

Aus der Klinik für Innere Medizin III
Kardiologie, Angiologie und Internistische Intensivmedizin,
Universitätsklinikum des Saarlandes und Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Michael Böhm

**Morphologische und histopathologische Untersuchung der
sympathischen Innervation der Arteriae renales und
Arteriae carotides**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2023

vorgelegt von: Jan Helge Struthoff

geb. am: 29.03.1996 in Troisdorf

Tag der Promotion: 06.02.2024
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. M. D. Menger
Berichterstatter: Prof. Dr. Felix Mahfoud
Prof. Dr. Carola Meier

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	6
Abkürzungsverzeichnis	7
1 Zusammenfassung.....	9
2 Einleitung	14
2.1 Arterielle Hypertonie	14
2.1.1 Diagnostik.....	15
2.1.2 Therapie.....	15
2.1.3 Therapieresistente Hypertonie.....	16
2.1.4 Interventionelle Therapieoptionen	18
3 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	25
4 Material und Methodik.....	26
4.1 Etablierung der Entnahmemethode	26
4.2 Präparation der arteriellen Gefäße	27
4.3 Sektionierung	30
4.4 Histologische Verarbeitung und Färbung	31
4.5 Auswertung	40
4.6 Statistik	44
5 Ergebnisse	46
5.1 Patientendaten.....	46
5.2 Untersuchung der Nervenverteilung um die Aa. renales	46
5.3 Untersuchung der Nervenverteilung um die Aa. carotides	55
6 Diskussion.....	64
6.1 Nervenverteilung um die Aa. renales und Bedeutung für die klinische Intervention	64
6.2 Verteilung von Nerven um die Aa. carotides	68
6.3 Gemeinsamkeiten und Unterschiede in Innervationsmustern der Aa. renales und Aa. carotides.....	68
7 Limitationen.....	71
8 Fazit	72
9 Literaturverzeichnis	73

10	Publikationen	84
11	Danksagung	85
12	Lebenslauf	86

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Segmentierung und Lokalisation histologischer Schnitte Aa. renales und Aa. carotides.....	31
Abb. 2: Hämatoxylin-Eosin-Färbung, A. renalis sinistra	33
Abb. 3: S100-Färbung, A. renalis sinistra.	35
Abb. 4: Tyrosinhydroxylase-Färbung, A. renalis sinistra.....	37
Abb. 5: Calcitonin gene-related peptide-Färbung, A. renalis sinistra	39
Abb. 6: S100-Färbung, A. renalis sinistra, Quadranteneinteilung und Lumen-Nerv-Distanz-Messung.....	41
Abb. 7: S100-Färbung, Quadranteneinteilung und Erfassung des umliegenden Gewebes...	42
Abb. 8: S100-Färbung, Erfassung der anatomischen Maße	43
Abb. 9: Ermittlung der TH/CGRP-Ratio.....	44
Abb. 10: Kumulative Nervenverteilung in Segmenten der Aa. renales	51
Abb. 11: Kumulative Nervenverteilung in Regionen der Aa. renales	52
Abb. 12: Kumulative Nervenverteilung in Regionen der Aa. carotides	60
Abb. 13: Verteilung von Nerven entlang der Aa. renales	64
Abb. 14: Kumulative Nervenverteilung in Segmenten der Aa. renales und Aa. carotides	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patienten-Charakteristika	46
Tabelle 2: Anatomische Maße Aa. renales	47
Tabelle 3: Neuroganglien in Segmenten und Regionen der Aa. renales	48
Tabelle 4: Lymphknoten in Segmenten und Regionen der Aa. renales	48
Tabelle 5: Nerven pro Quadranten in Segmenten und Regionen der Aa. renales.....	49
Tabelle 6: Gesamtdistribution nach Lumen-Nerv-Distanz von Nerven der Aa. renales	50
Tabelle 7: Anzahl an Nerven und Lumen-Nerv-Distanz nach Regionen in Segmenten der Aa. renales.....	50
Tabelle 8: Nervengröße in Segmenten der Aa. renales	53
Tabelle 9: Verteilung von efferenten und afferenten Anteilen in Nerven der Aa. renales	54
Tabelle 10: Anatomische Maße der Aa. carotides	56
Tabelle 11: Neuroganglien in Segmenten und Regionen der Aa. carotides	57
Tabelle 12: Lymphknoten in Segmenten und Regionen der Aa. carotides	57
Tabelle 13: Nerven pro Quadranten in Segmenten und Regionen der Aa. carotides.....	58
Tabelle 14: Lumen-Nerv-Distanz in Segmenten der Aa. carotides	59
Tabelle 15: Anzahl Nerven und Lumen-Nerv-Distanz nach Region in Segmenten der Aa. carotides.....	59
Tabelle 16: Nervengröße in Segmenten der Aa. carotides	61
Tabelle 17: Verteilung der TH/CGRP-positiven Fläche in Nerven der Aa. carotides	62
Tabelle 18: Anatomische Maße und Strukturen A. carotis interna und A. carotis externa.....	62
Tabelle 19: Efferente und afferente Anteile in Nerven um die A. carotis interna und A. carotis externa	63

Abkürzungsverzeichnis

24-Std.-BP.....	<i>Ambulanter 24-Stunden Langzeit-Blutdruck</i>
A.....	<i>Arteria</i>
Aa.....	<i>Arteriae</i>
Abb.....	<i>Abbildung</i>
CGRP.....	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>
DBP.....	<i>Diastolischer Blutdruck</i>
ESC.....	<i>European Society of Cardiology</i>
ESH.....	<i>European Society of Hypertension</i>
GFR.....	<i>Glomeruläre Filtrationsrate</i>
H&E.....	<i>Hämatoxylin und Eosin</i>
KHK.....	<i>Koronare Herzkrankheit</i>
LND.....	<i>Lumen-Nerv-Distanz</i>
M.....	<i>Musculus</i>
NEP.....	<i>Nitritpökelsalz-Ethanol-Polyethylenglykol</i>
NPY.....	<i>Neuropeptid-Y</i>
pAVK.....	<i>periphere arterielle Verschlusskrankheit</i>
PBS.....	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PBS-T.....	<i>Phosphate-Buffered Saline-Tween</i>
Praxis-BP.....	<i>Praxisblutdruck</i>
RDN.....	<i>Renale Denervation</i>
SBP.....	<i>Systolischer Blutdruck</i>
SD.....	<i>Standardabweichung</i>
TH.....	<i>Tyrosinhydroxylase</i>
VIP.....	<i>Vasoaktives-intestinales Peptid</i>
WHO.....	<i>World Health Organization</i>

Präambel: Zur besseren Lesbarkeit wird in dieser Dissertation das generische Maskulinum verwendet und bezieht sich, sofern nicht anders gekennzeichnet, auf alle Geschlechter.

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Die Reduktion eines erhöhten Blutdrucks kann das Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen, wie Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, Schlaganfall und Sterblichkeit senken. Trotzdem erreichen bis zu 40% der Patienten mit arterieller Hypertonie nicht die empfohlenen Zielblutdrucke. Da für die Blutdruckregulation unter anderem das sympathische Nervensystem und die arteriellen Barorezeptoren im Bereich des Karotissinus eine zentrale Rolle spielen, werden zur Behandlung der Hypertonie interventionelle Therapien untersucht, die die renalen sympathischen Nervenfasern veröden oder den Barorezeptorreflex modulieren. Für die Entwicklung von Kathetersystemen und zur Verbesserung der Prozedur sind Kenntnisse über die Verteilung vegetativer Nervenfasern entlang der Arteriae (Aa.) renales und Aa. carotides essenziell. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Dichte und den Verlauf von vegetativen Nerven entlang der Aa. renales und Aa. carotides zu untersuchen.

Methoden: Die Aa. renales von zehn und die Aa. carotides von neun Körperspendern wurden im anatomischen Institut der Universität des Saarlandes entnommen. Nach der Thorakotomie und Präparation des Herzens und der Lungen, wurden die Aorta und die abdominellen Organe *en-bloc* entnommen. Die Aa. renales und abdominelle Gefäße wurden nach Feinpräparation und Markierung abgesetzt. Die Aa. carotides wurden durch einen lateralen Zugang entlang des M. Sternocleidomastoideus präpariert, markiert und an ihrem Austritt aus dem Thorax, sowie auf der Höhe des Eintritts in die Schädelbasis abgesetzt.

Die Präparate wurden verarbeitet und mit histologischen Färbungen (Hämatoxylin & Eosin, S100, Tyrosinhydroxylase, Calcitonin gene-related peptide) gefärbt. Die Lokalisation der Nerven entlang der Arterien und das Vorliegen relevanter Strukturen wurde dokumentiert. Weiterhin wurde die Lumen-Nerv-Distanz, der Durchmesser der Nerven und der efferente und afferente Anteil der Nerven bestimmt.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 6781 Nerven entlang 18 Aa. renales (zwei Patienten mit unilateraler Nephrektomie in der Vorgeschichte) und 3496 Nerven entlang 17 (bei drei Arterien durch starke Beschädigungen keine Analyse möglich) Aa. carotides analysiert.

Die mittlere Lumen-Nerv-Distanz der Nervenfasern entlang der linken und rechten Aa. renales betrug $2,32 \pm 1,95$ mm und $2,29 \pm 2,03$ mm ($p=0,161$). Die Lumen-Nerv-Distanz nahm von ostial nach distal ab. Im proximalen Segment lag sie bei $3,7 \pm 2,3$ mm, im mittleren Segment bei $2,5 \pm 2,0$ mm, im distalen Segment proximal der Bifurkation der Arterien bei $1,9 \pm 1,6$ mm und distal der Bifurkation bei $1,3 \pm 1,0$ mm ($p < 0,001$). Entlang der linken Aa. renales wurden $6,3 \pm 8,7$ Nerven pro Quadranten und entlang der rechten $7,6 \pm 9,7$ Nerven pro Quadranten ($p=0,889$)

nachgewiesen. Die Anzahl an Nerven pro Quadranten war im proximalen Gefäßsegment am höchsten ($13,7 \pm 18,6$ Nerven pro Quadranten) und nahm im Verlauf der Aa. renales ab, sodass die niedrigste Anzahl an Nerven pro Quadranten im distalen Segment distal der Bifurkation ($4,3 \pm 4,0$ Nerven pro Quadranten; $p < 0,001$ global) vorlag. In allen Gefäßsegmenten war der größte, von proximal nach distal zunehmende, Anteil der analysierten Nerven „klein“ (Diameter $35-69 \mu\text{m}$). Im proximalen Segment wurden die meisten „mittleren“ (Diameter $70-140 \mu\text{m}$) und „großen“ Nerven (Diameter $>140 \mu\text{m}$) registriert. Die Tyrosinhydroxylase-positiv-gefärbte Fläche (efferente Anteile) überwog deutlich der Calcitonin gene-related peptide-positiv-gefärbte Fläche (afferente Anteile). Insgesamt lagen diese bei $95,5 \pm 5,9 \%$ und $4,5 \pm 5,9 \%$.

Entlang der Aa. carotides war die Lumen-Nerv-Distanz in den Prä-Bulbus-, Bulbus- und Post-Bulbus-Segmenten der Aa. carotides: $2,85 \pm 1,4$ mm, $2,91 \pm 1,38$ mm bzw. $2,45 \pm 1,48$ mm ($p < 0,001$). Die Zahl der Nerven pro Quadranten unterschied sich nicht signifikant zwischen dem Prä-Bulbus- ($7,1 \pm 7,3$ Nerven pro Quadranten), Bulbus- ($7,8 \pm 7,0$ Nerven pro Quadranten) und Post-Bulbus- ($7,6 \pm 8,7$ Nerven pro Quadranten) Segment ($p = 0,567$). Im Gefäßsegment Prä-Bulbus besaß die Nervengröße „groß“ den höchsten Anteil ($38,8 \%$). In allen anderen Segmenten hatten „kleine“ Nerven den größten Anteil. Dieser zeigte sich im arteriellen Verlauf weiter steigend. Die Tyrosinhydroxylase-positiv-gefärbte (efferente) Fläche der Nerven machte den größten Anteil der positiv gefärbten Fläche aus ($90,5 \pm 11,1 \%$). Die Calcitonin gene-related peptide-positiv-gefärbte (afferente) Fläche lag bei $9,5 \pm 11,1 \%$ der insgesamt positiv gefärbten Fläche.

Schlussfolgerung: Die Lumen-Nerv-Distanz der Nerven im perivaskulären Bereich der Aa. renales nahm von proximal nach distal ab. Nerven in den distalen Bereichen waren überwiegend kleiner, efferent und näher am Lumen gelegen. Basierend auf diesen Erkenntnissen könnte die Behandlung von distalen Gefäßabschnitten mittels renaler Denervation eine effektivere Ablation sympathischer Nervenfasern ermöglichen.

Die Verteilung der Nerven entlang der Aa. carotides unterschied sich von der der Aa. renales. Eine sinkende Lumen-Nerv-Distanz mit sinkender Nervengröße im arteriellen Verlauf war ebenfalls vorhanden, jedoch scheint dies zu den Aa. renales geringer ausgeprägt zu sein. Das Überwiegen von efferenten Anteilen der Nerven war hier ebenfalls gegeben, jedoch in geringerem Ausmaß als bei den Aa. renales. Studien zur Nervendistribution in diesem Bereich sind rar, womöglich könnten durch weitere Erkenntnisse Therapieverfahren verbessert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Vorgehen zur präzisen Entnahme von Gefäßen entwickelt, eine Methodik erarbeitet mit der Nervenverteilungen um verschiedene Gefäße untersucht werden können und Erkenntnisse gewonnen, die wichtige Informationen zum Innervationsmuster der Nieren- und hirnersorgenden Gefäße liefern.

Abstract

Background: Treatment of arterial hypertension can reduce the risk of cardiovascular morbidity and mortality, including myocardial infarction, heart failure and stroke. The kidney, the sympathetic nervous system, and arterial baroreceptors, particularly along the carotid arteries, play crucial roles in blood pressure regulation. Therefore, interventional procedures, such as renal denervation, carotid body ablation, and baroreceptor stimulation are investigated for treating hypertension. Knowledge of the distribution of nerves along the renal and carotid arteries is essential for developing catheter systems and optimizing procedures. Herein, we aimed to assess the distribution of nerves along the renal and carotid arteries.

Methods: The renal arteries of ten and the carotid arteries of nine body donors were explanted and analyzed at the anatomical institute of Saarland University, Homburg (Saar).

After thoracotomy and removal of lungs and heart, the aorta and abdominal organs were explanted *en bloc*. The renal and abdominal vessels were removed after fine dissection and marking. The carotid arteries were prepared via a lateral approach along the sternocleidomastoid muscle, marked, and cut at their exit from the thorax, as well as proximal to their entry into the skull base. The tissue was processed and stained (haematoxylin and eosin, S100, tyrosine hydroxylase, calcitonin gene-related peptide). Digital analysis was used to measure lumen-nerve distance and nerve diameter and register surrounding anatomical structures. The ratio of efferent and afferent nerves was calculated by dividing the area of tyrosine hydroxylase and calcitonin gene-related peptide staining of the same nerves in the same section.

Results: A total of 6,781 nerves surrounding 18 renal arteries (two patients with a history of unilateral nephrectomy) and 3,496 nerves surrounding 17 (in three arteries no analysis because of damage) carotid arteries were analyzed. The average lumen-nerve distance of the left renal artery (2.32 ± 1.95 mm) was slightly larger compared to the right renal artery (2.29 ± 2.03 mm; $p=0.161$). These distances varied in different segments of the arteries: 3.7 ± 2.3 in the proximal, 2.5 ± 2.0 in the middle, 1.9 ± 1.6 in the distal pre-bifurcation, and 1.3 ± 1.0 mm in the distal post-bifurcation segments ($p < 0.001$), respectively. Along the left renal artery, the number of nerves per quadrant was lower in comparison to the right renal artery (6.3 ± 8.7 vs. 7.6 ± 9.7) ($p=0.889$). The highest number of nerves per quadrant was observed in the proximal segment (13.7 ± 18.6), followed by the middle (9.7 ± 7.9), the distal pre-bifurcation (8.0 ± 7.6), and the distal post-bifurcation segments (4.3 ± 4.0) ($p < 0.001$). In terms of circumferential distribution, the superior quadrant had the highest number of nerves per quadrant (7.8 ± 9.4), followed by the ventral quadrant (7.6 ± 13.1) ($p=0.638$). In all vessel segments, the largest

proportion of nerves, increasing from proximal to distal, was small (diameter 35-69 μm). In the proximal segment, most medium (diameter 70-140 μm) and large nerves (diameter $>140 \mu\text{m}$) were found. The tyrosine hydroxylase-positive-stained area (efferent) outweighed the calcitonin gene-related peptide-positive-stained area (afferent). Overall, these were $95.5\pm 5.9\%$ and $4.5\pm 5.9\%$, respectively.

The mean distances in the pre-bulbar ($n=792$), bulbar ($n=408$) and post-bulbar ($n=1714$) segments of the carotid artery were: $2.85\pm 1.4 \text{ mm}$, $2.91\pm 1.38 \text{ mm}$ and $2.45\pm 1.48 \text{ mm}$ ($p<0.001$). The number of nerves per quadrant was not significantly different between the pre-bulbus (7.1 ± 7.3 nerves per quadrant), bulbus (7.8 ± 7.0 nerves per quadrant) and post-bulbus (7.6 ± 8.7 nerves per quadrant) segments ($p=0.567$). In the pre-bulbus vascular segment, the nerve size large possessed the highest proportion (38.8%). In all other segments, small nerves had the largest proportion. This was shown to increase further in the arterial course. Tyrosine hydroxylase-positive-stained (efferent) area of nerves accounted for the largest proportion of positively stained area ($90.5\pm 11.1\%$). Calcitonin gene-related peptide-positive-stained (afferent) area was $9.5\pm 11.1\%$ of the total positively stained area.

Conclusion: In the distal segments and along branches nerves converge to the lumen of the renal arteries. This results in the fewest number of nerves per quadrant and the shortest lumen-nerve distance in the distal post-bifurcation segments. Predominantly small and efferent nerves occur. Based on these findings, treatment of distal vessel segments by renal denervation may translate into more effective ablation of sympathetic nerve fibers.

The distribution of nerves along the carotid arteries differs from that of the renal arteries. The nerves also converge to the carotid arteries, with decreasing nerve size in arterial course, however, to a lesser extent than along renal arteries. Likewise, the predominance of efferent fibers is less pronounced than along renal arteries. Studies on nerve distribution and density may facilitate revision of technique and technology to renal denervation.

In the course of this work, a technique for precise sampling of vessels was developed, a methodology was worked out with which nerve distributions around different vessels can be analyzed, and findings were obtained that support existing knowledge but also provide new data on innervation patterns of the kidneys and brain.

2 Einleitung

2.1 Arterielle Hypertonie

Die Leitlinien zum Management der arteriellen Hypertonie der Europäischen Gesellschaften für Kardiologie (ESC) und Hypertonie (ESH) von 2018 definieren die arterielle Hypertonie als Erhöhung des systolischen Praxisblutdrucks (Praxis-BP) ≥ 140 mmHg und/oder des diastolischen Praxis-BP > 90 mmHg [97].

Im Jahr 2019 lag weltweit bei etwa 1,28 Milliarden Menschen eine arterielle Hypertonie vor [64]. Im Alter von 30-79 Jahren lag die Prävalenz bei Frauen bei 32 % und bei Männern bei 34 % [64]. Mit zunehmendem Alter nimmt die Prävalenz der Erkrankung zu und steigt bei der Bevölkerungsgruppe der über 60-jährigen auf über 60 % an [15]. Durch das steigende Alter, vermehrte sitzende Tätigkeit und zunehmendes Körpergewicht der Bevölkerung wird angenommen, dass die Prävalenz der Hypertonie in den kommenden Jahren weiter zunehmen wird [97]. Für das Jahr 2025, wird prognostiziert, dass bei nahezu 1,5 Milliarden Menschen eine arterielle Hypertonie vorliegen wird [45].

In nur etwa 5-15% der Fälle liegt der Hypertonie eine potenziell behandelbare Ursache zugrunde. In diesen Fällen spricht man von einer sekundären Hypertonie. Ursachen einer sekundären Hypertonie können zum Beispiel ein obstruktives Schlaf-Apnoe-Syndrom, parenchymatöse oder vaskuläre Nierenerkrankungen, und endokrinologische Erkrankungen sein [97]. Beim überwiegenden Teil der Patienten mit Hypertonie wird keine behandelbare Ursache nachgewiesen, sodass man bei diesen von einer primären Hypertonie spricht. Zu den Risikofaktoren für die Entstehung einer Hypertonie zählen Alter, weibliches Geschlecht, Übergewicht, chronische Nierenerkrankungen und Diabetes Mellitus [85].

Hypertonie-assoziierte Endorganschäden

Hoher Blutdruck ist mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Komplikationen assoziiert [34]. Hierzu zählen ischämischer und hämorrhagischer Schlaganfall, Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod, Herzinsuffizienz, periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) und terminale Niereninsuffizienz [50]. Ein systolischer Blutdruck (SBP) ≥ 140 mmHg ist der häufigste Grund für Tod oder durch gesundheitliche Einschränkungen verlorenen Lebensjahre (Disability-adjusted life years, DALY) [31]. Bei Patienten mit Hypertonie liegen häufig weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren, wie Dyslipidämie oder Glukoseintoleranz, vor [8,56].

Ein erhöhter Blutdruck führt zu funktionellen und strukturellen Veränderungen der Gefäße. Betroffen sind unter anderem renale, retinale, zerebrale und kardiale Gefäße [21]. Endorganschäden bleiben zunächst häufig unerkannt [18]. Nicht selten liegen bei einem Patienten mehrere Hypertonie-assoziierte Endorganschäden vor [19,73,75].

2.1.1 Diagnostik

Die Diagnose der Hypertonie kann durch eine standardisierte Blutdruckmessung in der Praxis, zu Hause oder mittels ambulanter Langzeitblutdruckmessung (24-Std.-BP-Messung) gestellt werden. Bei den meisten Patienten kann die Diagnosestellung erst erfolgen, wenn der Blutdruck bei mehreren Praxisblutdruckmessungen an mindestens zwei verschiedenen Tagen erhöht ist. Nur wenn der Blutdruck sehr stark erhöht ist (SBP ≥ 180 mmHg und/oder diastolischer Blutdruck (DBP) ≥ 110 mmHg) und Hinweise auf einen Hypertonie-assoziierten Endorganschaden vorliegen, kann eine Hypertonie im Rahmen eines einzigen Praxisbesuchs diagnostiziert werden.

Bei allen Patienten mit arterieller Hypertonie sollen anamnestisch Begleiterkrankungen und Faktoren identifiziert werden, die mit einer Hypertonie assoziiert sind (Lebensstil, Begleitmedikation, Familienanamnese, Schwangerschaftsanamnese). Außerdem ist ein Basisscreening auf Hypertonie-assoziierte Endorganschäden indiziert. Liegen Hinweise für eine sekundäre Hypertonie vor (unter anderem ein früher Beginn einer Hypertonie Grad 2 oder Grad 3), ist eine weiterführende Abklärung sekundärer Hypertonieursachen erforderlich.

2.1.2 Therapie

Die Therapie der arteriellen Hypertonie schließt immer auch lebensstilmodifizierende Maßnahmen ein. Bei den meisten Patienten ist zusätzlich eine medikamentöse Therapie notwendig. Interventionelle Verfahren zur Blutdrucksenkung stellen eine zusätzliche Möglichkeit zur Behandlung der arteriellen Hypertonie dar [7].

Therapeutische Lebensstiländerung

Lebensstiländerungen umfassen unter anderem Nikotinverzicht, salzarme Kost, mediterrane Diät, Reduktion von Alkoholkonsum und Gewichtsreduktion bei Übergewicht [58]. Lebensstilmodifizierende Maßnahmen können das Fortschreiten der Hypertonie verlangsamen bzw. verhindern und das kardiovaskuläre Risiko senken [58,72].

Medikamentöse Therapie

Eine medikamentöse Blutdrucksenkung ist bei den meisten Patienten mit Hypertonie erforderlich, um eine Blutdruckkontrolle zu erreichen. Der Grenzwert, ab dem eine Pharmakotherapie initiiert werden soll, ist vom Alter und kardiovaskulären Risiko des Patienten abhängig. Bei fast allen Patienten ist ab einem Blutdruck von ≥ 140 mmHg systolisch und/oder ≥ 90 mmHg diastolisch eine sofortige medikamentöse Behandlung erforderlich. Lediglich bei Patienten mit Hypertonie Grad 1 (SBP 140-159 mmHg und/oder DBP 90-99 mmHg) ohne Hypertonie-assoziierte Endorganschäden und niedrigem bis moderatem kardiovaskulärem Risiko kann für maximal drei bis sechs Monate versucht werden durch lebensstilmodifizierende Therapie allein, eine Blutdruckkontrolle zu erreichen. Zu den Substanzklassen für die Erstlinientherapie zählen ACE-Hemmer, AT1-Rezeptorblocker, Beta-Blocker, Kalziumkanalblocker und Thiazid- oder Thiazid-ähnliche Diuretika. Für die meisten Patienten wird initial eine Zweifachfixkombination mittels ACE-Hemmer (oder AT1-Rezeptorblocker) mit einem Kalziumkanalblocker oder Diuretikum empfohlen.

Metaanalysen randomisierter kontrollierter Studien zeigen, dass die Reduktion des SBP um 10 mmHg oder eine Reduktion des DBP um 5 mmHg durch blutdrucksenkende Medikamente das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse um 20% senkt [27,87]. Die Gesamtmortalität wurde um 10-15 %, die Häufigkeit von Schlaganfall um ca. 35 %, koronare Ereignisse um ca. 20 % und Herzinsuffizienz um ca. 40 % reduziert [27,87]. Die Hypertonie-Leitlinie der ESC/ESH empfiehlt einen SBP < 140 mmHg für alle Patientengruppen, wenn vertragen. Bei Patienten, die jünger als 65 Jahre sind, wird bei guter Verträglichkeit eine Reduktion des SBP < 130 mmHg empfohlen. Der DBP sollte bei allen Patienten, unabhängig von Alter und Komorbiditäten, < 80 mmHg gesenkt werden [97].

2.1.3 Therapieresistente Hypertonie

Eine therapieresistente Hypertonie liegt vor, wenn trotz adäquater Lebensstiländerungen und medikamentöser Therapie mit drei Antihypertensiva, einschließlich eines Diuretikums, in maximal empfohlener oder tolerierter Dosierung, keine Blutdruckkontrolle erreicht wird (SBP ≥ 140 mmHg und/oder DBP ≥ 90 mmHg) [57]. Die Diagnose der therapieresistenten Hypertonie setzt voraus, dass die Therapietreue des Patienten gesichert ist und dass die unzureichende Blutdruckkontrolle durch eine ambulante Blutdruckmessung (24-Std.-BP-Messung oder die häusliche Blutdruckmessung) bestätigt wurde. Bei Patienten mit therapieresistenter Hypertonie müssen Ursachen einer sekundären Hypertonie ausgeschlossen werden.

Die Prävalenz der therapieresistenten Hypertonie liegt bei etwa 10 % der Patienten mit Hypertonie, die mittels blutdrucksenkender Medikamente behandelt werden [66]. Die therapieresistente Hypertonie ist mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse, einschließlich Myokardinfarkt, Schlaganfall, Herzinsuffizienz und terminale Nierenerkrankung, [20,82,83,91] und einer höheren Gesamtmortalität [82] assoziiert.

Die Niere und das sympathische Nervensystem (Effekte auf die Hypertonie)

Das sympathische Nervensystem und die Nieren sind von zentraler Bedeutung für die Blutdruckregulation.

Die Nieren sind durch efferente und sensorische, afferente sympathische Nerven innerviert [69]. Ein Teil der Nerven verläuft entlang der Aa. renales zu den afferenten und efferenten Arteriolen im renalen Cortex. Die dichteste sympathische Innervation befindet sich im Bereich der afferenten Arteriolen [6]. Das Kapillargebiet, das Tubulussystem der Henle-Schleife, insbesondere der aufsteigende Tubulus, und die Wand des Nierenbeckens werden ebenfalls von sympathischen Nervenfasern innerviert [6,51].

Eine gesteigerte Aktivierung efferenter sympathischer Nervenfasern erhöht den Blutdruck durch eine vermehrte Natriumrückresorption, Renin-Sekretion und reduzierten renalen Blutfluss [24]. Noradrenalin bindet an alpha- und beta-Adrenorezeptoren und bewirkt eine Vasokonstriktion der glatten Muskulatur, vermehrt in den afferenten aber auch in den efferenten Arteriolen (alpha1-Rezeptor). Dies resultiert in einer Verringerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und einem erhöhten renalen Gefäßwiderstand [69]. Eine beta2-Rezeptor vermittelte sympathische Stimulation wirkt auf die juxtaglomerulären Zellen in den afferenten Arteriolen. Durch diese erfolgt eine vermehrte Produktion und Sekretion von Renin und steigende Plasmakonzentrationen von Angiotensin II sowie Aldosteron [61,68]. Im Tubulussystem kommt es Noradrenalin bedingt über alpha-1-Rezeptoren zur vermehrten Natrium-Rückresorption im distalen [12], im dicken aufsteigenden [22] und im proximalen Tubulus [13]. In Letzterem wird zudem vermehrt Wasser, Bikarbonat und Chlorid rückresorbiert [13,14,16].

Neben Noradrenalin haben auch andere sympathische Neurotransmitter wie Adenosin-Triphosphat (ATP), Neuropeptid Y (NPY) und Vasoaktives intestinales Peptid (VIP) Bedeutung in der sympathischen (efferenten) Regulation von renalen Mechanismen [69].

Sensorische, afferente Nerven (Mechano- und Chemorezeptoren) liegen in hoher Dichte im Nierenbecken [69], und in den tubulären Strukturen vor [25]. Sie verlaufen entlang der Gefäße

über die lumbalen Spinalganglien in das Hinterhorn des Rückenmarks [69] und projizieren in den Nucleus tractus solitarii und indirekt in die rostral ventrale Medulla und den Nucleus paraventricularis im Hypothalamus [69]. Der „renorenale Reflex“ beschreibt, dass die Aktivierung von renalen sensorischen (afferenten) Nerven zu einer Steigerung der sympathischen Nervenaktivität und somit wiederum zur Aktivierung von efferenten sympathischen Nerven der Niere führt [47]. Nierenschädigungen, zum Beispiel experimentell durch eine Phenolinjektion, können zu einer gesteigerten sympathischen Nervenaktivität und konsekutiv zu einer Erhöhung des Blutdrucks führen [98]. Nach Nierentransplantation kann durch eine Nephrektomie der körpereigenen Nieren die sympathische Nervenaktivität und der Blutdruck reduziert werden [17].

Der Sinus caroticus und die Blutdruckregulation

Neben den Nieren sind auch die Aa. carotides und der dort befindliche Sinus caroticus, mit seinen Barorezeptoren, für die Blutdruckregulation von Bedeutung. Sie reagieren sensitiv auf mechanische Dehnung und nur in geringerem Maße auf Druckveränderungen [37]. Vor allem der mechanische Reiz führt also zu Aktionspotenzialen, die entlang der afferenten Nerven über den N. Glossopharyngeus und den N. Vagus in den Nucleus Tractus solitarii in der Medulla oblongata [93] führen. Ab hier führt u.a. ein sympathischer Pfad entlang der kaudalen ventrolateralen Medulla zur rostralen ventrolateralen Medulla, wo inhibierend die sympathische Aktivität [76] mit Auswirkungen auf den Gefäßtonus gehemmt wird [93].

Somit führt ein erhöhter Blutdruck oder ein relevanter externer mechanischer Reiz über aktivierte Barorezeptoren zu einer verringerten sympathischen Aktivität mit einem resultierenden geringeren totalen peripheren Widerstand und einem in der Folge sinkenden Blutdruck [38].

2.1.4 Interventionelle Therapieoptionen

Als therapeutische Option zielen interventionelle Verfahren auf eine Modulation des sympathischen Nervensystems und der zuvor beschriebenen Mechanismen. Dadurch kann eine Reduktion des Blutdrucks erreicht werden. Zu diesen Verfahren zählen unter anderem die renale Denervation (RDN) und die Baroreflex-Amplifikation. Die meisten Daten liegen für die kathetergestützte RDN vor, die inzwischen von den Europäischen Fachgesellschaften zur Behandlung der arteriellen Hypertonie bei ausgewählten Patienten empfohlen werden [7].

2.1.4.1 Renale Denervation

Die kathetergestützte RDN reduziert den Blutdruck durch eine Ablation sympathischer efferenter und sensorischer (afferenter) Nervenfasern im umliegenden Gewebe der Aa. renales. Bereits vor über 70 Jahren konnte die sympathische Innervation der Niere durch chirurgische Splanchniektomien in lumbalen und thorakalen Bereichen unterbrochen werden. Dies hatte eine deutliche Senkung des arteriellen Blutdrucks zur Folge, war aber aufgrund des nicht selektiven Vorgehens mit beträchtlichen Nebenwirkungen assoziiert [39,84].

Neben der thermischen Ablation durch Radiofrequenz- und Ultraschallablation steht auch eine chemische Ablation mittels Alkoholinjektion zur Verfügung. Im Folgenden werden die Radiofrequenz- und Ultraschall-basierte RDN diskutiert, für die Daten aus randomisierten, Schein-kontrollierten Studien vorliegen.

RDN-Studien der ersten Generation

Unkontrollierte und erste randomisierte kontrollierte Studien demonstrierten überwiegend ausgeprägte Blutdrucksenkungen nach RDN mittels monopolarer Radiofrequenzkatheter bei Patienten mit schwerer therapieresistenter Hypertonie [26,48]. In der randomisierten Symplicity HTN-2 Studie wurde der Praxis-BP nach sechs Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe bei Patienten mit schwerer therapieresistenter Hypertonie um 32 mmHg systolisch und 12 mmHg diastolisch reduziert [26].

Allerdings konnte die Symplicity HTN-3 Studie, die als Zulassungsstudie nach den Vorgaben der US-Behörde für Lebens- und Arzneimittel (englisch *U.S. Food and Drug Administration*) geplant wurde, bei Patienten mit schwerer therapieresistenter Hypertonie (SBP ≥ 160 mmHg trotz Therapie mit ≥ 3 Antihypertensiva) keine Blutdrucksenkung der RDN mittels monopolarer Radiofrequenzkatheter im Vergleich zur invasiven Scheinprozedur nach sechs Monaten zeigen. Der Praxis-BP konnte nach sechs Monaten in der RDN- (-14,1 mmHg; $p < 0,001$) und der Kontrollgruppe (-11,7 mmHg; $p < 0,001$) jeweils signifikant reduziert werden [9]. Der primäre Endpunkt, der Unterschied der Blutdruckreduktion zwischen den Therapiegruppen, wurde nicht erreicht [9]. Als Gründe für das Verfehlen des primären Endpunkts wurden unkontrollierte Änderungen der antihypertensiven Medikation bei 39% der Patienten, Lebensstiländerungen, eine geringe Expertise der interventionellen Kardiologen in der RDN und daraus resultierenden sub-optimal durchgeführten Prozeduren (nur 6% der Patienten erhielten die geplante, komplette, zirkuläre Ablation) diskutiert [42].

Im Gegensatz dazu zeigte die aus öffentlichen Mitteln finanzierte DENERHTN-Studie eine signifikante Blutdruckreduktion durch die RDN. In dieser multizentrischen, randomisiert-kontrollierten Studie wurden 106 Patienten in eine Interventions-Gruppe, mit begleitender standardisierter medikamentöser antihypertensiver Therapie (RDN-Gruppe), oder in eine Kontroll-Gruppe, mit alleiniger standardisierter medikamentöser antihypertensiver Therapie, randomisiert. Nach sechs Monaten reduzierte sich der ambulante systolische Tages-BP der RDN-Gruppe um 15,8 mmHg, der der Kontroll-Gruppe um 9,9 mmHg. Somit zeigte sich eine Reduktion des mittleren systolischen Praxis-BP von 5,9 mmHg in der RDN-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p=0,0329$) und der primäre Endpunkt der Studie wurde erreicht. Es kam zu drei Sicherheitsendpunkten (lumbaler Schmerz und mildes Leistenhämatom) [2].

RDN-Studien der zweiten Generation

Der Diskussion um die SYMPPLICITY HTN-3 Ergebnisse folgten Empfehlungen einer internationalen Expertengruppe, die ein optimiertes Studiendesign und verbesserte Studienmethoden definierten, sowie ein geeigneteres Patientenkollektiv für RDN-Studien empfahlen [52]. Unter den nun verbesserten Voraussetzungen wurden das SPYRAL HTN Global Clinical Trial Program [43] und die RADIANCE-HTN Studien [59] ins Leben gerufen.

Radiofrequenz-basierte RDN

Die Sham-kontrollierten SPYRAL HTN-OFF MED und HTN-ON MED Pilot-Studien untersuchten einen Multielektroden-Radiofrequenz-Katheter (Symplicity Spyral RDN Katheter, Medtronic, Santa Rosa, CA, USA) bei Patienten mit kombiniert systolisch-diastolischer Hypertonie mit und ohne antihypertensiver Medikation [44,90]. Die vier Elektroden des Katheters sind so auf der spiralförmigen Katheterspitze angeordnet, dass mit einem Behandlungszyklus eine zirkumferentielle Ablation mit vier Ablationspunkten erfolgen kann. Bei Patienten in der RDN-Gruppe wurden die Hauptnierenarterien, deren Äste und akzessorische Aa. renales mit einem Diameter von 3 bis 8 mm behandelt. In der Kontrollgruppe erfolgte nur eine Renovasographie.

Die Spyral HTN-OFF MED Pivotal-Studie schloss Patienten mit einem systolischen Praxis-BP von 150 bis 180 mmHg ohne antihypertensive Medikation ein. Von Juni 2015 bis Oktober 2019 wurden 331 Patienten in die RDN-Gruppe ($n=166$) und die Schein-Interventions-Gruppe ($n=165$) randomisiert. Drei Monate nach der Prozedur zeigte sich eine signifikante Differenz zwischen den beiden Gruppen im systolischen 24-Std.-BP von im Mittel -3,9 mmHg und im

systolischen Praxis-BP von im Mittel -6,5 mmHg [11]. Komplikationen und Nebenwirkungen durch die Interventionen gab es nicht [11].

Die Einschlusskriterien für SPYRAL HTN-ON MED waren ein systolischer Praxis-BP von ≥ 150 mmHg und < 180 mmHg, diastolischer Praxis-BP ≥ 90 mmHg, und systolischer 24-Std.-BP ≥ 140 mmHg und < 170 mmHg bei Patienten die ein bis drei antihypertensive Medikamente einnahmen. Zwischen Juli 2015 und Juni 2017 wurden 467 Patienten gescreent und eingeschlossen. Die ersten 80 Patienten wurden randomisiert und es zeigten sich sechs Monate nach der Intervention signifikante Blutdruck-Reduktionen im systolischen (7,4 mmHg) und diastolischen (4,1 mmHg) ambulanten 24-Std.-BP der RDN-Gruppe, nicht jedoch in der Kontrollgruppe [44]. Auch hier gab es keine interventionsbedingten Komplikationen oder Sicherheits-Ereignisse [44].

Die Publikation der SPYRAL HTN-ON MED Expansion-Studie ist aktuell noch ausstehend (URL:<https://clinicaltrials.gov/identifiers/NCT02439775>).

Ultraschall-basierte RDN

Die Sham-kontrollierten RADIANCE-HTN-Studien untersuchten die Ultraschall-basierte RDN (Paradise RDN-Katheter, ReCor Medical, Palo Alto, CA, USA) bei Patienten mit milder bis moderater Hypertonie ohne Begleitmedikation (SOLO-Kohorte) und therapieresistenter Hypertonie, die mit einer Dreifach-Fixkombination behandelt wurden (TRIO-Kohorte) [59]. Mit dem Paradise-Katheter werden nur die Hauptnierenarterien und akzessorische Nierenarterien mit einem Diameter von 3 bis 8 mm behandelt.

Die Radiance-HTN SOLO Studie randomisierte 146 Patienten, davon 74 in die RDN-Gruppe und 72 in die Schein-Interventions-Gruppe. Der primäre Endpunkt, die Reduktion des Tages-SBP in der 24-Std.-BP-Messung, wurde erreicht. In der RDN-Gruppe wurde der Tages-SBP um 8,5 mmHg und in der Kontrollgruppe um 2,2 mmHg reduziert (Unterschied zwischen den Gruppen: -6,3 mmHg, $p < 0,001$) [3].

In der RADIANCE-HTN TRIO-Studie wurden insgesamt 136 Patienten eingeschlossen. Hier wurde der Tages-SBP bei therapieresistenter Hypertonie durch die RDN im Vergleich zur Kontrollgruppe um 4,5 mmHg reduziert [4] und auch die aktuelle RADIANCE-II-Studie zeigte eine Reduktion des ambulanten Tages-SBP von 6,3 mmHg der RDN-Gruppe (150 Patienten) im Vergleich zur Schein-Interventions-Gruppe (74 Patienten ($p < 0,001$)) [5].

2.1.4.2 Baroreflex-Amplifikations-Therapie und Karotiskörper Modulation

Andere Ansätze betreffen die Aa. carotides und vor allem den Barorezeptor-Reflex im Sinus caroticus. Auch hier ist die erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems, die einen Faktor für die Entwicklung der therapieresistenten Hypertonie darstellt [89], Ziel der Therapie.

Elektronische Baroreflex-Amplifikations-Therapie

Die Baroreflex-Amplifikations-Therapie erfolgt mit Herzschrittmacher-ähnlichen Devices, die chirurgisch implantiert werden. Die fingerförmigen Elektroden des Rheos-Systems (CVRx, Minneapolis, Minnesota, USA) [36] wurden im Bereich des linken und rechten Sinus caroticus implantiert und an einen Impulsgenerator in der Musculus (M.) pectoralis-Tasche angeschlossen. Der Impulsgenerator wurde so programmiert, dass kontinuierlich Stimuli abgegeben wurden [88].

Die DEBuT-HT-Studie untersuchte das System an 45 Patienten. Grundsätzlich zeigte sich eine Reduktion im Praxis-BP, von $21\pm 4/12\pm 2$ mmHg nach drei Monaten und $33\pm 8/22\pm 6$ mmHg nach zwei Jahren [80], jedoch fehlte der Nachweis der Beständigkeit der Effekte aus einer randomisierten Studie [36].

Die doppelblinde, randomisierte US Rheos Pivotal-Studie untersuchte die Wirksamkeit und Sicherheit des Rheos-Systems in 265 Patienten [10]. Die Studie verfehlte die fünf Co-primären Endpunkte. Diese waren zusammengesetzt aus der Rate der akut im SBP ansprechenden Patienten nach sechs Monaten, der Rate der anhaltend ansprechenden Patienten nach 12 Monaten und aus Sicherheitsaspekten bzgl. der Prozedur, der Baroreflex-Amplifikations-Therapie und der Devices [10]. Der Anteil der Patienten der nach sechs Monaten eine Reduktion von mindestens 10 mmHg im SBP aufwiesen, war in der Interventionsgruppe nicht statistisch signifikant zur Kontrollgruppe. Außerdem waren 25,5 % der Patienten von Komplikationen wie z.B. Wundinfektion oder Nervenschädigung betroffen, sodass auch der Sicherheitsendpunkt verfehlt wurde [10].

Aufgrund von diesen unterschiedlichen Ergebnissen und auftretenden chirurgischen Komplikationen und Nervenschädigungen wurde das Rheos-System in den USA nicht für die Behandlung der therapieresistenten Hypertonie zugelassen [36].

Darauffolgende Studien wurden mit dem Barostim-Neo-System (CVRx, Minneapolis, Minnesota, USA) durchgeführt, welches die Implantation von nur einer scheibenförmigen statt

zwei fingerförmigen Elektroden im Bereich des Sinus caroticus erfordert, aus einem kleineren Aggregat besteht und eine längere Batterielaufzeit hat [33].

Die unkontrollierte Barostim-Neo-Studie untersuchte die elektronische Baroreflex-Amplifikations-Therapie bei 30 Patienten mit therapieresistenter Hypertonie [40]. Nach sechs Monaten wurde der systolische Praxis-BP im Mittel um $26,0 \pm 4,4$ mmHg reduziert [40]. Es traten drei kleine prozedurassoziierte Komplikationen auf, die ohne Folgeerscheinungen blieben [40]. Für Barostim-Neo liegen bislang keine Daten zur Behandlung der Hypertonie aus randomisierten Studien vor, weshalb diese Therapie von den aktuellen Leitlinien nicht mehr empfohlen wird [97].

Mechanische Barorezeptor-Amplifikations-Therapie

Die mechanische Barorezeptorstimulation beruht auf der transfemorale Implantation eines selbstexpandierenden Nitinol-Stents (Mobius HD, Vascular Dynamics, Irvine, California, USA) in die proximale A. carotis interna. Durch die Stentimplantation wird die Gefäßgeometrie verändert, wodurch dehnungssensitive Mechanorezeptoren im Sinus caroticus aktiviert und konsekutiv die Aktivität des sympathischen Nervensystems reduziert wird [71,93]. Zur Untersuchung dieses Verfahrens wurden die CALM-FIM_EUR- und CALM-FIM_US-Studie durchgeführt, die insgesamt 47 Patienten (30 in Europa, 17 in den USA) mit therapieresistenter Hypertonie einschlossen, die sich der Implantation des Mobius HD-Stents unterzogen [94]. Sechs Monate nach der Implantation wurde der Praxis-BP um 25 mmHg systolisch und 12 mmHg diastolisch reduziert. Nach drei Jahren wurden der SBP und DBP um 30 beziehungsweise 12 mmHg gesenkt [94]. In den CALM-FIM-Studien wurden innerhalb von 30 Tagen zwei transient ischämische Attacken dokumentiert [94]. Innerhalb von drei Jahren traten eine weitere transient ischämische Attacke und zwei Schlaganfälle auf [94].

Karotiskörper Ablation

Die Karotiskörper Ablation stellt eine weitere Interventionsmöglichkeit bei therapieresistenter Hypertonie dar. Der Karotiskörper befindet sich im Bereich der Karotis-Bifurkation und besteht vornehmlich aus Chemorezeptoren [49]. Eine Überaktivität dieser Strukturen erhöht die sympathische Aktivität und verstärkt, über renale Natrium-Rückresorption, Renin-Sekretion und neuronal bedingte Erhöhung des arteriellen Gefäßtonus, einen erhöhten Blutdruck [36]. Aus diesen Gründen scheint er, und vor allem seine Entfernung bzw. Ablation, ein interessantes Ziel für therapeutische Ansätze zur Blutdruckregulation zu sein [70].

Die chirurgische Karotiskörper-Resektion wurde in den 1940er Jahren durchgeführt. Ursprünglich als Therapiemöglichkeit bei Asthmatikern entwickelt, wurden starke Blutdruckreduktionen im behandelten Patientenkollektiv (n=29) gefunden [62]. Fünf Tage nach der Resektion zeigte sich eine Reduktion des SBP von 170 mmHg präoperativ auf 130 mmHg postoperativ. Diese Ergebnisse waren bis zum Ende der Studie sechs Monate nach Resektion konstant [62]. Nach weiteren Studien mit Ergebnissen, die keine Blutdruck-Reduktionen zeigten [63,65], und einer Reihe an Komplikationen, verlor der chirurgische Ansatz zunehmend an Bedeutung.

Als weniger invasive Alternative wurde die transvenöse Karotiskörper-Ablation untersucht. Hier wurde mittels Ultraschallablation durch das Cibiem System über die Vena Jugularis interna eine Verödung des Karotiskörpers angestrebt [81]. In einer multizentrischen Studie wurden 39 Patienten mit therapieresistenter Hypertonie eingeschlossen. Die nach sechs Monaten (27 Patienten) verfügbaren Daten zeigten eine Reduktion des 24-Std.-BPs von systolisch: $9,1 \pm 13,5$ mmHg und diastolisch: $6,7 \pm 8,7$ mmHg [81]. Es gab sieben relevante Sicherheitszwischenfälle: eine transient ischämische Attacke, eine elektive Angiographie, Hyperkaliämie, Hypotonie, Pneumonie, Angina Pectoris-Beschwerden und eine Komplikation beim Verschluss der Punktionsstelle [81].

3 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Das Hauptanliegen dieser Untersuchung bestand darin, die Verteilung und Charakterisierung von sympathischen Nerven entlang der Aa. renales und Aa. carotides zu untersuchen. Ein besonderes Augenmerk lag auf der zirkumferentiellen und longitudinalen Nervenverteilung entlang der Arterien. Um die Aa. renales sollten auch die Nerven entlang der distalen Gefäßsegmente und der Äste untersucht werden. Basierend auf den Erkenntnissen zur Verteilung der sympathischen Nerven könnten Kathetersysteme und interventionelle Prozeduren zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Überaktivität des sympathischen Nervensystems assoziiert sind, optimiert werden.

Innervationsmuster der Aa. carotides sind bisher unbekannt, weshalb mit neuen Erkenntnissen zu einem besseren Verständnis und möglichen Verbesserungen von interventionellen Therapieansätzen beigetragen werden kann.

Des Weiteren sollten die unterschiedlichen Qualitäten der einzelnen Nerven und die Lokalisation und Verteilung von sympathischen (efferenten) und sensorischen (afferenten) Anteilen untersucht werden.

Hierzu wurde innerhalb dieser Arbeit:

- (1) Ein Konzept entwickelt, welches der Entnahme und Präparation verschiedener arterieller Gefäße des Menschen dient.
- (2) Histologisch anatomische Strukturen und die Lokalisation qualitativ unterschiedlicher perivaskulärer Innervationsmuster untersucht.
- (3) Verglichen inwiefern sich die untersuchten Gefäße in dieser Hinsicht unterscheiden und inwiefern die Erkenntnisse zur Optimierung von bestehenden interventionellen Verfahren beitragen können.

4 Material und Methodik

4.1 Etablierung der Entnahmemethode

Die Präparationen wurden im anatomischen Institut der Universität des Saarlandes am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg (Saar) durchgeführt. Die zuständige Ethikkommission genehmigte die beschriebene Studie unter dem Ethikvotum Nummer 162/20. Die untersuchten Gefäße wurden Körperspendern entnommen, die sich zu Lebzeiten für das Körperspende-Programm der Universität des Saarlandes entschieden haben und entsprechende Vereinbarungen getroffen haben. So stellten sie ihren Körper nach dem Tod der Wissenschaft und Lehre am anatomischen Institut der Universität des Saarlandes zur Verfügung.

Erste Präparationen wurden an drei fixierten Körperspendern durchgeführt. Diese wurden über das native Gefäßsystem durch einen arteriellen Zugang in der A. femoralis mit einer Basler-Lösung nach Kurz perfundiert und dadurch fixiert worden. Zusätzlich zur inneren Konservierung erfolgte eine äußere Konservierung, indem die Körperspender für mindestens vier Monate in drei- bis fünfprozentiger Formaldehyd-Lösung aufbewahrt wurden. Durch die innere und externe Fixierung über mehrere Monate war das Gewebe verhärtet und ließ sich nur schlecht präparieren.

Entnommene Gewebeproben wurden umgehend in einer vierprozentigen Formaldehyd-Lösung (Otto Fischer GmbH, Saarbrücken) aufbewahrt. Zur histologischen Auswertung konnten Schnitte mit H&E-Färbungen zur Übersicht angefertigt werden. Immunhistochemische Färbungen wie Tyrosinhydroxylase- (TH) oder S100-Färbungen waren aufgrund der destruierten Antigenstrukturen nicht möglich.

Außerdem verhinderten ausgeprägte arteriosklerotische Gefäßveränderungen eine saubere Schnittführung des Mikrotoms zur Erstellung der histologischen Schnitte. Durch das Einlegen der Gefäße in einer Osteosoft-Lösung (Firma Merck, Darmstadt, Deutschland, #1017289010) konnten trotz arteriosklerotischer Veränderungen hochwertige histologische Schnitte angefertigt werden.

Darauffolgende Versuche wurden an zwei NEP-fixierten (Nitritpökelsalz-Ethanol-Polyethylenglykol) Präparaten durchgeführt. Durch den deutlich kürzeren Zeitraum zwischen Tod und Gewebeentnahme, war das Gewebe weniger fest. Dies erleichterten die Präparation und Darstellung der Gefäße. Immunhistochemische Färbungen konnten, aufgrund von destruierten Antigenstrukturen, auch bei den NEP-fixierten Präparaten nicht angefertigt werden.

Um das Ausmaß der autolytischen Prozesse zu reduzieren und immunhistochemische Färbungen durchführen zu können, wurde schließlich auf eine Fixierung der Körperspender verzichtet und die Gefäßentnahme erfolgte innerhalb der ersten 24 Stunden post-mortem [55]. Unmittelbar nach Entnahme wurde das Gewebe in vierprozentige Formaldehyd-Lösung gelegt, um die Antigenstrukturen vor autolytischen Prozesse zu schützen.

4.2 Präparation der arteriellen Gefäße

Ziel der Präparation war die Entnahme der Aa. renales sinistra und dextra (linke und rechte Nierenarterie), A. hepatica communis (mit Anteilen der A. hepatica propria) (gemeinsame Leberarterie und Leberarterie), A. gastrica sinistra (linke Magenarterie) und Aa. carotides communis sinistra und dextra (beidseitige gemeinsame Halsschlagader) ohne periarterielle Strukturen, wie zum Beispiel Nerven im perivaskulären Fett, zu verletzen.

Die Eröffnung des Thorax begann mit einem halbkreisförmigen Hautschnitt longitudinal beider vorderen Axillarlinien, sowie transversal kaudal der Claviculae über das Sternum hinweg. Nach kaudal wurden die beiden Schnitte entlang der vorderen Axillarlinien bis über den Beckenkamm fortgesetzt. Es erfolgte die Durchtrennung der Hautschichten durch ein Skalpell. Die Schnitttiefe wurde bis zum Rippenknochen fortgesetzt. Somit wurden die Mm. pectorales major und minor, sowie ein Teil der interkostalen Muskulatur durchtrennt, sodass ein Zugang zum ersten bis zum zehnten Rippenknochen möglich war. Sobald alle Rippenknochen tastbar waren, konnte die Eröffnung des Thorax folgen. Die Rippenknochen wurden von kaudal nach kranial mit einer scharfen Zange durchtrennt. Anschließend erfolgte die Exartikulation des Sternoklavikulargelenks mithilfe eines Hammers und Meißels, sodass die manuelle Eröffnung der Thoraxwand nach ventro-kaudal möglich war.

Die vordere Thoraxwand wurde vom Situs abgelöst, indem zunächst perikardiales Fett und die Pleura entfernt wurden. Anschließend erfolgte die Durchtrennung des ventralen Ursprungs des Diaphragmas. Nach Durchtrennung der äußeren, mittleren und inneren schrägen Bauchmuskulatur konnte die Thoraxwand weiter nach kaudal mobilisiert und so auch der kraniale Teil des Abdomens eröffnet werden. Die longitudinalen Schnitte der schrägen Bauchmuskulatur mussten nach Bedarf entlang des Ligamentum inguinale fortgeführt werden. Bei nun freiliegenden thorakalen und abdominellen Organen konnte mit dem Aufsuchen der Zielstrukturen fortgefahren werden.

Zunächst wurde das Perikard durch einen Y-förmigen Schnitt eröffnet. Die großen herznahen Gefäße wurden durchtrennt und das Herz entnommen. Anschließend wurden Aa. und Venae pulmonales sowie der linke und rechte Hauptbronchus lungennah durchtrennt und die rechte und linke Lunge dem Thorax entnommen. Es folgte ein medialer, ventro-dorsaler Diaphragmalschnitt, der nach dorsal bis zur Aorta reicht.

Die thorakale Aorta war erreicht und es war möglich den Truncus coeliacus, als Leitstruktur, zu ertasten.

Die Gefäße und die von ihnen perfundierten Organe wurden *en-bloc* entnommen, um die Lokalisation und Orientierung nachvollziehen zu können.

Zur Mobilisation der A. hepatica communis wurde die Leber stumpf aus ihrem Halteapparat herausgelöst. Ebenso wurde mit der Milz und ihren Haltestrukturen verfahren. Der thorakale Teil der Aorta, die Vena cava und der Ösophagus wurden kranial des Truncus coeliacus durchtrennt.

Anschließend wurden die Aa. renales freigelegt. Zunächst wurde das Ligamentum gastrocolicum durchtrennt und die Bursa omentalis eröffnet. Nach Lösen der Verbindung der großen Magenkurvatur und des Kolon transversum erfolgte die Mobilisation des Kolon transversum. Das Duodenum wurde aboral des Pylorus-Sphinkters, mithilfe eines Fadens im Abstand von ca. 2 Zentimetern, abgebunden. So konnte das Duodenum vom Magen getrennt werden, ohne, dass sich enthaltene Flüssigkeit in den Situs verlor. Der gesamte Dünndarm und das Kolon wurden von ihrem Mesenterium gelöst und mobilisiert. Die Aa. mesentericae superior und inferior wurden durchtrennt. Nach der Mobilisation der Darmstrukturen ergab sich eine freie Sicht auf retroperitoneale Strukturen.

Die Fettkapseln beider Nieren wurden mobilisiert und von umliegenden Strukturen getrennt. Sobald diese frei beweglich waren, konnten die Aorta abdominalis und die Vena cava inferior distal der Nierengefäßabgänge durchtrennt werden um die Zielstrukturen *en-bloc* entnehmen und in der Phase der Feinpräparation isolieren zu können.

Nach der Durchtrennung von Haltestrukturen, wurden die Aorta und die Vena cava inferior nach ventral mobilisiert und auf ihrer dorsalen Seite von kaudal nach kranial mithilfe eines Skalpell von der Wirbelsäule gelöst. Nach der Ablösung der Aorta wurden die Arterien mit den von ihnen perfundierten Organen *en-bloc* entnommen.

Für die Feinpräparation wurde das Organpaket auf einem Präparationstisch gelagert. Nach der longitudinalen Eröffnung der Aorta von dorsal konnten die Ostien ihrer Abgänge dargestellt und die jeweiligen Arterien sicher identifiziert werden.

Die Aa. und Venae renales wurden einschließlich der angrenzenden Abschnitte der Vena cava inferior und Aorta abgetrennt und feinpräpariert.

Feinpräparation der Aa. renales

Zunächst wurden die Aa. renales mithilfe einer Präparations-Sonde sondiert. Anschließend folgte die Markierung zur Orientierung von Richtungsbezeichnungen: ventral und dorsal, kranial und kaudal. Die Aa. renales und Nieren wurden von der Aorta abgesetzt. Es folgte die Entfernung des perirenal Fettgewebes und des Nierenparenchyms bis zur Darstellung des distalen Teils der Arterie am Übergang ins Nierenparenchym. Das distale Ende wurde markiert und die arteriellen Gefäße wurden ertastet und halbkreisförmig am Nierenhilus abgesetzt.

Feinpräparation Arteria hepatica communis

Die Isolation der A. Hepatica erfolgte durch Präparationen am Oberbauchorganpaket, bestehend aus Leber, Magen, Milz und den jeweiligen versorgenden Strukturen. Die dorsal eröffnete Aorta lässt die Identifikation des Truncus coeliacus und der abgehenden Arterien zu. Die A. hepatica communis mit Fortgang in die A. hepatica propria wurde sondiert und der Verlauf nachvollzogen. Nach Ertasten und hilusnaher Identifizierung folgte die Markierung zur Orientierung und zum Absetzen des Gefäßes im Verbund des Ligamentum hepatoduodenale nahe der Leber. Der Strukturverbund wurde nahe des aortalen Ostiums abgesetzt. Anschließend auch hier Markierung zur weiterhin sicheren Orientierung.

Präparation Arteria gastrica sinistra

Im oben genannten Organpaket folgte nun die Präparation der A. gastrica sinistra an der kleinen Kurvatur des Magens. Durch den Truncus coeliacus wurde das Gefäß sondiert, identifiziert und der Gefäßverlauf ertastet. Zur Orientierung wurde das Gefäß in seinen Quadranten markiert. Anschließend folgte die Präparation des Gefäßes unter Schonung des periarteriellen Gewebes und die Ablösung aus der kleinen Kurvatur.

Präparation Arteriae carotides

Über einen Zugang mit Hautschnitt im lateralen Halsbereich entlang des tastbaren Musculus (M.) sternocleidomastoideus wurde zunächst durch subkutanes Fettgewebe präpariert.

Die oberflächliche Fascia cervicalis und die darunterliegende Muskulatur (Platysma, M. sternohyoideus, M. sternothyreoides, M. omohyoideus, M. sternocleidomastoideus) wurde dargestellt und durchtrennt. Es folgte die Präparation von Bindegewebe und das Darstellen der Vagina carotica mit dem Nachvollziehen des arteriellen Gefäßverlaufs bis zum Eintreten in die Schädelbasis. Am distalen Ende wurden Richtungsbezeichnungen markiert und die Aa. carotis interna und externa abgesetzt.

Unter großzügiger Erhaltung von umliegenden Strukturen wurde der proximale Anteil bis zum Austritt aus dem Thorax präpariert. Hier folgte ebenso die Anlage von orientierenden Markierungen und das Absetzen des Gefäßes.

Zur Präparation wurden gängige Skalpelle, anatomische sowie chirurgische Pinzetten, Sonden, Scheren, Fäden und für anatomische Präparationen übliche Hammer und Meißel verwendet. Insbesondere für die Phase der Thorax- bzw. Abdomeneröffnung und die Organpräparation wurde der Absaugkatheter KATASPIR Eco 20 (Medutek, Bremen, Deutschland) verwendet.

4.3 Sektionierung

Nach der Entnahme wurden die Gefäße für 24 Stunden in einer vierprozentigen Formaldehydlösung (Otto Fischer GmbH, Saarbrücken, Deutschland) gelagert. Die Fixation mindert eintretende autolytische Prozesse und lässt eine präzise Sektionierung in je gleich große Segmente zu: Proximal, Mittel, Distal. Die Aa. renales wurden im distalen Segment weiter unterteilt in Distal Prä-Bifurkation/Distal Post-Bifurkation (**Abb. 1**). Außerdem wurde eine Einteilung in 1 cm lange Sektionen vorgenommen und das Gewebe in 1x1 cm große Einbettkassetten (Simport Scientific Inc., Beloeil QC, Canada) überführt.

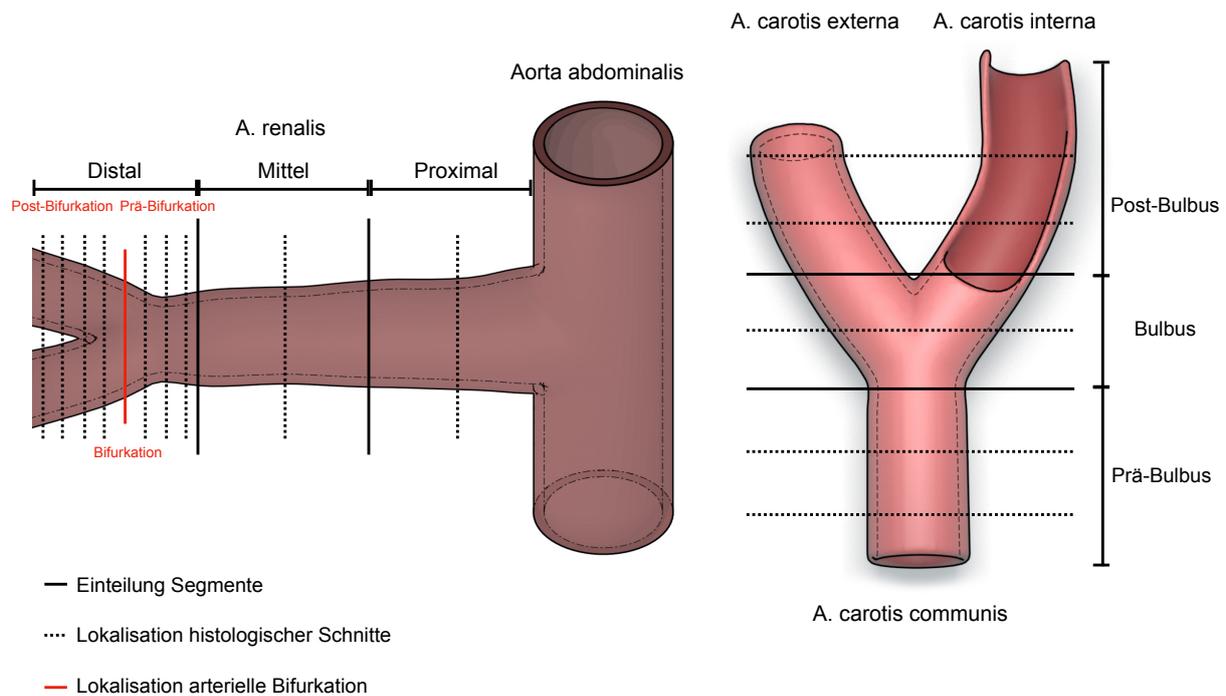


Abb. 1: Segmentierung und Lokalisation histologischer Schnitte Aa. renales und Aa. carotides
 Dargestellt ist ein Schema der vorgenommenen Einteilung der Aa. renales (links) und der Aa. carotides (rechts) in jeweils drei gleichgroße Segmente (durchgezogene Linien). Die gestrichelten Linien stellen die Lokalisation der histologischen Schnitte und die rote Linie die Lokalisation der Bifurkation der Aa. renales dar.

4.4 Histologische Verarbeitung und Färbung

Die histologische Verarbeitung und Färbung des Gewebes wurde von Julia Weber und Jeanette Zimolong (Forschungslabor, Klinik für Innere Medizin III, Universität des Saarlandes) durchgeführt. Dabei wurde auf bestehende Protokolle zurückgegriffen, die zum Teil im Zuge dieses Projektes angepasst wurden.

Entwässerung und Einbettung

Das Gewebe wurde für 24 Stunden in vierprozentigem Formaldehyd (Fischer, Saarbrücken, Deutschland; #PZN 02653048) fixiert und anschließend mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe im Gewebereinbettungsautomat (Leica HistoCore, Perl, Deutschland) entwässert (70%→80%→96%→100%→Xylol→Paraffin) und in Paraffinblöcke eingebettet (Leica HistoCore Arcadia, Wetzlar, Deutschland). Danach wurden mit einem Mikrotom (Leica, HistoCore Autocut AS, Wetzlar, Deutschland), im Abstand von 4-5 mm, 5 µm dicke Schnitte angefertigt. Die Schnitte wurden auf einem Objektträger bei 56 ° C über Nacht fixiert.

Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Als Übersichtsfärbung wurde für jedes Segment die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E-Färbung) verwendet (**Abb. 2**). So konnten Aussagen über die Qualität des histologischen Schnittes und über die Beschaffenheit des Gewebes gemacht werden.

Durchführung

Zu Beginn wurden die histologischen Schnitte dreimalig für zehn Minuten in einer Xylol-Lösung (Xylol (VWR, Darmstadt, Deutschland, #28975.325)) entparaffiniert. Anschließend wurden sie einer absteigenden Alkoholreihe, mit je fünf Minuten in 100%, 90% und 70% Isopropanol-Lösung (Merck, Darmstadt, Deutschland; #1.09634.2511), zugeführt und daraufhin für fünf Minuten in Aqua destillata eingelegt. Es folgte die zehnminütige Behandlung mit einer Hämatoxylin-Lösung nach Böhmer (Waldeck, Münster, Deutschland), das mindestens zweimalige Spülen mit Aqua destillata, um überschüssigen Farbstoff zu entfernen und die Überprüfung mittels Mikroskop. Danach wurden die Schnitte mit einer Salzsäure-Alkohol-Lösung (Morphisto, Frankfurt, Deutschland; #10372.00250) behandelt und mit Aqua destillata gespült. Daraufhin wurden die Schnitte für 15 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut und erneut mit Aqua destillata gespült. Nun wurden die Präparate für 15 Sekunden mit einer einprozentigen Eosin-Lösung (Merck, Darmstadt, Deutschland; #1.15935.0025) behandelt und in Aqua destillata geschwenkt. Anschließend wurden die Schnitte einer aufsteigenden Alkoholreihe zugeführt, die je Lösung zwei Minuten dauerte und mit 90% und 100% Isopropanol (Merck, Darmstadt, Deutschland; #1.09634.2511) durchgeführt wurde. Es folgte eine dreimalige, jeweils dreiminütige, Behandlung mit Xylol (VWR, Darmstadt, Deutschland, #28975.325). Zuletzt wurden die Schnitte mit Entellan® (Merck, Darmstadt, Deutschland; #1.07961.0100) eingedeckt und unter dem Abzug getrocknet.

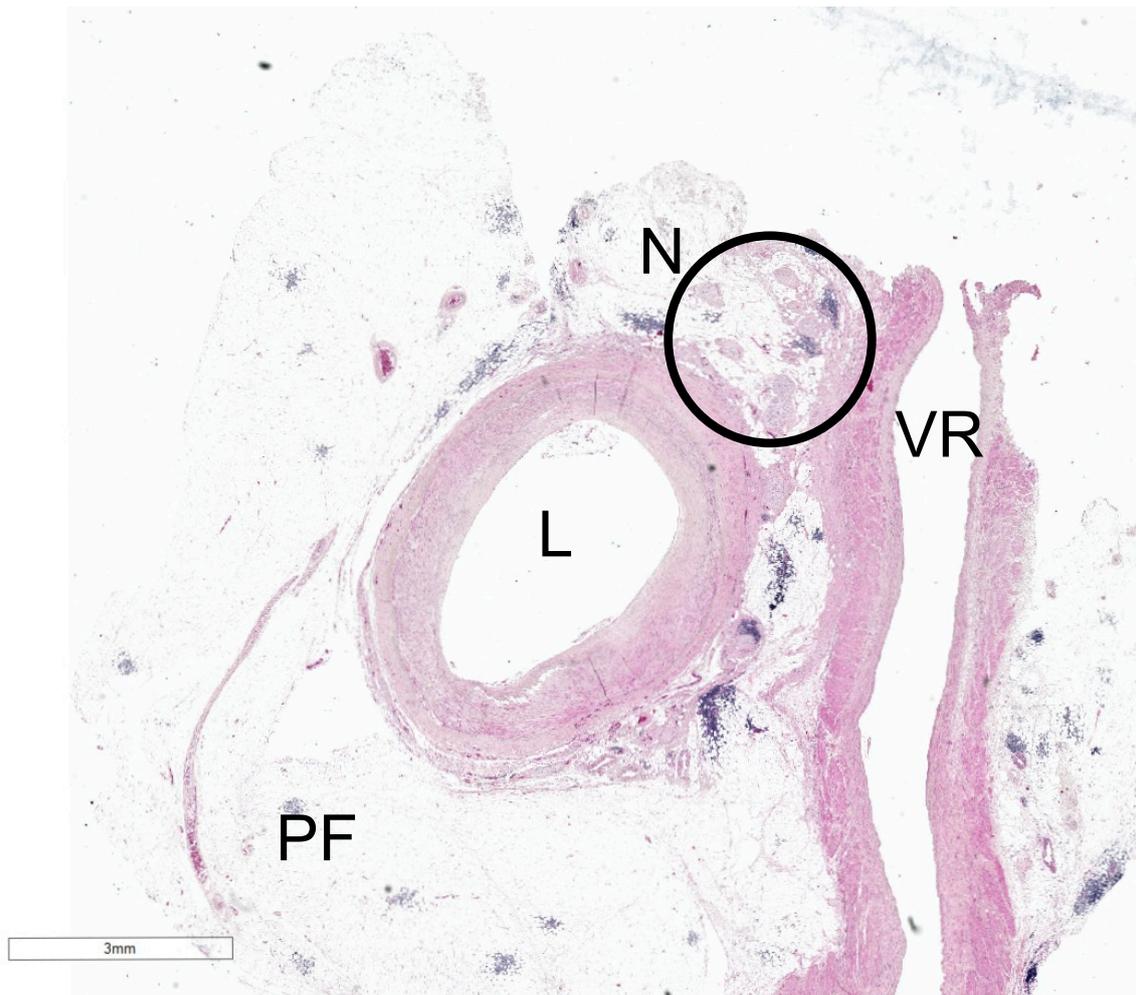


Abb. 2: Hämatoxylin-Eosin-Färbung, A. renalis sinistra

Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment. L: Arterielles Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, N: beispielhafte perivaskuläre Nerven (hell), VR: Anschnitt der Vena renalis sinistra, PF: Perivaskuläres Fettgewebe.

Darstellung von Nerven mittels der S100-Färbung

Ein Großteil der Auswertung erfolgte an S100-gefärbten histologischen Schnitten. Diese immunhistochemische Färbung wird mit einem Primärantikörper durchgeführt, der an das S100-Protein in u.a. Schwann-Zellen bindet und mit einem Sekundärantikörper, der mit einem Fluoreszenzfarbstoff verbunden ist, sichtbar gemacht wird. Somit zeigen positive spezifische Signale Nervengewebe an, unabhängig davon, ob es sich um efferente oder afferente Anteile von Nerven handelt (**Abb. 3**). So konnten Nerven präzise identifiziert und vermessen werden.

Durchführung

Am ersten Tag wurden die Schnitte zunächst für 30 Minuten auf einer Heizplatte erwärmt. Es folgte die Entparaffinierung mit einer dreimaligen, jeweils zehnmütigen, Behandlung mit Xylol (VWR, Darmstadt, Deutschland, #28975.325) und einer absteigenden, je Lösung fünf Minuten dauernden, Alkoholreihe. Diese wurde zweimalig mit 100% Ethanol, je einmal in 80% und 70% Ethanol und zweimalig in 1x PBS (Phosphate-Buffered Saline: 137 mmol/L NaCl; 2,7 mmol/L KCl; 4,3 mmol/L Na₂HPO₄; 1,47 mmol/L KH₂PO₄, pH 7,4) durchgeführt. Anschließend wurden die Schnitte in Plastikküvetten überführt und mit Citraconsäure (stets mit 50µl Citraconsäure/100ml Ampuwa®) behandelt, die auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt war. Die Küvetten wurden bei 95° C für 60 Minuten in einem Wasserbad gekocht. Nach dem 20-minütigen Abkühlen wurden sie zweimalig für jeweils fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen und die Schnitte mit einem Fettstift umrandet. Zuletzt wurde der S100-Primärantikörper (Dako Anti S100 REF IR504) hinzugegeben und die Schnitte über Nacht bei 4° C in der feuchten Kammer inkubiert.

Am zweiten Tag wurden die Schnitte zunächst für zwei Stunden, bei 37° C, im Wasserbad in der feuchten Kammer inkubiert. Es folgte das Waschen bei Raumtemperatur: Zweimalig für je fünf Minuten mit 1x PBS-T (Phosphate-Buffered Saline: 137 mmol/L NaCl; 2,7 mmol/L KCl; 4,3 mmol/L Na₂HPO₄; 1,47 mmol/L KH₂PO₄, pH 7,4, 0,1% Tween® 20) und einmalig für fünf Minuten mit 1x PBS. Anschließend wurden die Schnitte abgetropft. Danach wurde der Sekundärantikörper Anti-Rabbit FITC (Dianova), 1:50 mit 1x PBS verdünnt, aufgetragen und die Schnitte für zwei Stunden bei 37° C im Wasserbad in der Feuchtkammer inkubiert. Im Anschluss folgte das je fünfminütige Waschen, zweimalig mit 1x PBS-T und einmalig mit 1x PBS. Darauf folgend wurden die Schnitte für fünf Minuten mit DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) behandelt, um die Zellkerne anzufärben, und danach einmal für fünf Minuten mit 1x PBS-T und zweimal für je fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen. Zuletzt wurden die Schnitte

mit Fluorescence Mounting Medium (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, United States) blasenfrei eingedeckt.

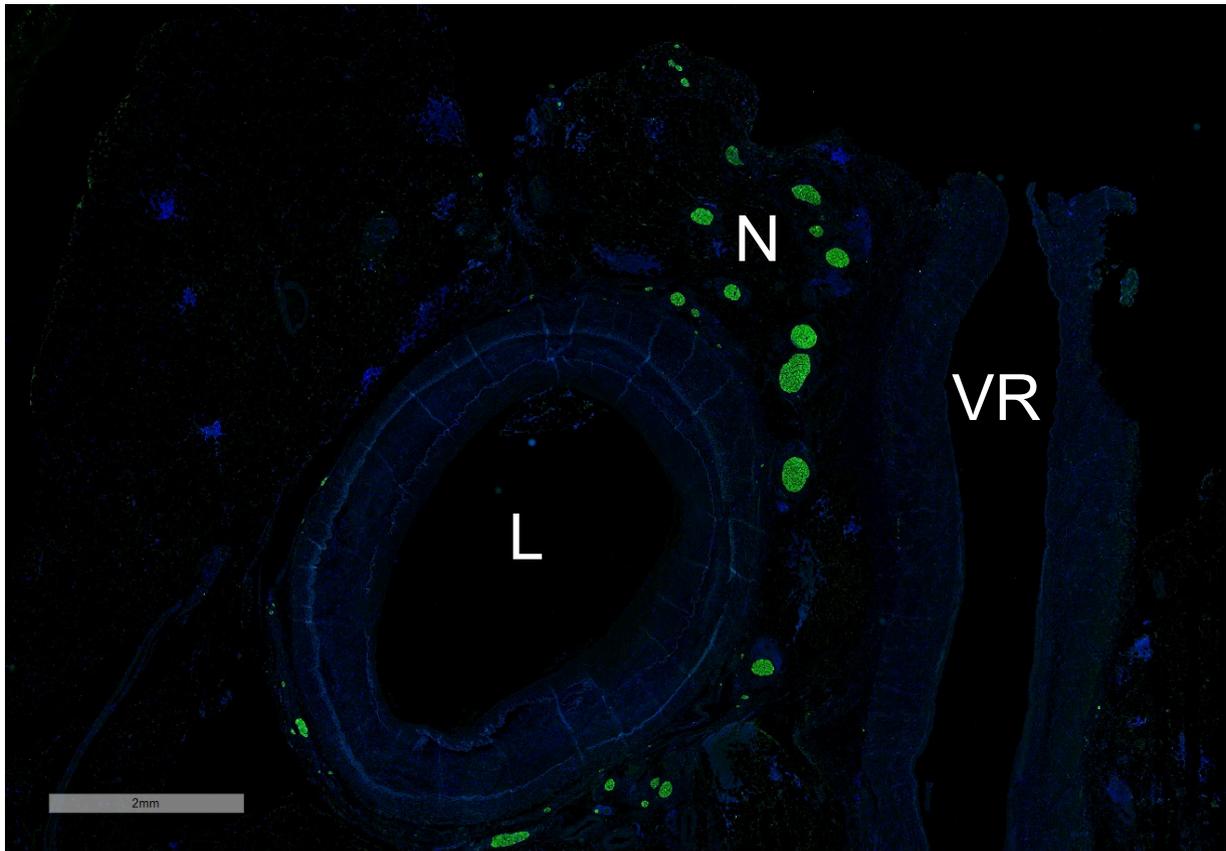


Abb. 3: S100-Färbung, A. renalis sinistra.
Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment. L: Arteriellies Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, N: beispielhafte perivaskuläre Nerven (grün), VR: Anschnitt der Vena renalis sinistra.

Darstellung sympathischer Nerven mittels Tyrosinhydroxylase-Färbung (TH-Färbung)

Die immunhistochemische Färbung von Tyrosinhydroxylase(TH)-positivem Gewebe wurde durchgeführt um sympathische, efferente Nerven zu erfassen. Der Primärantikörper bindet an das Enzym TH, welches an der Katecholamin-Synthese beteiligt ist. Der Sekundärantikörper ist mit einem Fluoreszenzfarbstoff verbunden und lässt die vom Primärantikörper gebundenen Strukturen sichtbar werden (**Abb. 4**).

Durchführung

Am ersten Tag wurden die Schnitte zunächst für 30 Minuten auf einer Heizplatte erwärmt. Es folgte die Entparaffinierung mit einer dreimaligen, jeweils zehnmütigen, Behandlung mit Xylol (VWR, Darmstadt, Deutschland, #28975.325) und einer absteigenden, je Lösung fünf Minuten dauernden, Alkoholreihe. Diese wurde zweimalig mit 100% Ethanol, je einmal in 80% und 70% Ethanol und zweimalig in 1x PBS durchgeführt. Anschließend wurden die Schnitte in Plastikküvetten überführt und mit Citraconsäure behandelt, die auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt war. Die Küvetten wurden bei 95° C für 60 Minuten in einem Wasserbad gekocht. Nach dem 20-minütigen Abkühlen wurden sie zweimalig für jeweils fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen und die Schnitte mit einem Fettstift umrandet. Zuletzt wurde der TH-Antikörper (abcam, #112), 1:100 mit 1x PBS verdünnt, hinzugegeben und die Schnitte über Nacht bei 4° C in der feuchten Kammer inkubiert.

Am zweiten Tag wurden die Schnitte zunächst für zwei Stunden, bei 37° C, im Wasserbad in der feuchten Kammer inkubiert. Es folgte das Waschen bei Raumtemperatur: Zweimalig für je fünf Minuten mit PBS-T und einmalig für fünf Minuten mit 1x PBS. Anschließend wurden die Schnitte abgetropft. Danach wurde der Sekundärantikörper Anti-Rabbit FITC (Dianova), 1:50 mit 1x PBS verdünnt, aufgetragen und die Schnitte für zwei Stunden bei 37° C im Wasserbad in der Feuchtkammer inkubiert. Im Anschluss folgte das je fünfminütige Waschen, zweimalig mit 1x PBS-T und einmalig mit 1x PBS. Darauf folgend wurden die Schnitte für fünf Minuten mit DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) behandelt und danach einmal für fünf Minuten mit 1x PBS-T und zweimal für je fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen. Zuletzt wurden die Schnitte mit Fluorescence Mounting Medium (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, United States) blasenfrei eingedeckt.

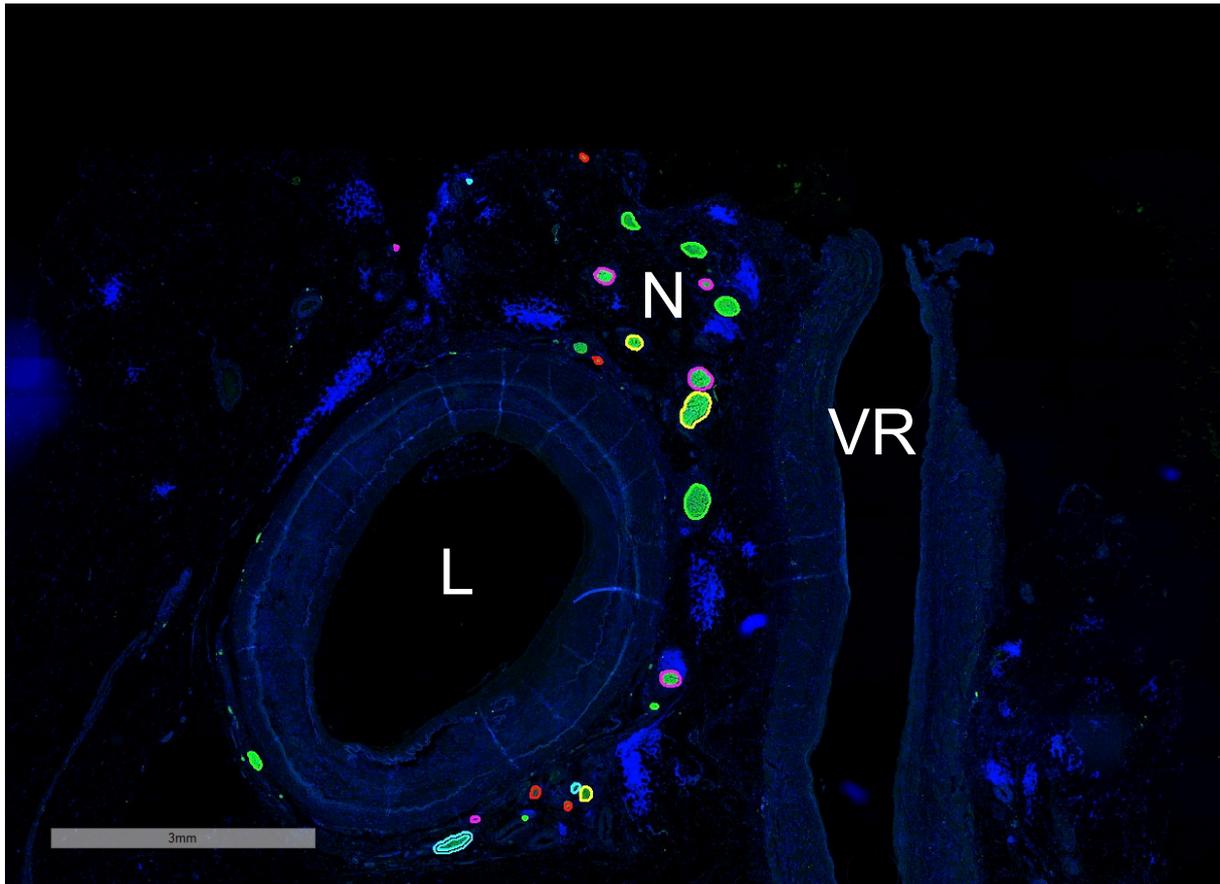


Abb. 4: Tyrosinhydroxylase-Färbung, A. renalis sinistra

Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der *A. renalis sinistra* aus dem proximalen Segment. L: Arteriellies Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, N: beispielhafte perivaskuläre Nerven, die Tyrosinhydroxylase-positiv angefärbt sind (grün). Die farblichen Umrandungen der Nerven dienen der algorithmischen Auszählung der positiv gefärbten Fläche. VR: Anschnitt der *Vena renalis sinistra*.

Calcitonin gene-related peptide-Färbung (CGRP-Färbung)

Mit der immunhistochemischen Färbung von Calcitonin gene-related peptide (CGRP) positivem Gewebe können afferente, sensorische Nerven angefärbt werden (**Abb. 5**). Hierbei wird ein Primärantikörper verwendet, der an das CGRP bindet (abcam ab47027). Der Sekundärantikörper (Anti-Rabbit FITC (Dianova)) bindet an diesen und lässt als fluoreszierender Antikörper in der Dunkelfeldmikroskopie die Identifikation von sensorischen Anteilen der Innervation zu.

Durchführung

Am ersten Tag wurden die Schnitte zunächst für 30 Minuten auf einer Heizplatte erwärmt. Es folgte die Entparaffinierung mit einer dreimaligen, jeweils zehnminütigen, Behandlung mit Xylol (VWR, Darmstadt, Deutschland, #28975.325) und einer absteigenden, je Lösung fünf Minuten dauernden, Alkoholreihe. Diese wurde zweimalig mit 100% Ethanol, je einmal in 80% und 70% Ethanol und zweimalig in 1x PBS durchgeführt. Anschließend wurden die Schnitte in Plastikküvetten überführt und mit Citraconsäure behandelt, die auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt war. Die Küvetten wurden bei 95° C für 60 Minuten in einem Wasserbad gekocht. Nach dem 20-minütigen Abkühlen wurden sie zweimalig für jeweils fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen und die Schnitte mit einem Fettstift umrandet. Zuletzt wurde der CGRP-Antikörper (abcam ab47027), 1:250 mit 1x PBS verdünnt, hinzugegeben und die Schnitte über Nacht bei 4° C in der feuchten Kammer inkubiert.

Am zweiten Tag wurden die Schnitte zunächst für zwei Stunden, bei 37° C, im Wasserbad in der feuchten Kammer inkubiert. Es folgte das Waschen bei Raumtemperatur: Zweimalig für je fünf Minuten mit PBS-T und einmalig für fünf Minuten mit 1x PBS. Anschließend wurden die Schnitte abgetropft. Danach wurde der Sekundärantikörper Anti-Rabbit FITC (Dianova), 1:50 mit 1x PBS verdünnt, aufgetragen und die Schnitte für zwei Stunden bei 37° C im Wasserbad in der Feuchtkammer inkubiert. Im Anschluss folgte das je fünfminütige Waschen, zweimalig mit 1x PBS-T und einmalig mit 1x PBS. Darauf folgend wurden die Schnitte für fünf Minuten mit DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) behandelt und danach einmal für fünf Minuten mit 1x PBS-T und zweimal für je fünf Minuten mit 1x PBS gewaschen. Zuletzt wurden die Schnitte mit Fluorescence Mounting Medium (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, United States) blasenfrei eingedeckt.

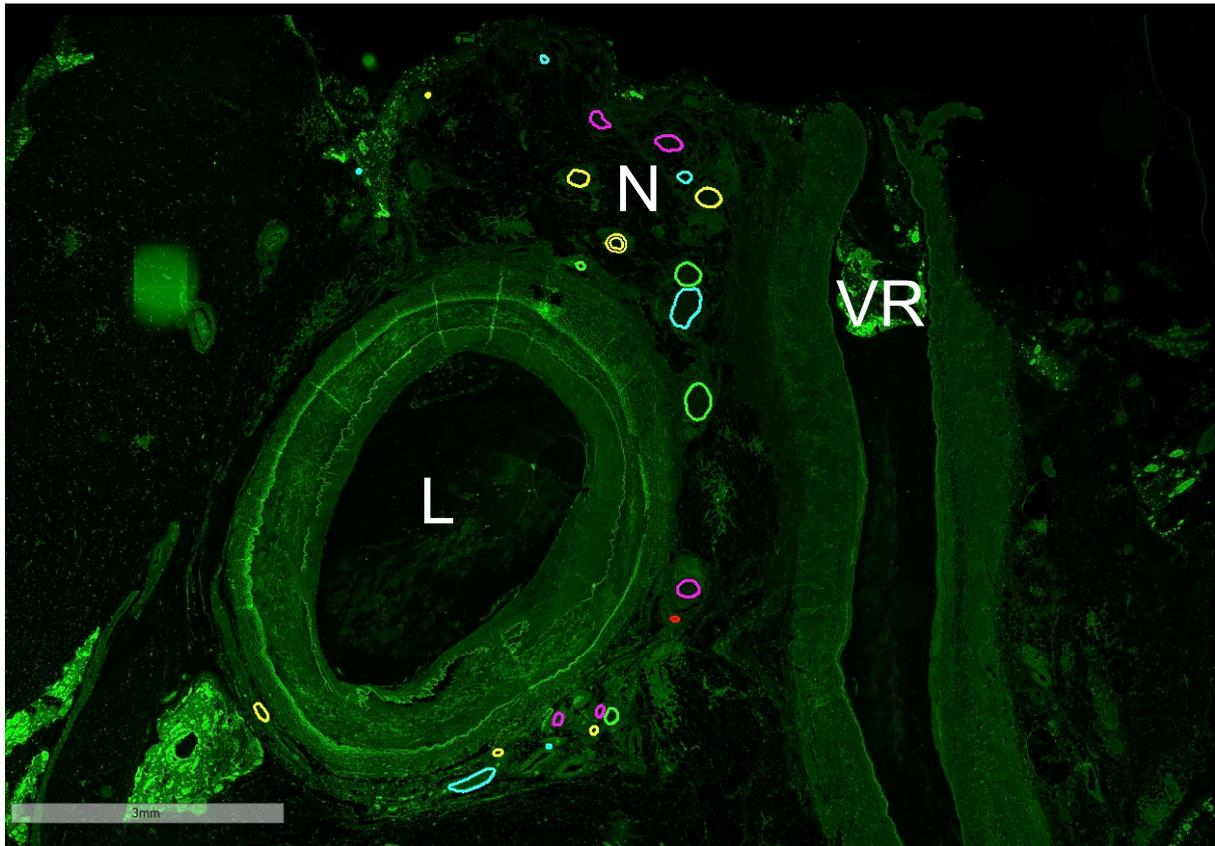


Abb. 5: Calcitonin gene-related peptide-Färbung, A. renalis sinistra

Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment, gefärbt mit einer Calcitonin gene-related peptide(CGRP)-Färbung. L: Arteriellcs Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, N: beispielhafte perivaskuläre Nerven. Die farblichen Umrandungen der Nerven dienen der algorithmischen Auszählung der positiv gefärbten Fläche innerhalb der Nerven. VR: Anschnitt der Vena renalis sinistra.

4.5 Auswertung

Die histologischen Schnitte wurden mit einem Wholeslide-Scanner (Leica Aperio Versa 8, Leica, Wetzlar, Deutschland) in 10- bis 20-facher Vergrößerung eingescannt. So konnte die Auswertung digitalisiert mithilfe der Software Aperio ImageScope (Aperio ImageScope, Leica, Wetzlar, Deutschland) vorgenommen werden.

Die S100-gefärbten Schnitte der Aa. renales werteten wir jeweils nach folgendem Schema aus:

- Ein Schnitt im proximalen Segment
- Ein Schnitt im mittleren Segment
- Jeden vorhandenen und qualitativ auswertbaren Schnitt im distalen Segment. Diese befanden sich im Abstand von ca. fünf mm

Das Gefäßlumen wurde in vier Quadranten unterteilt: ventral, superior, dorsal und inferior. Alle anderen Informationen zur Lagerekonstruktion sind auf dem eingebetteten Block notiert worden.

Die Färbung diente der Erfassung der Anzahl, der Größe und der Lumen-Nerv-Distanz (LND). Die LND war definiert als die kürzeste Distanz zwischen dem inneren Rand des Nervens und des Endothels. Anhand des Diameters wurden die Nerven als „klein“ (35-69 μm), „mittel“ (70-140 μm) und „groß“ (>140 μm) eingeteilt (**Abb. 6**). Die LND wurde in Fällen von histologisch abgelösten Schichten korrigiert, also die entsprechende Distanz subtrahiert, sodass für weitere Berechnungen mit der Netto-Distanz fortgefahren wurde.

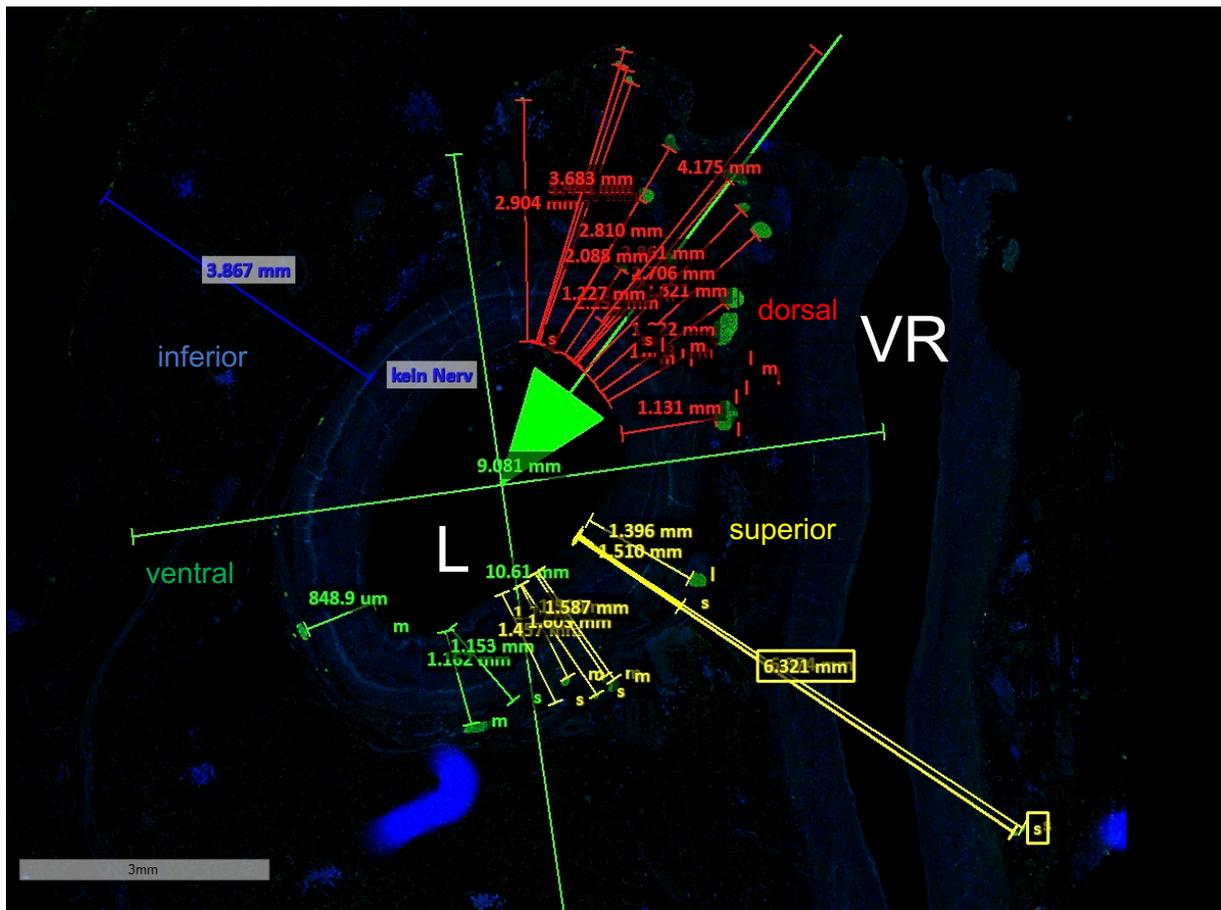


Abb. 6: S100-Färbung, A. renalis sinistra, Quadranteneinteilung und Lumen-Nerv-Distanz-Messung
 Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment. L: Arterielles Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, VR: Anschnitt der Vena renalis sinistra. In grün eingezeichnet ist die Einteilung in vier Quadranten: Blau: Inferior, rot: Dorsal, gelb: Superior, grün: Ventral. Die farbigen Messbalken dienen der jeweiligen Lumen-Nerv-Distanz-Messung (Endothel bis Innenseite des grün gefärbten Nervens), diese ist nahe dem Messbalken gekennzeichnet. Markierungen nahe der Nerven dokumentieren die vorab gemessenen Nerven-Diameter: s: Klein, m: Mittel, l: Groß.

Die Nervendichte wurde im Verhältnis zum umliegenden Gewebe von 10 mm zur Endothelinnenseite berechnet. Es wurde mithilfe einer Flächenmessung quantifiziert. So konnte die Anzahl an Nerven pro erfasster Gewebefläche für einzelne Quadranten und Segmente ausgegeben werden (**Abb. 7**).

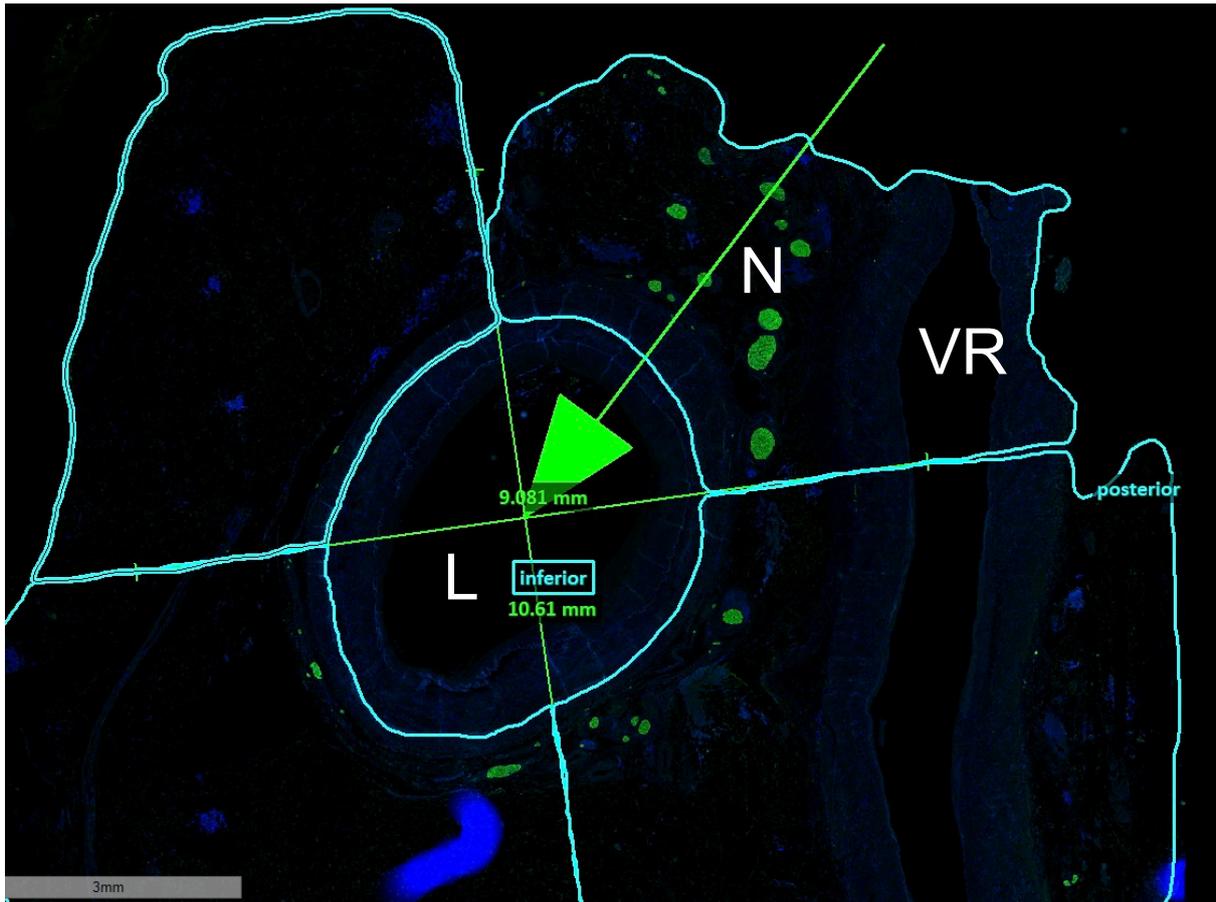


Abb. 7: S100-Färbung, Quadranteneinteilung und Erfassung des umliegenden Gewebes
 Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment. L: Arteriellies Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, VR: Anschnitt der Vena renalis sinistra. N: Grün gefärbte, beispielhafte perivaskuläre Nerven. In grün eingezeichnet ist die Einteilung in vier Quadranten. Die hellblauen Umrundungen dienen der Messung der Fläche des perivaskulären Gewebes.

Die Aa. carotides wurden ebenso nach der oben beschriebenen Methodik ausgewertet. Hier wurden die vier Quadranten der Arterienlage bedingt in ventral, lateral, dorsal und medial eingeteilt. Es wurden histologische Schnitte in folgenden Segmenten ausgewertet:

- Ein Schnitt im Prä-Bulbus-Segment
- Ein Schnitt im Bulbus-Segment
- Ein Schnitt im Post-Bulbus-Segment

In S100-Färbungen wurden Auswertungen zur Gefäßanatomie der Aa. renales und der Aa. carotides durchgeführt. Mithilfe der entsprechenden Werkzeuge wurden digitale Umfangs- und Flächenmessungen der folgenden Schichten angestellt (**Abb. 8**):

- Umfang und Fläche der Lamina elastica externa
- Umfang und Fläche der Lamina elastica interna
- Umfang und Fläche des Lumens

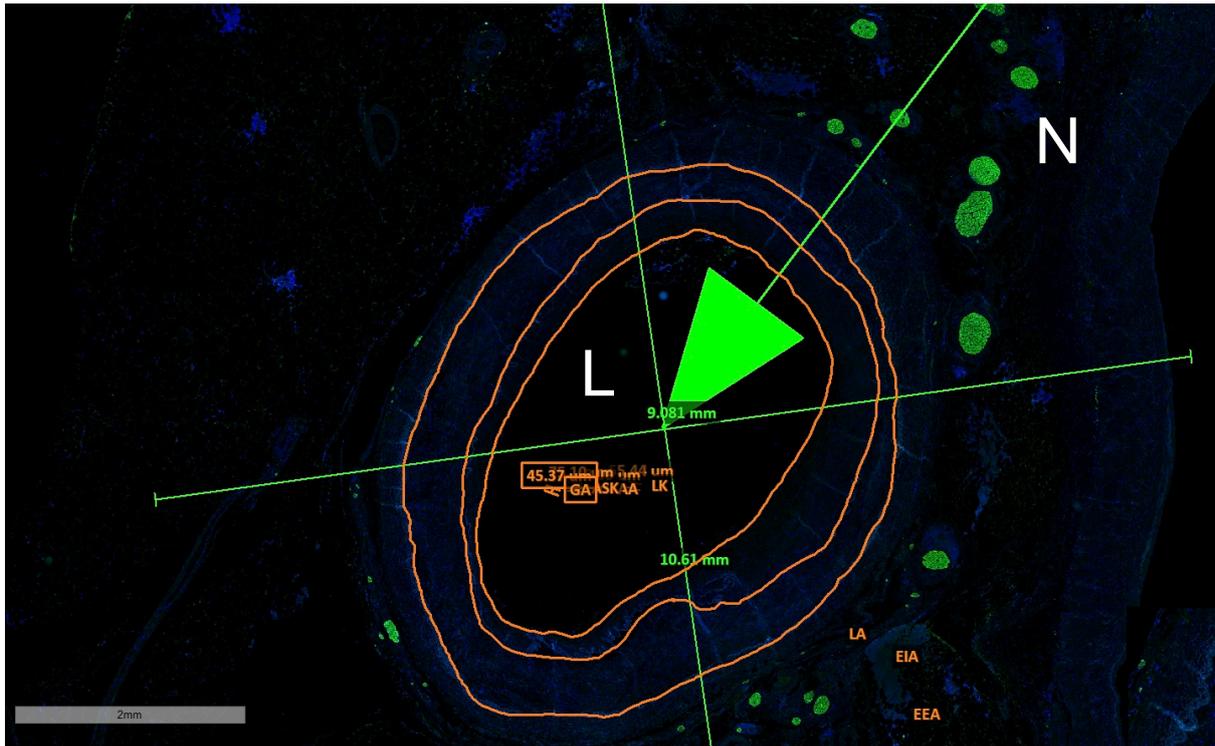


Abb. 8: S100-Färbung, Erfassung der anatomischen Maße

Dargestellt ist ein histologischer Schnitt der A. renalis sinistra aus dem proximalen Segment. L: Arteriellies Lumen, umgeben von der arteriellen Wandstruktur, N: Grün gefärbte, beispielhafte perivaskuläre Nerven. In grün eingezeichnet ist die Einteilung in vier Quadranten. Die orangenen Umrandungen dienen der Messung der anatomischen Flächen: LA: Lumen-Fläche, EIA: Elastica interna-Fläche, EEA: Elastica externa-Fläche. Weitere orangene Notizen dienen der Registrierung anderer anatomischer Strukturen: GA: Neuroganglien, ASK: Arteriosklerotische Plaques, AA: Akzessorische Arterie, LK: Lymphknoten.

Die folgenden umliegenden Strukturen wurden in Zusammenschau der S100-Färbung und der H&E-Übersichtsfärbung registriert und lokalisiert:

- Lymphknoten
- Arteriosklerose, Ort und relativer Anteil der Stenose
- Neuroganglien

Um efferente und afferente Anteile von Nerven analysieren zu können, wurden TH- und CGRP-Färbungen durchgeführt.

Die Aa. renales wurden in der TH-Färbung jeweils nach folgendem Schema gefärbt:

- Ein Schnitt im proximalen Segment
- Ein Schnitt im mittleren Segment
- Alle angefertigten Schnitte im distalen Bereich

Die Aa. carotides wurden repräsentativ in fünf Arterien, mit jeweils einem Schnitt pro Segment, TH-gefärbt und analysiert. TH-gefärbte Schnitte wurden hinsichtlich der Anzahl an Nerven in den jeweiligen Quadranten analysiert und die LND gemessen. Die Dichte an Nerven wurde auf die Gesamtgewebefläche im Quadranten bezogen.

CGRP-Färbungen wurden repräsentativ in fünf Arterien mit jeweils einem gefärbten Schnitt pro Segment angefertigt und analysiert.

Um das Verhältnis von Efferenzen (TH) und Afferenzen (CGRP) zu erfassen, sind dieselben Nerven in beiden Färbungen zusammengeführt und direkt verglichen worden. Die spezifisch positiv angefärbte Fläche des Nervs wurde über einen Positive-Pixel-Count Algorithmus der Software Aperio ImageScope (Leica, Wetzlar, Germany) ausgezählt (**Abb. 9**). Der spezifisch positive Anteil des Nervs wurde ins Verhältnis zur Gesamtfläche des Nervs gesetzt. Anschließend konnte durch Division des TH-Verhältnis durch das CGRP-Verhältnis die TH/CGRP-Ratio berechnet werden.

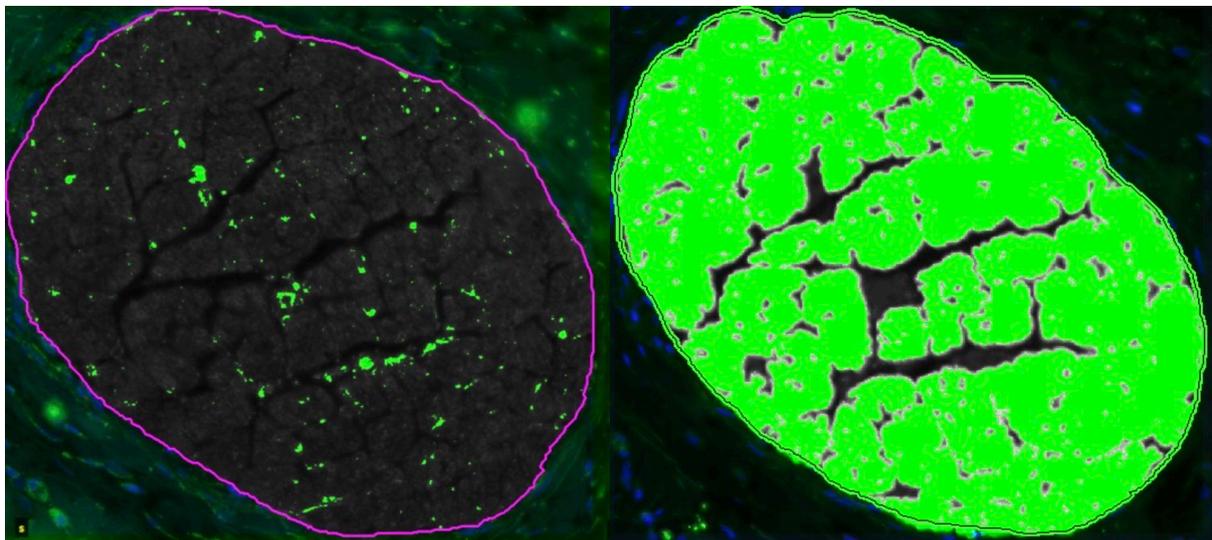


Abb. 9: Ermittlung der TH/CGRP-Ratio

Dargestellt ist ein Nerv der in der CGRP-Färbung (links) und der TH-Färbung (rechts) algorithmisch hinsichtlich der positiv-gefärbten Fläche (grün gekennzeichnet) analysiert wurde. Die Ergebnisse desselben Nervs werden aus beiden Färbungen zusammengeführt und die TH/CGRP-Ratio berechnet.

4.6 Statistik

Die Datenerfassung erfolgte mit der Software Aperio ImageScope (Aperio ImageScope, Leica, Wetzlar, Deutschland). Es wurden Distanzmessungen, Nerven-Diameter, Flächenmessungen, Umfangsmessungen und weitere anatomische Strukturen wie Lymphknoten, Neuroganglien und arteriosklerotische Plaques erfasst. Zur statistischen Verarbeitung wurden die genannten Merkmale in tabellarischer Form zunächst im genannten Programm erfasst und in Excel-Datensätze exportiert.

Für die statistische Analyse wurde die Software IBM SPSS Statistics Version 27.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) verwendet.

Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Die LND der einzelnen Nerven wurde für die Untersuchung der Gesamtverteilung verwendet. Für den Vergleich der Nervenverteilung wurde die mittlere LND verwendet. Das Vorhandensein von Normalverteilungen wurde graphisch anhand von Histogrammen und rechnerisch mithilfe des Kolmogorov-Smirnow- und des Shapiro-Wilk-Tests geprüft.

Unterschiede in stetigen Daten wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests und in kategorischen Daten in unabhängigen Stichproben mit dem Kruskal-Wallis-Test getestet. Der exakte Test nach Fisher und der Mann-Whitney-U-Test wurden für Vergleiche zwischen den Gruppen von Patienten mit und ohne Bluthochdruck in der Vorgeschichte verwendet. Für den Vergleich zwischen linken und rechten Arterien wurden die Mittelwerte pro Arterie berechnet und der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet. Alle statistischen Tests wurden mit zwei-seitigen Tests und auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ durchgeführt.

5 Ergebnisse

5.1 Patientendaten

Die Präparation der Arterien wurde bei insgesamt zehn Patienten innerhalb von 24 Stunden nach dem Tod durchgeführt. Wir untersuchten 18 Aa. renales und 17 Aa. carotides (aus neun Patienten) histologisch hinsichtlich der Verteilung von Nerven in verschiedenen Bereichen des Gefäßverlaufs (Segmenten). Die Patientenmerkmale sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Patienten-Charakteristika

	Gesamt	Ohne Hypertonie	Bekannte Hypertonie	p-Wert
	(n=10)	(n=6)	(n=4)	
Weiblich, n (%)	3 (30)	1 (17)	2 (50)	0,500
Alter in Jahren	84±8	87±5	79±9	0,257
Diabetes in der Vorgeschichte, n (%)	5 (50)	3 (50)	2 (50)	1,000
Hyperlipidämie in der Vorgeschichte, n (%)	3 (30)	2 (33)	1 (25)	1,000
Kardiovaskulärer Tod, n (%)	2 (20)	0 (0)	2 (50)	0,133

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD oder n (%). P-Werte wurden für den Vergleich zwischen Patienten mit und ohne bekannter Hypertonie berechnet.

5.2 Untersuchung der Nervenverteilung um die Aa. renales

Die histologische Untersuchung der Nervenverteilung wurde in S100-Färbung in 18 Aa. renales (zwei Körperspender mit unilateraler Nephrektomie und drei mit diagnostizierter chronischer Nierenerkrankung in der Krankengeschichte) durchgeführt. Insgesamt wurden 94 Schnitte in drei gleichmäßig unterteilten Segmenten analysiert: Proximal (n=17), Mittel (n=15), Distal (n=62: Prä-Bifurkation (n=19), Post-Bifurkation (n=43)).

Anatomische Messungen

Der mittlere Lumen-Diameter der proximalen, mittleren und distalen Segmente betrug 4,4±1,1 mm, 3,6±1,4 mm, 3,8±2,4 mm (p=0,036). Die mittlere Lumen-Fläche der linken A. renalis betrug 9,0±11,9 mm², die der rechten 7,8±8,0 mm². Bei 7 der 18 Aa. renales bestanden arteriosklerotische Veränderungen, die eine mittlere Stenosierung von 28,5±11,8 % (A. renalis sinistra) und 41,3±22,5 % (A. renalis dextra) zur Folge hatten.

Tabelle 2: Anatomische Maße Aa. renales

	A. renalis	Gesamt (sinistra, n=10/dextra, n=8)	Ohne Hypertonie (sinistra, n=6/dextra, n=4)	Hypertonie (sinistra, n=4/dextra, n=4)	p-Wert
Elastica externa- Fläche, mm ²	sinistra	17,3±18,4	20,4±22,6	12,3±4,5	0,572
	dextra	15,9±13,0	21,5±16,0	11,8±8,2	0,015
Elastica interna- Fläche, mm ²	sinistra	12,7±16,0	15,5±19,6	7,9±3,3	0,542
	dextra	11,6±11,4	16,4±14,4	8,1±6,8	0,021
Lumen-Fläche, mm ²	sinistra	9,0±11,9	11,4±14,5	5,0±2,6	0,413
	dextra	7,8±8,0	11,6±9,8	5,0±4,8	0,001
Lumen-Diameter, mm	sinistra	3,8±2,4	4,3±2,8	3,0±0,8	0,180
	dextra	3,9±1,9	4,8±2,0	3,2±1,5	0,001
Media-Dicke, mm	sinistra	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,2	0,326
	dextra	0,3±0,1	0,3±0,2	0,3±0,1	0,908
Arterie mit ≥1 Plaque, n (%)	sinistra	3 (30)	2 (33)	1(25)	0,374
	dextra	4 (50)	2 (50)	2 (50)	1,000
Mittlere Stenosierung, %	sinistra	28,5±11,8	19,0±6,5	38,0±6,7	0,008
	dextra	41,3±22,5	28,3±20,2	49,0±21,9	0,250
Arterie mit ≥1 Lymphknoten, n (%)	sinistra	7 (70)	4 (67)	3 (75)	0,374
	dextra	6 (75)	4 (100)	2 (50)	0,472
Arterie mit ≥1 Neuroganglion, n (%)	sinistra	7 (70)	5 (83)	2 (50)	1,000
	dextra	7 (88)	4 (100)	3 (75)	0,510

Die Daten sind als Mittelwert ± SD oder Anzahl n (%) dargestellt. Für Vergleiche zwischen Patienten mit und ohne Hypertonie wurden p-Werte berechnet. Kontinuierliche Daten wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test getestet. Bei den kategorialen Daten handelt es sich um gezählte Merkmale der Arterien. Die Daten wurden mit dem Chi-Quadrat-Test oder dem exakten Test nach Fisher verglichen.

Lymphknoten wurden in 13 und Neuroganglien in 14 von 18 Arterien registriert. Die vollständigen anatomischen Maße und die Registrierung von arteriosklerotischen Plaques/Stenosen, Neuroganglien und Lymphknoten sind in Tabelle 2 aufgeführt. Detaillierte Übersichten zur Anzahl von Neuroganglien und Lymphknoten sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 aufgeführt. Wir identifizierten 38 Neuroganglien in 14 (je 7 sinistra und dextra) von 18 Aa.

renales (78 %). 22 Neuroganglien (58 %) lagen im Umfeld der A. renalis dextra. Die Anzahl der Neuroganglien nimmt mit dem Verlauf der Aa. renales ab: Proximal (47,4%), Mittel (34,2%), Distal (18,4%). Mit 12 Neuroganglien wurde die höchste Anzahl in den ventralen Regionen registriert (31,6%).

Tabelle 3: Neuroganglien in Segmenten und Regionen der Aa. renales

		Anzahl Neuroganglien, n (%)				
		Ventral	Superior	Dorsal	Inferior	Gesamt
Segment	Proximal	6	4	3	5	18 (47,4)
	Mittel	6	3	3	1	13 (34,2)
	Distal	0	2	0	5	7 (18,4)
	Gesamt	12 (31,6)	9 (23,7)	6 (15,8)	11 (28,9)	38 (100)

Die Daten sind als Anzahl n (%) dargestellt.

Tabelle 4: Lymphknoten in Segmenten und Regionen der Aa. renales

		Anzahl Lymphknoten, n (%)				
		Ventral	Superior	Dorsal	Inferior	Gesamt
Segment	Proximal	4	5	4	2	15 (60,0)
	Mittel	1	4	2	1	8 (32,0)
	Distal	0	2	0	0	2 (8,0)
	Gesamt	5 (20,0)	11 (44,0)	6 (24,0)	3 (12,0)	25 (100)

Die Daten sind als Anzahl n (%) dargestellt.

Verteilung von Nerven in Segmenten und Regionen der Aa. renales

Insgesamt wurden 3523 Nerven in der S-100 Färbung identifiziert. Entlang der Aa. renales wurden $7,0 \pm 9,3$ Nerven pro Quadranten dokumentiert ($6,3 \pm 8,7$ entlang der A. renalis sinistra und $7,6 \pm 9,7$ entlang der A. renalis dextra; $p=0,889$). Die Anzahl der Nerven pro Quadranten nahm von proximal ($13,7 \pm 18,6$) nach distal ab ($9,7 \pm 7,9$ im mittleren Segment, $8,0 \pm 7,6$ im distalen Segment proximal der Bifurkation und $4,3 \pm 4,0$ distal der Bifurkation). Im Vergleich zu den proximalen, mittleren und distalen Segmenten proximal der Bifurkation war die Anzahl der Nerven pro Quadranten im Segment distal der Bifurkation signifikant niedriger (jeweils $p < 0,001$).

Die größte Anzahl an Nerven pro Quadranten befand sich in den superioren ($7,8 \pm 9,4$) und ventralen Quadranten ($7,6 \pm 13,1$). Im proximalen Segment wurden die meisten Nerven pro Quadranten in den ventralen ($20,4 \pm 30,1$) und superioren Quadranten ($16,7 \pm 15,5$) nachgewiesen. Im mittleren Segment wurden die meisten Nerven pro Quadranten im superioren ($11,8 \pm 9,3$) und dorsalen ($10,3 \pm 7,4$) Quadranten identifiziert. In den distalen Segmenten proximal der Bifurkation lag der größte Teil der Nerven pro Quadranten superior

(10,2±9,5) und inferior (7,7±7,7) der Arterie lokalisiert. Distal der Bifurkation lag der größte Anteil der Nerven pro Quadranten im inferioren (5,0±4,8) und dorsalen (4,5±4,2) Quadranten. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen verschiedenen Regionen sowohl über alle Segmente (p=0,638), als auch innerhalb der jeweiligen Segmente (p>0,05). Die Übersicht über die Anzahl der analysierten Quadranten und die Anzahl der Nerven pro Quadranten nach Segment und Region ist in folgender Tabelle aufgeführt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Nerven pro Quadranten in Segmenten und Regionen der Aa. renales

Region \ Segment		Proximal (n=945)	Mittel (n=795)	Distal Prä- Bifurkation (n=576)	Distal Post- Bifurkation (n=1207)	Gesamt (n=3526)
Ventral (n=953)	Anzahl Quadranten	18	20	17	73	128
	Nerven pro Quadranten	20,4±30,1	9,5±7,6	6,8±4,9	3,8±3,6	7,5±13,1
Superior (n=985)	Anzahl Quadranten	18	20	18	70	126
	Nerven pro Quadranten	16,7±15,5	11,8±9,3	10,2±9,5	3,8±3,2	7,8±9,4
Dorsal (n=818)	Anzahl Quadranten	17	21	18	69	125
	Nerven pro Quadranten	9,3±8,2	10,3±7,4	7,2±7,5	4,5±4,2	6,5±6,4
Inferior (n=767)	Anzahl Quadranten	16	21	19	69	125
	Nerven pro Quadranten	7,4±8,3	7,3±7,3	7,7±7,7	5,0±4,8	6,1±6,3
Gesamt (n=3526)	Anzahl Quadranten	69	82	72	281	504
	Nerven pro Quadranten	13,7±18,6	9,7±7,9	8,0±7,6	4,3±4,0	7,0±9,3

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD oder Anzahl n.

Bei 3506 Nerven wurden die LND und die Nervengröße bestimmt. Die mittlere LND betrug 2,32±1,95 mm entlang der A. renalis sinistra und 2,29±2,03 entlang der A. renalis dextra (p=0,161). Die LND nahm von proximal nach distal ab und betrug 3,7±2,3 mm im Segment Proximal, 2,5±2,0 im Segment Mittel, 1,9±1,6 im Segment Distal Prä-Bifurkation und 1,3±1,0 im Segment Distal Post-Bifurkation (p<0,001).

Die Anzahl und die Verteilung der Nerven entsprechend der LND sind in Tabelle 6 und Tabelle 7 aufgeführt. Übersichten über die kumulative Nervenverteilung in Segmenten und Regionen der Aa. renales sind in Abb. 10 und Abb. 11 dargestellt.

Tabelle 6: Gesamtdistribution nach Lumen-Nerv-Distanz von Nerven der Aa. renales

Segment LND in mm	Proximal		Mittel		Distal Prä-Bifurkation		Distal Post-Bifurkation	
	Anzahl	In %	Anzahl	in %	Anzahl	in %	Anzahl	in %
0-1	77	8,4	142	17,2	177	30,7	615	51,9
1-2	202	22,0	325	39,3	235	40,8	420	35,4
2-3	143	15,6	117	14,2	72	12,5	79	6,7
3-4	124	13,5	79	9,6	29	5,0	33	2,8
4-5	140	15,3	71	8,6	27	4,7	24	2,0
5-6	83	9,0	32	3,9	14	2,4	5	0,4
6-7	57	6,2	29	3,5	7	1,2	2	0,2
7-8	34	3,7	9	1,1	8	1,4	6	0,5
8-9	39	4,2	6	0,7	4	0,7	0	0,0
9-10	19	2,1	16	1,9	3	0,5	2	0,2
Gesamt	918	100,0	826	100,0	576	100,0	1186	100,0

Die Daten sind angegeben als Anzahl n oder %. LND: Lumen-Nerv-Distanz.

Tabelle 7: Anzahl an Nerven und Lumen-Nerv-Distanz nach Regionen in Segmenten der Aa. renales

Segment Region	Proximal		Mittel		Distal Prä-Bifurkation		Distal Post-Bifurkation		Gesamt	
	Anzahl	LND	Anzahl	LND	Anzahl	LND	Anzahl	LND	Anzahl	LND
Ventral	362	4,2±2,4	195	3,0±2,2	116	1,8±1,4	271	1,2±0,8	944	2,8±2,3
Superior	283	3,8±2,3	251	2,8±2,2	183	2,1±1,8	262	1,3±1,2	979	2,6±2,2
Dorsal	154	2,6±1,9	221	2,2±1,4	130	1,3±0,8	307	1,3±1,0	812	1,8±1,4
Inferior	119	2,9±1,9	159	2,1±1,6	147	2,2±1,9	346	1,4±1,2	771	1,9±1,7
Gesamt	918	3,7±2,3	826	2,5±2,0	576	1,9±1,6	1186	1,3±1,1	3506	2,3±2,0

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD oder n. LND: Lumen-Nerv-Distanz.

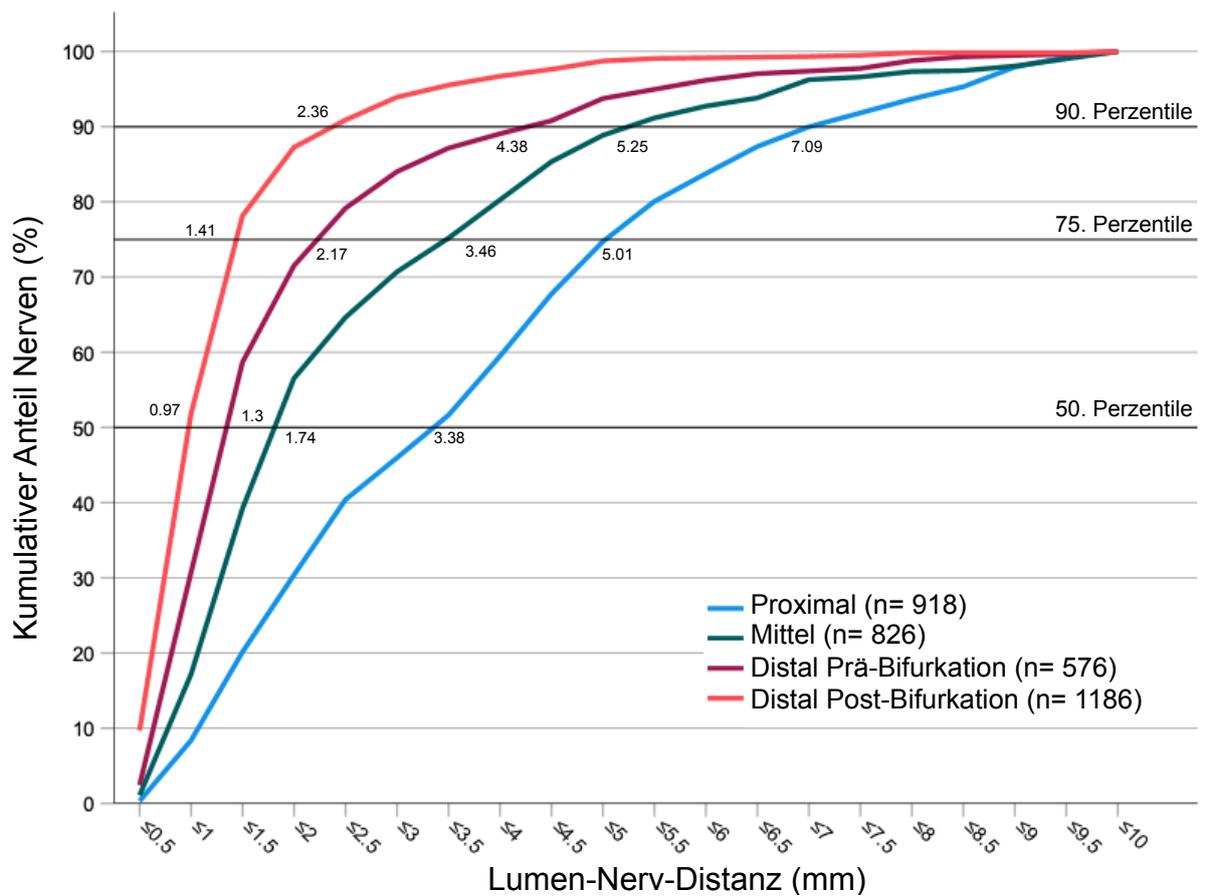


Abb. 10: Kumulative Nervenverteilung in Segmenten der Aa. renales

Kumulative Nervenverteilung der Lumen-Nerv-Distanz (LND) in verschiedenen Segmenten der Aa. renales. Die Ziffern zeigen die LND auf der 90., 75. und 50. Perzentile in den Segmenten Proximal, Mittel, Distal Prä-Bifurkation und Distal Post-Bifurkation an. Die Anzahl der eingeschlossenen Nerven ist als n angegeben.

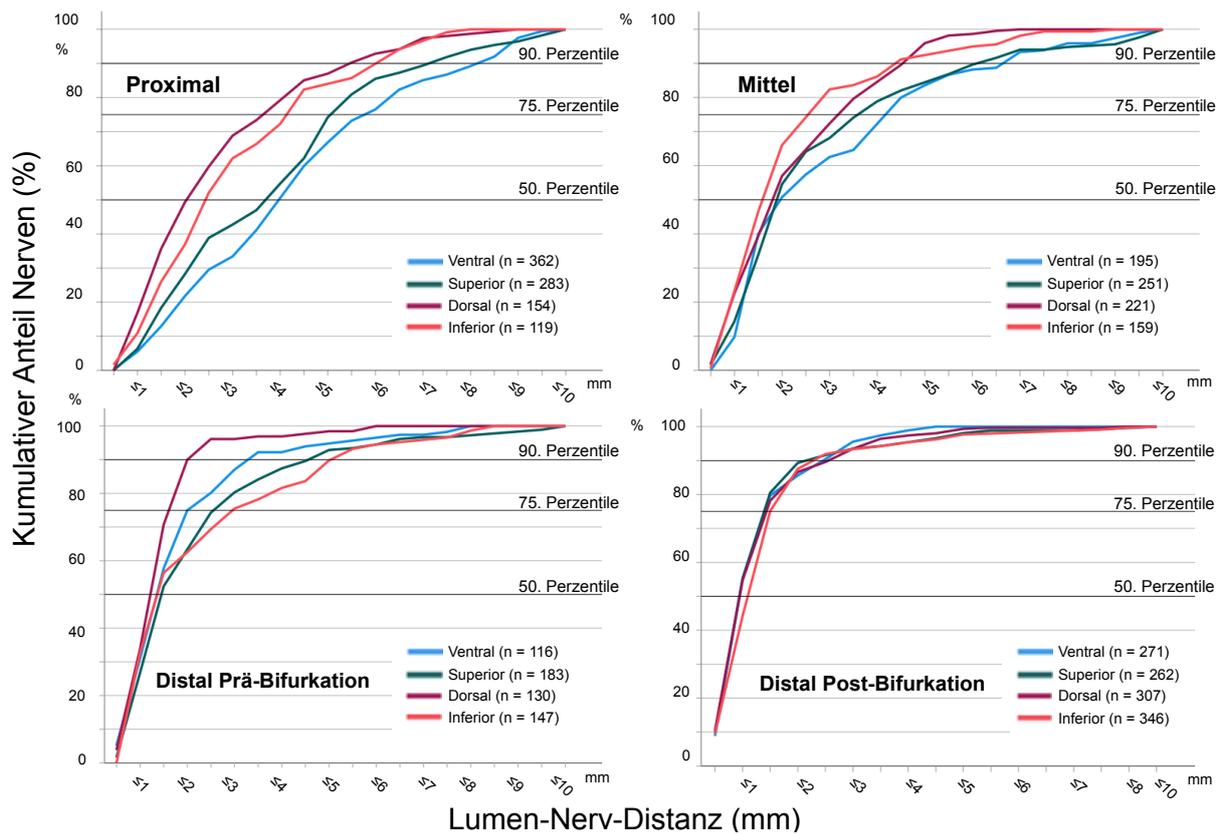


Abb. 11: Kumulative Nervenverteilung in Regionen der *Aa. renales*
 Kumulative Verteilung der Lumen-Nerv-Distanz (LND) nach Regionen. Die Graphen stellen verschiedene Regionen in den Diagrammen der Segmente Proximal, Mittel, Distal Prä-Bifurkation und Distal Post-Bifurkation dar. Die horizontalen Linien zeigen die 90., 75. und 50. Perzentile an. Die Anzahl der eingeschlossenen Nerven ist als n angegeben.

Nervendichte in Bezug zur analysierten Gewebefläche

Die Anzahl an Nerven wurde in Segmenten und Regionen ins Verhältnis zu der auf dem Gebiet enthaltenen Gewebefläche gesetzt. Die Nervendichte (Nerven/cm²) betrug für die *Aa. renales* 66,3±138,4 Nerven/cm². In der *A. renalis sinistra* war die Nervendichte 53,5, in der *A. renalis dextra* 78,7 Nerven/cm² (p=0,161). Im proximalen Segment lag sie bei 54,0±75,4 Nerven/cm². Im Gefäßverlauf stieg diese im mittleren Segment auf 66,3±59,3 Nerven/cm². Im Segment Distal Prä-Bifurkation lag die Nervendichte bei 60,2±56,1 Nerven/cm² und erreichte mit 70,90±176,5 Nerven/cm² ihr Maximum im Segment Distal Post-Bifurkation. Signifikante Unterschiede gab es zwischen den Segmenten Distal Post-Bifurkation und Mittel (p=0,002), nicht aber zwischen den anderen Segmenten (alle: p>0,05). Die Region mit der höchsten Nervendichte war Ventral (76,5±159,2 Nerven/cm²). Die Regionen Inferior und Superior besaßen eine geringere Nervendichte (65,3±197,6 und 63,5±81,4 Nerven/cm²). Die niedrigste Nervendichte pro Gewebe befand sich Dorsal (59,6±76,6 Nerven/cm²). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Nervendichte der Regionen (p=0,669).

Größe der Nerven in *Aa. renales*

In allen Gefäßsegmenten der Aa. renales waren die Nerven im Diameter überwiegend „klein“ (35-69 µm) (Tabelle 8). Der Anteil der „kleinen“ Nerven nahm im Gefäßverlauf von proximal nach distal weiter zu. Die meisten „mittleren“ (70-140 µm) und „großen“ Nerven (>140 µm) wurden im proximalen Segment identifiziert.

Tabelle 8: Nervengröße in Segmenten der Aa. renales

		Segment			
		Proximal	Mittel	Distal	Gesamt
Größe der Nerven, n (%)	„Klein“ (35-69 µm)	396 (43,1)	399 (48,3)	957 (54,3)	1752 (50,0)
	„Mittel“ (70-140 µm)	324 (35,3)	274 (33,2)	522 (29,6)	1120 (31,9)
	„Groß“ (>140 µm)	198 (21,6)	153 (18,5)	283 (16,1)	634 (18,1)

Die Daten sind angegeben als Anzahl, n (%).

Akzessorische Aa. renales

In zehn Körperspendern wurden bei zwei Patienten je eine akzessorische Nierenarterie registriert. Der mittlere Lumen-Diameter betrug $2,2 \pm 0,9$ mm. Die mittlere LND der Nerven betrug $2,6 \pm 2,2$ mm.

Analyse der efferenten Nerven in Aa. renales

Insgesamt wurden 2864 TH-positive Nerven analysiert. Um die A. renalis sinistra (n=1392) betrug die mittlere LND $2,09 \pm 1,78$ mm, um die A. renalis dextra (n=1472) $2,08 \pm 1,75$ mm ($p=0,779$).

In den Segmenten Proximal (15 Schnitte), Mittel (17 Schnitte), Distal Prä-Bifurkation (20 Schnitte) und Distal Post-Bifurkation (43 Schnitte) betrug die mittlere LND $3,2 \pm 2,1$ mm, $2,6 \pm 1,8$ mm, $1,7 \pm 1,3$ mm und $1,2 \pm 1,0$ mm ($p < 0,001$). Die Verteilung über die LND der Nerven unterschied sich signifikant zwischen dem inferioren und dem superioren Quadranten ($p=0,014$) sowie zwischen dem dorsalen und dem superioren Quadranten ($p=0,015$). Zwischen den anderen Quadranten gab es keinen signifikanten Unterschied.

Analyse von efferenten und afferenten Anteilen in Aa. renales

Der efferente und afferente Anteil von Nerven wurde exemplarisch in vier Patienten an 411 Nerven untersucht. In 19 Schnitten (fünf Proximal, fünf Mittel, vier Distal Prä-Bifurkation, fünf Distal Post-Bifurkation) wurden die TH- und CGRP-positiven Flächen der Nerven ins

Verhältnis gesetzt um die TH/CGRP-Ratio zu berechnen. Insgesamt war der Anteil an TH-positiven Flächen deutlich größer als der der CGRP-positiven Flächen. Die TH/CGRP-Ratio entlang der Aa. renales sinistra war $52,8 \pm 48,5$, entlang der Aa. renales dextra $56,1 \pm 46,4$ ($p=0,109$). Die TH/CGRP-Ratio nahm von proximal nach distal zu (Tabelle 9).

Tabelle 9: Verteilung von efferenten und afferenten Anteilen in Nerven der Aa. renales

Segment	Proximal	Mittel	Distal Prä-Bifurkation	Distal Post-Bifurkation
TH-positive Fläche, %	$94,2 \pm 7,3$	$96,1 \pm 4,4$	$95,9 \pm 7,0$	$96,6 \pm 4,5$
CGRP-positive Fläche, %	$5,8 \pm 7,3$	$3,9 \pm 4,4$	$4,1 \pm 7,0$	$3,4 \pm 4,5$
TH/CGRP-Ratio	$37,5 \pm 33,5$	$56,0 \pm 48,3$	$70,2 \pm 46,0$	$72,0 \pm 57,2$

Die Daten sind angegeben als Mittelwert \pm SD. TH: Tyrosinhydroxylase, CGRP: Calcitonin gene-related peptide.

5.3 Untersuchung der Nervenverteilung um die Aa. carotides

Anatomische Messungen

Die Analyse der Nervenverteilung der Aa. carotides wurde in 17 Arterien von neun Patienten durchgeführt. Insgesamt wurden 75 S100-gefärbte Schnitte in drei Segmenten um den Bulbus (32x Prä-Bulbus (proximal), 14x Bulbus, 29x Post-Bulbus (distal)) analysiert. Im Segment Post-Bulbus wurde zwischen A. carotis interna und A. carotis externa unterschieden. Die anatomischen Maße der Aa. carotides und anderer registrierter Strukturen sind in Tabelle 10 aufgeführt. Der mittlere Lumen-Diameter der Segmente Prä-Bulbus (proximal), Bulbus und Post-Bulbus (distal) betrug $6,3 \pm 1,1$ mm, $7,9 \pm 2,3$ mm und $4,3 \pm 1,4$ mm ($p < 0,001$). Der mittlere Durchmesser der A. carotis interna und A. carotis externa betrug $5,1 \pm 1,3$ mm und $3,6 \pm 1,2$ mm. In 15 von 17 Arterien bestanden arteriosklerotische Veränderungen. Diese führten zu einer mittleren Stenosierung von $22,7 \pm 9,0$ % (A. carotis sinistra) und $18,8 \pm 8,3$ % (A. carotis dextra).

Tabelle 10: Anatomische Maße der Aa. carotides

	A. carotis	Gesamt (links, n=9/rechts, n=8)	Ohne Hypertonie (links, n=6/rechts, n=5)	Bekannte Hypertonie (links, n=3/rechts, n=3)	p-Wert
Elastica externa- Fläche, mm ²	sinistra	36,8±23,2	41,6±23,5	28,9±20,9	0,019
	dextra	33,1±21,5	35,6±22,7	29,7±19,7	0,383
Elastica interna- Fläche, mm ²	sinistra	27,3±19,6	31,0±19,6	21,2±18,3	0,045
	dextra	24,5±17,9	26,8±19,0	21,4±16,3	0,346
Lumen-Fläche, mm ²	sinistra	20,3±14,7	23,4±14,9	15,2±13,2	0,028
	dextra	17,6±12,4	19,1±12,3	15,5±12,6	0,270
Lumen- Diameter, mm	sinistra	5,7±2,1	6,1±1,9	5,0±2,3	0,123
	dextra	5,1±1,9	5,4±1,7	4,9±2,1	0,696
Media-Dicke, mm	sinistra	0,4±0,2	0,5±0,2	0,4±0,2	0,212
	dextra	0,4±0,2	0,4±0,1	0,4±0,2	0,765
Arterie mit ≥1 Plaque, n (%)	sinistra	8 (89)	6 (100)	2 (67)	0,325
	dextra	7 (88)	4 (80)	3 (100)	0,735
Mittlere Stenosierung, %	sinistra	22,7±9,0	23,0±8,6	21,7±12,6	0,811
	dextra	18,8±8,3	19,4±8,6	17,5±8,7	0,933
Arterie mit ≥1 Lymphknoten, n (%)	sinistra	8 (89)	5 (83)	3 (100)	1,000
	dextra	7 (88)	4 (80)	3 (100)	1,000
Arterie mit ≥1 Neuroganglion, n (%)	sinistra	3 (33)	1 (17)	2 (67)	0,090
	dextra	2 (25)	1 (20)	1 (33)	1,000

Die Daten sind als Mittelwert ± SD oder Anzahl n (%) dargestellt. Für Vergleiche zwischen Patienten mit und ohne Hypertonie wurden p-Werte berechnet. Kontinuierliche Daten wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test getestet. Bei den kategorialen Daten handelt es sich um gezählte Merkmale der Arterien. Die Daten wurden mit dem Chi-Quadrat-Test oder dem exakten Test nach Fisher verglichen.

Lymphknoten wurden in 15 und Neuroganglien in 5 Arterien registriert (Tabelle 10). In der A. carotis sinistra waren es 11 Lymphknoten und 8 Neuroganglien, sowie 10 Lymphknoten und 5 Neuroganglien in der A. carotis dextra. Übersichten über die Lokalisation von Neuroganglien und Lymphknoten sind in Tabelle 11 und Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 11: Neuroganglien in Segmenten und Regionen der Aa. carotides

Segment	Region					Gesamt
	Ventral	Lateral	Dorsal	Medial		
Neuroganglien, n (%)	Prä-Bulbus	1	1	0	1	3 (23,1)
	Bulbus	0	0	0	0	0
	Post-Bulbus	2	0	1	7	10 (76,9)
	Gesamt	3 (23,1)	1 (7,7)	1 (7,7)	8 (61,5)	13 (100)

Die Daten sind angegeben als Anzahl, n (%).

Tabelle 12: Lymphknoten in Segmenten und Regionen der Aa. carotides

Segment	Region							Gesamt
	Ventral	Lateral	Dorsal	Medial	Ventro-lateral	Dorso-lateral		
Lymphknoten, n (%)	Prä-Bulbus	1	1	2	1	0	0	5 (23,8)
	Bulbus	1	2	0	1	0	0	4 (19,0)
	Post-Bulbus	0	4	4	2	1	1	12 (57,1)
	Gesamt	2 (9,5)	7 (33,3)	6 (28,6)	4 (19,0)	1 (4,8)	1 (4,8)	21 (100)

Die Daten sind angegeben als Anzahl, n (%).

Verteilung von Nerven in Segmenten und Regionen der Aa. carotides

In S100-Färbungen wurden 2913 Nerven zur quantitativen Analyse herangezogen. Die Anzahl an Nerven pro Quadranten für die Aa. carotides lag im Mittel bei $7,4 \pm 8,0$ Nerven pro Quadranten, dabei $7,4 \pm 8,1$ um die A. carotis sinistra und $7,5 \pm 7,9$ um die A. carotis dextra ($p=0,484$). Die Segmente Prä-Bulbus ($n=948$), Bulbus ($n=407$) und Post-Bulbus ($n=1558$) nahmen folgende Werte an: $7,1 \pm 7,3$ Nerven pro Quadranten, $7,8 \pm 7,0$ Nerven pro Quadranten, $7,6 \pm 8,7$ Nerven pro Quadranten. Es zeigten sich bezüglich der Nerven pro Quadranten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Segmenten ($p=0,567$).

Die Quadranten Dorsal ($n=798$) und Medial ($n=787$) besaßen die höchste Anzahl an Nerven pro Quadranten: $8,1 \pm 8,1$ und $8,1 \pm 8,3$ Nerven pro Quadranten. Der Quadranten Lateral ($n=708$) folgt mit $7,1 \pm 7,0$ Nerven pro Quadranten und der Quadranten Ventral ($n=620$) besaß die geringste Anzahl an Nerven pro Quadranten: $6,4 \pm 8,5$. Über alle Segmente zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl von Nerven pro Quadranten in verschiedenen Regionen ($p=0,213$).

Bei Betrachtung des Segmentes Prä-Bulbus ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Regionen Ventral vs. Dorsal ($p=0,006$) und Ventral vs. Lateral ($p=0,005$), nicht jedoch bei Vergleich der anderen Regionen (jeweils $p>0,05$). In den Segmenten Bulbus ($p=0,379$) und

Post-Bulbus ($p=0,122$) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Regionen.

Die quantitative Erfassung von Nerven pro Quadranten und die Anzahl der analysierten Quadranten in den verschiedenen Segmenten und Regionen ist in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Nerven pro Quadranten in Segmenten und Regionen der Aa. carotides

Region \ Segment		Prä-Bulbus	Bulbus	Post-Bulbus	Gesamt
		Ventral	33	13	51
	Anzahl Quadranten	33	13	51	97
	Nerven pro Quadranten	3,6±3,2	5,4±3,8	8,5±10,9	6,4±8,5
Lateral	Anzahl Quadranten	34	14	52	100
	Nerven pro Quadranten	9,2±8,2	7,2±6,4	5,7±5,9	7,1±7,0
Dorsal	Anzahl Quadranten	34	13	51	98
	Nerven pro Quadranten	9,7±8,7	11,5±9,5	6,2±6,9	8,1±8,1
Medial	Anzahl Quadranten	33	12	52	97
	Nerven pro Quadranten	5,7±6,1	7,3±6,5	9,9±9,5	8,1±8,3
Gesamt	Anzahl Quadranten	134	52	206	392
	Nerven pro Quadranten	7,1±7,3	7,8±7,0	7,6±8,7	7,4±8,0

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD oder n.

Insgesamt wurden 2914 Nerven zur Analyse der LND und der Nervengröße herangezogen. Um die A. carotis sinistra ($n=1579$) lag die mittlere LND bei $2,5\pm 1,4$ mm, um die A. carotis dextra ($n=1335$) bei $2,8\pm 1,5$ mm ($p=0,161$). In den Segmenten Prä-Bulbus, Bulbus und Post-Bulbus wurden 792, 408 und 1714 Nerven registriert. Die mittlere LND in den Prä-Bulbus-, Bulbus- und Post-Bulbus-Segmenten waren: $2,85\pm 1,4$ mm, $2,91\pm 1,38$ mm und $2,45\pm 1,48$ mm. In der Verteilung nach LND bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Segmenten Prä- und Post-Bulbus ($p<0,001$), sowie Bulbus und Post-Bulbus ($p<0,001$). Nicht jedoch zwischen den Segmenten Prä-Bulbus und Bulbus ($p=1,00$). Die gesamte Verteilung ist in Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 14: Lumen-Nerv-Distanz in Segmenten der Aa. carotides

Segment LND in mm	Prä-Bulbus		Bulbus		Post-Bulbus		Gesamt	
	Anzahl	In %	Anzahl	in %	Anzahl	in %	Anzahl	in %
0-1	5	0,6	1	0,2	167	9,7	173	5,9
1-2	240	30,3	118	28,9	657	38,3	1015	34,8
2-3	271	34,2	134	32,8	436	25,4	841	28,9
3-4	148	18,7	84	20,6	210	12,3	442	15,2
4-5	67	8,5	32	7,8	142	8,3	241	8,3
5-6	27	3,4	19	4,7	44	2,6	90	3,1
6-7	21	2,7	15	3,7	33	1,9	69	2,4
7-8	5	0,6	5	1,2	12	0,7	22	0,8
8-9	4	0,5	0	0,0	5	0,3	9	0,3
9-10	4	0,5	0	0,0	8	0,5	12	0,4
Gesamt	792	100,0	408	100,0	1714	100,0	2914	100,0

Die Daten sind angegeben als Anzahl n oder %. LND: Lumen-Nerv-Distanz.

Die LND der Regionen um die Aa. carotides ist detailliert in Tabelle 15 aufgeführt. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung zwischen den Regionen ($p=0,791$). Eine Übersicht über die kumulative Nervenverteilung der Aa. carotides ist in Abb. 12 und Abb. 14 gezeigt.

Tabelle 15: Anzahl Nerven und Lumen-Nerv-Distanz nach Region in Segmenten der Aa. carotides

Segment Region	Prä-Bulbus		Bulbus		Post-Bulbus		Gesamt	
	Anzahl	LND	Anzahl	LND	Anzahl	LND	Anzahl	LND
Ventral	98	2,7±1,3	70	3,3±1,8	452	2,4±1,3	620	2,6±1,4
Superior	299	3,2±1,7	102	2,8±1,4	308	2,2±1,4	709	2,7±1,6
Dorsal	262	2,6±1,1	149	2,8±1,0	387	2,3±1,4	798	2,5±1,3
Inferior	133	2,6±1,1	87	2,9±1,4	567	2,7±1,7	787	2,7±1,6
Gesamt	792	2,9±1,4	408	2,9±1,4	1714	2,5±1,5	2914	2,6±1,5

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD oder n. LND: Lumen-Nerv-Distanz.

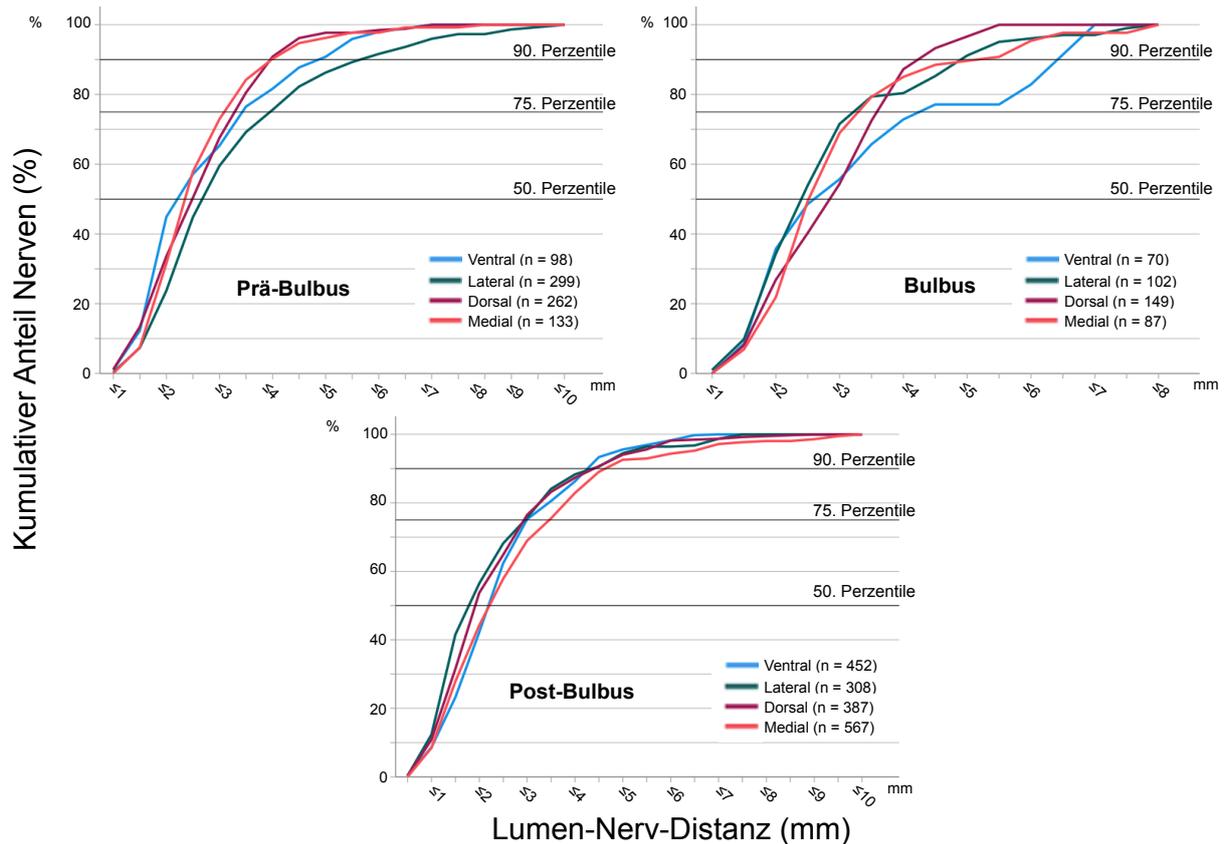


Abb. 12: Kumulative Nervenverteilung in Regionen der Aa. carotides

Kumulative Nervenverteilung der Lumen-Nerv-Distanz (LND) in verschiedenen Segmenten. Die Graphen veranschaulichen die vier Regionen. Die horizontalen Linien zeigen die 90., 75. und 50. Perzentile in den Segmenten Prä-Bulbus, Bulbus und Post-Bulbus an. Die Anzahl der eingeschlossenen Nerven ist als n angegeben.

Relative Nervendichte der Aa. carotides

Die Nervendichte der Aa. carotides bezogen auf die Gewebefläche betrug insgesamt $46,4 \pm 51,4$ Nerven/cm², um die A. carotis sinistra $47,0 \pm 54,3$ Nerven/cm² und um die A. carotis dextra $45,7 \pm 47,9$ Nerven/cm² ($p=1,000$). Im Gefäßsegment Prä-Bulbus lag sie bei $32,9 \pm 37,8$ Nerven/cm². Mit dem Gefäßverlauf stieg sie im Bulbus auf $34,9 \pm 32,5$ Nerven/cm². Distal zum Bulbus erreicht sie ihr Maximum von $58,1 \pm 59,7$ Nerven/cm². Die Verteilung unterschied sich signifikant zwischen den Segmenten Prä-Bulbus vs. Post-Bulbus ($p<0,001$). Nicht jedoch zwischen den Segmenten Prä-Bulbus vs. Bulbus ($p=1,000$) und Bulbus vs. Post-Bulbus ($p=0,127$).

Die Regionen mit der höchsten Dichte waren die Quadranten Medial ($55,4 \pm 63,7$ Nerven/cm²) und Dorsal ($53,1 \pm 53,1$ Nerven/cm²). Die Regionen Ventral und Lateral besaßen mit $40,2 \pm 46,6$ Nerven/cm² und $37,2 \pm 37,2$ N/cm² eine geringere Nervendichte. Die Regionen zeigten keinen signifikanten Unterschied in ihrer Verteilung ($p=0,162$).

Größe der Nerven um die Aa. carotides

Mit insgesamt 45,5 %, im Segment Post-Bulbus 52,5 % und im Segment Bulbus 38,2 %, besaß die Nervenkatgorie „klein“ (35-69 µm) den größten Anteil. Im proximalen Segment zeigte sich die Kategorie „groß“ (>140 µm) mit 38,8 % als größter Anteil. Der Anteil der „kleinen“ Nerven nahm von Proximal (Prä-Bulbus) (34,2 %) über den Bulbus (38,2 %) bis Distal (Post-Bulbus) (52,5 %) zu. Die Übersicht der Nerven nach Größe und Segment ist in Tabelle 16 aufgeführt.

Tabelle 16: Nervengröße in Segmenten der Aa. carotides

Segment \ Nervengröße	Prä-Bulbus	Bulbus	Post-Bulbus	Gesamt
„Klein“ (35-69 µm), n (%)	271 (34,2)	156 (38,2)	900 (52,5)	1327 (45,5)
„Mittel“ (70-140 µm), n (%)	214 (27,0)	114 (27,9)	446 (26,0)	774 (26,6)
„Groß“ (>140 µm), n (%)	307 (38,8)	138 (33,8)	368 (21,5)	813 (27,9)

Die Daten sind angegeben als Anzahl, n (%).

Verteilung der efferenten Nerven um die Aa. carotides

In TH-Färbungen wurden 15 repräsentative Schnitte, jeweils fünf in den Segmenten Prä-Bulbus (proximal), Bulbus und Post-Bulbus (distal), mit insgesamt 430 Nerven analysiert.

Die A. carotis sinistra wies eine mittlere LND von $2,3 \pm 1,0$ mm und die A. carotis dextra von $2,7 \pm 1,1$ mm auf. Die mittlere LND in den Segmenten Prä-Bulbus, Bulbus und Post-Bulbus betrug $2,6 \pm 1,1$ mm, $2,4 \pm 0,7$ mm und $2,5 \pm 1,1$ mm ($p=0,651$). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Regionen ($p=0,075$).

Verteilung von afferenten und efferenten Anteilen in Nerven der Aa. carotides

Die Verteilung von afferenten und efferenten Anteilen in Nerven wurde exemplarisch in 14 Schnitten (vier Prä-Bulbus, fünf Bulbus, fünf Post-Bulbus) in fünf Patienten untersucht. 152 Nerven wurden in der CGRP- und TH-Färbung identifiziert, vermessen, nach positiv angefärbter Fläche analysiert und mit dem entsprechenden Nerv der Partnerfärbung zusammengeführt. Der TH-positive (efferente) Anteil an der Gesamtfläche war deutlich größer als der CGRP-positive (afferente) Anteil und nahm im Verlauf des Gefäßes zum Bulbus zu, verringerte sich jedoch im weiteren Gefäßverlauf. Die A. carotis sinistra zeigte eine TH/CGRP-Ratio von $47,2 \pm 69,1$, die A. carotis dextra eine von $31,9 \pm 37,0$. Die Verteilung ist in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Verteilung der TH/CGRP-positiven Fläche in Nerven der Aa. carotides

Segment	Prä-Bulbus	Bulbus	Post-Bulbus
TH-positive Fläche, %	90,6±10,3	89,1±14,1	91,0±10,0
CGRP-positive Fläche, %	9,4±10,3	10,9±14,1	9,0±10,0
TH/CGRP-Ratio	38,6±62,1	44,6±70,2	44,6±70,2

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD. TH: Tyrosinhydroxylase, CGRP: Calcitonin gene-related peptide.

Arteria carotis interna und Arteria carotis externa

Im Bereich distal des Segmentes Bulbus wurden die Gefäße A. carotis interna und A. carotis externa unterschieden. Jeweils 15 Gefäße wurden in die Analyse eingeschlossen. Eine Übersicht über die anatomischen Gegebenheiten und Unterschiede ist in Tabelle 18 aufgestellt. Signifikante Unterschiede zeigten sich in einigen anatomischen Kriterien, nicht jedoch in der Mediadicke und dem Stenosegrad (%).

Tabelle 18: Anatomische Maße und Strukturen A. carotis interna und A. carotis externa

	A. carotis interna (n=15)	A. carotis externa (n=15)	p-Wert
Elastica externa-Fläche, mm ²	30,2±14,7	16,9±8,1	<0,001
Elastica interna-Fläche, mm ²	23,2±13,0	12,7±7,2	0,002
Lumen-Fläche, mm ²	16,8±8,1	9,2±5,4	0,001
Lumen-Diameter, mm	5,1±1,3	3,6±1,2	<0,001
Media-Dicke, mm	0,4±0,2	0,3±0,1	0,200
Lymphknoten, n	5	6	
Arteriosklerotische Plaques, n	8	4	
Mittlere Stenosierung, %	21,1±7,4	17,5±13,2	0,503
Neuroganglien, n	2	5	

Angaben in Mittelwert ± SD oder n. Zum Vergleich der Gefäße wurde bei kontinuierlichen Daten der Mann-Whitney-U Test durchgeführt.

Die Anzahl an Nerven betrug um die A. carotis interna im Mittel 6,9±7,5 Nerven pro Quadranten, bzw. 47,7±50,3 Nerven/cm². Auf Seiten der A. carotis externa bezifferte sich die Anzahl auf 7,6±8,6 Nerven pro Quadranten und 64,1±63,1 Nerven/cm². Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl an Nerven pro Quadranten (p=0,574) oder pro cm² (p=0,076).

Hinsichtlich der LND wurden 711 Nerven der A. carotis interna und 753 der A. carotis externa analysiert. Die mittlere LND betrug 2,5±1,5 mm (A. carotis interna) und 2,3±1,3 mm (A. carotis externa) (p=0,295). Der größte Anteil an Nerven war in beiden Gefäßen die Nervengröße „klein“: 56,1 % (A. carotis interna) und 53,8 % (A. carotis externa). Nerven der Größe „mittel“

waren zu 21,4 % (A. carotis interna) und 28,4 % (A. carotis externa) vertreten. Der Anteil der „großen“ Nerven ist der zweitgrößte um die A. carotis interna (22,5%) und der drittgrößte um die A. carotis externa (17,8%). Die TH-positive Fläche war weitaus größer als die CGRP-positive Fläche. Die detaillierte Aufstellung zu efferenten und afferenten Anteilen ist in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Efferente und afferente Anteile in Nerven um die A. carotis interna und A. carotis externa

	A. carotis interna	A. carotis externa	p-Wert
TH-positive Fläche, %	90,7±10,2	92,2±10,0	0,538
CGRP-positive Fläche, %	9,3±10,2	7,8±10,0	0,538
TH/CGRP-Ratio	34,6±36,9	35,1±28,9	0,538

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SD. TH: Tyrosinhydroxylase, CGRP: Calcitonin gene-related peptide. P-Werte wurden für Unterschiede zwischen A. carotis interna und A. carotis externa mittels Mann-Whitney-U Test berechnet.

6 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit untersuchten wir die anatomische Verteilung und Funktion der Nerven entlang der Aa. renales und Aa. carotides von Körperspendern.

6.1 Nervenverteilung um die Aa. renales und Bedeutung für die klinische Intervention

In dieser Studie wurde die Nervenverteilung entlang der Aa. renales menschlicher Körperspender untersucht, wobei der Schwerpunkt auf den Gefäßsegmenten distal der arteriellen Bifurkation lag. In Übereinstimmung mit früheren Studien [77] nähern sich die Nerven in den distalen Segmenten und entlang der Verzweigungen dem Lumen der Aa. renales an, was zu der kürzesten LND in den Segmenten distal der Bifurkation führte (Abb. 13).

Es fanden sich überwiegend efferente Nerven und das Verhältnis von efferenten zu afferenten Nerven nahm im Verlauf der Gefäße weiter zu.

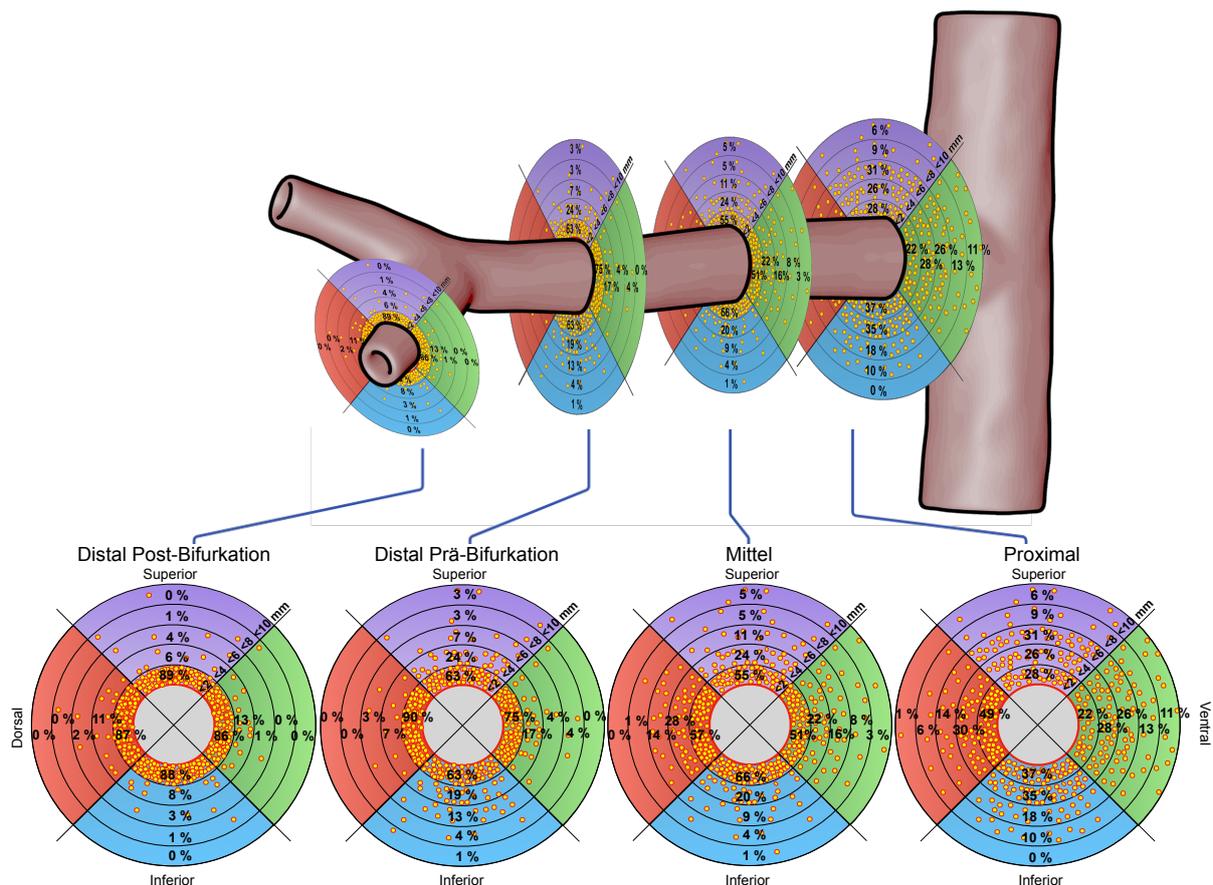


Abb. 13: Verteilung von Nerven entlang der Aa. renales

Verteilung von Nerven entlang der Aa. renales. Die Kreisdiagramme zeigen die prozentuale Verteilung in den Regionen der Segmente innerhalb von <2, <4, <6, <8 und <10 mm vom arteriellen Lumen.

Die aktuelle Studie zeigt erstmals, dass die relative Nervendichte von proximal nach distal zunimmt und, dass sie, und das Verhältnis von efferenten und afferenten Anteilen in Nerven

(TH/CGRP-Ratio), in den Segmenten distal der Bifurkation numerisch am höchsten ist. Darüber hinaus befanden sich 90 % der Nerven innerhalb von 5,11 mm Entfernung vom Lumen. Diese Ergebnisse können zu der Optimierung der Technologie und Techniken in der RDN beitragen.

Während die Anzahl der Nerven pro Quadranten in den proximalen Segmenten der Aa. renales am höchsten war und im Verlauf des Gefäßes abnahm, wurde in Übereinstimmung mit früheren Studien an Menschen festgestellt, dass die durchschnittliche LND in den distalen Segmenten am niedrigsten war, insbesondere nach der Bifurkation [77,79]. Betrachtet man das gesamte Gefäß, so befinden sich 90 % der Nerven innerhalb von 5,11 mm vom Lumen entfernt. Somit liegen die Nerven in dieser Studie deutlich näher an den Aa. renales als in früheren Studien [77,78]. Es kann argumentiert werden, dass dies mit der Identifizierung kleinerer Nerven zusammenhängen könnte (in dieser Studie waren 82 % der Nerven $<140\ \mu\text{m}$ gegenüber 73 % der Nerven $<150\ \mu\text{m}$ [77]), da eine höhere Vergrößerung und bessere Technik der Darstellung als in früheren Studien verwendet wurde (10-20-fache Vergrößerung gegenüber 1,25-facher Vergrößerung [77,78]). Außerdem könnte sich die Verteilung von Nerven in Körperspendern je nach ethnischer Herkunft oder genetischem Hintergrund unterscheiden. In dieser Studie wurden ausschließlich Körperspender kaukasischen Ursprungs untersucht.

Während in proximalen Segmenten 90 % der Nerven innerhalb von 7,1 mm Entfernung der Aa. renales liegen, befanden sich in distalen Segmenten nach der Bifurkation 90 % innerhalb von 2,4 mm. Bei RDN-Kathetersystemen die Radiofrequenzstrom verwenden, beträgt die mittlere Läsionstiefe etwa 3,8 mm [1]. Gemäß der Nervenverteilung in dieser Studie würde ein Katheter mit einer Eindringtiefe von 3,8 mm mehr als 90 % der Nerven im Segment Distal Post-Bifurkation und 75-90 % der Nerven in den Segmenten Mitte und Distal Prä-Bifurkation, aber nur 50-60 % in den proximalen Segmenten erreichen.

Im Gegensatz zur Anzahl der Nerven pro Quadranten, die von proximal nach distal abnahm, war die Nervendichte im Segment Distal Post-Bifurkation tendenziell höher als in den proximalen Arteriensegmenten.

Die Menge des extrahierten perivaskulären Gewebes nahm entlang der Aa. renales ab. Gleichzeitig nahm die Nervendichte zu, was darauf hindeutet, dass die Anzahl der potenziell behandelbaren Nerven in den distalen Gefäßsegmenten zunimmt.

Daten zur Nervenverteilung in Segmenten distal der Bifurkation sind rar, obwohl Radiofrequenz-Katheter die Behandlung von Gefäßen, einschließlich Verzweigungen, außerhalb des Nierenparenchyms mit einem Durchmesser zwischen 3 und 8 mm ermöglichen.

In präklinischen und klinischen Studien wird in Aa. renales die Behandlung von Gefäßästen und distalen Arteriensegmenten zusätzlich zur Hauptarterie bei der Durchführung der Radiofrequenz-RDN empfohlen [28].

Im Schweinemodell führte die Behandlung von Gefäßästen zusätzlich zu den Hauptarterien mittels Radiofrequenz-RDN zur geringsten Variabilität im Ansprechen und zu einer signifikant stärkeren Reduktion von Noradrenalin und der Axondichte als die alleinige Behandlung der renalen Hauptarterie [53].

In klinischen Studien führte die gleiche Ablationsstrategie zu ausgeprägteren und reproduzierbaren Blutdrucksenkungen [28,29]. Es ist wünschenswert, die Anzahl der unwirksamen Ablationsversuche zu reduzieren, um das Verfahren durch eine Verringerung der Interventionsdauer, des Kontrastmittelbedarfs und der Strahlendosis kostengünstiger und noch sicherer zu machen.

In der Spyral HTN-OFF MED Pivotal-Studie beispielsweise betrug die durchschnittliche Verfahrensdauer 100 Minuten bei im Mittel insgesamt 46,9 Ablationen [11].

Bei Kathetersystemen mit einer Eindringtiefe von 2,5 - 3 mm könnte die Behandlung distaler Segmente mit Gefäßästen eine größere Anzahl von Nerven erreichen und effizienter sein als die alleinige Behandlung proximaler Segmente. Wichtig ist, dass Ablationen nur in Bereichen außerhalb des Nierenparenchyms durchgeführt werden, die unter Röntgendurchleuchtung sichtbar sind, um eine mögliche Schädigung des Nierenparenchyms zu vermeiden. Biomathematische Analysen haben gezeigt, dass die niedrige Leitfähigkeit des Fettgewebes, in das die meisten renalen Nerven eingebettet sind, zu einem größeren Widerstandsverlust und einer stärkeren Erwärmung des Fettgewebes führt als bei anderem perivaskulären Gewebe. Erfreulicherweise führte die Behandlung der Gefäßäste in einem Schweinemodell nur zu minimalen unerwünschten perivaskulären Gewebeschäden [79]. In scheinkontrollierten Studien mit Radiofrequenz-RDN in den Gefäßästen gab es drei Jahre nach der Prozedur keine Anzeichen für eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion [5].

Frühere Studien berichteten über widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der zirkulären Verteilung von Nerven [41,60,77,78]. In der vorliegenden Untersuchung wurden die meisten Nerven pro Quadranten in den oberen und ventralen Quadranten identifiziert.

Wird lediglich das Segment distal der Bifurkation betrachtet, so ist die Anzahl der Nerven pro Quadranten in den dorsalen und inferioren Quadranten am höchsten.

Außerdem wurde in früheren Studien die Verteilung der renalen Nerven in der Regel als Anzahl an Nerven pro Arterie oder Segment berechnet [77,78]. Da die Fläche des

perivaskulären Gewebes in den einzelnen Segmenten und Quadranten variiert, wurde in der vorliegenden Studie die Nervendichte definiert als die Anzahl der Nerven pro Fläche des periarteriellen Gewebes.

Etwa 95 % der positiv gefärbten Fläche bestand aus efferenten (TH-positive) Nervenanteilen [77,86].

Dies ist von großer Bedeutung, da die Stimulation von efferenten Nerven über die Aktivierung von beta1-adrenergen Rezeptoren auf der Ebene der juxtaglomerulären Zellen die Freisetzung von Renin bewirkt [67], die renale tubuläre Natriumrückresorption über alpha1-Adrenozeptoren erhöht [23] und den renalen Blutfluss durch eine alpha-Adrenozeptor-vermittelte renale Vasokonstriktion vermindert [46].

Die relative Zunahme der efferenten Anteile der Nerven von proximal nach distal könnte teilweise erklären, warum nach der Radiofrequenz-RDN der Hauptarterien der Aa. renales und ihrer Äste [35,54], nicht aber nach der Ultraschall-RDN der Hauptarterien [30,35] eine Verringerung der Herzfrequenz und der Plasma-Renin-Aktivität beobachtet wurde.

Denn sowohl eine Reduktion der Herzfrequenz als auch der Plasma-Renin-Aktivität wird über afferente sympathische Nervenfasern vermittelt. Da ist die Kenntnis der Verteilung von efferenten und afferenten Anteilen der sympathischen Nerven für die Entwicklung neuer Devices und die Verwendung bestehender Devices bei neuen Indikationen von wesentlicher Bedeutung, wenn vor allem diese angesprochen werden sollen.

Darüber hinaus sollten umliegende Lymphknoten und atherosklerotische Plaques berücksichtigt werden, da diese die Wärmeleitung beeinflussen können[92].

Lymphknoten werden in der Regel nicht durch die RDN beschädigt, da die höhere elektrische Leitfähigkeit und die konvektive Wärmeleitung der durchströmenden Flüssigkeit das Erreichen höherer Temperaturen in diesen Geweben verhindern [79]. Allerdings beeinträchtigen die umliegenden Lymphknoten die Gleichmäßigkeit und die zirkuläre Ausbreitung der Wärmeenergie, die die meisten Kathetersysteme für die Ablation verwenden.

In dem untersuchten Kollektiv waren 39 % der Aa. renales von atherosklerotischen Veränderungen betroffen, die zu einer Verengung des Lumens führten. Diese atherosklerotischen Veränderungen könnten auch die Wirksamkeit der RDN einschränken, da sie die Lumen-Nerven-Distanz erhöhen [95].

Neuroganglien waren entlang der meisten Aa. renales vorhanden. Die Auswirkungen der Ablation unspezifischer Neuroganglien, die möglicherweise bei der Innervation der Nieren und anderer Bauch- und Beckenorgane [79] beteiligt sind, sind ungewiss. In Übereinstimmung mit früheren Studien befanden sich die meisten Neuroganglien in den proximalen und mittleren Segmenten der Aa. renales [79]. Durch die Konzentration auf die distalen Arteriensegmente

ist die Wahrscheinlichkeit geringer, dass unspezifische Neuroganglien von den Ablationsläsionen betroffen sind.

6.2 Verteilung von Nerven um die Aa. carotides

Interventionelle Therapien zur Behandlung der therapieresistenten Hypertonie wurden in den vergangenen Jahren auch im Bereich der Aa. carotides untersucht. Die beschriebenen Ansätze versuchen über die Stimulation, entweder durch elektrischen Reiz oder durch mechanische Aktivierung der dehnungssensitiven Rezeptoren [38], der im Sinus caroticus lokalisierten Mechanorezeptoren den Barorezeptor-Reflex zu aktivieren, und so über eine daraufhin sinkende sympathische Aktivität den Blutdruck zu regulieren [93]. Zusätzlich sind Ansätze bekannt, bei denen der Karotiskörper chirurgisch oder über eine endovaskuläre Katheterablation in seiner Aktivität moduliert werden soll. Für diese Interventionen ist eine genauere Kenntnis der Nervenverteilung in diesem Bereich relevant, um die abzugebende Energiemenge und Ablationstiefe zu optimieren. Um 90 % der Nerven durch eine Intervention erreichen zu können, ist in den vorliegenden Daten eine Ablationstiefe von 4,49 mm nötig. Bis heute sind keine histologischen Untersuchungen mit Analyse der Nervenverteilung von Aa. carotides durchgeführt worden, sodass die vorliegenden Ergebnisse zu einer zielgerichteteren Durchführbarkeit der Intervention führen könnten.

6.3 Gemeinsamkeiten und Unterschiede in Innervationsmustern der Aa. renales und Aa. carotides

Das Innervationsmuster der Aa. renales ist durch eine im Arterienverlauf sinkende LND gekennzeichnet. Die Aa. carotides scheinen diese Muster nur in Ansätzen aufzuweisen. Die LND verringerte sich im Gefäßverlauf weniger stark als die der Aa. renales. Allerdings sind 90 % der Nerven mit einer geringeren Eindringtiefe (Aa. carotides: 4,49 mm, Aa. renales: 5,11 mm) erreichbar. Zu erwähnen ist hier, dass sich die Verhältnisse der Aa. renales in den unterschiedlichen Segmenten deutlich unterscheidet. Die in Abb. 14 gezeigten Graphen stellen diesen Unterschied in der untersuchten Population dar.

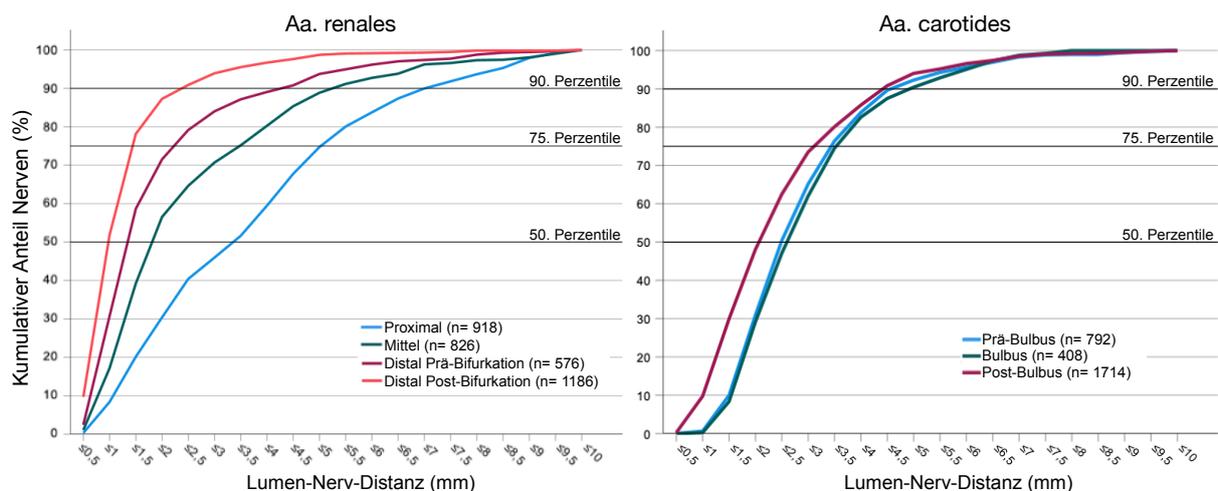


Abb. 14: Kumulative Nervenverteilung in Segmenten der Aa. renales und Aa. carotides
 Kumulative Nervenverteilung der Lumen-Nerv-Distanz in Aa. renales (links) und Aa. carotides (rechts) und ihren verschiedenen Segmenten. Die Graphen veranschaulichen die jeweiligen Segmente. Die horizontalen Linien zeigen die 90., 75. und 50. Perzentile an. Die Anzahl der eingeschlossenen Nerven ist als n angegeben.

Die mittlere Anzahl an Nerven pro Quadranten der Aa. carotides ($7,4 \pm 8,0$) zeigte eine leicht höhere Anzahl an Nerven pro Quadranten als die der Aa. renales ($7,0 \pm 9,3$). Im Falle der Aa. renales sank der Wert ab dem proximalen Segment (Maximum) mit dem Verlauf der Arterie auf ihr Minimum im Segment Distal Post-Bifurkation. Dahingegen zeigte sich um die Aa. carotides ein anderes Verteilungsmuster. Die Anzahl an Nerven pro Quadranten stieg vom Prä-Bulbus-Segment mit dem Gefäßverlauf auf ihr Maximum im Bulbus-Segment an und sank zum Segment Post-Bulbus ab. Der therapeutische Ansatz der endovaskulären Barorezeptor Amplifikation in der proximalen A. carotis interna [93], wäre also in einem Bereich angesiedelt, in dem, zumindest im zugrundeliegenden Patientenkollektiv, eine höhere Anzahl an Nerven pro Quadranten vorhanden sind als es im Bereich proximal des Bulbus der Fall gewesen wäre.

Die Regionen der Aa. renales mit den meisten Nerven waren die Quadranten Superior und Ventral. Die Verteilung lag im Mittel weiter entfernt vom Lumen als die der Quadranten Dorsal und Inferior (Abb. 11). Beim Vergleich der Verteilung der Regionen unterschieden sich diese zum Teil signifikant (s.o.). Die Innervation der Aa. carotides zeigte sich auf die Regionen bezogen weniger divergierend (Abb. 12) und mit keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Regionen. Der größte Anteil an Nerven war in den Regionen Dorsal und Medial lokalisiert.

Um die Aa. renales waren in jedem Segment die meisten Nerven „klein“. Dieser Anteil nahm im Verlauf der Arterien zu. Die Aa. carotides zeigten einen ähnlichen Befund mit einem zunehmenden Anteil an Nerven der Größe „klein“ im Verlauf der Arterien. Diese Ähnlichkeit bei den analysierten Arterien könnte durch die zunehmende Verzweigung der Nerven von proximal nach distal zu erklären sein.

Sowohl im umliegenden Gewebe der Aa. renales, als auch in dem der Aa. carotides konnten bei den meisten Arterien Lymphknoten gefunden werden. Es ist naheliegend, dass auch im Bereich der Aa. carotides diese Form der Strukturen Auswirkungen auf die energetischen Mechanismen und Verteilung der Ablationsenergie haben.

Neuroganglien sind um die Aa. carotides (5/17) seltener aufgetreten als um die Aa. renales (14/18). Bei der anatomischen Lage des neuronalen Plexus und der Agglomeration von Neuroganglien nahe der Aorta und der Aa. renales [32], scheinen Neuroganglien im Bereich der Aa. carotides seltener vorzukommen. Im Bereich der Aa. renales ist die Stimulation/Ablation von Neuroganglien ein möglicher Ansatz, um die Intervention zu optimieren [74]. Damit scheinen Neuroganglien im Bereich der Aa. carotides, durch ihr selteneres Vorkommen, ein weniger sinnvolles Ziel zu sein als im Bereich der Aa. renales.

7 Limitationen

Einige Einschränkungen dieser anatomischen Studie sollten berücksichtigt werden. Obwohl fast 10.500 Nerven analysiert wurden, umfasste diese Studie zehn, überwiegend männliche (70%), ältere und kaukasische Körperspender aus Deutschland. Daher sind die Ergebnisse möglicherweise nicht vollständig auf andere Bevölkerungsgruppen übertragbar.

Die Studiengröße ist zu klein, um Subgruppenanalysen durchzuführen. Da nur zwei akzessorische Arterien gefunden wurden, haben wir keine Vergleiche zwischen den Hauptarterien und akzessorischen Aa. renales durchgeführt.

Normalerweise tritt eine Gewebeschrumpfung bei der Verwendung von Formalinfixation auf [96]. Aufgrund der Altersabhängigkeit der Gewebeschrumpfung und der kurzen Behandlungsdauer mit Formalin, wurden keine derartige Anpassungen der Daten vorgenommen.

Außerdem wurde keine Perfusionsfixierung durchgeführt, was die Vergleichbarkeit der exakten Distanzen, wie z. B. LND, zwischen den Studien einschränkt. Wichtig ist, dass die Beobachtungen zur Nervenverteilung und -funktion im Verlauf der Gefäße in dieser Studie höchstwahrscheinlich nicht beeinträchtigt werden.

Die Daten wurden nicht für multiples Testen adjustiert. Die Ergebnisse sind daher formal als hypothesengenerierend anzusehen.

8 Fazit

Die vorliegende Arbeit erbrachte neue Erkenntnisse zur Funktion und Verteilung von Nervenfasern entlang der Aa. renales, indem gezeigt werden konnte, dass die berechnete relative Nervendichte von proximal nach distal zunahm, und das Verhältnis von afferenten zu efferenten Nervenanteilen distal der Bifurkation am höchsten ist. Insbesondere die Verteilung und Funktion der Nervenfasern in den distalen Gefäßsegmenten und distal der Bifurkation war bislang kaum untersucht.

Diese neuen Erkenntnisse können dazu beitragen, dass interventionelle Verfahren zur Hypertoniebehandlung, wie zum Beispiel die renale Denervation, optimiert werden. Bei gleichbleibender Ablationstiefe könnten in den distalen Gefäßsegmenten relativ mehr Nervenfasern getroffen werden. Dadurch könnte die Prozedur nicht nur effizienter, sondern auch die Variabilität des Ansprechens reduziert werden.

Darüber hinaus wurden erstmalig die Verteilung von Nervenfasern entlang der Aa. carotides und des Bulbus caroticus untersucht. Auch hier wurde neben der Ermittlung von LND und Anzahl an Nerven in verschiedenen Segmenten und Regionen die Verteilung von efferenten und afferenten Anteilen ermittelt. In Verfahren der Neuromodulation, die auf diesen Bereich zielen, könnten die erzeugten Ergebnisse dazu beitragen die anatomischen Verhältnisse besser zu verstehen und diese therapeutischen Ansätze zu optimieren und weiterzuentwickeln. Bei weiteren aktuell laufenden und geplanten randomisierten, schein-kontrollierten Studien zu diesen Verfahren ist hier zukünftig eine Zunahme der klinischen Bedeutung denkbar. Dies kann durch die vorliegenden Daten sinnvoll ergänzt werden.

9 Literaturverzeichnis

1. Al Raisi SI, Pouliopoulos J, Barry MT, Swinnen J, Thiagalingam A, Thomas SP, Sivagangabalan G, Chow C, Chong J, Kizana E, Kovoov P (2014) Evaluation of lesion and thermodynamic characteristics of Symplicity and EnligHTN renal denervation systems in a phantom renal artery model. *EuroIntervention* 10:277–84
2. Azizi M, Sapoval M, Gosse P, Monge M, Bobrie G, Delsart P, Midulla M, Mounier-Véhier C, Courand PY, Lantelme P, Denolle T, Dourmap-Collas C, Trillaud H, Pereira H, Plouin PF, Chatellier G (2015) Optimum and stepped care standardised antihypertensive treatment with or without renal denervation for resistant hypertension (DENERHTN): a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 385:1957–1965
3. Azizi M, Schmieder RE, Mahfoud F, Weber MA, Daemen J, Davies J, Basile J, Kirtane AJ, Wang Y, Lobo MD, Saxena M, Feyz L, Rader F, Lurz P, Sayer J, Sapoval M, Levy T, Sanghvi K, Abraham J, Sharp ASP, Fisher NDL, Bloch MJ, Reeve-Stoffer H, Coleman L, Mullin C, Mauri L, RADIANCE-HTN Investigators (2018) Endovascular ultrasound renal denervation to treat hypertension (RADIANCE-HTN SOLO): a multicentre, international, single-blind, randomised, sham-controlled trial. *Lancet* 391:2335–2345
4. Azizi M, Sanghvi K, Saxena M, Gosse P, Reilly JP, Levy T, Rump LC, Persu A, Basile J, Bloch MJ, Daemen J, Lobo MD, Mahfoud F, Schmieder RE, Sharp ASP, Weber MA, Sapoval M, Fong P, Pathak A, Lantelme P, Hsi D, Bangalore S, Witkowski A, Weil J, Kably B, Barman NC, Reeve-Stoffer H, Coleman L, McClure CK, Kirtane AJ, RADIANCE-HTN investigators (2021) Ultrasound renal denervation for hypertension resistant to a triple medication pill (RADIANCE-HTN TRIO): a randomised, multicentre, single-blind, sham-controlled trial. *Lancet* 397:2476–2486
5. Azizi M, Saxena M, Wang Y, Jenkins JS, Devireddy C, Rader F, Fisher NDL, Schmieder RE, Mahfoud F, Lindsey J, Sanghvi K, Todoran TM, Pacella J, Flack J, Daemen J, Sharp ASP, Lurz P, Bloch MJ, Weber MA, Lobo MD, Basile J, Claude L, Reeve-Stoffer H, McClure CK, Kirtane AJ (2023) Endovascular Ultrasound Renal Denervation to Treat Hypertension: The RADIANCE II Randomized Clinical Trial. *JAMA* 329:651–661
6. Barajas L, Powers K, Wang P (1984) Innervation of the renal cortical tubules: a quantitative study. *Am J Physiol* 247:F50-60
7. Barbato E, Azizi M, Schmieder RE, Lauder L, Böhm M, Brouwers S, Bruno RM, Dudek D, Kahan T, Kandzari DE, Lüscher TF, Parati G, Pathak A, Ribichini FL, Schlaich MP, Sharp ASP, Sudano I, Volpe M, Tsioufis C, Wijns W, Mahfoud F (2023) Renal denervation in the management of hypertension in adults. A clinical consensus statement of the ESC Council on Hypertension and the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *EuroIntervention* 18:1227–1243

8. Bhatt DL, Gabriel Steg P, Magnus Ohman E, Hirsch AT, Ikeda Y, Mas JL, Goto S, Liau CS, Richard AJ, Röther J, Wilson PWF (2006) International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* 295:180–189
9. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, D'Agostino R, Flack JM, Katzen BT, Leon MB, Liu M, Mauri L, Negoita M, Cohen SA, Oparil S, Rocha-Singh K, Townsend RR, Bakris GL (2014) A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med* 370:1393–1401
10. Bisognano JD, Bakris G, Nadim MK, Sanchez L, Kroon AA, Schafer J, De Leeuw PW, Sica DA (2011) Baroreflex activation therapy lowers blood pressure in patients with resistant hypertension: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled reos pivotal trial. *J Am Coll Cardiol* 58:765–773
11. Böhm M, Kario K, Kandzari DE, Mahfoud F, Weber MA, Schmieder RE, Tsioufis K, Pocock S, Konstantinidis D, Choi JW, East C, Lee DP, Ma A, Ewen S, Cohen DL, Wilensky R, Devireddy CM, Lea J, Schmid A, Weil J, Agdirlioglu T, Reedus D, Jefferson BK, Reyes D, D'Souza R, Sharp ASP, Sharif F, Fahy M, DeBruin V, Cohen SA, Brar S, Townsend RR, SPYRAL HTN-OFF MED Pivotal Investigators (2020) Efficacy of catheter-based renal denervation in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED Pivotal): a multicentre, randomised, sham-controlled trial. *Lancet* 395:1444–1451
12. Burnstock G, Loesch A (2017) Sympathetic innervation of the kidney in health and disease: Emphasis on the role of purinergic cotransmission. *Auton Neurosci* 204:4–16
13. Chan YL (1980) The role of norepinephrine in the regulation of fluid absorption in the rat proximal tubule. *J Pharmacol Exp Ther* 215:65–70
14. Chan YL (1980) Adrenergic control of bicarbonate absorption in the proximal convoluted tubule of the rat kidney. *Pflugers Arch* 388:159–164
15. Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, Islam S, Gupta R, Avezum A, Bahonar A, Chifamba J, Dagenais G, Diaz R, Kazmi K, Lanas F, Wei L, Lopez-Jaramillo P, Fanghong L, Ismail NH, Puoane T, Rosengren A, Szuba A, Temizhan A, Wielgosz A, Yusuf R, Yusufali A, McKee M, Liu L, Mony P, Yusuf S, PURE (Prospective Urban Rural Epidemiology) Study investigators (2013) Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA* 310:959–68
16. Cogan MG (1986) Neurogenic regulation of proximal bicarbonate and chloride reabsorption. *Am J Physiol* 250:F22-6
17. Curtis JJ, Diethelm AG, Luke RG, Whelchel JD, Jones P (1985) Benefits of removal of native kidneys in hypertension after renal transplantation. *Lancet* 2:739–742

18. Cuspidi C, Ambrosioni E, Mancia G, Pessina AC, Trimarco B, Zanchetti A (2002) Role of echocardiography and carotid ultrasonography in stratifying risk in patients with essential hypertension: the Assessment of Prognostic Risk Observational Survey. *J Hypertens* 20:1307–1314
19. Cuspidi C, Valerio C, Sala C, Esposito A, Masaidi M, Negri F, Zanchetti A, Mancia G (2008) Prevalence and correlates of multiple organ damage in a never-treated hypertensive population: role of ambulatory blood pressure. *Blood Press Monit* 13:7–13
20. Daugherty SL, Powers JD, Magid DJ, Tavel HM, Masoudi FA, Margolis KL, O'Connor PJ, Selby J v., Ho PM (2012) Incidence and prognosis of resistant hypertension in hypertensive patients. *Circulation* 125:1635–1642
21. Devereux RB, Alderman MH (1993) Role of preclinical cardiovascular disease in the evolution from risk factor exposure to development of morbid events. *Circulation* 88:1444–1455
22. DiBona GF, Sawin LL (1982) Effect of renal nerve stimulation on NaCl and H₂O transport in Henle's loop of the rat. *Am J Physiol* 243:F576-80
23. Dibona GF, Kopp UC (1997) Neural control of renal function. *Physiol Rev* 77:75–197
24. DiBona GF, Esler M (2010) Translational medicine: the antihypertensive effect of renal denervation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298:R245-53
25. Ditting T, Tiegs G, Rodionova K, Reeh PW, Neuhuber W, Freisinger W, Veelken R (2009) Do distinct populations of dorsal root ganglion neurons account for the sensory peptidergic innervation of the kidney? *Am J Physiol Renal Physiol* 297:F1427-34
26. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Böhm M, Mahfoud F, Sievert H, Wunderlich N, Rump LC, Vonend O, Uder M, Lobo M, Caulfield M, Erglis A, Azizi M, Sapoval M, Thambar S, Persu A, Renkin J, Schunkert H, Weil J, Hoppe UC, Walton T, Scheinert D, Binder T, Januszewicz A, Witkowski A, Ruilope LM, Whitbourn R, Bruck H, Downes M, Lüscher TF, Jardine AG, Webster MW, Zeller T, Sadowski J, Bartus K, Straley CA, Barman NC, Lee DP, Witteles RM, Bhalla V, Massaro JM (2010) Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 376:1903–1909
27. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, Anderson SG, Callender T, Emberson J, Chalmers J, Rodgers A, Rahimi K (2016) Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 387:957–967
28. Fengler K, Ewen S, Höllriegel R, Rommel KP, Kulenthiran S, Lauder L, Cremers B, Schuler G, Linke A, Böhm M, Mahfoud F, Lurz P (2017) Blood pressure response to main renal artery and combined main renal artery plus branch renal denervation in patients with resistant hypertension. *J Am Heart Assoc* 6:

29. Fengler K, Rommel KP, Blazek S, Besler C, Hartung P, Von Roeder M, Petzold M, Winkler S, Höllriegel R, Desch S, Thiele H, Lurz P (2019) A Three-Arm Randomized Trial of Different Renal Denervation Devices and Techniques in Patients With Resistant Hypertension (RADIO SOUND-HTN). *Circulation* 139:590–600
30. Fisher NDL, Kirtane AJ, Daemen J, Rader F, Lobo MD, Saxena M, Abraham J, Schmieder RE, Sharp ASP, Gosse P, Claude L, Song Y, Azizi M, RADIANCE-HTN Investigators (2022) Plasma renin and aldosterone concentrations related to endovascular ultrasound renal denervation in the RADIANCE-HTN SOLO trial. *J Hypertens* 40:221–228
31. Forouzanfar MH, Liu P, Roth GA, Ng M, Biryukov S, Marczak L, Alexander L, Estep K, Abate KH, Akinyemiju TF, Ali R, Alvis-Guzman N, Azzopardi P, Banerjee A, Bärnighausen T, Basu A, Bekele T, Bennett DA, Biadgilign S, Catalá-López F, Feigin VL, Fernandes JC, Fischer F, Gebru AA, Gona P, Gupta R, Hankey GJ, Jonas JB, Judd SE, Khang YH, Khosravi A, Kim YJ, Kimokoti RW, Kokubo Y, Kolte D, Lopez A, Lotufo PA, Malekzadeh R, Melaku YA, Mensah GA, Misganaw A, Mokdad AH, Moran AE, Nawaz H, Neal B, Ngalesoni FN, Ohkubo T, Pourmalek F, Rafay A, Rai RK, Rojas-Rueda D, Sampson UK, Santos IS, Sawhney M, Schutte AE, Sepanlou SG, Shifa GT, Shiue I, Tedla BA, Thrift AG, Tonelli M, Truelsen T, Tsilimparis N, Ukwaja KN, Uthman OA, Vasankari T, Venketasubramanian N, Vlassov VV, Vos T, Westerman R, Yan LL, Yano Y, Yonemoto N, El Sayed Zaki M, Murray CJL (2017) Global Burden of Hypertension and Systolic Blood Pressure of at Least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015. *JAMA* 317:165–182
32. García-Touchard A, Marañillo E, Mompeo B, Sañudo JR (2020) Microdissection of the Human Renal Nervous System: Implications for Performing Renal Denervation Procedures. *Hypertension* 76:1240–1246
33. Gassler JP, Bisognano JD (2014) Baroreflex activation therapy in hypertension. *J Hum Hypertens* 28:469–474
34. GBD 2019 Risk Factors Collaborators (2020) Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 396:1223–1249
35. Gosse P, Cremer A, Kirtane AJ, Lobo MD, Saxena M, Daemen J, Wang Y, Stegbauer J, Weber MA, Abraham J, Kario K, Bangalore S, Claude L, Liu Y, Azizi M (2021) Ambulatory Blood Pressure Monitoring to Predict Response to Renal Denervation: A Post Hoc Analysis of the RADIANCE-HTN SOLO Study. *Hypertension* 77:529–536
36. Groenland EH, Spiering W (2020) Baroreflex Amplification and Carotid Body Modulation for the Treatment of Resistant Hypertension. *Curr Hypertens Rep* 22:27

37. Hauss WH, Arndt T, Derlam G, Kemper F (1954) Effect of carotid sinus stimulation on the electroencephalogram. *Z Kreislaufforsch* 43:831–840
38. Heusser K, Tank J, Brinkmann J, Menne J, Kaufeld J, Linnenweber-Held S, Beige J, Wilhelmi M, Diedrich A, Haller H, Jordan J (2016) Acute Response to Unilateral Unipolar Electrical Carotid Sinus Stimulation in Patients With Resistant Arterial Hypertension. *Hypertension* 67:585–591
39. Hoobler SW, Manning JT, Paine WG, McClellan SG, Helcher PO, Renfert H, Peet MM, Kahn EA (1951) The effects of splanchnicectomy on the blood pressure in hypertension; a controlled study. *Circulation* 4:173–183
40. Hoppe UC, Brandt MC, Wachter R, Beige J, Rump LC, Kroon AA, Cates AW, Lovett EG, Haller H (2012) Minimally invasive system for baroreflex activation therapy chronically lowers blood pressure with pacemaker-like safety profile: results from the Barostim neo trial. *J Am Soc Hypertens* 6:270–276
41. Imnadze G, Balzer S, Meyer B, Neumann J, Krech RH, Thale J, Franz N, Warnecke H, Awad K, Hayek SS, Devireddy C (2016) Anatomic Patterns of Renal Arterial Sympathetic Innervation: New Aspects for Renal Denervation. *J Interv Cardiol* 29:594–600
42. Kandzari DE, Bhatt DL, Brar S, Devireddy CM, Esler M, Fahy M, Flack JM, Katzen BT, Lea J, Lee DP, Leon MB, Ma A, Massaro J, Mauri L, Oparil S, O'Neill WW, Patel MR, Rocha-Singh K, Sobotka PA, Svetkey L, Townsend RR, Bakris GL (2015) Predictors of blood pressure response in the SYMPLICITY HTN-3 trial. *Eur Heart J* 36:219–227
43. Kandzari DE, Kario K, Mahfoud F, Cohen SA, Pilcher G, Pocock S, Townsend R, Weber MA, Böhm M (2016) The SPYRAL HTN Global Clinical Trial Program: Rationale and design for studies of renal denervation in the absence (SPYRAL HTN OFF-MED) and presence (SPYRAL HTN ON-MED) of antihypertensive medications. *Am Heart J* 171:82–91
44. Kandzari DE, Böhm M, Mahfoud F, Townsend RR, Weber MA, Pocock S, Tsioufis K, Tousoulis D, Choi JW, East C, Brar S, Cohen SA, Fahy M, Pilcher G, Kario K, SPYRAL HTN-ON MED Trial Investigators (2018) Effect of renal denervation on blood pressure in the presence of antihypertensive drugs: 6-month efficacy and safety results from the SPYRAL HTN-ON MED proof-of-concept randomised trial. *Lancet* 391:2346–2355
45. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J (2005) Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 365:217–223
46. Kopp U, Aurell M, Sjölander M, Ablad B (1981) The role of prostaglandins in the alpha- and beta-adrenoceptor mediated renin release response to graded renal nerve stimulation. *Pflugers Arch* 391:1–8

47. Kopp UC (2015) Role of renal sensory nerves in physiological and pathophysiological conditions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 308:R79–R95
48. Krum H, Schlaich MP, Sobotka PA, Böhm M, Mahfoud F, Rocha-Singh K, Katholi R, Esler MD (2014) Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the Symplicity HTN-1 study. *Lancet* 383:622–629
49. Lauder L, Azizi M, Kirtane AJ, Böhm M, Mahfoud F (2020) Device-based therapies for arterial hypertension. *Nat Rev Cardiol* 17:614–628
50. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies Collaboration (2002) Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 360:1903–13
51. Liu L, Barajas L (1993) The rat renal nerves during development. *Anat Embryol (Berl)* 188:345–361
52. Mahfoud F, Böhm M, Azizi M, Pathak A, Durand Zaleski I, Ewen S, Tsioufis K, Andersson B, Blankestijn PJ, Burnier M, Chatellier G, Gafoor S, Grassi G, Joner M, Kjeldsen SE, Lüscher TF, Lobo MD, Lotan C, Parati G, Redon J, Ruilope L, Sudano I, Ukena C, Van Leeuwen E, Volpe M, Windecker S, Witkowski A, Wijns W, Zeller T, Schmieder RE (2015) Proceedings from the European clinical consensus conference for renal denervation: considerations on future clinical trial design. *Eur Heart J* 36:2219–2227
53. Mahfoud F, Tunev S, Ewen S, Cremers B, Ruwart J, Schulz-Jander D, Linz D, Davies J, Kandzari DE, Whitbourn R, Böhm M, Melder RJ (2015) Impact of Lesion Placement on Efficacy and Safety of Catheter-Based Radiofrequency Renal Denervation. *J Am Coll Cardiol* 66:1766–1775
54. Mahfoud F, Townsend RR, Kandzari DE, Kario K, Schmieder RE, Tsioufis K, Pocock S, David S, Patel K, Rao A, Walton A, Bloom JE, Weber T, Suppan M, Lauder L, Cohen SA, McKenna P, Fahy M, Böhm M, Weber MA (2021) Changes in Plasma Renin Activity After Renal Artery Sympathetic Denervation. *J Am Coll Cardiol* 77:2909–2919
55. Maleszewski J, Lu J, Fox-Talbot K, Halushka MK (2007) Robust immunohistochemical staining of several classes of proteins in tissues subjected to autolysis. *J Histochem Cytochem* 55:597–606
56. Mancia G, Facchetti R, Bombelli M, Friz HP, Grassi G, Giannattasio C, Sega R (2005) Relationship of office, home, and ambulatory blood pressure to blood glucose and lipid variables in the PAMELA population. *Hypertension* 45:1072–1077
57. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HAJ, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean

- V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion J-M, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B, Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension, European Society of Cardiology (2007) 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 25:1105–87
58. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F, Burnier M, Ambrosioni E, Caulfield M, Coca A, Olsen MH, Tsoufis C, Van De Borne P, Zamorano JL, Achenbach S, Baumgartner H, Bax JJ, Bueno H, Dean V, Deaton C, Erol C, Ferrari R, Hasdai D, Hoes AW, Knuuti J, Kolh P, Lancellotti P, Linhart A, Nihoyannopoulos P, Piepoli MF, Ponikowski P, Tamargo JL, Tendera M, Torbicki A, Wijns W, Windecker S, Clement DL, Gillebert TC, Rosei EA, Anker SD, Bauersachs J, Hitij JB, Caulfield M, De Buyzere M, De Geest S, Derumeaux GA, Erdine S, Farsang C, Funck-Brentano C, Gerc V, Germano G, Gielen S, Haller H, Jordan J, Kahan T, Komajda M, Lovic D, Mahrholdt H, Ostergren J, Parati G, Perk J, Polonia J, Popescu BA, Reiner Ž, Rydén L, Sirenko Y, Stanton A, Struijker-Boudier H, Vlachopoulos C, Volpe M, Wood DA (2013) 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 34:2159–2219
 59. Mauri L, Kario K, Basile J, Daemen J, Davies J, Kirtane AJ, Mahfoud F, Schmieder RE, Weber M, Nanto S, Azizi M (2018) A multinational clinical approach to assessing the effectiveness of catheter-based ultrasound renal denervation: The RADIANCE-HTN and REQUIRE clinical study designs. *Am Heart J* 195:115–129
 60. Mompeo B, Maranillo E, Garcia-Touchard A, Larkin T, Sanudo J (2016) The gross anatomy of the renal sympathetic nerves revisited. *Clin Anat* 29:660–664
 61. Nakamura A, Johns EJ (1994) Effect of renal nerves on expression of renin and angiotensinogen genes in rat kidneys. *Am J Physiol* 266:E230-41
 62. Nakayama K (1962) Surgical removal of the carotid body for bronchial asthma. *Aust N Z J Surg* 31:214–221

63. Narkiewicz K, Ratcliffe LEK, Hart EC, Briant LJB, Chrostowska M, Wolf J, Szyndler A, Hering D, Abdala AP, Manghat N, Burchell AE, Durant C, Lobo MD, Sobotka PA, Patel NK, Leiter JC, Engelman ZJ, Nightingale AK, Paton JFR (2016) Unilateral Carotid Body Resection in Resistant Hypertension: A Safety and Feasibility Trial. *JACC Basic Transl Sci* 1:313–324
64. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) (2021) Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet* 398:957–980
65. Niewinski P, Janczak D, Rucinski A, Tubek S, Engelman ZJ, Piesiak P, Jazwiec P, Banasiak W, Fudim M, Sobotka PA, Javaheri S, Hart ECJ, Paton JFR, Ponikowski P (2017) Carotid body resection for sympathetic modulation in systolic heart failure: results from first-in-man study. *Eur J Heart Fail* 19:391–400
66. Noubiap JJ, Nansseu JR, Nyaga UF, Sime PS, Francis I, Bigna JJ (2019) Global prevalence of resistant hypertension: a meta-analysis of data from 3.2 million patients. *Heart* 105:98–105
67. Osborn JL, DiBona GF, Thames MD (1981) Beta-1 receptor mediation of renin secretion elicited by low-frequency renal nerve stimulation. *J Pharmacol Exp Ther* 216:265–9
68. Osborn JL, Roman RJ, Ewens JD (1988) Renal nerves and the development of Dahl salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 11:523–528
69. Osborn JW, Tyshynsky R, Vulchanova L (2021) Function of Renal Nerves in Kidney Physiology and Pathophysiology. *Annu Rev Physiol* 83:429–450
70. Paton JFR, Sobotka PA, Fudim M, Engleman ZJ, Hart ECJ, McBryde FD, Abdala AP, Marina N, Gourine A v., Lobo M, Patel N, Burchell A, Ratcliffe L, Nightingale A (2013) The carotid body as a therapeutic target for the treatment of sympathetically mediated diseases. *Hypertension* 61:5–13
71. Peter DA, Alemu Y, Xenos M, Weisberg O, Avneri I, Eshkol M, Oren T, Elazar M, Assaf Y, Bluestein D (2012) Fluid structure interaction with contact surface methodology for evaluation of endovascular carotid implants for drug-resistant hypertension treatment. *J Biomech Eng* 134:041001
72. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney M-T, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FDR, Løchen M-L, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WMM, Binno S, ESC Scientific Document Group (2016) 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted

- by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 37:2315–2381
73. Pontremoli R, Ravera M, Bezante GP, Viazzi F, Nicolella C, Berruti V, Leoncini G, del Sette M, Brunelli C, Tomolillo C, Deferrari G (1999) Left ventricular geometry and function in patients with essential hypertension and microalbuminuria. *J Hypertens* 17:993–1000
 74. Qian PC, Barry MA, Lu J, Pouliopoulos J, Mina A, Bhandokar S, Alvarez S, James V, Ronquillo J, Varikatt W, Thiagalingam A, Thomas SP (2019) Transvascular Pacing of Aorticorenal Ganglia Provides a Testable Procedural Endpoint for Renal Artery Denervation. *JACC Cardiovasc Interv* 12:1109–1120
 75. Roman MJ, Pickering TG, Schwartz JE, Pini R, Devereux RB (1995) Association of carotid atherosclerosis and left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 25:83–90
 76. Ross CA, Ruggiero DA, Joh TH, Park DH, Reis DJ (1983) Adrenaline synthesizing neurons in the rostral ventrolateral medulla: a possible role in tonic vasomotor control. *Brain Res* 273:356–361
 77. Sakakura K, Ladich E, Cheng Q, Otsuka F, Yahagi K, Fowler DR, Kolodgie FD, Virmani R, Joner M (2014) Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man. *J Am Coll Cardiol* 64:635–643
 78. Sato Y, Kawakami R, Jinnouchi H, Sakamoto A, Cornelissen A, Mori M, Kawai K, Guo L, Coleman L, Nash S, Claude L, Barman NC, Romero M, Kolodgie FD, Virmani R, Finn A V. (2021) Comprehensive Assessment of Human Accessory Renal Artery Periarterial Renal Sympathetic Nerve Distribution. *JACC Cardiovasc Interv* 14:304–315
 79. Sato Y, Sharp ASP, Mahfoud F, Tunev S, Forster A, Ellis M, Gomez A, Dhingra R, Ullman J, Schlaich M, Lee D, Trudel J, Hettrick DA, Kandzari DE, Virmani R, Finn A V (2022) Translational value of preclinical models for renal denervation: a histological comparison of human versus porcine renal nerve anatomy. *EuroIntervention* 18:e1120–e1128
 80. Scheffers IJM, Kroon AA, Schmidli J, Jordan J, Tordoir JJM, Mohaupt MG, Luft FC, Haller H, Menne J, Engeli S, Ceral J, Eckert S, Erglis A, Narkiewicz K, Philipp T, De Leeuw PW (2010) Novel baroreflex activation therapy in resistant hypertension: results of a European multi-center feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 56:1254–1258
 81. Schlaich M, Schultz C, Shetty S, Hering D, Worthley S, Delacroix S, Reddy V, Sievert H, Zeller T, Noory E, Böhm M, Mahfoud F, Malek F, Kmonicek P, Neuzil P (2018) Transvenous carotid body ablation for resistant hypertension: main results of a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Eur Heart J* 39:267–267

82. Sim JJ, Bhandari SK, Shi J, Reynolds K, Calhoun DA, Kalantar-Zadeh K, Jacobsen SJ (2015) Comparative risk of renal, cardiovascular, and mortality outcomes in controlled, uncontrolled resistant, and nonresistant hypertension. *Kidney Int* 88:622–632
83. Smith SM, Gong Y, Handberg E, Messerli FH, Bakris GL, Ahmed A, Bavry AA, Pepine CJ, Cooper-Dehoff RM (2014) Predictors and outcomes of resistant hypertension among patients with coronary artery disease and hypertension. *J Hypertens* 32:635–643
84. Smithwick RH, Thompson JE (1953) Splanchnicectomy for essential hypertension; results in 1,266 cases. *J Am Med Assoc* 152:1501–1504
85. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhäger WH (2003) Essential hypertension. *Lancet* 361:1629–1641
86. Tellez A, Rousselle S, Palmieri T, Rate WR, Wicks J, Degrange A, Hyon CM, Gongora CA, Hart R, Grundy W, Kaluza GL, Granada JF (2013) Renal artery nerve distribution and density in the porcine model: biologic implications for the development of radiofrequency ablation therapies. *Transl Res* 162:381–9
87. Thomopoulos C, Parati G, Zanchetti A (2014) Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension. 1. Overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials. *J Hypertens* 32:2285–2295
88. Tordoir JHM, Scheffers I, Schmidli J, Savolainen H, Liebeskind U, Hansky B, Herold U, Irwin E, Kroon AA, de Leeuw P, Peters TK, Kieval R, Cody R (2007) An implantable carotid sinus baroreflex activating system: surgical technique and short-term outcome from a multi-center feasibility trial for the treatment of resistant hypertension. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 33:414–421
89. Townsend RR (2014) Pathogenesis of drug-resistant hypertension. *Semin Nephrol* 34:506–513
90. Townsend RR, Mahfoud F, Kandzari DE, Kario K, Pocock S, Weber MA, Ewen S, Tsioufis K, Tousoulis D, Sharp ASP, Watkinson AF, Schmieder RE, Schmid A, Choi JW, East C, Walton A, Hopper I, Cohen DL, Wilensky R, Lee DP, Ma A, Devireddy CM, Lea JP, Lurz PC, Fengler K, Davies J, Chapman N, Cohen SA, DeBruin V, Fahy M, Jones DE, Rothman M, Böhm M, SPYRAL HTN-OFF MED trial investigators* (2017) Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial. *Lancet* 390:2160–2170
91. Tsioufis C, Kasiakogias A, Kordalis A, Dimitriadis K, Thomopoulos C, Tsiachris D, Vasileiou P, Doumas M, Makris T, Papademetriou V, Kallikazaros I, Bakris G, Stefanadis C (2014) Dynamic resistant hypertension patterns as predictors of cardiovascular morbidity: a 4-year prospective study. *J Hypertens* 32:415–422

92. Tzafiri AR, Keating JH, Markham PM, Spognardi A-M, Stanley JRL, Wong G, Zani BG, Highsmith D, O'Fallon P, Fuimaono K, Mahfoud F, Edelman ER (2015) Arterial microanatomy determines the success of energy-based renal denervation in controlling hypertension. *Sci Transl Med* 7:285ra65
93. van Kleef MEAM, Bates MC, Spiering W (2018) Endovascular Baroreflex Amplification for Resistant Hypertension. *Curr Hypertens Rep* 20:46
94. van Kleef MEAM, Devireddy CM, van der Heyden J, Bates MC, Bakris GL, Stone GW, Williams B, Spiering W (2022) Treatment of Resistant Hypertension With Endovascular Baroreflex Amplification: 3-Year Results From the CALM-FIM Study. *JACC Cardiovasc Interv* 15:321–332
95. Vink EE, Goldschmeding R, Vink A, Weggemans C, Bleijs RLAW, Blankestijn PJ (2014) Limited destruction of renal nerves after catheter-based renal denervation: results of a human case study. *Nephrol Dial Transplant* 29:1608–10
96. Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, Robinowitz M, Herderick EE, Cornhill JF, Guo SY, Liu TH, Ou DY, O'Rourke M (1991) Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol* 139:1119–29
97. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominiczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I, ESC Scientific Document Group (2018) 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J* 39:3021–3104
98. Ye S, Zhong H, Yanamadala V, Campese VM (2002) Renal injury caused by intrarenal injection of phenol increases afferent and efferent renal sympathetic nerve activity. *Am J Hypertens* 15:717–724

10 Publikationen

Helge Struthoff, Lucas Lauder, Mathias Hohl, Alexander Hermens, Abraham Rami Tzafri, Elazer R Edelman, Michael Kunz, Michael Böhm, Thomas Tschernig, Felix Mahfoud. Histological examination of renal nerve distribution, density, and function in humans, EuroIntervention (Impact Factor 6,2 (2022)); 2023 Jul 28; EIJ-D-23-00264. doi: 10.4244/EIJ-D-23-00264. Online ahead of print.)

Poster

H. Struthoff, L. Lauder, M. Hohl, C. Ukena, M. Böhm, T. Tschernig, F. Mahfoud.

89. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Poster: „Histological characterization of renal innervation in humans“ (Nominiert für den DGK-Posterpreis)

11 Danksagung

Mein Dank gilt all denen, die bei dieser Arbeit mitgewirkt haben und mich in unterschiedlichsten Hinsichten unterstützt haben.

Zunächst möchte ich dem Direktor der Klinik Herrn Professor Dr. med. Michael Böhm, und meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Felix Mahfoud danken. Sie haben mir das Thema der Dissertation überlassen, das zugrunde liegende Projekt initiiert und mir die Möglichkeit einschließlich der umfangreichen erforderlichen Mittel gegeben, diese Arbeit durchzuführen. Außerdem möchte ich Herrn Professor Dr. med. Felix Mahfoud für den wertvollen stetigen Austausch und die beratende sehr hilfreiche Unterstützung danken.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. med. Thomas Tschernig, der uns den Zugang zu anatomischen Körperspendern und Räumlichkeiten der Prosektur ermöglichte und mich unter anderem mit seiner anatomischen Beratung unterstützte.

Aufrichtig möchte ich denjenigen danken, die ihren Körper der Wissenschaft für die anatomische Forschung zur Verfügung gestellt haben. Die Ergebnisse dieser Forschung können das bestehende Wissen erweitern und so die Patientenversorgung verbessern. Diesen Spendern und ihren Familien gebührt daher meine größte Dankbarkeit.

Besonderen Dank möchte ich meinem Betreuer Dr. med. Lucas Lauder zukommen lassen. Lucas hat mich erstklassig betreut und bei fachlichen und organisatorischen Fragen und der Gestaltung dieser Arbeit stets hochkompetent unterstützt.

Ebenso möchte ich Dr. rer. nat. Mathias Hohl danken, der mir in labortechnischen Fragen und solchen zur Gestaltung dieser Arbeit zur Seite stand. Bei den Mitarbeiterinnen des kardiologischen Labors, vor allem bei Julia Weber und Jeanette Zimolong, möchte ich mich für die großartige Unterstützung und unermüdliche Verarbeitung und Färbung der Vielzahl von histologischen Schnitten bedanken. Durch ihren Einsatz waren diese Untersuchungen erst möglich. Armin Schweitzer möchte ich für die Hilfe bei der Umsetzung der graphischen Darstellungen danken.

Für die kollegiale Zusammenarbeit bei den Präparationen und der Analyse der entnommenen Gefäße möchte ich mich sehr herzlich bei Jakob Steinhäuser und Alexander Hermens bedanken.

Zuletzt bedanke ich mich bei all den Menschen in meinem persönlichen Umfeld. Hier möchte ich insbesondere meine Mutter Dr. phil. Brunhilde Janßen-Struthoff, meine Freundin Vera Toubartz und meine engen Freunde aus dem Studium und der Heimat nennen, die mich während der gesamten Zeit gestärkt und begleitet haben.

12 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

