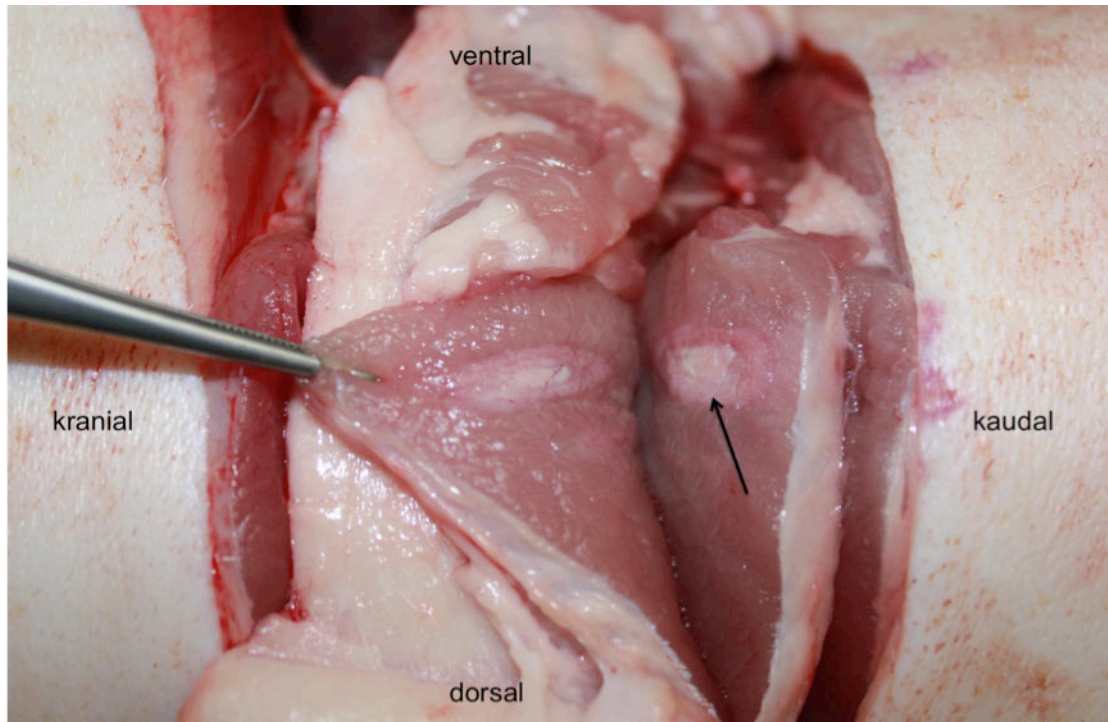


Abb. 18: Schwein 1 M. longissimus lumborum dexter, schwarzer Pfeil kennzeichnet koagulationsnekrotische Veränderungen nach HIFUS Testschuss.

Oberflächlich, fokale Hautverbrennungen waren bei Schwein 1, 2 und 6 nach MRg HIFUS Behandlung im Anwendungsgebiet des HIFUS kaudal der Lendenwirbelsäule und der letzten Rippe festzustellen. Es handelte sich um einzelne 1 cm x 3 cm große, oberflächliche Verbrennungen der Epidermis (siehe Abb. 19). Diese heilten jedoch bei Schwein 6 innerhalb einer Woche ab. Schwein 1 und 2 wurden nach der Intervention euthanasiert, sodass die Beobachtung des Heilungsprozesses nicht möglich war.

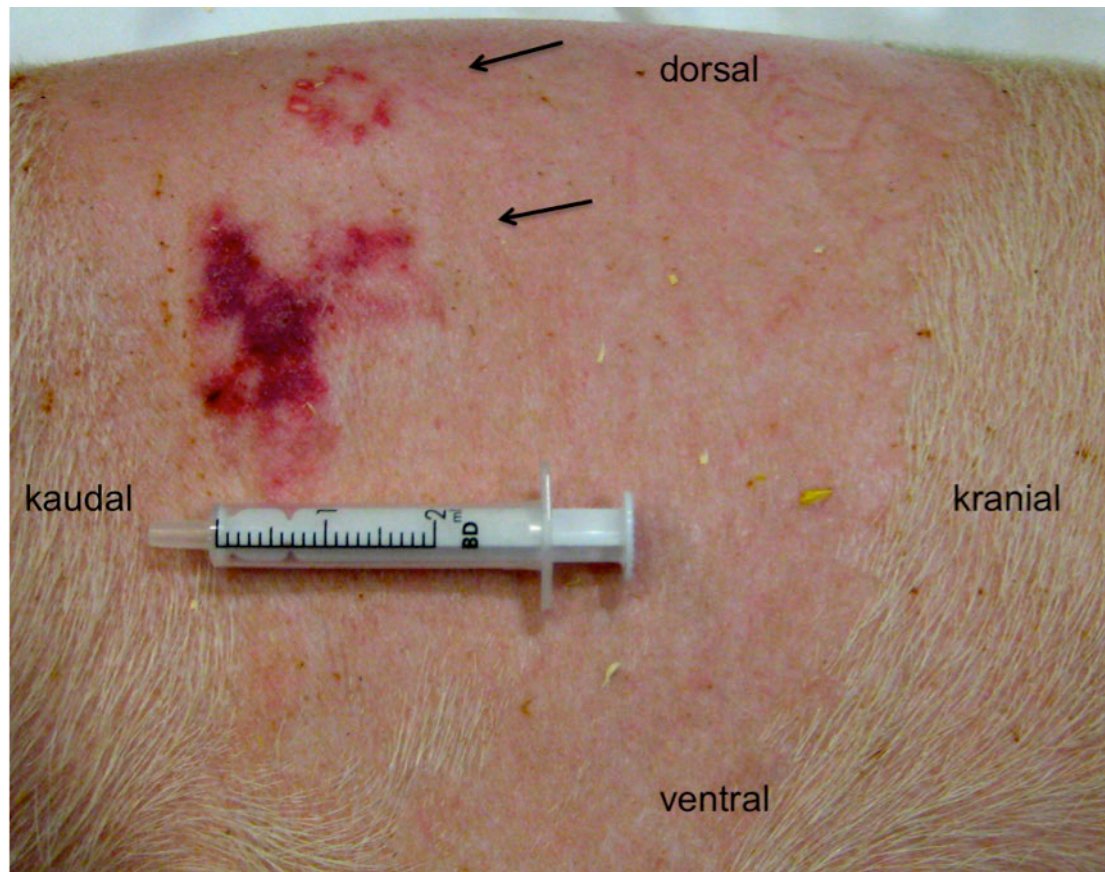


Abb. 19: Schwein 6 oberflächliche Verbrennungen der Epidermis nach MRg HIFUS Intervention mit 2 ml Standardspritze als Größenvergleich. Schwarze Pfeile markieren oberflächliche Verbrennungen der Regio abdominis media, kaudal der letzten Rippen.

Makroskopische pathologische Befunde perirenal und an den Nierenarterien waren nicht festzustellen. Sämtliche Abdominal Organe wiesen keinerlei pathologische Veränderungen auf.

4.5 Histologische Auswertung

Renale sympathische postganglionäre Nervenfasern in der Adventitia der Nierenarterien regulieren über die Ausschüttung von Noradrenalin das RAAS. Eine Überaktivität dieser renalen sympathischen Nervenfasern führt zu einem Anstieg des Blutdrucks.

Fokus der histologischen Auswertung war es, degenerative Veränderungen der renalen sympathischen Nervenfasern zu erkennen. Zu erwartende reaktive Veränderungen als Anzeichen einer Degeneration der Nervenfasern sind perineurale Fibrosierungen, die zu einer Fibroblasten Anhäufung führen. Des Weiteren sollten mögliche Schäden umliegender Gewebestrukturen durch die MRg HIFUS Behandlung ausgeschlossen werden. Die Präparate wurden einer HE und EvG Färbung unterzogen. Die HE Färbung gibt eine gute Übersicht über die Gewebestrukturen und die EvG Färbung sollte durch eine deutlichere Kollagen Darstellung eine mögliche Degeneration der Nervenfasern noch besser erkenntlich machen.

Histologisch waren bei allen Schweinen der MRg HIFUS Studie mit Ausnahme von Schwein 4 in allen Schnitten der rechten, behandelten Nierenarterien keinerlei histologische Veränderungen in Form von neuralen Degenerationen der sympathischen Nervenfasern zu sehen. Dies ergab die Untersuchung von insgesamt 122 Schnitten von allen zehn Schweinen der rechten behandelten Nierenarterien und 110 Schnitte der linken unbehandelten Nierenarterien. Dabei konnten histologisch nur bei Schwein 4 Unterschiede zwischen behandelter und unbehandelter Seite festgestellt werden. Alle 232 Schnitte wurden gemeinsam mit einem

Facharzt für Neuropathologie am Institut für Neuropathologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin beurteilt.

Degenerative Veränderungen in Form von perineuralen Fibrosierungen bei Schwein 4 deckten sich mit den perivaskulären Signalanhebungen im Bereich der Nierenarterien auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention.

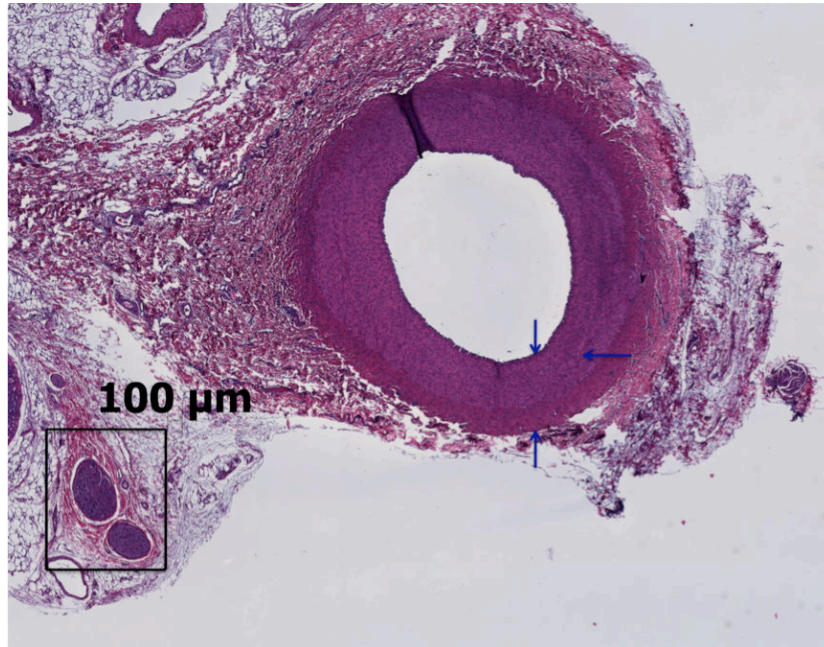


Abb. 20: Schwein 3 Übersichtsschnitt der rechten behandelten Nierenarterie, HE Färbung. Blaue Pfeile stellen Aufbau der Arterienwand mit Intima, Media und Adventitia dar. Schwarzes Viereck markiert sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterie.

Exemplarisch sind in Abb. 20 bis 23 histologische Aufnahmen von der behandelten Nierenarterie von Schwein 3 in HE und EvG Färbung dargestellt, wie sie sich bei allen Schweinen bis auf Schwein 4 zeigten. Abb. 20 ist eine Übersichtsaufnahme eines Abschnitts der rechten Nierenarterie mit sympathischen Nervenfasern in der Adventitia der Nierenarterie. Der typische Wandaufbau der Arterien ist bei diesem Ausschnitt der rechten Nierenarterie gut erkennbar. Vom Lumen ausgehend ist die Intima mit ihrer deutlich ausgeprägten Membrana elastica interna zu erkennen. Der Intima folgt die kräftige Mediaschicht, die glatte Muskelzellen beinhaltet. Die äußerste Schicht, Adventitia, hat zahlreiche elastische Fasern. Das schwarze Viereck umrandet sympathische Nervenfasern in der Adventitia der behandelten Nierenarterie. Dieser Ausschnitt wird in Abb. 21 vergrößert dargestellt.

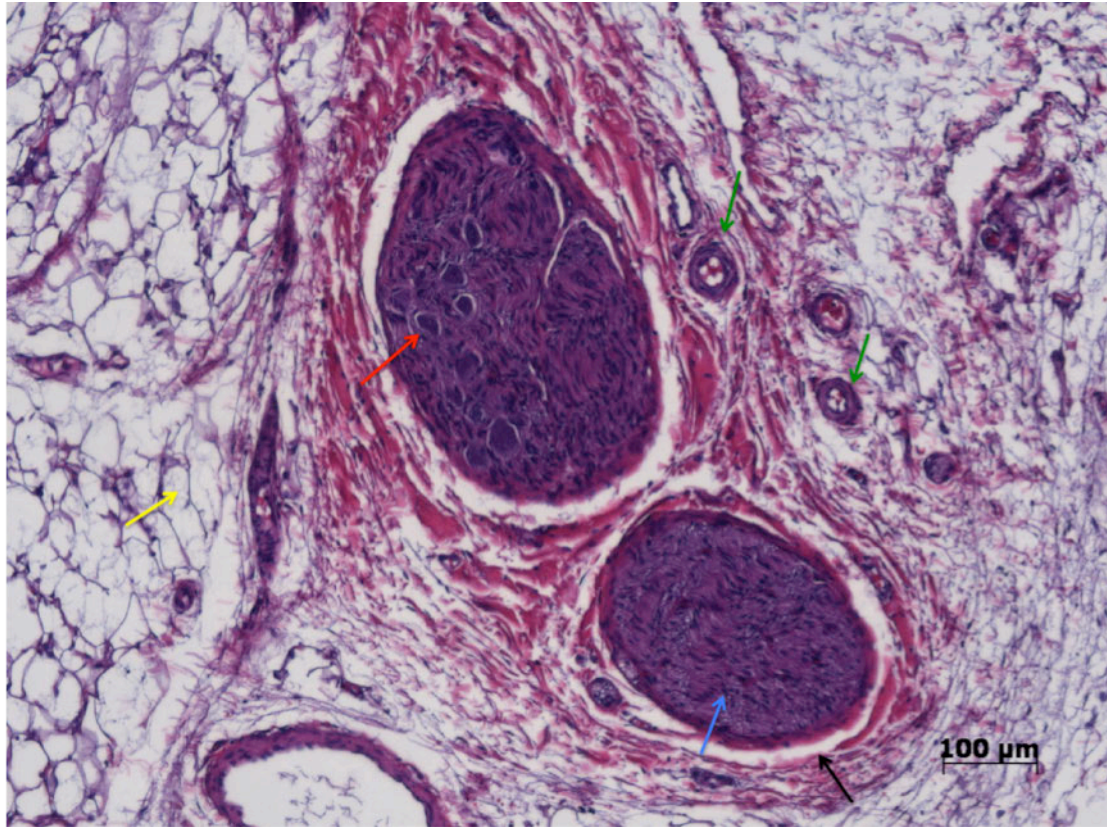


Abb. 21: Schwein 3 vergrößerter Ausschnitt der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der rechten Nierenarterie, HE Färbung. Schwarzer Pfeil zeigt auf das Perineurium mit leichten Schrumpfungartefakten und keinen Anzeichen von Fibrosierung, blauer Pfeil auf ein intaktes Axon, roter Pfeil auf eine Ganglionzelle ohne degenerativen Veränderungen, grüne Pfeile auf kleine Arteriolen und gelber Pfeil auf Fettgewebe im umliegenden Gewebe der Nierenarterie.

Das Perineurium ist die bindegewebige Hülle eines Nerven und zeigt erfahrungsgemäß bei degenerativen Veränderungen eine deutliche Fibrosierung. In Abb. 21 sind lediglich leichte Schrumpfungartefakte des Perineuriums zu sehen, die auf Grund der histologischen Aufarbeitung entstanden sind. Nervenfaszikel und Axone sehen intakt aus. Ganglionzellen mit dazugehörigem Ganglion sind ebenfalls zu sehen und lassen keinerlei degenerative Veränderungen erkennen. Kleinere Arteriolen und Fettgewebe sind im umliegenden Gewebe der Nierenarterie und der sympathischen Nervenfasern ebenfalls zu finden.

Mit der Elastika van Gieson Färbung werden elastische Fasern speziell gefärbt. Perineurale Fibrosierungen der sympathischen Nervenfasern können somit einfacher festgestellt werden. Abb. 22 und 23 zeigen histologischen Aufnahmen von Schwein 3 in der EvG Färbung.

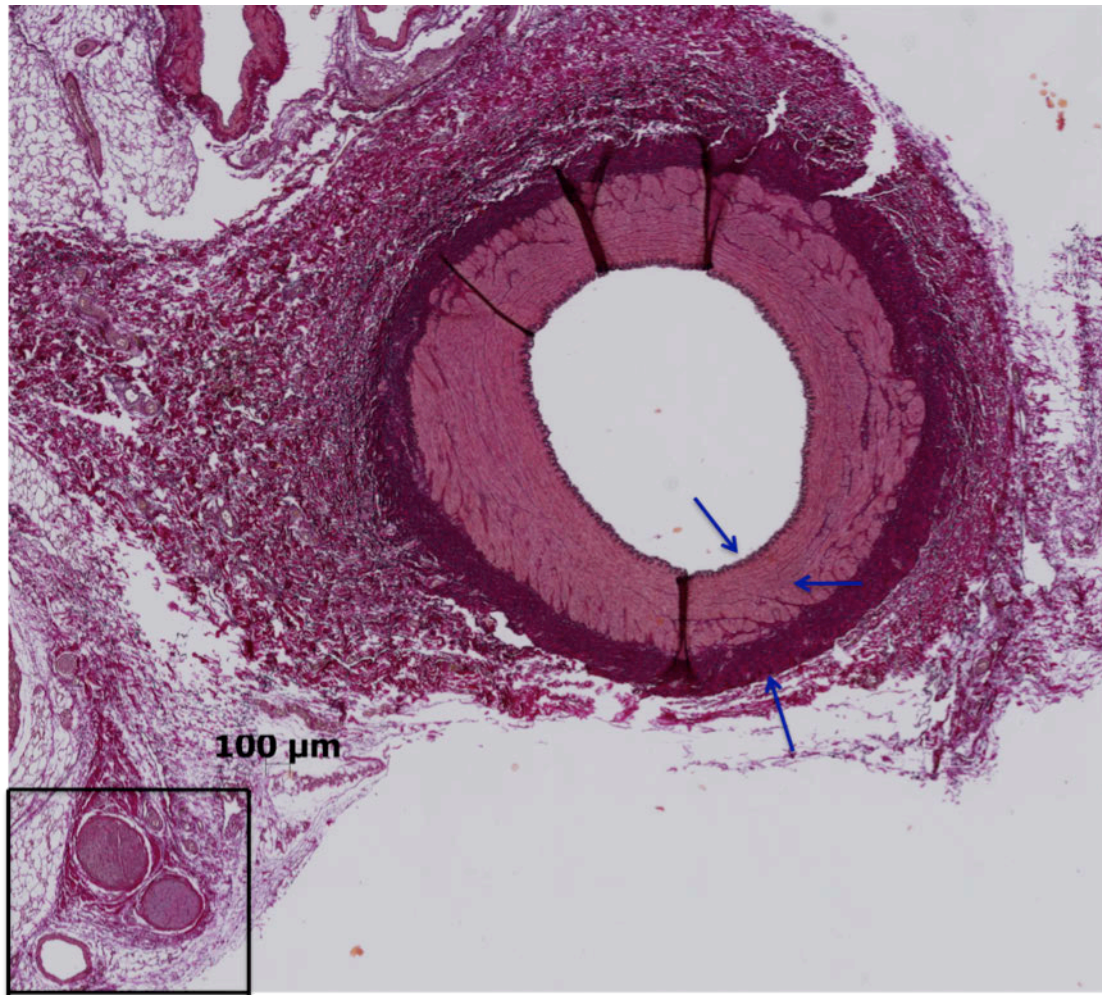


Abb. 22: Schwein 3 Übersichtsschnitt eines Abschnitts der behandelten Nierenarterie, EvG Färbung. Blaue Pfeile kennzeichnen Arterienwandaufbau mit Intima, Media und Adventitia mit elastischen Faseranteilen, schwarzes Viereck umrandet sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia.

Der typische Wandaufbau der Arterien vom Lumen ausgehend mit Intima, Media und Adventitia ist mit blauen Pfeilen gekennzeichnet (Abb. 22). Der große Anteil elastischer Fasern der Adventitia ist durch die EvG Färbung besser erkennbar.



Abb. 23: Schwein 3 vergrößerter Ausschnitt der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der rechten Nierenarterie, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil markiert das besser darstellbare Perineurium in dieser Färbung ohne jeglicher Veränderungen, roter Pfeil eine intakte Ganglionzelle, blauer Pfeil ein intaktes Axon, grüne Pfeile Arteriolen und gelber Pfeil das Fettgewebe.

Besser erkennbar in dieser Färbung ist das Perineurium (siehe Abb. 23). Nicht zelluläre Bestandteile sind im Allgemeinen durch diese Färbung besser von zellulären Bestandteilen zu unterscheiden. Neurale Degenerationen in Form von Fibroblasten Anhäufungen oder perineuraler Fibrosierungen sind nicht zu erkennen.

Aus einer anderen Studie der AG renale Denervation, die sich mit der Injektion von Ethanol im umliegenden Gewebe der Nierenarterien befasste, stammen zusätzliche histologische Bilder bei denen deutliche Degenerationen der sympathischen Nervenfasern im umliegenden Gewebe der behandelten Nierenarterien zu sehen sind (Abb. 24 u. 25). Diese stellen exemplarisch die typische Morphologie veränderter sympathischer Nervenfasern dar [54].

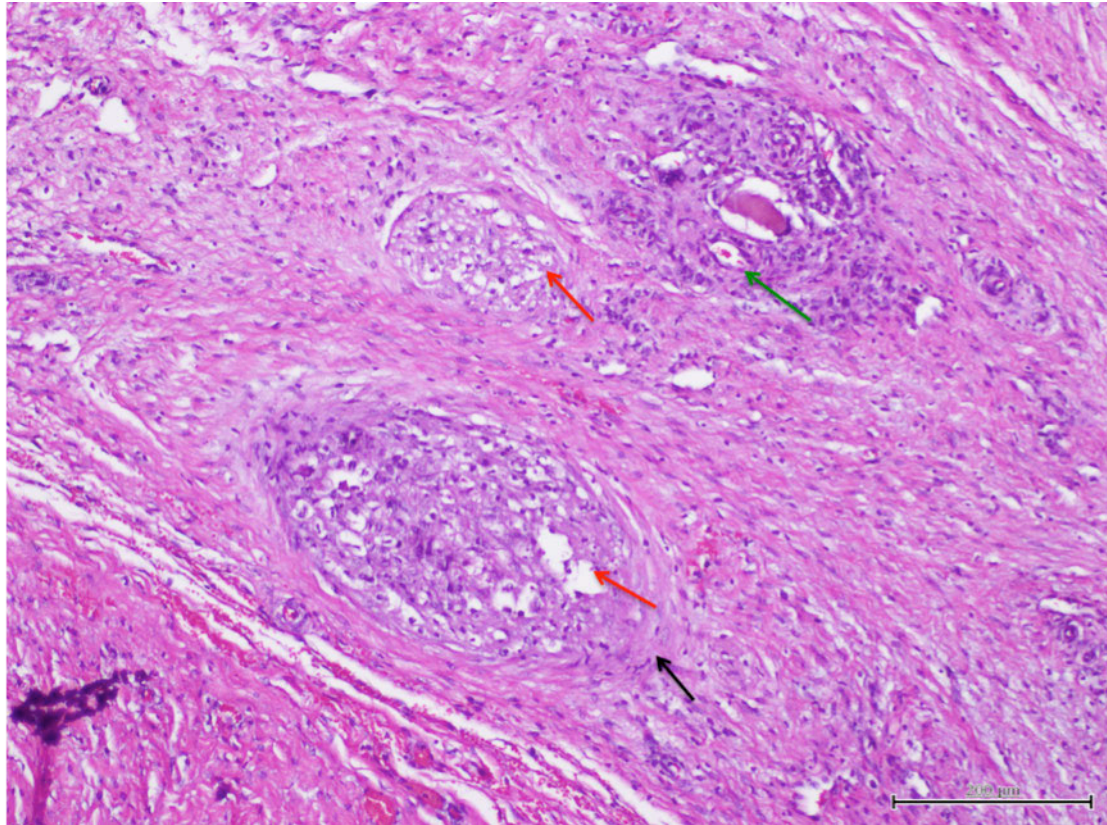


Abb. 24: degenerativ veränderte sympathische Nervenfasern eines Schweins der Ethanolinjektions-Studie, HE Färbung. Schwarzer Pfeil zeigt auf das deutlich verdickte Perineurium mit fibrotischer Veränderungen, rote Pfeile auf Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel, einzelne Axone sind nicht mehr erkennbar und grüner Pfeil auf eine intakte Kapillare [54].

Die drei in Abb. 24 dargestellten sympathischen Nervenfaszikel zeigen typische degenerative Veränderungen. Ein verdicktes Perineurium mit fibrotischen Veränderungen und übermäßiger Kollagenablagerung sind zu sehen. Einzelne Axone sind auf Grund von Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel nicht mehr zu erkennen.

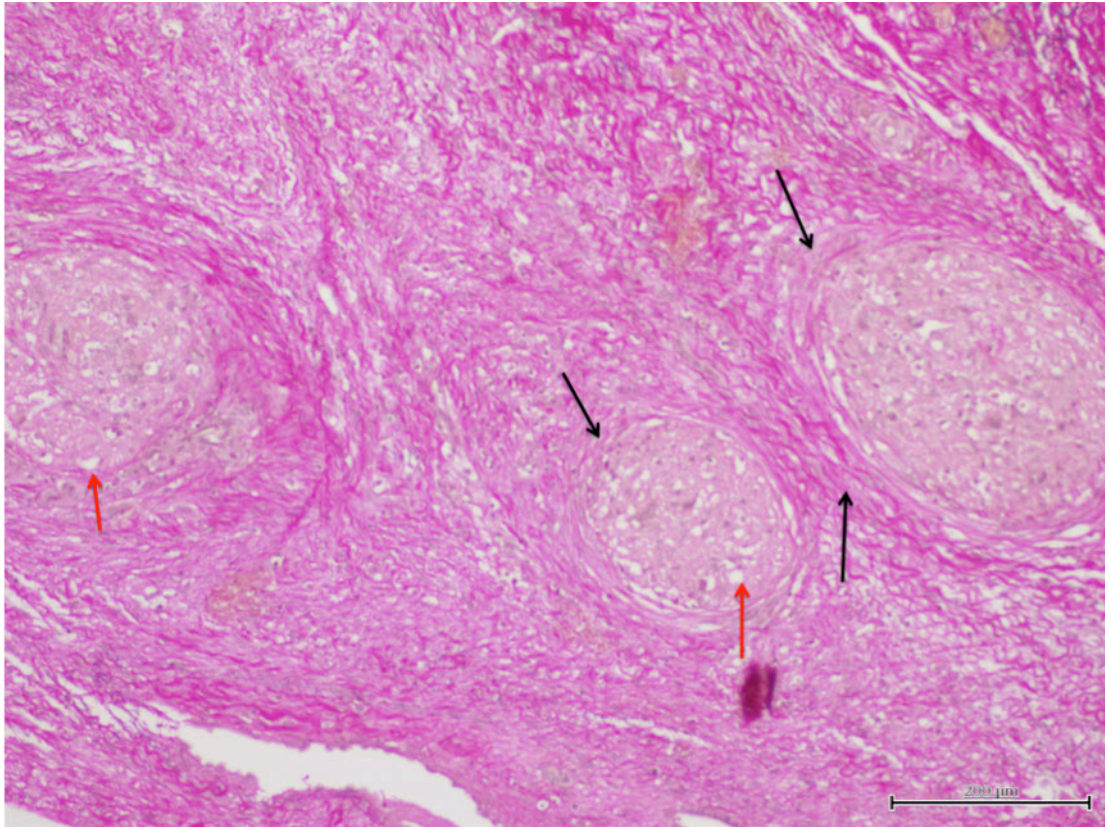


Abb. 25: degenerativ veränderte, sympathische Nervenfasern eines Schweins der Ethanolinjektions-Studie, EvG Färbung. Schwarze Pfeile zeigen auf das deutlich verdickte Perineurium mit fibrotischen Veränderungen, in dieser Färbung deutlicher erkennbar, rote Pfeile auf Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel mit Auflösung der neuralen Strukturen und grüner Pfeil auf eine intakte Kapillare [54].

Diese degenerativen Veränderungen der sympathischen Nervenfasern sind in der EvG Färbung (siehe Abb. 25) sehr viel deutlicher zu erkennen als in der HE Färbung (Abb. 24). Fibrotisch verändertes und verdicktes Perineurium sowie Verdichtungen der Kollagenfasern im umliegenden Bindegewebe und Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel mit Auflösung der neuralen Strukturen sind in dieser Spezialfärbung deutlich sichtbar [54].

Ähnliche Veränderungen konnten in schwächerer Ausprägung bei Schwein 4 der MRg HIFUS Studie nachgewiesen werden (siehe Abb. 26-29).

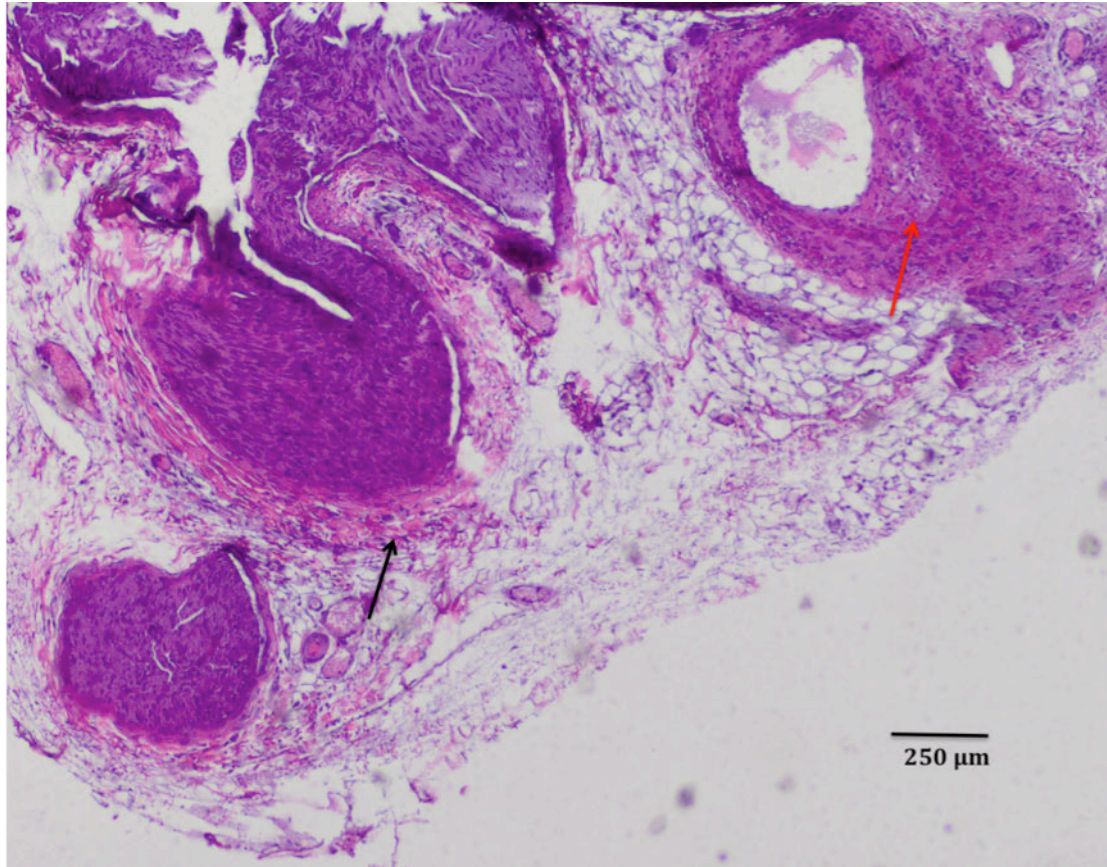


Abb. 26: Schwein 4 Ausschnitt veränderter renaler sympathischer Nervenfasern, HE Färbung. Schwarzer Pfeil kennzeichnet perineurale Fibrosierungen durch verdicktes Perineurium, roter Pfeil Gefäßwandaufreibungen durch alle Wandschichten des Gefäßes.

Die perineuralen Fibrosierungen der sympathischen Nervenfasern im umliegenden Gewebe der behandelten Nierenarterie werden durch eine Verdickung des Perineuriums ersichtlich. Ein Gefäß in unmittelbarer Nähe der sympathischen Nervenfasern, zeigt Gefäßwandaufreibungen im Sinne fibrotischer Veränderungen durch alle Wandschichten des Gefäßes (Abb. 26).

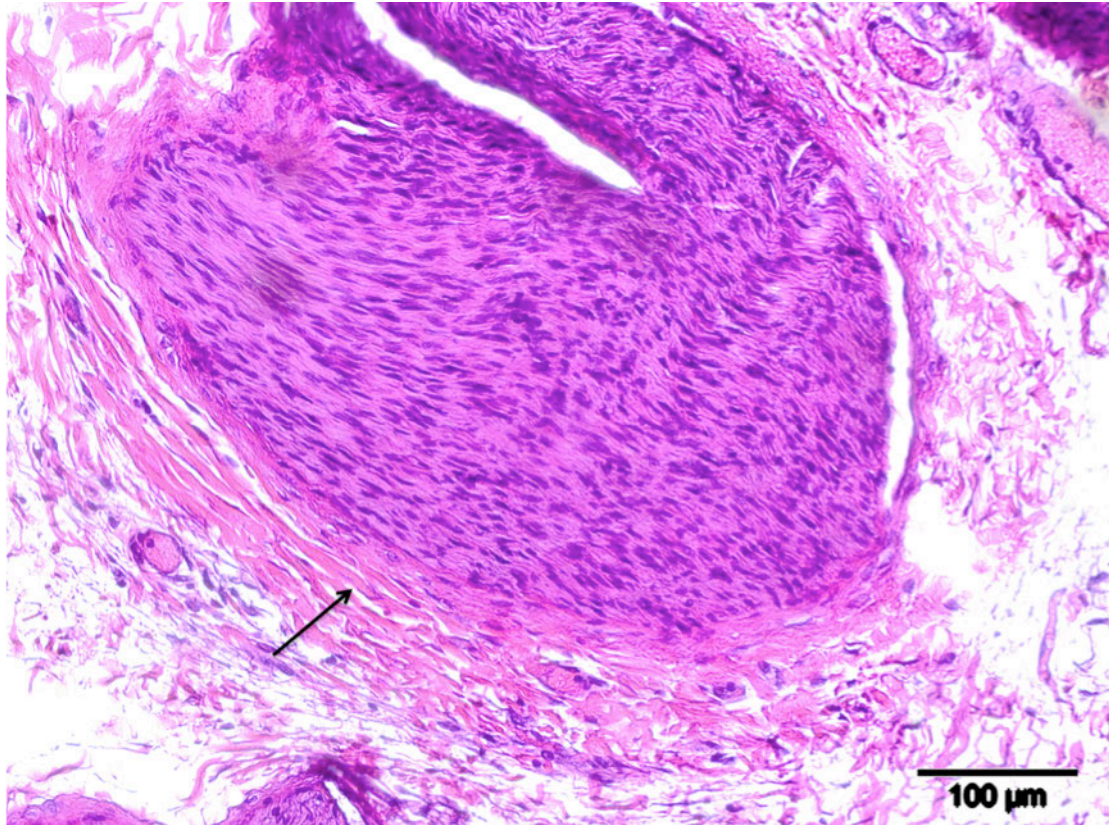


Abb. 27: Schwein 4 vergrößerter Ausschnitt der veränderten sympathischen Nervenfasern, HE Färbung. Schwarzer Pfeil deutet auf eine Verdickung des Perineuriums, die sich in die endoneuralen Schichten fortsetzt.

Die vergrößerte Aufnahme der degenerativ veränderten, sympathischen Nervenfasern zeigt dezente Verdickungen des Perineuriums, die sich bis in die äußeren, oberflächlichen endoneuralen Schichten fortsetzen (Abb. 27).

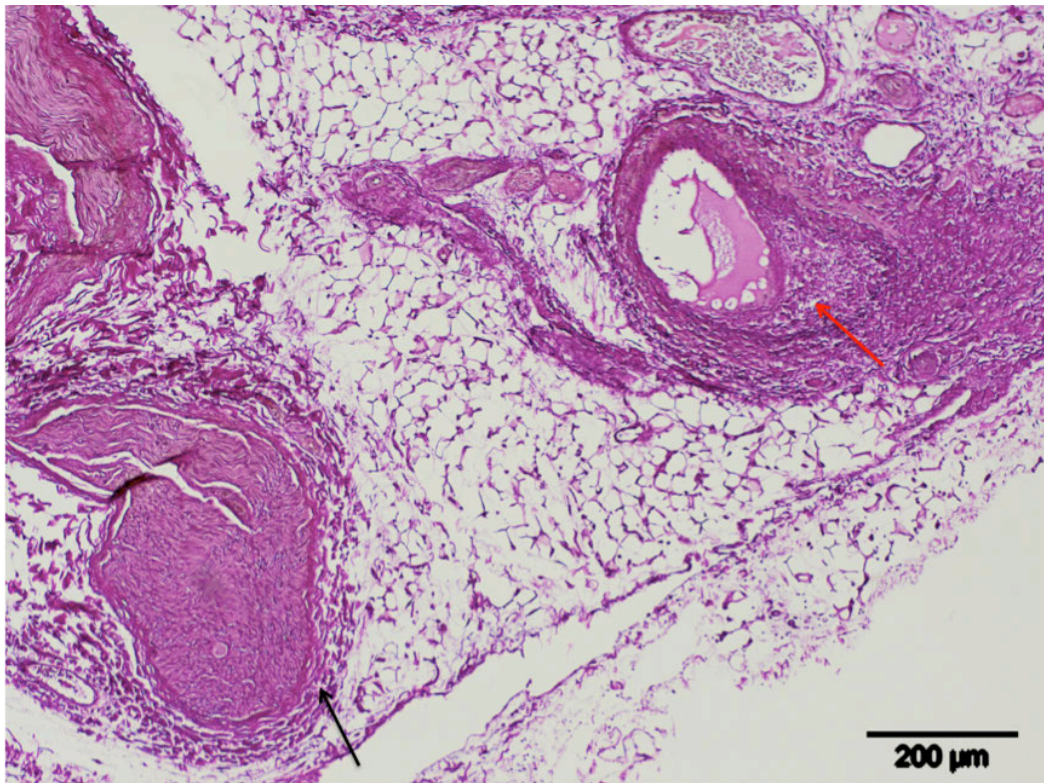


Abb. 28: Schwein 4 Ausschnitt veränderter sympathischer Nervenfasern, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil kennzeichnet verdicktes Perineurium, roter Pfeil Gefäßwandaufreibungen. Beides Anzeichen degenerativer, fibrotischer Veränderungen.

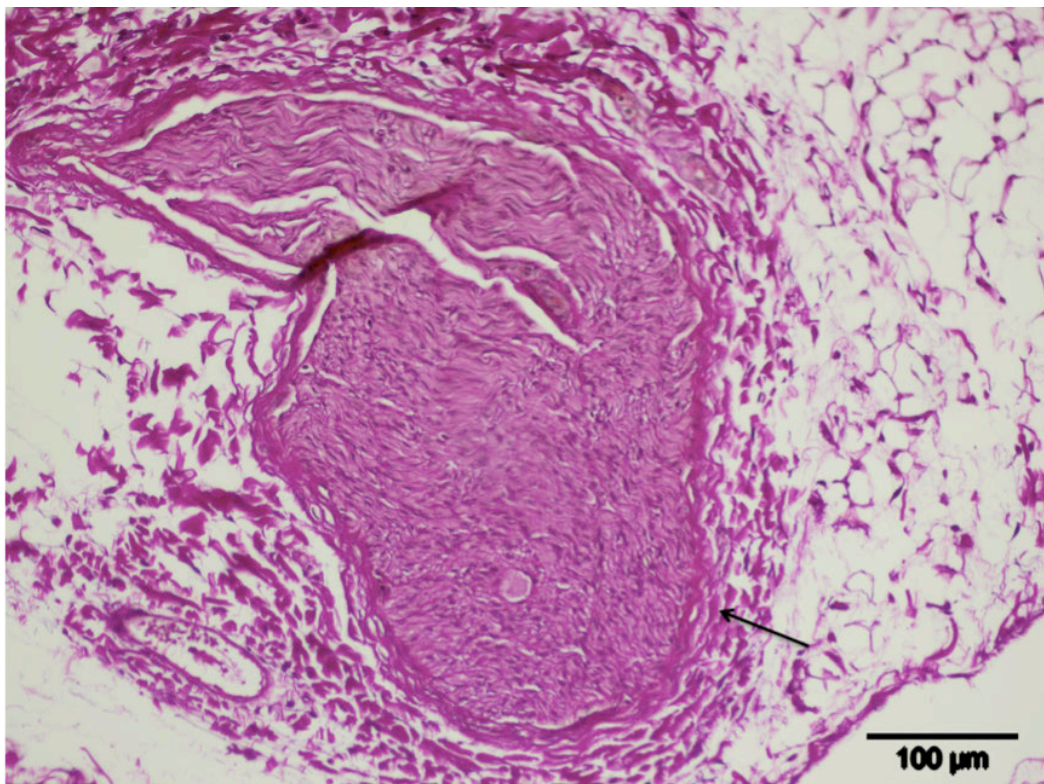


Abb. 29: Schwein 4 vergrößerter Ausschnitt der veränderten sympathischen Nervenfasern, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil deutet auf fibrotische Umbauprozesse des verdickten Perineuriums, in der EvG Färbung besser erkennbar, als in der HE Färbung.

Der vergrößerte Ausschnitt der veränderten sympathischen Nervenfasern von Schwein 4 zeigt dezente Verdickungen des Perineuriums, die als Zeichen fibrotischer Umbauprozesse in der EvG Spezialfärbung gut zu sehen sind (Abb. 29).

4.6 Noradrenalinwerte

Die Noradrenalin-Konzentration im Nierenparenchym lässt darauf schließen, ob eine Denervierung der sympathischen Fasern aufgrund der HIFUS-Anwendung stattgefunden hat. Eine Denervation führt zu einer geringeren Aktivität des sympathischen Systems und damit zu einer geringeren Ausschüttung von Noradrenalin.

Die Bestimmung der Noradrenalin-Konzentrationen wurde im Labor Anakat, Institut für Biotechnologie GmbH, Robert-Koch-Platz 4, 10115 Berlin durchgeführt (Leiter Prof. Dr. Ulrich Speck).

Die Auswertungen der Noradrenalin-Konzentration ergaben keinen signifikanten Abfall der behandelten Seite im Vergleich zur unbehandelten Gegenseite (siehe Abb. 30, $p = 0,274$; einseitiger, gepaarter t-Test).

Die Behandlung mittels MRg HIFUS erfolgte einseitig entlang der rechten Nierenarterie. Lediglich Schwein 1 und Schwein 2 wurden beidseitig entlang der linken und rechten Nierenarterie behandelt. Schwein 10 wurde als Sham Schwein genutzt und nicht behandelt (siehe 3.4.5). In Tabelle 5 werden Noradrenalin-Konzentrationen (NA) der rechten behandelten und linken unbehandelten Nieren gegenübergestellt und die prozentuale Differenz ermittelt. Die linke kontralaterale Seite dient dabei als Kontrolle.

Tab. 5 Noradrenalin-Konzentrationen linke (unbehandelte) und rechte (behandelte) Niere mit prozentualem Abfall rechter zur linker Niere. (* errechneter Wert)

Schwein	NA linke Niere (ng/g)	NA rechte Niere (ng/g)	Differenz %
1	396,2	285,6	- 27,9
2	577,1	496,3	- 14,0
3	433,1	478,7	10,0
4	509,0	445,4	- 12,5
5	346,1	317,7	- 8,2
6	359,7	309,1	- 14,0
7	429,5 *	267,9	- 38,0
8	270,5	348,9	29,0
9	658,5	575,8	- 12,6
10	295,8	494,4	67,1

Schwein 4, 5, 6 und 9 weisen mit unterschiedlichen Ausprägungen einen Abfall der NoradrenalinKonzentration auf der behandelten Seite auf. Das arithmetische Mittel aller Werte, die einen Abfall des Noradrenalins bei Behandlung zum Ausdruck bringen, beträgt $11,8 \pm 2,5\%$. Bei Schwein 3, 8 und 10 stellt es sich heraus, dass die rechten, behandelten Nieren einen höheren Noradrenaliningehalt aufweisen, als die linken unbehandelten Kontrollseiten, wobei Schwein 10 nicht behandelt wurde.

Der errechnete Wert für die NoradrenalinKonzentration der linken unbehandelten Niere von Schwein 7, diese war nicht vorhanden, ist das arithmetische Mittel der NoradrenalinKonzentrationen der linken Niere von Schwein 3-9. Schwein 1 und 2 wurden beidseitig behandelt. Schwein 10 wurde nicht behandelt, sodass man deren NoradrenalinKonzentrationen der linken Nieren nicht mit einbezog.

NoradrenalinKonzentration im Nierenparenchym

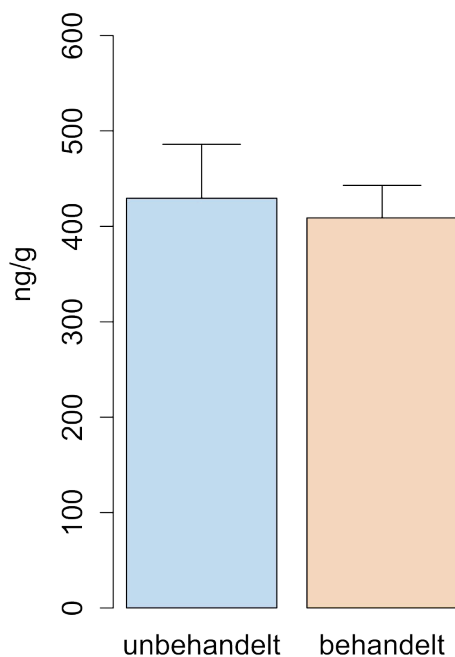


Abb. 30: Arithmetische Mittelwerte der NA Konzentrationen der behandelten im Vergleich zu den unbehandelten Nieren. Fehlerbalken sind Standardabweichungen. ($p = 0,274$; einseitiger, gepaarter t-Test).

4.7 Blutdruckwerte

Die Blutdruckmessungen wurden prä- und post Intervention und nach 28 Tagen (final) vorgenommen. Eventuelle Blutdruckveränderungen direkt nach Behandlung und mögliche Blutdruckabfälle aufgrund der Behandlung nach 28 Tagen sollten erfasst werden. 28 Tage nach Behandlung kam es zu keinem signifikanten Abfall des systolischen und diastolischen Blutdrucks (95% Konfidenzintervall, zweiseitig). Die arithmetischen Mittel der Blutdruckwerte aller zehn Schweine betragen prä Intervention $121,6/51,6$ mmHg, post Intervention $139,6/61,9$ mmHg, sowie nach 28 Tagen (Fi-

nal) $123,7/52,9$ mmHg (siehe Tab. 6). Insgesamt sieben Schweine zeigten einen erhöhten systolischen und diastolischen Blutdruck post Intervention mit durchschnittlichem Wert von $153,2/72,9$ mmHg. Diese Erhöhung des Blutdrucks konnte nach 28 Tagen nicht mehr festgestellt werden (siehe Abb. 31).

Tab. 6 Arithmetische Mittelwerte von drei aufeinander folgenden Messungen des Blutdrucks direkt prä- und post Intervention und nach 28 Tagen (Final).

Schwein	Blutdruck Prä		Blutdruck Post		Blutdruck Final	
	mmHg		mmHg		mmHg	
	Sys.	Dia.	Sys.	Dia.	Sys.	Dia.
1	144,7	46,3	170,7	100,0		
2	119,3	52,0	162,0	83,3		
3	131,7	74,0	122,0	47,7	93,3	46,3
4	139,0	83,7	153,3	87,7	135,0	82,7
5	130,3	42,0	117,7	55,0	118,0	48,7
6	144,7	38,7	166,3	32,7	130,3	48,0
7	117,0	39,3	144,3	60,3	110,7	33,7
8	112,3	62,3	152,3	73,7	121,7	52,3
9	75,0	24,0	123,3	50,3	157,7	66,3
10	102,0	53,7	84,7	29,0	123,3	45,0

Blutdruckveränderungen

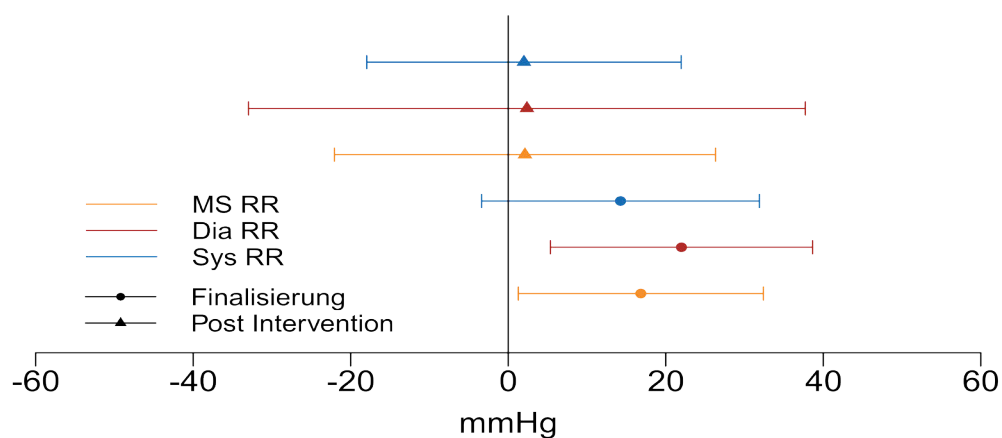


Abb. 31: Blutdruckveränderungen post Intervention und Final im Vergleich zu prä Intervention. 95 % Konfidenzintervall, zweiseitig. MS RR: mittlerer systemischer Blutdruck. Dia RR: diastolischer Blutdruck. Sys RR: systolischer Blutdruck. Während post Intervention ein leichter Anstieg des Blutdruckes zu erkennen war, zeigt sich Final keinerlei Veränderungen.

Der Blutdruck wurde jeweils vor der Intervention (prä), im Anschluss (post) und nach 28 Tagen zum Zeitpunkt der Finalisierung (final) gemessen. Schwein 1 und 2 wurden nach der Intervention direkt getötet, deshalb sind keine Blutdruckmessungen nach 4 Wochen (final) vorhanden. Die systolischen Blutdruckwerte liegen im Mittel im physiologischen Bereich der zwischen 110-120 mmHg liegt. Die diastolischen Blutdruckwerte liegen durchschnittlich etwas tiefer als der physiologisch angegebene Wert zwischen 70-80 mmHg [80].

5 Diskussion

Dies ist die erste Studie, die Sicherheit und Wirksamkeit des MRg HIFUS zur renalen Denervation im Schweinmodell untersuchte. Als einzige nicht invasive Methode stellt der MRg HIFUS eine besondere Therapieoption zur renalen Denervation dar. Die Kombination aus MRT und HIFUS ermöglichte eine sehr gute Visualisierung und genaue Definierung des Zielgewebes. Der HIFUS kann präzise fokale Temperaturveränderungen induzieren, die Gewebedegenerationen hervorrufen.

Schwerwiegende Komplikationen wie Beschädigungen der Nieren oder anderer abdominaler Organe traten dabei in unserer Studie nicht auf. Die Wirksamkeit des MRg HIFUS zur renalen sympathischen Denervation ist jedoch im Schweinmodell stark begrenzt.

5.1 Das Schweinmodell

Die Wahl des Schweins als Versuchstier war naheliegend, da es bekanntlich viele anatomische und physiologische Gemeinsamkeiten mit dem kardialen und vaskulären System des Menschen aufweist. Kreislaufsystem und Haut haben dabei die engsten Ähnlichkeiten [81].

Die gering ausgebildete Behaarung der Tiere war ein weiterer Vorteil, da im Anwendungsbereich des HIFUS keinerlei Haare vorhanden sein durften. Größenverhältnisse der Nieren und der Nierenarterien im Alter von ca. 3 Monaten sind mit dem Menschen vergleichbar. Des Weiteren ist die Handhabung auf Grund der geringeren Größe und des Gewichtes um die 27 kg leichter, als bei ausgewachsenen Schweinen. Die Größe der Nieren und Nierenarterien war zu dem, bei diesem Alter günstig für die Durchführung der MRg HIFUS Intervention.

Überlebenszeit der Tiere wurde anhand von Erfahrungen aus einer vorangegangenen Studie bestimmt und war mit $28 \pm 1,5$ Tagen ausreichend lange, um eine erfolgreiche renale Denervation nach Behandlung mittels Noradrenalinabfall und histologischen Degenerationszeichen nachzuweisen [54].

Ergebnisse zum Therapieerfolg dieser initialen Studie zeigen, dass sich eine renale sympathische Denervation im Schweinmodell schwierig gestaltet. Die Unterschiede der Wirksamkeit in Bezug auf die Signalanhebungen der T2w FSE Sequenzen post Intervention, der Noradrenalininkonzentrationen sowie der histologischen Veränderungen sind im Zusammenhang am ehesten durch eine unzureichende Energieapplikation im Bereich der Nierenarterien zu erklären. Dies ist wahrscheinlich auf das im Schwein, im Vergleich zum Menschen, kleinere Schallfenster und die dadurch resultierende Ultraschallzerrung zurückzuführen.

5.1.1 Ultraschallverzerrung durch anatomische Besonderheiten im Schweinmodell

Signalanhebungen in der T2w FSE Sequenz post Intervention sind aufgrund thermischer Gewebeschädigungen durch die Anwendung des HIFUS entstanden. Auffallend sind die Lokalisationen dieser Signalanhebungen. Schwein 1-9 zeigten ödematöse Veränderungen im periösären Gewebe des Proc. transversus der Lendenwirbel auf Höhe der Nierenarterien. Perivaskuläre, ödematöse Veränderungen im Bereich der Zielregion der behandelten Nierenarterien konnten jedoch nur bei Schwein 4, 6 und 7 festgestellt werden.

Diese Verteilung der ödematösen Veränderungen ist wahrscheinlich auf den Proc. transversus und der ausgeprägten Faszie in diesem Bereich zurückzuführen. Anatomisch ist die Bauchhöhle bei Schweinen mit einer starken Faszie, Fascia thoracolumbalis, ausgekleidet. Die Proc. transversi sind im Vergleich zum Menschen deutlich länger. Im Schallfenster gelegene Knochen und Faszien können partielle Reflektionen oder Absorptionen des Ultraschalls hervorrufen und so einen Großteil der applizierten Ultraschallenergie absorbieren.

In einer Studie zur MRg HIFUS Behandlung des Uterusmyoms konnten inhomogene Energieabgaben im Zielgewebe durch Ultraschallverzerrungen, die aufgrund von aufliegenden Gewebeschichten verursacht wurden, festgestellt werden [82]. Dieser Effekt kann zu fokalen Hotspots hinter der absorbierenden Struktur führen und somit eine Energieabgabe im Zielgewebe verhindern. Dies könnte erklären warum bei allen behandelten Schweinen Signalanhebungen auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention im Bereich periösär der Proc. transversi zu sehen waren und lediglich bei drei Schweinen Signalanhebungen in der Zielregion perivaskulär der behandelten Nierenarterien.

5.1.2 Auswirkungen des begrenzten Schallfensters

Aufgrund der Länge der Proc. transversi bei Schweinen war das Schallfenster für Sonifikationen der rechten Nierenarterien eingeschränkt. Mit einer rechten Halbseitenlage des Schweines während der HIFUS Anwendung sollte das Schallfenster optimiert werden. Trotz dieser Vorkehrung musste ein suboptimales Winkel genutzt werden und Ultraschall durch die rechte Niere appliziert werden, um Sonifikationen perivaskulär entlang der rechten Nierenarterien applizieren zu können. Je nach Flüssigkeitsstatus dieser Organe kann es zu unerwarteten Impedanzen der Gewebe kommen, die einen Energieverlust zur Folge haben.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die applizierte Energie im fokussierten Areal der therapeutischen Sonifikationen nicht ausreichend war, um eine suffiziente thermale Ablation im perivaskulären Gewebe der rechten Nierenarterie hervorzurufen. Der nicht-lineare Zusammenhang zwischen applizierter akustischer Power und perivaskulären oedematischen Veränderungen (Vgl. Schwein 5 und 7) zeigt, dass vermutlich nicht die eingesetzte Power, sondern durch die kräftige Fascie, den breiten Proc. transversus und dem suboptimalen Schallwinkel bedingte Energieabsorptionen für die insuffiziente thermale Ablation verantwortlich zu machen sind (siehe Abb. 32). Diese Vermutung wird dadurch gestützt, dass applizierte Testsonifikationen in den M. longissimus lumborum bei jeder Anwendung Gewebedegenerationen aufgrund thermaler Ablation zeigten.

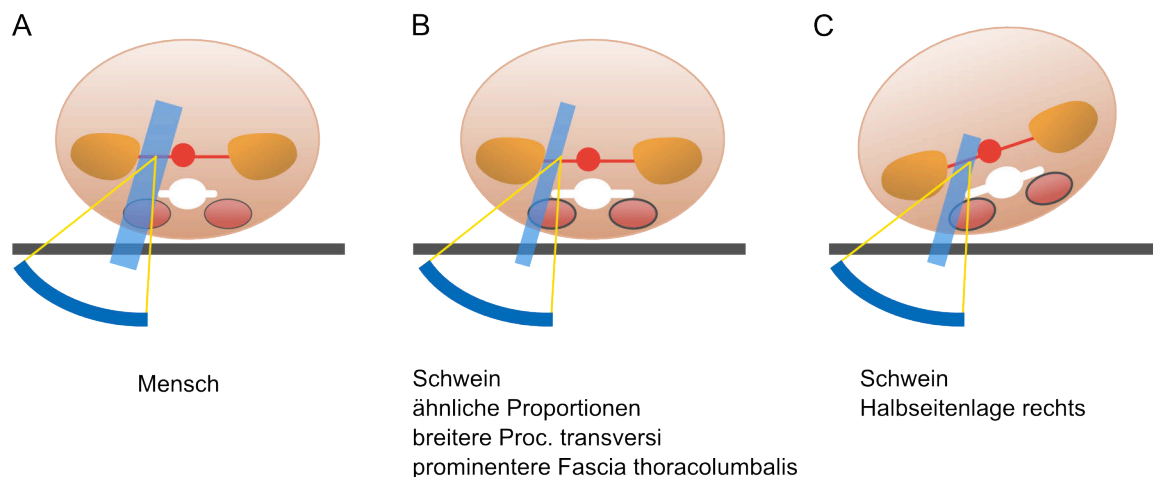


Abb. 32: Auswirkungen der Anatomie auf das Schallfenster. Trotz Halbseitenlage kann nur ein suboptimales Schallfenster (blau transparent) im Schwein eingestellt werden (C). Günstigere anatomische Verhältnisse zeigen sich beim Menschen (A).

Andere Tiermodelle zeigten vielversprechendere Ergebnisse. In einer präklinischen Studie zur renalen Denervation mittels HIFUS unter dopplersonographischer Kontrolle im Hundemodell konnten makroskopisch, nach sechs Applikationen des HIFUS entlang der behandelten Nierenarterie, thermale Läsionen an den Fokusspots im Behandlungsgebiet festgestellt werden. Eine effektive renale sympathische Denervation konnte in diesem Tiermodell durch die Anwendung des extrakorporalen HIFUS unter dopplersonographischer Kontrolle gezeigt werden [61].

5.1.3 Temperaturüberwachung während der HIFUS Anwendung

Bei der Protonenresonanzfrequenzmethode werden temperaturabhängige Phasenänderungen über eine Gradientenechosequenz errechnet und so eine Echtzeit Temperaturüberwachung gewährleistet (siehe 2.3.2 MR Thermometrie). Im Gegensatz zum Bindegewebe und parenchymatösen Geweben ist eine Temperaturüberwachung im Fettgewebe mit dieser Methode nicht möglich, da Phasenänderungen der Lipide temperaturunabhängig sind [83]. Aufgrund des ausgeprägten Fettanteils des perivaskulären Gewebes der Nierenarterien war daher keine präzise Temperaturüberwachung während der HIFUS Anwendung möglich. So konnte nur anhand der T2w FSE Sequenzen post Intervention festgestellt werden, an welchen Stellen Signalanhebungen zu sehen waren, die auf thermische Gewebeschädigungen hinweisen.

Beim Einsatz des MRg HIFUS zur Behandlung des Uterusmyoms, dem hepatozellulären Karzinom und der Knochenmetastasen können Thermosequenzen mittels Protonenresonanzfrequenz-Methode (PRF) akquiriert werden. Eine unmittelbare Kontrolle der im Gewebe entstandenen Temperatur kann so gewährleistet werden [67, 70, 72]

5.1.4 Sicherheit

Durch die MRg HIFUS Behandlung kam es zu keinen schwerwiegenden Komplikationen. Die Behandlung wurde sehr gut toleriert. Als Minor-Komplikation wurden oberflächliche, fokale Verbrennungen der Epidermis im Anwendungsgebiet des HIFUS bei Schwein 1, 2 und 6 festgestellt. Diese Verbrennungen sind auf verbliebene Borsten zurückzuführen, die bei der Rasur nicht komplett entfernt wurden. Bestehende Borsten im Anwendungsgebiet des HIFUS führen zu einer unvollständigen Kopplung zwischen dem Schallgeber und der Haut und somit zu Impedanzsprüngen, die zu Verbrennungen führen können.

Hautverbrennungen sind eine der häufigsten unerwünschten Wirkungen bei einer Behandlung mit HIFUS. Dies wird vor allem deutlich, wenn man die Ausschlusskriterien bei Patienten bezüglich der Hautbeschaffenheit in Betracht zieht. In der vorgesehenen Behandlungsregion des HIFUS dürfen keinerlei Narben, Tattoos oder Hautabnormalitäten der Bauchwand vorhanden sein und der Patient muss zuvor gründlich rasiert werden [9]. Diese beim Menschen selten auftretenden und minimalen Komplikationen verdeutlichen das große Potential des MRg HIFUS als nicht invasive Therapiemöglichkeit.

5.2 Therapieerfolg des MRg HIFUS zur renalen Denervation

Primärer Outcome Parameter des Therapieerfolges der renalen Denervation sind die NoradrenalinKonzentration der behandelten Nieren. Kann ein signifikanter Abfall des Noradrenalinhalt festgestellt werden, impliziert dies einen Behandlungserfolg. Zusätzlich sollten histologische Korrelate wie perineurale Fibrosierungen zu erkennen sein, die darauf schließen, dass eine Degeneration sympathischer Nervenfasern stattgefunden hat.

5.2.1 NoradrenalinKonzentrationen

Ein Abfall der NoradrenalinKonzentration im Nierenparenchym ist ein wichtiger Indikator für die Feststellung einer erfolgreichen Behandlung. Hypertone Patienten weisen eine Überaktivität des sympathischen Nervensystems auf und im Zusammenhang damit einen Noradrenalinüberschuss. Hohe NoradrenalinKonzentrationen lassen auf eine hohe Aktivität des sympathischen Nervensystems schließen [23]. Ein Abfall der NoradrenalinKonzentration der behandelten Niere beweist daher indirekt eine Degeneration sympathischer Nervenfasern.

Mittelwerte und Standardabweichungen der behandelten zur unbehandelten Seite lagen bei $391.7 \pm 109.5 - 427.6 \pm 123.2$ ng/g. Der Abfall der NoradrenalinKonzentration von behandelte zu unbehandelter Seite betrug $11,8 \pm 2,5$ %. Es konnte kein signifikanter Abfall der NoradrenalinKonzentrationen festgestellt werden ($p = 0,274$).

Schwein 3 und 8 wiesen auf der behandelten Seite eine höhere Noradrenalin-Konzentration auf als auf der unbehandelten Seite ($19,5 \pm 13,4\%$). Auffallend ist die recht große Differenz der Noradrenalin-Konzentration zwischen rechter und linker Niere, die im Sham Schwein 67,1% betrug. Diese Ergebnisse korrelieren mit Messungen des Noradrenalin-Gehalts von Nieren von unbehandelten Schweinen aus einer Versuchsanstalt in Rottmersleben, die eine ähnliche Streuung der Noradrenalin-Konzentrationen aufweisen, wobei der größte Unterschied zwischen linker und rechter Niere bei 34,6% lag (Prof. U. Speck, persönliche Mitteilung, 8.6.2013).

Messungen des renalen Noradrenalin-Gehalts bei RFA-behandelten Patienten ergaben, dass es post RFA Anwendung zu einer Reduktion des renalen Noradrenalin-Überschusses von durchschnittlich 47% kam. Katheterbasierte renale Denervation kann demnach selektiv die renale efferente sympathische Aktivität reduzieren [47, 84]

In einer Studie zur renalen Denervation durch Ethanolinjektionen im Schweinemodell konnte bei vier behandelten Schweinen mit 10 ml 95% Ethanol ein signifikanter Abfall ($p=0,02$) der Noradrenalin-Konzentrationen von 53% im Vergleich von behandelter zu unbehandelter Seite festgestellt werden [54]. In der Literatur wird bei Angaben des Abfalls der Noradrenalin-Konzentrationen nach renaler Denervation der behandelten Seite von 50% oder mehr berichtet. Bezug ist dabei die kontralaterale Niere. In einer Studie an Hunden, die unter sonographischer Kontrolle mittels HIFUS zur renalen Denervation behandelt wurden, konnte bei der behandelten Seite einen Abfall der Noradrenalin-Konzentrationen von durchschnittlich 54,3% festgestellt werden [61].

5.2.2 Histologische Auswertung

Histologische Veränderungen, die auf eine Degeneration der renalen sympathischen Nervenfasern hinweisen, sind nur bei Schwein 4 zu sehen. Perineurale Fibrosierungen der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der rechten behandelten Nierenarterie sind deutlich sichtbar. Den T2w FSE Sequenzen post Intervention zu Folge waren perivaskuläre, ödematöse Veränderungen bei Schwein 4, 6 und 7 zu sehen. Histologisch konnten bei Schwein 6 und 7 jedoch keine Degenerationen der sympathischen Nervenfasern festgestellt werden. Somit stellt entweder eine Ödematisierung des perivaskulären Gewebes post MRg HIFUS Behandlung noch keinen sicheren Behandlungserfolg dar, oder aber eine marginale Denervation könnte in histologischen Schnitten übersehen werden. Letzteres ist jedoch unwahrscheinlicher in Anbetracht der Anzahl der Schnitte und der Sensitivität der HE und EvG Färbungen zum Nachweis von degenerativen Veränderungen sympathischer Nervenfasern.

5.2.3 Blutdruckwerte

In dieser Studie wurden gesunde normotensive Schweine behandelt. Von einem signifikanten Blutdruckabfall nach der MRg HIFUS Behandlung wurde deshalb nicht ausgegangen. Die Blutdruckwerte lagen bei sechs Schweinen post Intervention (139,6/ 61,9 mmHg) deutlich höher als prä Intervention (121,6/ 51,6 mmHg). Der Anstieg des Blutdrucks post Intervention könnte auf postoperative Stressfaktoren hinweisen. Nach 28 Tagen zum Zeitpunkt der Finalisierung lagen die Blutdruckwerte mit 123,7/ 52,9 mmHg durchschnittlich wieder im Bereich prä Intervention.

Die durchschnittlichen diastolischen Blutdruckwerte prä Intervention (51,6 mmHg) und Finalisierung (52,9 mmHg) liegen deutlich niedriger als der Normwerte von 70-80 mmHg. Post Intervention sind die diastolischen Werte auch etwas erniedrigt (61,9 mmHg). Dies könnte an der Narkoseeinleitung mit Midazolam liegen. Goodrich et al. zeigten, dass eine Sedation mit Midazolam die diastolischen Blutdruckwerte bei Schweinen erniedrigt [85].

Da die Messungen des Blutdrucks prä Intervention und Finalisierung direkt im Anschluss an die Sedation mit Midazolam erfolgten, konnte der Organismus zu diesem Zeitpunkt das Midazolam noch nicht vollständig abgebaut haben. Post Intervention war genug Zeit vergangen für den Abbau des Midazolams, der von Goodrich et al. mit etwa 20 Minuten beschrieben wird [85].

5.3 Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen

Die Ähnlichkeiten des kardiovaskulären Systems zwischen Mensch und Schwein sind bekannt. Kreislaufsystem und Haut haben dabei die engsten Ähnlichkeiten [81]. Die hohe Sicherheit des Verfahrens spricht für eine Anwendung am Menschen. Oberflächliche, fokale Verbrennungen im Anwendungsgebiet des HIFUS wären unwahrscheinlicher, da der Mensch weniger und dünner behaart ist und eine komplette Haarentfernung leichter ist als beim Schwein.

Die Durchführbarkeit der Intervention wäre am Menschen ohne Narkose möglich und vereinfacht somit die Prozedur und macht sie kostengünstiger. Die vielfachen Anwendungen des MRg HIFUS zur Behandlung des Uterusmyoms waren unter vollem Bewusstsein und mit leichter Analgesie möglich [9, 86].

Die anatomischen Gegebenheiten beim Menschen ließen zudem ein deutlich größeres Schallfenster zu. Die Proc. transversi sind beim Menschen kürzer und deren Distanz zu den Nieren größer als beim Schwein. Mit zunehmender Distanz zwischen Schallgeber und Zielgewebe kommt es bei einem kegelförmigen Schallgeber zu einem geraderen Schallwinkel.

Ein gerader Schallwinkel reduziert die Ultraschallverzerrung und den Anteil des betroffenen Gewebes, sodass es zu geringeren Reflektionen und Absorptionen kommt.

Somit könnten durch geringere Ultraschallverzerrung und verbessertem Schallwinkel akustische Energien bei geringerer ungewollter Energieabsorption, besser am Zielgewebe der Nierenarterien appliziert werden. Die veränderte Anatomie lässt somit eine verbesserte Wirksamkeit der MRg HIFUS Therapie zur renalen Denervation beim Menschen vermuten.

5.4 Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass der MRg HIFUS in der Lage ist, sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien zu abladien. Signifikante Behandlungserfolge zur renalen sympathischen Denervation im Schweinmodell konnten jedoch nicht festgestellt werden. Als Grund können hierfür insuffiziente Energieabgaben in das perivaskuläre Gewebe der Nierenarterien angeführt werden.

Der im Schwein deutlich verlängerte Proc. transversus sowie eine stark ausgeprägte Fascia thoracolumbalis engten das Schallfenster ein und erhöhten die ungewollte Energieabsorption im Strahlengang. Die Anwendung des MRg HIFUS zur renalen sympathischen Denervation am Menschen ist voraussichtlich einfacher, da das Schallfenster des HIFUS durch die kürzeren Querfortsätze der Lendenwirbel nicht so stark eingeschränkt ist.

Die Tatsache, dass Schwein 4 degenerative Veränderungen der sympathischen Nervenfasern aufweist, zeigt im Zusammenhang mit den perivaskulären ödematösen Veränderungen auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention, dass eine Behandlung mittels MRg HIFUS auch im Schweinmodell möglich sein kann.

Des Weiteren zeigt Schwein 4 auch einen Abfall der NoradrenalinKonzentration auf der rechten behandelten Seite. Dieser ist mit 12,5% nicht stark ausgeprägt und könnte unter Umständen auch auf eine Streuung der NoradrenalinKonzentrationen hinweisen. Im Zusammenhang mit den histologischen Bildern und den T2w FSE Sequenzen post Intervention könnten es jedoch weitere Indizien einer erfolgreichen Behandlung sein.

MRg HIFUS zur renalen Denervation ist eine sichere Methode mit großem therapeutischem Potential. Die Effektivität dieser Therapie bei refraktärer Hypertonie müssen weitere experimentelle Studien noch untersuchen. Das Schwein als Tiermodell stellt dabei wahrscheinlich eine größere Herausforderung dar als der Mensch.

6 Zusammenfassung

Die arterielle Hypertonie ist eine der häufigsten Erkrankungen der westlichen Industrieländer mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen und Mortalität. Ein Drittel aller hypertensiven Patienten leiden unter therapierefraktärer Hypertonie und können medikamentös nicht adäquat behandelt werden. Die Erkenntnis, dass eine Überaktivität im sympathischen System eine wichtige Ursache in der Entwicklung der Hypertonie spielt, führte zur Entwicklung minimal invasiver Therapieansätze zur renalen Sympathikolyse. Sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterien werden dabei selektiv degeneriert, um die pathologisch erhöhte Aktivität des sympathischen Systems zu reduzieren. Eine etablierte Methode ist die katheterbasierte Radiofrequenzablation, wobei ein Katheter über die Leiste bis in die Nierenarterie vorgeschoben wird und radiofrequente Energien zirkulär appliziert werden. Anatomische Ausschlusskriterien seitens der Patienten wie z.B. verzweigte oder zu geringe Durchmesser der Nierenarterien sowie die Invasivität durch die Applikation des Katheters ließen uns nach neuen nicht invasiven Therapieansätzen forschen. Der MRg HIFUS ist eine nicht invasive ablativ Methode, die derzeit vor allem zur Behandlung des Uterusmyoms genutzt wird. Ziel dieser Studie war die Ermittlung der Sicherheit und Wirksamkeit der erstmaligen Anwendung des MRg HIFUS zur renalen sympathischen Denervation im Schweinemodell.

In der vorliegenden Studie wurden 10 Schweine, darunter ein Sham Schwein, unter Propofol Narkose mittels MRg HIFUS entlang der rechten Nierenarterien behandelt. Zwei der zehn Schweine wurden direkt im Anschluss an die Intervention euthanasiert; die anderen acht Schweine nach 28 Tagen. Beide Nieren wurden entnommen und mit Ameisensäure homogenisiert. Die Proben wurden mithilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und elektrochemischer Detektion auf ihren Noradrenalinegehalt untersucht. Nierenarterien- und -venen sowie Ureteren wurden in Formalin fixiert, mit gängigen histologischen Methoden aufgearbeitet und einer HE und EvG Färbung unterzogen. Mit diesen Färbungen konnten degenerativ veränderte sympathische Nervenfasern im umliegenden Gewebe der Nierenarterien gut dargestellt werden.

Perivaskuläre ödematöse Veränderungen im Bereich der rechten Nierenarterien, die auf thermische Gewebeschädigungen hinweisen, waren auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention bei drei von neun behandelten Schweinen zu sehen. Ein signifikanter Abfall der Noradrenalinkonzentrationen der behandelten Nieren als Hinweis auf eine erfolgreiche Behandlung war nicht feststellbar. Histologisch konnte man perineurale Fibrosierungen, die eine Degeneration der sympathischen Nervenfasern implizieren, nur bei einem Schwein feststellen. Die Behandlung wurde von allen Schweinen sehr gut toleriert. Lediglich drei Schweine hatten post Intervention leichte oberflächliche fokale Verbrennungen der Epidermis.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Schweinemodell aufgrund anatomischer Gegebenheiten für diese Studie kein geeignetes Modell darstellt. Neun Schweine zeigten auf den T2w FSE Sequenzen post Intervention ödematöse Veränderungen aufgrund thermaler Ablation durch den HIFUS im Bereich des Querfortsatzes der Lendenwirbel. Die langen Querfortsätze der Lendenwirbel des Schweins erschwerten die Nutzung eines geraden Schallwinkels, schränkten das verfügbare Schallfenster des HIFUS stark ein und führten zu Energieabsorptionen- und -reflektionen. Das Fettgewebe in unmittelbarer Nähe der Nierenarterien machte eine MR Thermometrie und damit eine sichere Temperaturüberwachung des Gewebes unmöglich.

In dieser Studie konnte somit kein einschlagender Behandlungserfolg des MRg HIFUS festgestellt werden. Lediglich bei einem Schwein wurde eine erfolgreiche renale Sympathikolyse durch die Behandlung erreicht. Dies zeigt das Potential des MRg HIFUS als nicht invasive Therapiemöglichkeit bei refraktärer Hypertonie. Die sehr gering auftretenden Komplikationen, die Sicherheit der Methodik und die Visualisierung durch die Kombination mit dem MRT sind starke Argumente weitere Studien zu planen, um eine mögliche renale Denervation mit Hilfe des MRg HIFUS zu erreichen.

7 Summary

MR-guided high-intensity focused ultrasound for renal sympathetic denervation – a feasibility study in pigs

Hypertension is one of the most common medical conditions amongst people in developed countries, and it can have fatal consequences for the cardiovascular system. Most patients suffer from resistant hypertension and cannot be treated by common antihypertensive drugs. Recent findings have shown that overactivity of the sympathetic nervous system plays an important role in the development of hypertension. This has led scientists to explore and develop new minimal invasive treatment methods to degenerate renal sympathetic nerve fibres located around the renal arteries, thereby preventing this overactivity. One established method is catheter-based radiofrequency ablation. An endovascular catheter is inserted in the femoral artery in the inguinal region and pushed forward to the renal artery. Radiofrequency energy is then applied to the adventitia of the renal artery. However, this approach is unavailable to patients who have certain anatomic characteristics. This has therefore led us to search for new, non-invasive treatment methods for renal denervation. Magnetic resonance-guided, high-intensity focused ultrasound (MRg HIFUS) is a non-invasive, ablative method that is currently used primarily for the treatment of uterine fibroids. We therefore undertook this study to evaluate the safety and efficacy of MR-guided high-intensity focused ultrasound for renal sympathetic denervation in a porcine model.

A total of ten pigs were used in this study, one of which was a sham pig and was not treated. During the MRg HIFUS intervention all pigs were placed under general anaesthesia using propofol. They were then treated with MRg HIFUS along the right renal artery. Two of the pigs were sacrificed straight after the MRg HIFUS treatment, the other eight pigs were sacrificed 28 days later. Both kidneys were removed and homogenized using formic acid. Samples of the kidneys were then examined for their concentration of norepinephrine using high pressure liquid chromatography and electrochemical detection. Renal arteries and urethras were preserved in formalin, histologically processed, and stained with HE and EvG staining. Degenerative sympathetic nerve fibres could be easily detected after this staining.

In three of the nine pigs perivascular oedema indicating thermal tissue damage was diagnosed on the T2w FSE sequences taken after the HIFUS treatment. Furthermore, the norepinephrine concentrations in the treated kidneys of the pigs did not drop significantly, something that would also have indicated the treatment was successful. During the histological examination, perineural fibrosis, indicating degenerated sympathetic nerve fibres, was visible in one of the pigs. All pigs tolerated the treatment very well and there were no serious complications. Three of the nine pigs treated displayed superficial skin burns following the MRg HIFUS treatment. The results showed that pigs are not suitable subjects for MRg HIFUS treatment as a result of long lumbar transverse processes and a dominant fascia thoracolumbalis. Nine pigs treated with MRg HIFUS showed changes caused by thermal damage, concentrated around the transverse process of the lumbar vertebrae. The long transverse processes of the pigs' lumbar vertebrae complicated the use of a straight ultrasound beam, limited the acoustic window of the HIFUS and caused energy absorption and reflection. The fat tissue in close proximity to the renal arteries also made the use of magnetic resonance thermometry, and therefore temperature mapping in this area, impossible.

This study provided evidence that MRg HIFUS could not be used successfully as a treatment method to produce renal denervation in pigs. In one pig we assume a potential success of renal sympathicolysis.

However, the high potential of this non-invasive therapy technique could still be clearly observed. The minimal and infrequent complications, the safety of the technique, and the visualisation on account of the combination with the MRI are strong arguments for further studies to be conducted that explore the possibility of using MRg HIFUS to induce renal denervation. In such studies, however, pigs should not be used as subjects.

8 Literaturverzeichnis

1. Kearney, P.M., et al., *Global burden of hypertension: analysis of worldwide data*. Lancet, 2005. **365**(9455): p. 217-23.
2. Katrin Janhsen, H.S., Anne Starker, *Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 43, Hypertonie*2008, Berlin: Robert- Koch- Institut. 29.
3. *Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: durability of blood pressure reduction out to 24 months*. Hypertension, 2011. **57**(5): p. 911-7.
4. Wolf-Maier, K., et al., *Hypertension treatment and control in five European countries, Canada, and the United States*. Hypertension, 2004. **43**(1): p. 10-7.
5. Schlaich, M.P., et al., *Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation*. Hypertension, 2004. **43**(2): p. 169-75.
6. Allen, E.V., *Symposium on the treatment of essential hypertension; introduction*. Proc Staff Meet Mayo Clin, 1952. **27**(24): p. 473-4.
7. Esler, M.D., et al., *Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial*. Circulation, 2012. **126**(25): p. 2976-2982.
8. Sapoval, M., et al., *Endovascular renal artery denervation: why, when, and how?* Cardiovasc Intervent Radiol, 2012. **35**(3): p. 463-71.
9. Stewart, E.A., et al., *Focused ultrasound treatment of uterine fibroid tumors: safety and feasibility of a noninvasive thermoablative technique*. Am J Obstet Gynecol, 2003. **189**(1): p. 48-54.
10. Carretero, O.A. and S. Oparil, *Essential hypertension. Part I: definition and etiology*. Circulation, 2000. **101**(3): p. 329-35.
11. Cain, A.E. and R.A. Khalil, *Pathophysiology of essential hypertension: role of the pump, the vessel, and the kidney*. Semin Nephrol, 2002. **22**(1): p. 3-16.
12. Inoue, I., et al., *A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro*. J Clin Invest, 1997. **99**(7): p. 1786-97.
13. Jeunemaitre, X., et al., *Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen*. Cell, 1992. **71**(1): p. 169-80.
14. Esler, M., et al., *Biochemical evidence of sympathetic hyperactivity in human hypertension*. Hypertension, 1991. **17**(4 Suppl): p. III29-35.
15. Sever, P.S. and N.R. Poulter, *A hypothesis for the pathogenesis of essential hypertension: the initiating factors*. J Hypertens Suppl, 1989. **7**(1): p. S9-12.
16. Ashley, F.W., Jr. and W.B. Kannel, *Relation of weight change to changes in atherogenic traits: the Framingham Study*. J Chronic Dis, 1974. **27**(3): p. 103-14.
17. Neter, J.E., et al., *Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Hypertension, 2003. **42**(5): p. 878-84.
18. Egan, B.M., et al., *Uncontrolled and apparent treatment resistant hypertension in the United States, 1988 to 2008*. Circulation, 2011. **124**(9): p. 1046-58.
19. Calhoun, D.A., et al., *Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research*. Hypertension, 2008. **51**(6): p. 1403-19.
20. Viera, A.J., *Resistant hypertension*. J Am Board Fam Med, 2012. **25**(4): p. 487-95.
21. Brown, M.J., *Renin: friend or foe?* Heart, 2007. **93**(9): p. 1026-33.
22. Brewster, U.C., J.F. Setaro, and M.A. Perazella, *The renin-angiotensin-aldosterone system: cardiorenal effects and implications for renal and cardiovascular disease states*. Am J Med Sci, 2003. **326**(1): p. 15-24.

23. Volpe, M., et al., *The renin-angiotensin system as a risk factor and therapeutic target for cardiovascular and renal disease*. J Am Soc Nephrol, 2002. **13 Suppl 3**: p. S173-8.
24. Wyss, J.M. and S.H. Carlson, *The role of the nervous system in hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2001. **3**(3): p. 255-62.
25. Finke, R., et al., *Threshold pressure for the pressure-dependent renin release in the autoregulating kidney of conscious dogs*. Pflugers Arch, 1983. **399**(2): p. 102-10.
26. Persson, A.E., et al., *Mechanisms for macula densa cell release of renin*. Acta Physiol Scand, 2004. **181**(4): p. 471-4.
27. Vander, A.J. and G.W. Geelhoed, *Inhibition of renin secretion by angiotensin. II*. Proc Soc Exp Biol Med, 1965. **120**(2): p. 399-403.
28. Aroor, A.R., et al., *The Role of Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the Development of Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness*. Front Endocrinol (Lausanne), 2013. **4**: p. 161.
29. Iaccarino, G., et al., *Role of the sympathetic nervous system in cardiac remodeling in hypertension*. Clin Exp Hypertens, 2001. **23**(1-2): p. 35-43.
30. Kanchaiah, S. and M.A. Pfeffer, *Cardiac remodeling in systemic hypertension*. Med Clin North Am, 2004. **88**(1): p. 115-30.
31. Chen, X., et al., *Prevalence, incidence, and risk factors of lacunar infarcts in a community sample*. Neurology, 2009. **73**(4): p. 266-72.
32. Frohlich, E.D., et al., *The heart in hypertension*. N Engl J Med, 1992. **327**(14): p. 998-1008.
33. Verdecchia, P., et al., *Usual versus tight control of systolic blood pressure in non-diabetic patients with hypertension (Cardio-Sis): an open-label randomised trial*. Lancet, 2009. **374**(9689): p. 525-33.
34. Mancia, G., et al., *Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document*. Blood Press, 2009. **18**(6): p. 308-47.
35. Leoncini, G., et al., *Global risk stratification in primary hypertension: the role of the kidney*. J Hypertens, 2008. **26**(3): p. 427-32.
36. Schmieder, R.E., et al., *[Subclinical albuminuria, microalbuminuria and proteinuria--accepted cardiovascular risk markers?]*. Dtsch Med Wochenschr, 2006. **131**(47): p. 2665-71.
37. *Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report*. National Institutes of Health. Obes Res, 1998. **6 Suppl 2**: p. 51S-209S.
38. Kelley, G.A. and K.S. Kelley, *Progressive resistance exercise and resting blood pressure : A meta-analysis of randomized controlled trials*. Hypertension, 2000. **35**(3): p. 838-43.
39. Appel, L.J., et al., *A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group*. N Engl J Med, 1997. **336**(16): p. 1117-24.
40. Sacks, F.M., et al., *Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group*. N Engl J Med, 2001. **344**(1): p. 3-10.
41. Xin, X., et al., *Effects of alcohol reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Hypertension, 2001. **38**(5): p. 1112-7.
42. Reilly, R.F., A.J. Peixoto, and G.V. Desir, *The evidence-based use of thiazide diuretics in hypertension and nephrolithiasis*. Clin J Am Soc Nephrol, 2010. **5**(10): p. 1893-903.
43. Ishii, N., et al., *Anti-atherosclerotic potential of dihydropyridine calcium channel blockers*. J Atheroscler Thromb, 2012. **19**(8): p. 693-704.
44. Volpe, M. and G. Tocci, *Rationale for triple fixed-dose combination therapy with an angiotensin II receptor blocker, a calcium channel blocker, and a thiazide diuretic*. Vasc Health Risk Manag, 2012. **8**: p. 371-80.

45. Lithell, H., et al., *The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial*. J Hypertens, 2003. **21**(5): p. 875-86.
46. Krum, H., et al., *Device-based antihypertensive therapy: therapeutic modulation of the autonomic nervous system*. Circulation, 2011. **123**(2): p. 209-15.
47. Schlaich, M.P., et al., *Renal sympathetic-nerve ablation for uncontrolled hypertension*. N Engl J Med, 2009. **361**(9): p. 932-4.
48. Esler, M.D., et al., *Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial*. Lancet, 2010. **376**(9756): p. 1903-9.
49. S., W. *Safety and efficacy of a novel quadrapolar renal denervation catheter in patients with resistant hypertension: a first-in-man multicenter study*. in *Annual Scientific Sessions of the European Association for Percutaneous Cardiovascular Interventions*. 2012. Paris, France.
50. U., H. *Clinical experience with Vessix Vascular balloon renal denervation catheter*. in *Annual Scientific Sessions of the European Association for Percutaneous Cardiovascular Interventions*. 2012. Paris, France.
51. Gewirtz, J.R. and J.D. Bisognano, *Catheter-based renal sympathetic denervation: a targeted approach to resistant hypertension*. Cardiol J, 2011. **18**(1): p. 97-102.
52. Ormiston, J.A., et al., *First-in-human use of the OneShot renal denervation system from Covidien*. EuroIntervention, 2013. **8**(9): p. 1090-4.
53. Moller, J.E., J. Helweg-Larsen, and E. Jacobsen, *Histopathological lesions in the sciatic nerve of the rat following perineural application of phenol and alcohol solutions*. Dan Med Bull, 1969. **16**(4): p. 116-9.
54. Streitparth, F., et al., *MR-guided Periarterial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013. **36**(3): p. 791-796.
55. Streitparth, F., et al., *Percutaneous Computer Tomography-Guided Ethanol Sympathicolysis for the Treatment of Resistant Arterial Hypertension*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2014.
56. Stefanadis, C., *Renal denervation in resistant hypertension: radiofrequency ablation and chemical denervation*. Hellenic J Cardiol, 2011. **52**(6): p. 481-2.
57. Stefanadis, C., et al., *Chemical denervation of the renal artery with vincristine for the treatment of resistant arterial hypertension: first-in-man application*. Hellenic J Cardiol, 2013. **54**(4): p. 318-21.
58. Consigny, P.M., et al., *Chemical Renal Denervation in the Rat*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013.
59. Christopher Owens, W.J.G., Kirk Seward, Sanjay Misra, Stewart B. Jacobson, Russell M. Jones, *Percutaneous Peri-Adventitial Guanethidine Delivery Induces Renal Artery Sympathectomy: Preclinical Experience and Implication for Refractory Hypertension*. Journal of Vascular Surgery, 2011. **53**(6): p. 87S.
60. Mabin, T., et al., *First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension*. EuroIntervention, 2012. **8**(1): p. 57-61.
61. Wang, Q., et al., *Noninvasive renal sympathetic denervation by extracorporeal high-intensity focused ultrasound in a pre-clinical canine model*. J Am Coll Cardiol, 2013. **61**(21): p. 2185-92.
62. Dewhirst, M.W., et al., *Basic principles of thermal dosimetry and thermal thresholds for tissue damage from hyperthermia*. Int J Hyperthermia, 2003. **19**(3): p. 267-94.
63. Wu, F., et al., *Pathological changes in human malignant carcinoma treated with high-intensity focused ultrasound*. Ultrasound Med Biol, 2001. **27**(8): p. 1099-106.
64. Ashush, H., et al., *Apoptosis induction of human myeloid leukemic cells by ultrasound exposure*. Cancer Res, 2000. **60**(4): p. 1014-20.
65. Dubinsky, T.J., et al., *High-intensity focused ultrasound: current potential and oncologic applications*. AJR Am J Roentgenol, 2008. **190**(1): p. 191-9.

66. Yuan, J., et al., *Towards fast and accurate temperature mapping with proton resonance frequency-based MR thermometry*. Quant Imaging Med Surg, 2012. **2**(1): p. 21-32.
67. Kamp, J.E., et al., *[Clinical outcome of magnetic-resonance-guided focused ultrasound surgery (MRgFUS) in the treatment of symptomatic uterine fibroids]*. Rofo, 2013. **185**(2): p. 136-43.
68. Jemal, A., et al., *Cancer statistics, 2002*. CA Cancer J Clin, 2002. **52**(1): p. 23-47.
69. Furusawa, H., et al., *Magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery of breast cancer: reliability and effectiveness*. J Am Coll Surg, 2006. **203**(1): p. 54-63.
70. Hacker, A., et al., *Extracorporeal application of high-intensity focused ultrasound for prostatic tissue ablation*. BJU Int, 2005. **96**(1): p. 71-6.
71. Jolesz, F.A., et al., *Noninvasive thermal ablation of hepatocellular carcinoma by using magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound*. Gastroenterology, 2004. **127**(5 Suppl 1): p. S242-7.
72. Catane, R., et al., *MR-guided focused ultrasound surgery (MRgFUS) for the palliation of pain in patients with bone metastases--preliminary clinical experience*. Ann Oncol, 2007. **18**(1): p. 163-7.
73. Vaezy, S. and V. Zderic, *Hemorrhage control using high intensity focused ultrasound*. Int J Hyperthermia, 2007. **23**(2): p. 203-11.
74. Hynynen, K., et al., *Noninvasive arterial occlusion using MRI-guided focused ultrasound*. Ultrasound Med Biol, 1996. **22**(8): p. 1071-7.
75. Andreas H. Mahnken, J.R., *CT- and MR-Guided Interventions in Radiology* 2009, Berlin, Heidelberg: Springer. 403.
76. C.R. Hill, J.C.B., G. R. ter Haar, *Physical Principles of medical Ultrasonics*. Vol. 2. 2004, London: Wiley. 528.
77. Bauch, H.J., U. Kelsch, and W.H. Hauss, *[A single, rapid, selective and quantitative determination of adrenaline and noradrenaline in the plasma by a combination of solvent extraction, HPLC separation and electrochemical detection]*. J Clin Chem Clin Biochem, 1986. **24**(9): p. 651-8.
78. Maria Mulisch, U.W., *Romeis mikroskopische Technik*. Vol. 18. 2010, Heidelberg: Spektrum. 531.
79. K. D. Weyrauch, A.S., *Histologie Kurs für Veterinärmediziner* 1998, Stuttgart: Enke. 170.
80. Egner, B., *Blutdruck auf den Punkt gebracht* 2002, Berlin: Parey. 172.
81. Swindle, M.M., *Comparative Anatomy and Physiology of the pig*. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science, 1998. **25**.
82. McDannold, N., et al., *Uterine leiomyomas: MR imaging-based thermometry and thermal dosimetry during focused ultrasound thermal ablation*. Radiology, 2006. **240**(1): p. 263-72.
83. Schlesinger, D., et al., *MR-guided focused ultrasound surgery, present and future*. Med Phys, 2013. **40**(8): p. 080901.
84. Krum, H., et al., *Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study*. Lancet, 2009. **373**(9671): p. 1275-81.
85. Goodrich, J.A., et al., *Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation*. Comp Med, 2001. **51**(1): p. 13-5.
86. Tempany, C.M., et al., *MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study*. Radiology, 2003. **226**(3): p. 897-905.

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1 MRT Protokoll der MRg HIFUS Intervention	19
Tab. 2 Testsonifikationen Schwein 1-9 mit Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD).24	
Tab. 3 Therapeutische Sonifikationen Schwein 1-9. Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD).....	25
Tab. 4 Signalanhebungen Schwein 1-10 der T2w FSE Sequenzen transversal post Intervention.	32
Tab. 5 NoradrenalinKonzentrationen linke (unbehandelte) und rechte (behandelte) Niere mit prozentualem Abfall rechter zur linker Niere. (* errechneter Wert)	51
Tab. 6 Arithmetische Mittelwerte von drei aufeinander folgenden Messungen des Blutdrucks direkt prä- und post Intervention und nach 28 Tagen (Final).....	53

10 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Übersichtsschaubild renaler sympathischer Denervationsverfahren.....	7
Abb. 2: Schwein 5 Tierpositionierung im MRT zur MRg HIFUS Intervention roter Pfeil zeigt Sauerstoffmaskenkonstruktion, grüner Pfeil Oberflächenspule, schwarzer Pfeil Venenverweilkatheter am rechten Ohr.	29
Abb. 3: Schwein 3 T2w FSE transversal (A), parasagittal (B), parakoronar (C) roter Pfeil zeigt auf die rechte Niere, weißer Pfeil auf die rechte Nierenarterie und schwarzer Pfeil auf den Schallgeber, grüner Pfeil auf den Lendenwirbel.	22
Abb. 4: Planungsbild Sonifikationen der rechten Nierenarterie Schwein 5. T2w FSE transversal Sequenz, türkiser Balken repräsentiert den Sonifikationsbereich (a). Echtzeit Fast spoiled gradient-recalled-echo (FSGR) Sequenz mit farbllichem Temperaturunterschied im Sonifikationsbereich (b).	23
Abb. 5: Benutzeroberfläche des MRg HIFUS Systems. Linke Bildseite zeigt vergrößerte thermosensitive Darstellung eines sonifizierten Areals. Rechte Bildseite stellt die Sonifikationsparameter und Temperatur-Zeit Verläufe dar.	23
Abb. 6: Schwein 6 MR-Angiographie MIP (maximum intensity projection) koronar, rote Pfeile kennzeichnen die rechte und linke Niere, weiße Pfeile die rechte und linke Nierenarterie und grüner Pfeil die Aorta abdominalis.	26
Abb. 7: Schwein 5 nach Eröffnung der Bauchhöhle. Grüner Pfeil zeigt auf die rechte Niere, roter Pfeil auf den Ureter, blauer Pfeil auf die Milz, weißer Pfeil auf die Leber. Schwarzer Pfeil zeigt auf die Blase.	28
Abb. 8: Schwein 5 Blutdruckmessungen unter Propofol Narkose prä MRg HIFUS Intervention.	30
Abb. 9: Schwein 1, Planungs MRT, T2w FSE transversal prä Intervention. Roter Pfeil markiert die rechte Niere, weißer Pfeil die perivaskuläre Region der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den verhältnismäßigen langen Proc. transversus des Lendenwirbels und blauer Pfeil den M. longissimus lumborum.	33
Abb. 10: Schwein 1, T2w FSE transversal post Intervention, weiße Pfeile kennzeichnen die perivaskuläre Region der behandelten Nierenarterien, grüne Pfeile ödematös veränderte Areale im Bereich der Querfortsätze des Lendenwirbels und blaue Pfeile Signalanhebungen des M. longissimus lumborum.	33
Abb. 11: Schwein 6 T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil zeigt auf den mit Fettgewebe ausgekleideten schmalen perivaskulären Raum der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil auf den Querfortsatz des Lendenwirbels.	34
Abb. 12: Schwein 6 T2w FSE transversal post Intervention, weißer Pfeil deutet auf ödematös veränderte Areale perivaskulär der behandelten Nierenarterie als Therapieerfolg, grüner Pfeil auf ödematös veränderte Areale um den Querfortsatz des Lendenwirbels.	35
Abb. 13: Schwein 5 T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil markiert perivaskulären Bereich der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den Querfortsatz des Lendenwirbels.	36
Abb. 14: Schwein 5 T2w FSE transversal post Intervention, weißer Pfeil zeigt auf perivaskuläre Areale der behandelten Nierenarterie, grüner Pfeil auf Signalanhebungen im Bereich des Querfortsatz des Lendenwirbels.	36
Abb. 15: Schwein 10. T2w FSE transversal prä Intervention, weißer Pfeil kennzeichnet perivaskuläres Gebiet der rechten Nierenarterie, grüner Pfeil den Querfortsatz des Lendenwirbels.	37
Abb. 16: Schwein 10, T2w FSE transversal post Intervention, mit weißem Pfeil gekennzeichnet sind unveränderte Areale perivaskulär der rechten Nierenarterie, der grüne Pfeil zeigt auf das Gebiet um den Querfortsatz des Lendenwirbels.	38
Abb. 17: Schwein 6 MR Angiographie MIP (maximum intensity projection) koronar, rote Pfeile zeigen auf rechte und linke Niere, weiße Pfeile auf rechte und linke Nierenarterie, grüner Pfeil auf die Aorta abdominalis.	39

Abb. 18: Schwein 1 M. longissimus lumborum dexter, schwarzer Pfeil kennzeichnet koagulationsnekrotische Veränderungen nach HIFUS Testschuss.	40
Abb. 19: Schwein 6 oberflächliche Verbrennungen der Epidermis nach MRg HIFUS Intervention mit 2 ml Standardspritze als Größenvergleich. Schwarze Pfeile markieren oberflächliche Verbrennungen der Regio abdominis media, kaudal der letzten Rippen.	41
Abb. 20: Schwein 3 Übersichtsschnitt der rechten behandelten Nierenarterie, HE Färbung. Blaue Pfeile stellen Aufbau der Arterienwand mit Intima, Media und Adventitia dar. Schwarzes Viereck markiert sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia der Nierenarterie.	42
Abb. 21: Schwein 3 vergrößerter Ausschnitt der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der rechten Nierenarterie, HE Färbung. Schwarzer Pfeil zeigt auf das Perineurium mit leichten Schrumpfungartefakten und keinen Anzeichen von Fibrosierung, blauer Pfeil auf ein intaktes Axon, roter Pfeil auf eine Ganglionzelle ohne degenerativen Veränderungen, grüne Pfeile auf kleine Arteriolen und gelber Pfeil auf Fettgewebe im umliegenden Gewebe der Nierenarterie.	43
Abb. 22: Schwein 3 Übersichtsschnitt eines Abschnitts der behandelten Nierenarterie, EvG Färbung. Blaue Pfeile kennzeichnen Arterienwandaufbau mit Intima, Media und Adventitia mit elastischen Faseranteilen, schwarzes Viereck umrandet sympathische Nervenfasern in der Tunica adventitia.	44
Abb. 23: Schwein 3 vergrößerter Ausschnitt der sympathischen Nervenfasern in der Tunica adventitia der rechten Nierenarterie, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil markiert das besser darstellbare Perineurium in dieser Färbung ohne jeglicher Veränderungen, roter Pfeil eine intakte Ganglionzelle, blauer Pfeil ein intaktes Axon, grüne Pfeile Arteriolen und gelber Pfeil das Fettgewebe.	45
Abb. 24: degenerativ veränderte sympathische Nervenfasern eines Schweins der Ethanolinjektions-Studie, HE Färbung. Schwarzer Pfeil zeigt auf das deutlich verdickte Perineurium mit fibrotischer Veränderungen, rote Pfeile auf Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel, einzelne Axone sind nicht mehr erkennbar und grüner Pfeil auf eine intakte Kapillare [54].	46
Abb. 25: degenerativ veränderte, sympathische Nervenfasern eines Schweins der Ethanolinjektions-Studie, EvG Färbung. Schwarze Pfeile zeigen auf das deutlich verdickte Perineurium mit fibrotischen Veränderungen, in dieser Färbung deutlicher erkennbar, rote Pfeile auf Zusammenhangstrennungen der Nervenfaszikel mit Auflösung der neuralen Strukturen und grüner Pfeil auf eine intakte Kapillare [54].	47
Abb. 26: Schwein 4 Ausschnitt veränderter renaler sympathischer Nervenfasern, HE Färbung. Schwarzer Pfeil kennzeichnet perineurale Fibrosierungen durch verdicktes Perineurium, roter Pfeil Gefäßwandaufreibungen durch alle Wandschichten des Gefäßes.	48
Abb. 27: Schwein 4 vergrößerter Ausschnitt der veränderten sympathischen Nervenfasern, HE Färbung. Schwarzer Pfeil deutet auf eine Verdickung des Perineuriums, die sich in die endoneuralen Schichten fortsetzt.	49
Abb. 28: Schwein 4 Ausschnitt veränderter sympathischer Nervenfasern, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil kennzeichnet verdicktes Perineurium, roter Pfeil Gefäßwandaufreibungen. Beides Anzeichen degenerativer, fibrotischer Veränderungen.	50
Abb. 29: Schwein 4 vergrößerter Ausschnitt der veränderten sympathischen Nervenfasern, EvG Färbung. Schwarzer Pfeil deutet auf fibrotische Umbauprozesse des verdickten Perineuriums, in der EvG Färbung besser erkennbar, als in der HE Färbung.	50
Abb. 30: Arithmetische Mittelwerte der NA Konzentrationen der behandelten im Vergleich zu den unbehandelten Nieren. Fehlerbalken sind Standardabweichungen. ($p = 0,274$; einseitiger, gepaarter t-Test).	52
Abb. 31: Blutdruckveränderungen post Intervention und Final im Vergleich zu prä Intervention. 95 % Konfidenzintervall, zweiseitig. MS RR: mittlerer systemischer Blutdruck. Dia RR: diastolischer Blutdruck. Sys RR: systolischer Blutdruck. Während	

post Intervention ein leichter Anstieg des Blutdruckes zu erkennen war, zeigt sich Final keinerlei Veränderungen.....	53
Abb. 32: Auswirkungen der Anatomie auf das Schallfenster. Trotz Halbseitenlage kann nur ein suboptimales Schallfenster (blau transparent) im Schwein eingestellt werden (C). Günstigere anatomische Verhältnisse zeigen sich beim Menschen (A).....	55

11 Publikationen

Streitparth, F., Walter, A., Heckmann L., et al., MR-guided Periarterial Ethanol Injection for Renal Sympathetic Denervation: A Feasibility Study in Pigs. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2013. 36(3): p. 791-796

Freyhardt P., Heckmann L., Beck A., Stolzenburg N., Schnorr J., Kamp J., Rinnenthal J. L., Hamm B., Günther R. W., and Streitparth F., MR-guided high-focused ultrasound for renal sympathetic denervation - a feasibility study in pigs. *J Ther Ultrasound*.2014. 2: p.12

Danksagung

An erster Stelle danke ich meinen beiden Doktorvätern Dr. Florian Streitparth und Prof. Dr. Johannes Handler für die ermutigende und beratende Unterstützung.

Herrn Dr. Streitparth danke ich besonders für seine Mühen und seinen unermüdlichen Forschergeist neue Therapieansätze zu erforschen. Seine Hingabe, Begeisterung und Expertise auf dem Gebiet der interventionellen Radiologie waren mir immer ein Antrieb weiter zu machen und voran zu kommen. Mein Dank gilt auch Prof. Dr. Handler, der sofort bereit war meine Betreuung am Fachbereich zu übernehmen und immer erreichbar für mich war.

Dr. Nicola Stolzenburg und Janni Breinl möchte ich an dieser Stelle auch besonders danken. Durch ihre Geduld und ihre Kompetenz konnte ich sehr schnell in veterinärmedizinische und laborrelevante Arbeitsschritte eingearbeitet werden.

Dr. Alexander Beck danke ich vor allem für die Unterstützung bei den HIFUS Interventionen. Durch seine Expertise auf diesem Gebiet konnten neuartige Anwendungen des HIFUS durchgeführt werden. Dr. Rinnenthal bin ich für seine Hilfe und Geduld bei der neuropathologischen Auswertung der zahlreichen Histologieschnitte sehr dankbar.

Anna Walter möchte ich vor allem für ihre tatkräftige Unterstützung im Handling unserer Schweine danken. Gemeinsam konnten wir auch in den sehr frühen Morgenstunden schwierige Situationen meistern.

Ein großer Dank gilt meiner Familie. Sie gaben mir die nötige Kraft und Unterstützung auch in schwierigen Momenten nicht aufzugeben. Ihnen verdanke ich alles und ich wäre ohne sie nicht dort, wo ich heute bin.

Meinem Vater Frank danke ich, dass er mich immer der Bedeutung einer guten Ausbildung erinnert hat und bereit war, mich in meinen Plänen zu unterstützen. Meinem Stiefvater Jochen danke ich, dass er mich immer als Tochter gesehen hat und mir nie das Gefühl gab, enttäuscht von mir zu sein. Meiner Mutter Marianne danke ich für das immerwährende Gefühl nie im Stich gelassen zu werden und für ihre unermessliche Verlässlichkeit und Liebe. Meine Geschwister Jennifer, Stephan, Markus und Hendrik haben mich zu der Person gemacht, die ich heute bin. Unser Zusammenhalt, die Liebe untereinander, die Herausforderungen und die uneingeschränkte Loyalität gaben mir das Gefühl, dass ich mit ihrer Unterstützung alles erreichen kann.

Zum Schluss möchte ich meinem Mann Philipp danken, der mich vor allem in der Endphase immer wieder ermutigt hat und selbst viel Arbeit auf sich genommen hat, um mir den Rücken frei zu halten. Pete danke ich für seine Unterstützung in sprachlichen Fragen und dass er immer an meine Fähigkeiten geglaubt hat. Meinen Freunden danke ich für die Ablenkung, Motivation und Aufmunterung. Es ehrt mich sie in meinem Leben zu haben.

Selbstständigkeitserklärung

Ich, Lilian Suppan, bestätige, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema:

MAGNETRESONANZ GESTEUERTER HOCHINTENSIVER FOKUSSierter ULTRASCHALL ZUR RENALEN DENERVATION IM SCHWEINEMODELL

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die Arbeit wurde ohne die Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dargestellt.

München, den 14.11.2014

Unterschrift, Lilian Suppan geb. Heckmann