

INVESTIGATION OF DIFFERENT MYOCARDIAL INFARCTION MODELS WITH DIFFERENT IMAGING MODALITIES

PhD thesis

Edit Éva Lukács M.D.

**Heart Institute
Faculty of Medicine
University of Pécs**

Leader of Doctoral School:

Prof. Sámuel Komoly M.D., Ph.D., DSc.

Leader of program:

Prof. Erzsébet Róth M.D., Ph.D., DSc.

Prof. Ákos Koller M.D., Ph.D., DSc.

Leader of project:

Iván Horváth M.D., Ph.D., FESC.

Pécs, 2013

1. INTRODUCTION

Myocardial infarction (MI) with the loss of myocardium and the consequent remodeling and heart failure is still the leading cause of mortality in the industrialized countries. The degree of infarct expansion and the intensity of remodeling depend on the time of revascularization. This phenomenon was first described by Reimer et al. in 1977 in canine models where coronary occlusion was applied for different time frames, and resulted in a proportional relation between the time to reperfusion and the size and transmural extent of the infarct. On the other hand reestablishment of blood flow is beneficial outside that time frame, which could result in myocardial salvage. This was designated as the time-independent effects of an opened infarct related artery by Kim and Braunwald. Percutaneous coronary interventions allow achieving reperfusion in acute coronary syndromes; however there are still a portion of patients who could not receive any reperfusion therapy within the desired time range. It is still of high prognostic importance to evaluate the size of the infarct related area and to determine myocardial viability among these patients in order to estimate the benefit of planned revascularization procedures.

From the numerous animal models of regional myocardial ischemia, the in vivo models are preferred in large animals. These models, e.g. porcine, dog, sheep or baboons enable the utilization of catheter-based techniques in contrast to small animals, and, especially the porcine heart highly resembles the features of humans. Large animal models are the most relevant concerning physiology and the daily clinical routine, they allow performing follow-up studies, in intact animals, and they enable the use of percutaneous coronary intervention techniques, echocardiography and magnetic resonance imaging. The catheter-based minimal invasive interventional cardiology techniques allowed the wide application of the closed chest methods for the in vivo evaluation of MI and are preferable regarding the better survival rates, time and cost consumption over open chest methods. Since the difference in the prevalence of left ventricular remodeling, heart failure and mortality, myocardial infarcts with or without reperfusion represents different pathophysiological and clinical entities. According to this fact the preclinical studies also should aim to point out this difference in animal models for the evaluation for both diagnostic methods and therapeutic approaches.

2. Aims

Although several diagnostic approaches are available to aid more effective and oriented therapy, the pathophysiological background, e.g. the presence or absence of reperfusion significantly influences this pursuit. The reperfused and nonreperfused MI have different outcomes and could require the involvement of new biological therapeutic approaches, therefore feasible methods are required to provide information about myocardial viability for every clinical settings. Our main aim was to apply different reperfused and nonreperfused porcine models of MI and to evaluate them via electromechanical mapping (EMM), as an invasive diagnostic method for the detection of myocardial viability, regarding the different pathomechanism and location with the additional utilization of cMRI as a gold standard non-invasive method. Although the value of EMM has been already evaluated by

several animal and clinical studies, they lack the systematic investigation of EMM in reperfused and nonreperfused MI models, using the same protocol. Partially, we investigated (1) the applicability of the different reperfused and nonreperfused MI models, (2) the relationship between the parameters of global left ventricular function and the UV, BV and LLS values, (3) the differences in the grouped UV, BV values according to the cMRI viability and transmural results using the same regional segmentation. Finally, since EMM has limited diagnostic accuracy in the posterobasal region, we also induced MI in the territory of the Cx artery using coil embolization, in order to perform ROC analysis according to the different anatomical localizations (LAD or Cx).

3. Investigation of porcine MI models, implication of different occlusion methods

3.1 Reperfused and nonreperfused MI - Experimental settings

The different methods for the induction of myocardial necrosis result from different patomechanical processes in preclinical models. The transient occlusion methods most frequently serve a platform to evaluate the effects of pharmacological agents in the prevention of infarct expansion and reperfusion injury. The time frame of 90 minutes balloon occlusion allows still a small portion of the myocardium to be salvaged; this method is used most frequently in closed-chest large animal models, and was earlier induced by ligation techniques in open-chest models. The catheter-based minimal invasive interventional cardiology techniques allowed the wide application of the closed chest methods for the in vivo evaluation of MI and are preferable regarding the better survival rates, time and cost consumption.

3.2 Aims

The parallel evaluations of the different closed chest MI models are lacking. Therefore in the first part we investigated the differences in mortality and complication rates in the balloon occlusion and coil deployment methods.

3.4 Methods

MI was induced using either balloon occlusion (n=7) of the left anterior descending artery (LAD) for 90 minutes followed by reperfusion, or percutaneous embolization coil deployment (n=9) in the LAD (n=6) or the circumflex artery (Cx, n=3). The cMRI and EMM procedure were performed at the sixth day after the infarction induction procedure. Anaesthesia was induced using intramuscular ketamine 15 mg/kg (10% Ketavet 100, Intervet International GmbH.) and xylazine 0.1 mg/kg (2% Primazin, Alfasan International B.V.) in sixteen domestic pigs weighing approximately 26 to 38 kg. After the induction of anaesthesia the animals were intubated and ventilated, using Isoflurane 2% and Oxygen 2-3L/min. Each animal received 150 mg amiodarone (Cordarone) before the procedure in order to avoid malignant ventricular arrhythmias. Five French sheath and Amplatz 1 or 2 guiding catheters were used to perform coronary angiography of the left coronary system after the preparation

of the right femoral artery. Unfractionated heparine (90 IU/kg) were administered intraarterially before the angiography. In the balloon occlusion group (Cross sail, Guidant, Santa Clara, CA) anterior infarction was produced by transient (90 min) occlusion in the LAD after the origin of the first diagonal branch, followed by reperfusion. Complete coronary occlusion was confirmed by angiography (TIMI flow score=0), beside the ST segment changes observed on the ECG. In the nonreperfused MI group the coil (VortX, Boston Scientific, Natick, MA, USA) was deployed either in the LAD or in the proximal part of the Cx artery according to the coronary angiogram. The occlusion was confirmed by angiography (TIMI flow score=0). All animal experiments were carried out according to the regulations of the local institutional ethical committee and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

3.5 Results

Three animals from the LAD coil group (mortality rate: 50%) and 2 animals from the LAD balloon group (mortality rate: 28.57%) died during the procedure, at the time of occlusion or right after balloon deflation due to fatal ventricular fibrillation. All animal survived in the Cx coil group, although one animal showed signs of pulmonary oedema on the fifth day post MI. The overall mortality rate was 31.25%. Despite all animals received amiodarone as a premedication, the occurrence of ventricular arrhythmias were frequent, and were treated by 150J DC shock and additional intravenous magnesium. The rates of non-fatal ventricular arrhythmias were the following: 28.57% in the LAD balloon group, 33.33% in the LAD coil group. Arrhythmia was not observed in the Cx coil group. During the coil deployment procedure we observed extravasation on coronary angiography, which ceased after additional coil deployment in one animal in the Cx coil group.

3.6 Discussion

The balloon occlusion model represents the features of reperfused MI and furthermore demonstrates the changes which are consistent with the clinical data in the cases of primary percutaneous coronary intervention in acute coronary syndromes. Embolization materials, e.g. coils are used to induce permanent occlusion of the coronary artery and these methods resemble the features of nonreperfused MI. The sign of no-reflow phenomenon on the cMRI images represents the phenomenon of microvascular obstruction, which predicts increased left ventricular remodeling and correlates with a higher rate of cardiovascular events in the first two years after MI. It is detectable in the cases of reperfused myocardial infarcts and was present in our experiments also, in the LAD balloon group. As mentioned before no reperfusion occurs in the permanent occlusion models, and the wavefront phenomenon of myocardial necrosis is complete, serving as a good approach for the clinical situation where we are not able to achieve revascularization, e.g. in no-option patients. The coil deployment method, allows precise positioning of the occlusion in the coronary artery, to produce similar area at risk, and produces no artefacts on cMRI images. This model closely resembles to the human course of atherosclerotic disease superimposed by thrombus formation. Both models provide appropriate platform for the evaluation of novel regenerative therapeutic approaches

such as growth factor and cell therapies. Recent metaanalysis of van der Spoel et al. demonstrated that permanent occlusion models are associated with more improvement, than the transient occlusion models after cell therapy, which could result from the larger infarct expansion, occurring without reperfusion and myocardial salvage in contrast to the temporary occlusion models. This result also emphasizes the involvement of both models in preclinical studies. The mortality rates in our MI groups did not differ significantly in cases of LAD occlusion using either balloon or coil deployment, producing similar area at risk. Death most frequently resulted from ventricular fibrillations, resistant against repeated DC shocks and antiarrhythmic therapy. It is well known from the literature, that the reversibility or irreversibility of myocardial injury and the size of myocardial infarction depend on the time course and localization of occlusion. Usually the large diagonals are playing important landmark role on the LAD during the positioning of the occlusion. On the other hand Huang et al. raised a practical new approach in open chest models, since they used the whole length of LAD as a landmark, rather than its diagonal branches to produce similar area at risk. In our experience both the 90 minutes balloon occlusion and the coil deployment in the LAD produced similar myocardial infarct size, using diagonal branches for landmarks in both model. The reproducibility of infarct size plays an important role, since in preclinical studies of stem cell therapy usually results in a left ventricular ejection fraction improvement of less than 10%.

4. Determination of global and regional left ventricular function in porcine MI models: invasive and non-invasive modalities

4.1 Introduction

Early successful reperfusion therapy results in myocardial salvage within the area at risk, therefore decreases infarct size, ventricular wall stress, dilatation and the prevalence of left ventricular remodeling and congestive heart failure. Cardiac MRI played important role in the evaluation of the cardiac performance from the mid-1980s, due to its high spatial and temporal resolution, which allows the exact quantification of regional wall thickness and systolic wall-thickening. Recent evaluation of the effects of stem cell therapy in large animal models indicated, that stem cell therapy improves left ventricular ejection fraction by 7,5%. This fact highlights the importance of the exact evaluation of left ventricular function, before biological therapies and during the follow-up period.

In vivo mapping and navigation combined with an electrophysiological catheter to perform left ventricular electromechanical mapping (EMM) was first introduced in 1996. Since then EMM was widely investigated regarding the diagnostic accuracy of this method in both preclinical and clinical settings of ischemic cardiomyopathy and in experimental non-ischemic cardiomyopathy. EMM utilizes ultralow magnetic field energy to determine the exact place of the catheter within the left ventricle, allowing to achieve a real-time three dimensional map of the left ventricle. These maps can provide data about global left ventricular function (end-systolic, end-diastolic, stroke volumes, ejection fraction). The special sensor-tipped diagnostic catheter provides information of the local electrical activity,

and the amplitude of this electric signal was shown to correlate well with the extent of myocardial ischemia. The systematic acquisition of unipolar (UV), bipolar voltage (BV) and linear local shortening (LLS) data results in a three-dimensional map on the endocardial surface, which represents the left ventricle. Both the UV and BV value represent in vivo endocardial electrical signals, which could indicate myocardial viability. According to the definition of Kornowski et al., the LLS value “quantifies regional wall motion by calculating the fraction of linear distances of each endocardial point from its neighbouring points at end-systole, relative to end-diastolic distances”. Both the global and the regional data provided by EMM were investigated in order to validate against other methods, including echocardiography, ventriculography, scintigraphy, positron emission tomography and cMRI. Decreased voltage and LLS values indicate myocardial necrosis. The parallel evaluation of voltage values and LLS could allow the detection of hibernated myocardium, which is indicated by preserved electrical and decreased LLS values. Despite the above mentioned results regarding left ventricular function via EMM, especially the voltage and LLS values were not evaluated parallel by the regional cMRI data in reperfused and nonreperfused MI models.

4.2 Aims

In the second part, we determined the variables of global and regional left ventricular function via EMM and cMRI. The latter could serve as a gold standard both in measuring the variables of global and regional left ventricular function, while these characteristics of EMM were not evaluated in detail in different large animal MI models.

4.3 Methods

4.3.1 Electromechanical mapping procedure

After the previously delineated anaesthetical procedures and the induction of reperfused and nonreperfused MI, EMM (NOGA, Biosense Webster, Cordis, Johnson and Johnson, Diamond Bar, CA) was performed on the sixth day, using 8F NOGA diagnostic catheter via left transfemoral approach. The diagnostic catheter was introduced retrogradely through the aortic valve into the left ventricle. The first points were acquired from the apex and the basis of the left ventricle using fluoroscopy, followed by systematic point acquisition process in the whole left ventricle. This approach allows the accurate detection of the apex to ensure the correct characterization of the maps using detailed segmentation of the left ventricle. Three dimensional colour-coded maps were derived in each animal, containing the values of UV, BV and LLS after the completion of the mapping procedure. The inner points and points located in the left atrium or recorded during ST elevation or without the standard eligibility criteria were deleted from the maps. The maps of UV, BV and LLS values were analysed using the 12 segment bull’s eye images, which were further divided into additional segments in order to be able to perform a more detailed comparison to the cMRI data. The long axis of the left ventricle was divided into apex, midventricle and base consisting 20%, 40% and 40% of the long axis respectively. These parts were divided into four regions:

anterior, septal, inferoposterior and lateral, each divided furthermore into two equal regions in the anterior, lateral and inferoposterior walls and into three equal regions of the septal wall (Figure 1.).

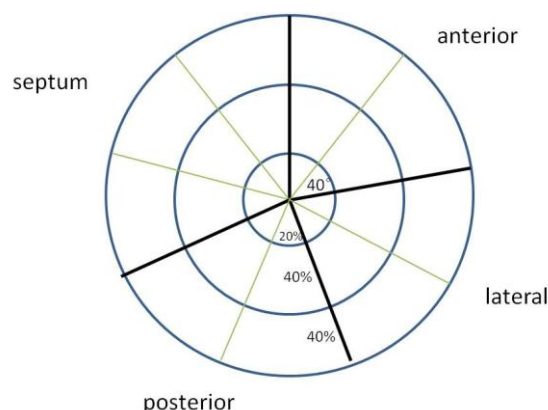


Figure 1. Bull's eye segmentation of the left ventricle for EMM and cMRI analysis, the apical, mid and basal part contains 9-9 segments.

4.3.2 Cardiac MRI acquisition and analysis

Cardiac MRI (Siemens, 1.5 T) was performed in anaesthetized animals in the supine position with electrocardiographic gating and breath-hold acquisitions, using flexible cardiac phased array coil. For the late enhancement contrast images Gd(DTPA-BMA) (Omniscan) was administered 0.15 mmol/kg intravenously. Short and long axis movie and delayed enhancement images were acquired following the basic scout imaging procedure 10 minutes after contrast injection. The acquisition parameters were the following: slice thickness 8 mm, field of view 300x206 mm, image resolution 256x192 pixels, flip angle 65 degrees, echo time 1.1 ms, repetition time 38.75 ms. Analysis regarding viability was captured on the short axis late enhancement images 10 minutes after intravenous contrast administration (imaging parameters: slice thickness 8 mm, field of view 300x206 mm, image resolution: 192x132 mm, flip angle 50 degrees, echo time 1.14 ms, repetition time 465 ms). The inversion time was selected at each acquisition on the basis of the maximal zeroing of remote left ventricular myocardium. Cardiac MRI data were analysed using MASS software (Medis, NL), version 6.1.6. The epicardial and endocardial borders were defined in the end-systolic and end-diastolic phases of the short axis movie to capture data about the global left ventricular function (ejection fraction, stroke volume, end-diastolic volume, end-systolic volume). Detailed information was yielded about segmental end-systolic (ESWT) and diastolic wall thickness (EDWT) and regional wall motion characteristics via the value of wall thickening (WT, subtracting EDWT from ESWT, expressed as percentage of EDWT), using a 9 segment per slice model in order to be able to compare with the EMM data. The value of mean signal intensity (SI, au) and infarct transmuralty (T%, as percentage of the whole wall thickness) was investigated using the same segmentation protocol on the acquired short axis late enhancement images. Full-width-half-maximum method was used to detect infarct size.

4.3.3. Statistical analysis

All results are presented as a mean $\pm$ standard error of mean (S.E.M.). Bland-Altman plots were reconstructed using MedCalc statistical software (version 12.3). The data regarding segmental derived wall motion parameters (EDWT, ESWT, WM and WT) and UV, BV, LLS were evaluated by Pearson correlation in a segment per segment fashion. For the statistical analysis SPSS software package, version 16.0 was used.

4.4 Results

4.4.1 EMM acquisition data

The average number of acquired EMM points was 138 ± 30 per animal, during the on- and offline post processing analysis 38 ± 19 and 24 ± 7 points were deleted. The final number of eligible points was: 80 ± 12 . Segments containing less than two points were excluded from the evaluation; accordingly 166 segments (68.1%) were available for the statistical analysis.

4.4.2 Global left ventricular function and viability vs. EEM data

The average values of UV, BV, LLS, EMM and cMRI derived EF, EDV, ESV and SV are demonstrated in Table 1. The correlation between the EMM derived SV and the UV and BV values were significant ($r=0.605$, $p=0.049$, and $r=0.671$, $p=0.024$ respectively). The correlation was significant between the UV values and the EMM and cMRI derived EF ($r=0.603$, $p=0.05$; $r=0.641$, $p=0.034$ respectively). The correlation between the LLS values and the EMM derived EF also yielded significance ($r=0.604$, $p=0.049$). Furthermore the correlation between the average UV value and the left ventricular end-diastolic mass (LVmassED) was significant ($r=0.755$, $p=0.007$).

EMM data	UV (mV)	BV (mV)	LLS (%)	EF (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	SV (ml)
LAD balloon	6.48 ± 0.32	1.96 ± 0.37	8.06 ± 1.61	35.95 ± 4.24	71.89 ± 1.77	45.96 ± 2.57	26.07 ± 3.45
LAD coil	7.51 ± 0.48	2.98 ± 0.42	9.18 ± 3.61	39.54 ± 8.18	77.55 ± 4.25	46.42 ± 4.26	30.96 ± 7.34
Cx coil	6.97 ± 0.96	2.26 ± 0.33	5.44 ± 0.92	24 ± 6.17	88.27 ± 8.31	66.72 ± 1.76	22.34 ± 7.32

cMRI data	EF (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	SV (ml)	Infarcted tissue (g)	Infarcted tissue (%)
LAD balloon	31.16 ± 3.99	69.25 ± 9.27	47.07 ± 5.23	22.18 ± 5.62	13.09 ± 1.52	19.2 ± 1.43
LAD coil	46.43 ± 4.52	82.39 ± 3.37	44.41 ± 5.6	37.98 ± 2.45	13.07 ± 0.63	17.33 ± 0.67
Cx coil	28.7 ± 3.55	61.82 ± 7.81	43.58 ± 3.75	18.24 ± 4.44	8.17 ± 0.79	12.33 ± 0.67

Table 1. The average values $\pm$ S.E.M. of main variables in the EMM and cMRI data

There were no significant differences in the three groups regarding the absolute extent of myocardial infarcts. On the other hand the percentage of the infarcted area differed significantly in the LAD balloon ($19.2 \pm 1.43\%$) and in the Cx coil group ($12.33 \pm 0.67\%$) by one-way ANOVA and Tukey HSD post hoc test (LAD balloon vs. Cx coil, $p=0.011$). The method of Bland-Altman analysis was used to display the average difference and limits of agreement between the cMRI values, as a reference and the EMM values (Figure 2.).

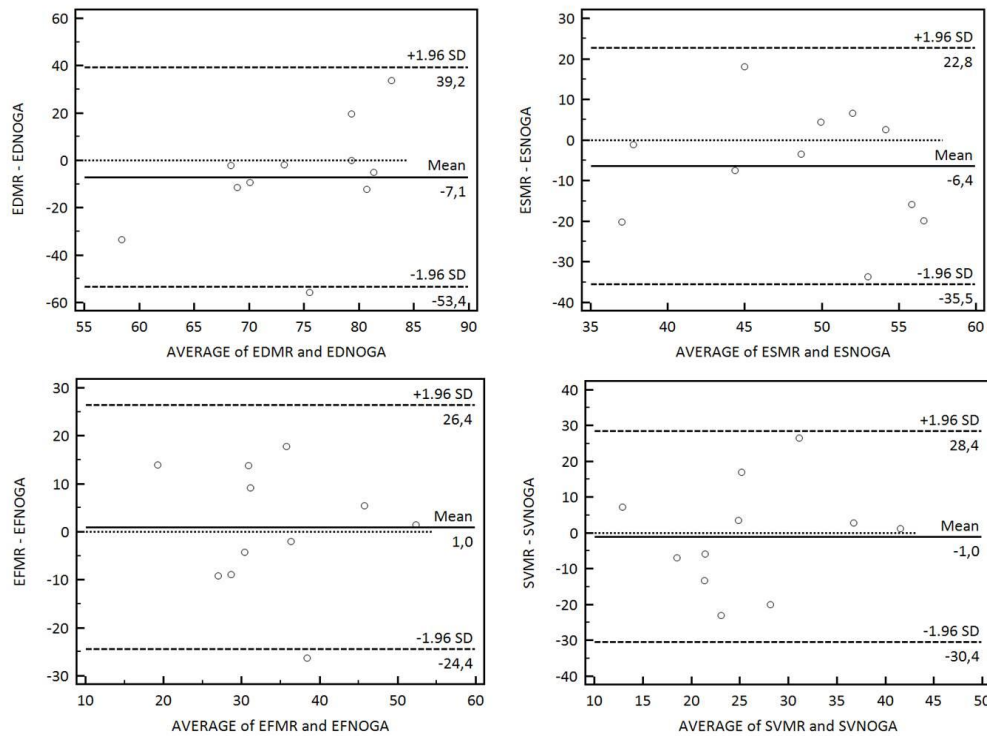


Figure 2. Bland-Altman plots of left ventricular EDV, ESV, EF, and SV derived from EMM and cMRI measurements from the LAD balloon, LAD coil and Cx coil groups.

4.4.3 Segmental wall motion and viability analysis

The relationship between the segmental average UV, BV and LLS values and EDWT, ESWT, WT and SI, T% was furthermore investigated. Data are demonstrated through the results of one animal in each group. The following correlations were significant between the EMM derived (UV, BV, LLS) and cMRI derived (EDWT, ESWT, WT, SI and T%) values.

I. LAD balloon group: the correlation was significant between the segmental average UV value and the segmental average SI and T% value ($r=-0.571$, $p=0.021$ and $r=-0.631$, $p=0.009$, respectively). The segmental average BV value also showed good correlation with both viability parameters ($r=-0.503$, $p=0.047$ and $r=-0.586$, $p=0.017$), Figure 3.

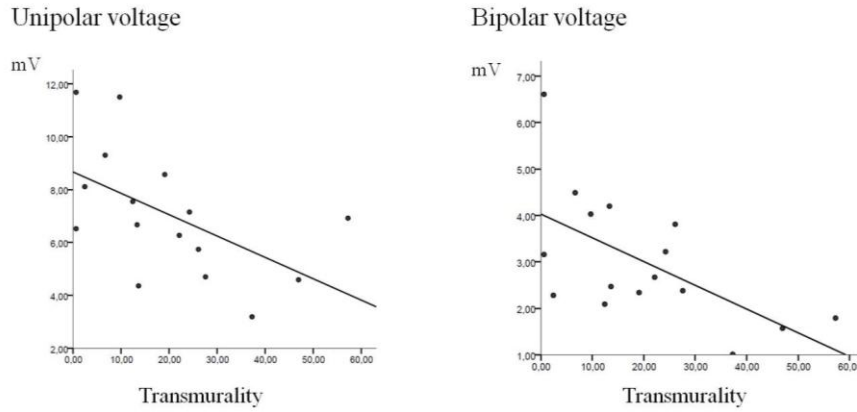


Figure 3. Correlation between segmental average UV, BV and T% in the LAD balloon group

II. LAD coil group: only the BV value exhibited statistically significant correlation with the segmental average SI value ($r=-0.432$, $p=0.05$).

III. Cx coil group: the average UV value also showed good correlation with the SI and T% values ($r=-0.818$, $p < 0.001$, $r=-0.778$, $p < 0.001$) and furthermore the relationship between the UV value and the EDWT and ESWT values was significant ($r=0.782$, $p < 0.001$, $r=0.694$, $p=0.003$, Figure 4.).

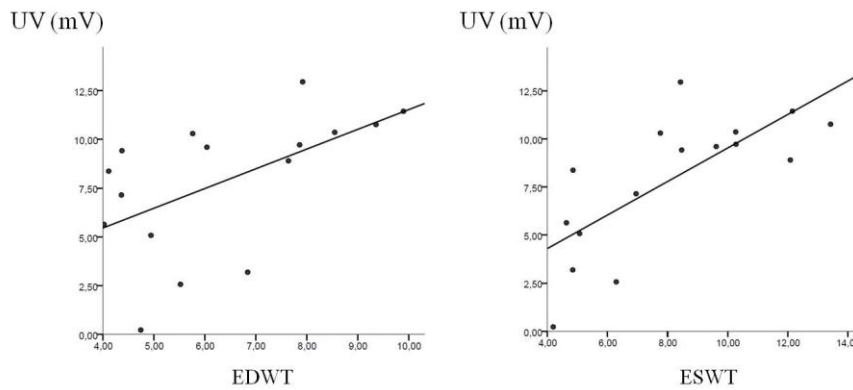


Figure 4. Correlation of average UV and EDWT, ESWT in the Cx coil group

4.5 Discussion

The agreement between the cMRI and EMM derived data concerning left ventricular function is moderate according to previous preclinical and clinical studies. In our study the EMM and cMRI derived values of global left ventricular function exhibited good agreement, but did not reached statistical significance in the correlational studies (data not shown). The main advantage of EMM is that it can be integrated to hemodynamical equipments and provides in vivo, online data about left ventricular global and regional function, without the significant increase of radiation dose. The large animal models allow investigating the electromechanical properties of animals with an extremely low EF with more increased scar tissue extent. The relationship between the global left ventricular parameters, especially between the EF, SV and the average UV values indicates a good diagnostic and may even

prognostic impact of these parameters, since a more extended myocardial damage results in lower average voltage values. This could result from the mathematical average derived from both the viable and infarcted myocardial tissue; on the other hand it also could depend on left ventricular volume, wall thickness, degree of remodeling and extent of MI. These factors affect remote areas outside the area of interest; therefore they influence the UV value, since it contains far-field components. The diagnostic accuracy of the LLS value highly depends on the homogeneity and number of points, and is derived from the distances of the surrounding points in end-systole and end-diastole, partly neglecting the wall thickening during systole and is also influenced by passive motions of the heart. In our study the LLS value showed moderate correlation with the left ventricular EF, and was not able to exhibit significant relationship with the regional EDWT, ESWT and WT values. The utilization of this parameter may be useful for the overall map analysis, and especially at the area of interest together with the voltage values, to identify discordant areas with preserved voltage and decreased LLS values. The regional left ventricular function can be characterized using the cMRI derived EDWT, ESWT and WT values, which are indicating the presence and progress of postinfarction remodeling. Our data suggests, that the UV and BV values may also be reflecting these processes properly. The segmental average voltage values exhibited good correlation with the average values of signal intensity and transmural thickness and furthermore this analysis served as a feedback, to prove the reliability of our data.

5. Evaluation of myocardial viability in porcine MI models

5.1 In vivo infarct quantification - imaging techniques

The exact quantification of the myocardial damage, e.g. the extent of necrotic tissue has high prognostic value and is a very crucial endpoint in preclinical studies; therefore several in vitro and in vivo methods were developed and used to fulfil this requirement. The non-invasive imaging techniques could provide exact quantification of the infarcted area, such as scintigraphy, positron emission tomography, computer tomography or echocardiography and furthermore could indicate reversible injuries also. In the last decades cMRI has been proved to be a feasible and accurate non-invasive method for the detection and characterization of the infarcted and viable areas, and moreover has high prognostic value. The late or delayed enhancement phenomenon 10 minutes after intravenous injection of extracellular contrast materials indicates myocardial viability both in acute and healed MI and provides high localizational accuracy, regarding even the direct visualization of the transmural extent of MI. The background of this phenomenon is partly understood and in acute MI it could result from myocyte necrosis and consequent sarcomere membrane rupture, which prolongs the diffusion of contrast molecules, therefore the volume of distribution of Gd-DTPA increases. In the cases of chronic MI delayed enhancement could result from the delayed wash-in and wash-out kinetics of contrast agents in the scar tissue, and the increased volume of fibrotic tissue. The above mentioned properties of cMRI made it plausible to be the determinant of myocardial infarct size in animal studies and also raised the possibility of direct tracking stem cells after therapeutic interventions. The availability of integrated

magnetic resonance scanner within the catheterization laboratory is limited at this time; on the other hand the diagnostic procedures need to be accurate and fast, providing online data about myocardial viability. Recently EMM has been also utilized as an invasive, catheter-based method to measure myocardial viability and regional left ventricular function. The values of UV and BV allow determining the myocardial viability, raising even the possibility to gain information about the transmural extent of necrosis. The LLS value provides information about local regional contractility, therefore the infarcted areas are characterized by reduced values, and these values can be matched with the reduced voltage values. EMM has the unique opportunity, to be used directly in the catheterization laboratory, and also raised a unique way for local therapeutic approaches, e.g. administration of cells or other biological materials, and has been utilized for intramyocardial injections in several animal and clinical studies.

5.2 Aims

The intramyocardial injection of cells or growth factors is the unique and main advantage of EMM. This feature requires the exact determination of the necrotic area, the transitional zone and viable tissue. Cardiac MRI serves as a gold standard regarding myocardial viability among the non-invasive methods due to its high spatial resolution. The diagnostic features of EMM were investigated in accordance to the results of cMRI regarding myocardial viability.

5.3 Methods

The design of experiments and the methods, utilized during the evaluation of myocardial viability are reviewed in Chapter 3.4, 4.3.2 and 4.3.1. The late enhancement phenomenon indicating the presence and transmural extent of nonviable tissue were evaluated according to the above described segmentation protocol (Figure 2.) 10 minutes after contrast administration. During the EMM procedure the values of BV and UV represented the presence or absence of viable tissue. The values of LLS were also evaluated, presenting the characteristics of local wall motion.

5.3.1. Statistical analysis

All results are presented as a mean $\pm$ standard error of mean (S.E.M.). Data regarding segmental voltage and LLS values were grouped according to the cMRI viability data into three groups, segments containing transmural late enhancement (increased signal intensity more than 50 % of the whole wall thickness), subendocardial late enhancement (increased signal intensity in less than 50 % of the whole wall thickness) and viable tissue (absence of increased signal intensity). These groups were analysed by one-way analysis of variance (one-way ANOVA) and the Tukey HSD test was employed for post hoc comparison. Receiver operator characteristic (ROC) analyses were used for the determination of the predictive value of EMM parameters compared to the cMRI acquisition. The p value of less than 0.05 was

considered statistically significant at each analysis. For the statistical analysis SPSS software package, version 16.0 was used.

5.4 Results

5.4.1 Transmural distribution of scar area

The segmental average UV, BV and LLS values were grouped according to the cMRI transmural data as segments containing transmural, subendocardial late enhancement or viable tissue. After the evaluation using one-way ANOVA, which showed significant difference between the three groups, Tukey HSD post hoc tests were carried out, which yielded significantly decreased UV and BV values in the segments with transmural and subendocardial late enhancement than in the viable areas, and significantly decreased LLS values in the segments with transmural late enhancement, than in viable segments as demonstrated in Fig. 5A.

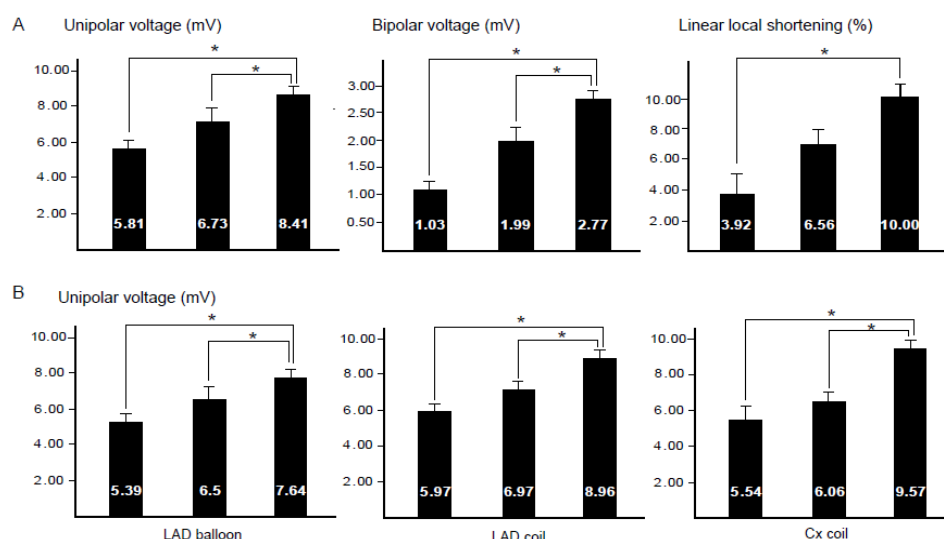


Figure. 5. A: Grouped analysis using one-way ANOVA and Tukey HSD post hoc test of the UV, BV and LLS segmental average values using the overall data. B: Grouped analysis using one-way ANOVA and Tukey HSD post hoc test of the UV, segmental average values in the three animal groups, * indicates p values <0.05, bars represent the average values of UV, BV and LLS of segments characterized by transmural, subendocardial late enhancement or viable myocardial tissue on cMRI images, respectively

We also performed one-way ANOVA tests according the three animal groups, the results are summarized in Table 2., and Figure 5B. Segments with subendocardial and transmural late enhancement had significantly less UV values, than the viable segments in all groups. In the case of the BV value this phenomenon was only present in the LAD balloon group.

		Viable tissue	Subendocardial late enhancement	Transmural late enhancement
UV (mV)		8.41±0.27	6.73±0.33 *	5.81±0.28 *
BV (mV)		2.77±0.19	1.99±0.18 *	1.03±0.16 *
LLS (%)		10±0.83	6.56±1.31	3.92±1.73 *
UV (mV)	LAD balloon	7.64±0.33	6.5±0.26 *	5.39±0.32 *
	LAD coil	8.96±0.56	6.97±0.46 *	5.97±0.5 *
	Cx coil	9.57±0.53	6.06±0.61 *	5.54±1.07 *
BV (mV)	LAD balloon	2.2±0.26	1.76±0.24	0.7±0.13 *
	LAD coil	3.65±0.39	2.42±0.35	1.36±0.28 *
	Cx coil	2.8±0.35	1.82±0.3	1.68±0.8 *

Table 2. One-way ANOVA according to the overall data from all animal groups (upper third part), and the UV and BV values of the LAD balloon, LAD coil and Cx coil groups, * indicates $p<0.05$, in cases of viable tissue vs. transmural late enhancement, and viable tissue vs. subendocardial late enhancement.

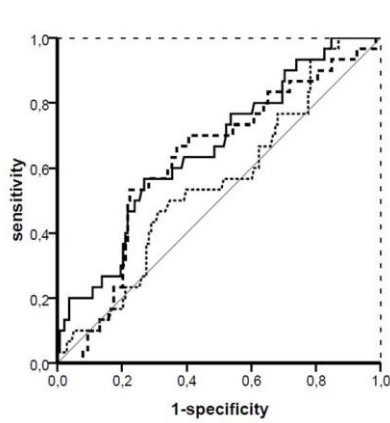
5.4.2 ROC analysis of cMRI and EMM data

We investigated the indicative capacity of the segmental average UV, BV and LLS values against cMRI segmental average signal intensity and transmurality using ROC analysis. First we examined the indicative value of UV, BV and LLS overall in the three animal group. The ROC curves were constructed to compare the subendocardial late enhancement vs. viable tissue and transmural late enhancement vs. viable tissue. The results are summarized in Figure 6. and Table 3. The AUC for the UV value was 0.657 ($p=0.007$), 0.783 ($p<0.001$), for the comparison of subendocardial and transmural late enhancement with normal tissue, for the BV value AUC was 0.551 ($p=0.378$), 0.824 ($p<0.001$), for the same diagnostic settings, respectively.

	Subendocardial late enhancement vs. viable tissue				Transmural late enhancement vs. viable tissue			
	AUC	95% CI	SEM	P value	AUC	95% CI	SEM	P value
UV	0.657	0.552-0.763	0.054	0.007	0.783	0.704-0.861	0.04	<0.001
BV	0.551	0.442-0.661	0.056	0.378	0.824	0.749-0.9	0.038	<0.001
LLS	0.623	0.515-0.731	0.055	0.035	0.642	0.534-0.750	0.05	0.009

Table 3. Main parameters of the ROC curves

Subendocardial late enhancement vs.
viable tissue



Transmural late enhancement
vs. viable tissue

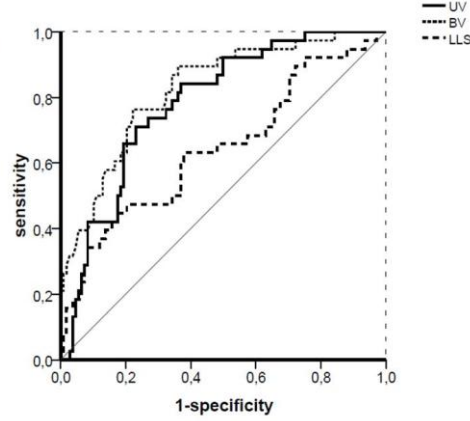


Figure 6. ROC curves from the overall data of all animal groups

We also evaluated the possible differences between the accuracy regarding the two distinct infarct areas, namely at the territory of the LAD and Cx using ROC curve analysis. The characteristics of the ROC curve are summarized in Table 4. and Figure 7. The AUC for the UV value was 0.691 ($p=0.037$), 0.809 ($p=0.002$), in the LAD balloon and coil groups and 0.855 ($p<0.001$), 0.864 ($p=0.001$) in the Cx coil group for the subendocardial and transmural late enhancement vs. normal tissue, respectively. The BV value also expressed good diagnostic accuracy in the LAD balloon and coil group (subendocardial scar vs. normal tissue AUC=0.687, $p=0.041$, transmural late enhancement vs. normal tissue AUC=0.853, $p<0.001$), and failed to demonstrate significant diagnostic efficacy in the Cx coil group.

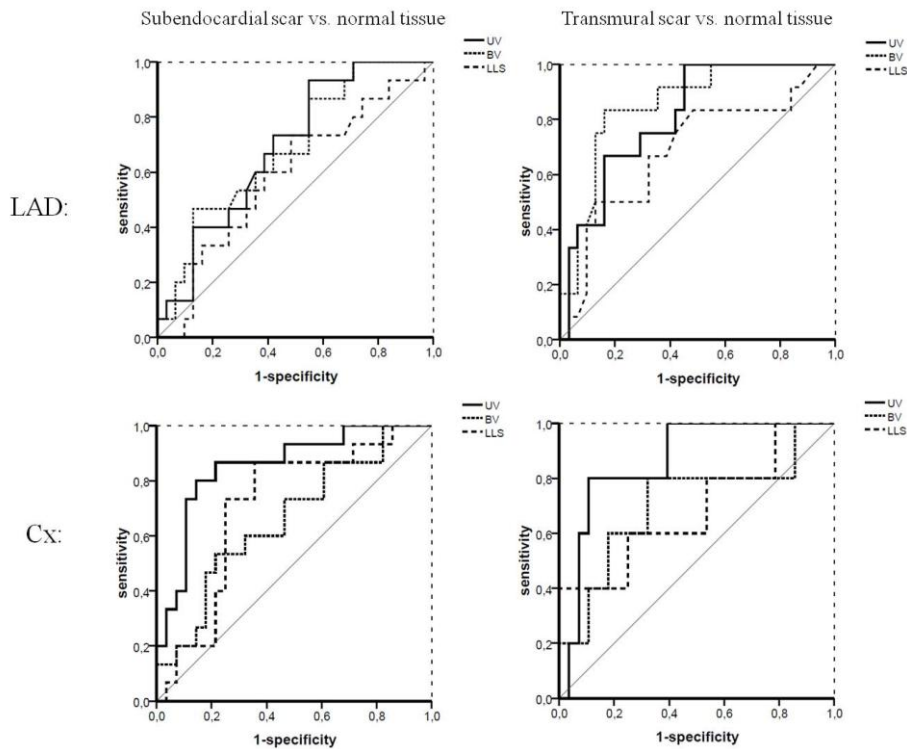


Figure 7. Detailed ROC analysis, according the different infarct areas using the segmental average UV, BV, LLS values

Subendocardial late enhancement vs. normal tissue						Transmural late enhancement vs. normal tissue					
		AUC	95% CI	SEM	P value			AUC	95% CI	SEM	P value
LAD	UV	0.691	0.538-0.845	0.082	0.037	UV	0.809	0.66-0.913	0.068	0.002	
	BV	0.687	0.534-0.816	0.082	0.041	BV	0.853	0.713-0.943	0.062	<0.001	
	LLS	0.588	0.412-0.764	0.09	0.337	LLS	0.685	0.499-0.872	0.095	0.062	
		AUC	95% CI	SEM	P value			AUC	95% CI	SEM	P value
Cx	UV	0.855	0.714-0.943	0.061	<0.001	UV	0.864	0.716-1.013	0.076	<0.001	
	BV	0.662	0.491-0.833	0.087	0.083	BV	0.707	0.427-0.987	0.143	0.145	
	LLS	0.71	0.547-0.872	0.083	0.055	LLS	0.686	0.401-0.971	0.145	0.192	

Table 4. Main characteristics of the ROC curves of different territories

5.5 Discussion

The UV value was significantly decreased in segments containing subendocardial or transmural scar tissue according to our results, and this phenomenon was reproducible in different localizations also. During the ROC analysis the UV value provided good diagnostic accuracy and this result also seemed to be independent of the localization of the infarcted area. Although the 17-segment model is widely used and accepted in the human cMRI diagnostics, the detailed segmentation allowed to perform a more detailed analysis in all animals, and allowed minimizing misalignments during the anatomical matching to the cMRI images. Despite the slight overestimation of the infarct area by delayed enhancement cMRI imaging, it was feasible for the segmental comparison, as a widely accepted and used method for myocardial viability. Myocardial segments characterized by 50% or less extent of hyperenhancement on delayed enhancement cMRI were termed as segments with subendocardial scar tissue in our porcine model. This classification was widely used in previous clinical assessments of EMM, and this value predicts properly the positive effect after planned revascularization procedures. Wolf et al. demonstrated good discriminative capacity of BV value in a dog model of MI with different transmuralities using histopathological analysis, our results also demonstrate this discriminative capacity for the UV and BV value, on the other hand we used a less detailed characterization for the transmuralities (50-100%, 50-0% or viable tissue), but in a more detailed segmental distribution of the whole left ventricle. The main aim of ROC analysis was to investigate the differences in the diagnostic efficacy of EMM, especially when the posterobasal region is involved in the infarct evolution as it was already described in several papers. Overall the diagnostic efficacy was more pronounced in cases of differentiating between transmural late enhancement and viable areas, but yielded similarly significant AUC values in the detection of subendocardial late enhancement for the UV value. We demonstrated good diagnostic efficacy for both the UV and BV values in animals with infarction on the LAD territory, and the UV value exhibited good efficacy in the Cx coil group also. On the other hand the diagnostic efficacy of the BV value disappeared in the Cx coil group, as the AUC values did not appear statistically significant. In this study the accuracy of the UV value was more pronounced than the accuracy of the BV value. The UV value is influenced by contact stability and far field

electrical potentials, the BV value depends from the orientation of the tip electrode on the endocardial surface, this latter fact may increase the number of false positive points. One further explanation for this phenomenon could be the greater variability of BV values, reported by Fallavollita et al., however our study was carried in the acute setting of MI. The diagnostic accuracy of the LLS value highly depends on the homogeneity and number of points as it was emphasized in the previous discussion, therefore it did not identify correctly the presence or absence of the infarcted area. In conclusion, EMM indicated accurately the presence and location of the infarcted area both in the reperfused and nonreperfused MI model. The EMM derived UV values showed good correlation with the global left ventricular function, and regional viability data and indicated properly the presence of subendocardial and transmural late enhancement regardless of pathomechanism and localization. This study proves the diagnostic efficacy of EMM in different clinical settings therefore could improve the clinical utilization of this method, especially in cases where treatment was not initiated within the desired time range e.g. in late comers, since EMM has the unique possibility of intramyocardial therapeutic administration of drugs or biological materials on a minimal invasive way to improve left ventricular function.

6. Novel findings

Our results outline the investigations of myocardial infarcts with different pathomechanism (reperfused or nonreperfused) and localization (LAD or Cx) using EMM first time to our knowledge.

The detailed type of segmentation, which was applied in the analysis of both cMRI and EMM allows accurate interpretation of the results.

The UV voltage value exhibited good correlation with the segmental average signal intensity values and the value of infarct transmural, which also indicates the role in the differentiation between viable and nonviable tissue.

The EMM derived UV value was able to detect infarct areas characterized by low voltage values in the reperfused and similarly in the nonreperfused MI model.

The UV value could indicate the presence of nonviable tissue, which was independent from the localization of MI.

9. List of publications

Publications related to the PhD thesis:

Articles published in international journals:

Lukács E, Magyari B, Tóth L, Petrási Zs, Repa I, Koller Á, Horváth I:
Overview of large animal myocardial infarction models
Acta Physiol. 2012;99,4, 365-381
IF.: 0,821

Lukács E, Magyari B, Tóth L, Petrási Zs, Petneházy Ö, Simor T, Gyöngyösi M, Repa I, Koller Á, Róth E, Horváth IG:
Evaluation of experimental myocardial infarction models via electromechanical mapping and magnetic resonance imaging
Canadian Journal of Physiology and Pharmacology (accepted)
IF.: 1,953

Articles published in hungarian journals:

Lukács E, Kónyi A, Horváth I:
Az ivabradin alkalmazása miokardiális infarktuson átesett betegek körében – Irodalmi áttekintés az intervenciós kardiológus szemével
Card Hung, 40, 152-156 (2010)

Magyari B, **Lukács E**, Horváth I:
Az elektromechanikus térképezési rendszer (NOGA) szerepe a kardiológiában
Cardiologia Hungarica, 40:3, 216-220 (2010)

Abstracts:

Lukács E, Magyari B, Horváth I, Petrási Zs, Petneházy Ö, Seffer I, Simor T, Repa I:
Embriónális őssejtek intramiokardiális implantációját követő bal kamra funkció és infarktus kiterjedés vizsgálata sertés infarktus modellen
MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2010, presentation
Cardiologia Hungarica, 2010, 40, G:45

Lukács E, Magyari B, Horváth I, Petrási Zs, Petneházy Ö, Seffer I, Simor T, Repa I:
A NOGA illetve MRI, mint diagnosztikus vizsgálatok összehasonlítása kísérletes szívinfarktusban sertés modellen
MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2010, poster
Cardiologia Hungarica, 2010, 40, G:64

Edit Lukács, Balázs Magyari, Örs Petneházy, Zsolt Petrási, Levente Tóth, Imre Repa, Iván Horváth:

Characterisation of the Infarcted Myocardium via an Electroanatomical Mapping System in Different Porcine Models of Myocardial Infarction

Sixth International Conference on Cell Therapy for Cardiovascular Disease, 2011, poster

Lukács E, Magyari B, Tóth L., Petrási Zs, Petneházy Ö, Simor T, Repa I, Horváth I.:

Különböző állatkísérletes modellen létrehozott miokardiális infarktus jellemzőinek vizsgálata elektromechanikus térképezési rendszer segítségével

MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2011, presentation

Cardiologia Hungarica, 2011, 41, F:36

Edit Lukács, Balázs Magyari, Örs Petneházy, Zsolt Petrási, Levente Tóth, Imre Repa, Iván

Horváth: Comparison of two different myocardial infarction models in porcine utilizing electromechanical mapping system validated by cardiovascular magnetic resonance imaging ESC congress, 2011, poster

Lukács E, Magyari B, Petneházy Ö, Petrási Zs, Tóth L, Simor T, Repa I, Róth E, Horváth I:

Investigation of two different myocardial infarction models in porcine from the aspect of myocardial viability via non-invasive and invasive methods

Conference & Advanced Research Workshop, Sudden Cardiac Death & Cardioprotection, Temesvár, 2012, poster □

E. Lukács, B. Magyari, Ö. Petneházy, Zs. Petrási, L. Tóth, T. Simor, I. Repa, Á. Koller, IG

Horváth: Evaluation of experimental reperfused and nonreperfused myocardial infarction models from the aspect of myocardial viability via magnetic resonance imaging

8th International Conference on Cell Therapy for Cardiovascular Disease, 2013, poster

Publications not related to the PhD thesis:

Lukács E., Magyari B., Horváth I.:

Unusual thrombectomy in acute myocardial infarction

Euro PCR, Párizs, 2010, presentation

Lukács E, Horváth I:

A frekvenciakontroll jelentősége a centrális vérnyomás és a szívfrekvencia variabilitás tükrében

Cardiologia Hungarica, 42, 100-105 (2012)

Acknowledgements:

First of all, I would like to thank my mentor and supervisor Iván Horváth for his guidance in research and generous support. I would like to express my gratitude to Professor Erzsébet Róth and to Professor Ákos Koller for their scientific support and mentorship. I would like to express my special thanks to Balázs Magyari, for assisting my work and for his generous support. I am grateful to Professor Tamás Simor and Levente Tóth, to give me valuable scientific information and useful advises. I would like to express my gratitude to Professor Sándor Szabados for his generous support during my studies. The studies were carried out at the Institute of Diagnostic and Therapeutic Radiation, at the University of Kaposvár. I would like to express my gratitude to Professor Imre Repa, for raising our research ideas into reality, and to Zsolt Petrási, Örs Petneházy, Gergő Szabó and István Takács, for their contribution to our experiments. I am thankful to all the nurses and technicians for their kind help especially to Anita Háberkorn, Brigitta Witzl and Brigitta Németh.

This work was supported by grants from the Hungarian Scientific Research Fund (OTKA K-69118 and K-71591) and by the Foundation for Improvement of Interventional Cardiology (Nr. 1478).

Finally I express my thanks to my family and friends for their encouraging support throughout my studies and work.

ELTÉRŐ MIOKARDIÁLIS INFARKTUS MODELLEK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ KÉPALKOTÓ ELJÁRÁSOKKAL

PhD értekezés tézisei

Dr. Lukács Edit Éva

**Szívgyógyászati Klinika
Általános Orvostudományi Kar
Pécsi Tudományegyetem**

A Doktori Iskola vezetője:

Prof. Dr. Komoly Sámuel Ph.D., DSc.

Programvezető:

Prof. Dr. Róth Erzsébet, Ph.D., DSc.

Prof. Dr. Koller Ákos, Ph.D., DSc.

Témavezető:

Dr. Horváth Iván, Ph.D., FESC.

Pécs, 2013

1. BEVEZETÉS

A miokardiális infarktus (MI), mely szívizomvesztéssel, következményes remodelinggel és szívelégtelenséggel jár, napjainkban még mindig vezető haláloknak számít a fejlett országokban. A revaszkularizációig eltelt idő jelentősen befolyásolja az infarktus kiterjedését és a remodeling folyamatának intenzitását. Ezen jelenség első leírói Reimer és munkatársai voltak 1977-ben, akik kutya modellen alkalmaztak különböző időintervallumú koronária okklúziót. Eredményeik alapján az okklúzió ideje és az infarktus mérete, transzmurális kiterjedése között egyenes arányosság áll fenn. Ugyanakkor ismert, hogy a revaszkularizáció a potenciális szívizommentést lehetővé tévő időintervallumon túl is hasznos lehet. Kim és Braunwald ezen jelenséget a revaszkularizáció „idő-független” hatásának nevezte. A perkután koronária intervenciók alkalmazása során reperfúzió érhető al akut koronária szindrómában, ugyanakkor ismert, hogy a betegek egy része még napjainkban sem jut reperfúziós terápiához a megfelelő időablakban. Mindezek miatt igen nagy prognosztikus szereppel bír mind az infarktusos terület, mind pedig az okklúzió által veszélyeztetett terület pontos meghatározása ezen betegeknél, a minél effektívebb revaszkularizációs stratégia meghozatala céljából.

A miokardiális iszkémia hatásainak vizsgálatára számos modell áll rendelkezésünkre, melyek közül az in vivo, nagyállat kísérletes modellek tekinthetők a legrelevánsabbnak. A kisállat modellekkel ellentétben ezen modellek, úgymint a sertésen, kutyán, juhon vagy emberszabásúakon végzett vizsgálatok lehetővé teszik a mindennapi klinikai gyakorlatban alkalmazott technikák, úgymint echokardiográfia, szív MRI és perkután koronária intervenciók eszközök alkalmazását és továbbkövetéses vizsgálatok folytatását is. Mindezen felül ismert, hogy ezen fajok közül a sertés szív anatómiája az, mely legjobban közelít az emberéhez, ugyanakkor alkalmazásuk a legkevesebb etikai kérdést veti fel. A fentebb említett szívkatéteres technikák révén a kísérletek során mellkas nyitásra, sebészeti beavatkozásra nincs szükség, ugyanakkor könnyen, minimál invazívan tudunk experimentális MI modelleket létrehozni, így mind a költségek, mind a beavatkozásból következő mortalitás és komplikáció előfordulás is csökken. Ismert, hogy a reperfúzió meglététől függően két eltérő patomechanizmusú entitást különböztethetünk meg, melyek esetén a bal kamrai remodeling intenzitása, a következményes szívelégtelenség prevalenciája, így a mortalitás gyakorisága is eltérhet. Mindezek miatt kiemelt jelentőségű, hogy a nagyállat kísérletes preklinikai vizsgálatok során ezen két entitást - a reperfúziós és nem reperfúziós MI-t külön vizsgáljuk, mind a diagnosztikus, mind a terápiás intervenciók értékelése során.

2. CÉLOK

Napjainkban ugyan több vizsgálati módszer is rendelkezésünkre áll, azonban ezek prognózist jelző szerepét jelentősen befolyásolja a miokardiális infarktus természete, a reperfúzió megléte. Az egyre inkább teret nyerő biológiai, sejterápiás kísérletek effektusát igen jelentősen befolyásolja az infarktus típusa, így még inkább előtérbe kerül a pontos viabilitási adatokat adó vizsgálómódszerek alkalmazása. Fő célunk volt egy megbízható reperfúziós és nem reperfúziós sertés infarktus modell létrehozása, melyek vizsgálatát invazív (elektromechanikus térképezés - EMM) és nem-invazív (szív MRI) szívizom viabilitási

módszerekkel végeztük, hangsúlyt fektetve az eltérő patomechanizmus szerinti eltérésekre. Korábban több kísérlet is történt az EMM diagnosztikus alkalmazhatóságának tekintetében nagy állatkísérletes modelleken, ugyanakkor ezek a vizsgálatok nem érintették az eltérő patomechanizmusú modellek párhuzamos vizsgálatát. Kísérleteink során vizsgáltuk az eltérő patomechanizmusú MI modellek alkalmazhatóságát, különbségeit, továbbá elemeztük a szív MRI illetve az EMM mérések során nyert bal kamra funkciót illető adatok közti összefüggéseket, illetve a globális, regionális kamra funkció, és az EMM során mért átlagos unipoláris (UV), bipoláris feszültség (BV) és az úgynevezett lineáris lokális rövidülés (linear local shortening - LLS) értékek közti különbségeket. Vizsgáltuk a regionálisan mért UV, BV és LLS értéket, valamint az MR viabilitás során nyert szívizom nekrosis transmuralitása közti összefüggéseket, valamint ROC analízist végeztünk eltérő lokalizációjú MI esetében, a korábban nyert irodalmi adatokra alapozva, melyek az EMM pontosságát a poszterobazális régióban megkérdőjelezték.

3. Eltérő okklúziós miokardiális infarktus modellek vizsgálata sertésen

3.1 Reperfúziós és nem reperfúziós MI - Kísérleti megfontolások

A preklinikai vizsgálatok során alkalmazott eltérő okklúziós eljárások eltérő patomechanizmusú infarktus modelleket eredményeznek. A tranziens okklúziós modellek, ahol reperfúzió is történik leggyakrabban új farmakológiai ágensek vizsgálatára alkalmasak, hiszen így lehetőség van magának az infarktus expanziónak, illetve a reperfúziós károsodásnak a vizsgálatára is. A 90 perces okklúziót követő reperfúzió során az „area at risk” terület egy része megmenthető, s ezen modell jól alkalmazható úgynevezett „closed-chest” nagyállat kísérletes modellen. A perkután intervencionális technikára épülő modellek, ahol sternotomia nem szükséges, preferálandók ezen kísérletek során, mind a szövődmények alacsony számát, mind pedig a költségeket illetően.

3.2 Célok

A kétféle MI modell (reperfúziós és nem reperfúziós) ugyan széles körben vizsgált, azonban a két modell párhuzamos elemzéséről csak kevés adat áll rendelkezésünkre. Vizsgálataink első részében a két modell közötti mortalitásbeli és szövődmények gyakoriságát illető eltéréseket vizsgáltuk ballon okklúziós és coil implantációs modell segítségével.

3.4 Módszerek

Vizsgálataink során az első állatcsoportban ballonos okklúziót alkalmaztunk a bal elülső leszálló ágon (LAD, n=7), s az okklúziót 90 perc után reperfúzió követte. A másik két csoportban coil implantáció, ezáltal permanens okklúzió történt a LAD-on (n=6) illetve a körbefutó ágon (Cx, n=3). Mind a szív MR, mind az EMM vizsgálatok az infarktus indukciót követő 6. napon történtek. Az altatás indukciója során 15 mg/kg ketamint (10% Ketavet 100, Intervet International GmbH.) és 0,1 mg/kg xylazint (2% Primazin, Alfasan International

B.V.) adtuk intramuszkulárisan. Az állatok átlagos testtömege 26 és 38 kg között volt. Az anesztézia bevezetését követően gépi lélegeztetést alkalmaztunk, 2%-os Izoflurán adásával. Premedikációként minden esetben 150 mg amiodaront alkalmaztunk a malignus kamrai ritmuszavarok profilaxisa érdekében. A koronária angiográfia során 5F sheath került behelyezésre a jobb artéria femoralisba, majd a bal ágrendszer töltéséhez jobb Amplatz 1 illetve 2 katétert használtunk. Az angiográfia előtt 90 IU/kg nátrium-heparint adtuk. A ballon okklúziós csoportban a LAD-on az első diagonális ág leadását követően pozicionáltuk a ballont (Cross sail, Guidant, Santa Clara, CA), és 90 percig tartó tranziens okklúziót hoztunk létre. A nem-reperfúziós csoportokban coil (VortX, Boston Scientific, Natick, MA, USA) implantációt végeztünk a LAD-on, a ballonos csoportban is alkalmazott magasságban, illetve a Cx-en. Az okklúzió teljes voltát kontroll angiográfias felvételen ellenőriztük (TIMI flow score=0) minden csoport esetén. Az állatkísérleteket minden esetben az intézményi etikai előírásoknak megfelelően végeztük.

3.5 Eredmények

A LAD-coil csoportban 3 (mortalitás: 50%), míg a LAD-ballon csoportban 2 állatot (mortalitás: 28,57%) veszítettünk el, a halálozás leggyakrabban az infarktus indukciója során, illetve a reperfúzió kezdetén történt, kamrafibrilláció miatt. A Cx-coil csoportban nem volt halálozás, itt azonban egy állatnál észleltünk tüdőödémát az 5. napon. A vizsgálat össz-mortalitása 31,25% volt. Annak ellenére, hogy minden állat esetén amiodaronnal premedikációt alkalmaztunk, a kamrafibrilláció igen gyakori volt. A nem fatális kimenetelű kamrai ritmuszavarok gyakorisága a következő volt: 28.57% a LAD-balloon csoportban és 30% a LAD-coil csoportban. A Cx-coil csoportban nem észleltünk ritmuszavarokat. A Cx-coil csoport egy állata esetén észleltünk extravazációt a coil beültetést követően, mely egy újabb coil behelyezését követően megszűnt.

3.6 Diskusszió

Az időben perkután revaszkularizációs terápián áteső MI-ben szenvedő beteg ellátása során történő eseményeket a ballon okklúziós modellek kiválóan reprezentálják. Ugyanakkor a coil behelyezését követően egy krónikus okklúziós modellt kapunk, mely kiválóan alkalmas a megfelelő időben terápiában nem részesülő betegek reprezentálására. A LAD-ballon csoport esetében szív MR mérések során jól megfigyelhető volt az úgynevezett „no-reflow” jelenség, mely mögött a reperfúziós károsodásként létrejövő mikrovaskuláris obstrukció áll. Irodalmi adatok alapján ezen jelenség igen negatívan befolyásolja a bal kamrai remodeling folyamatát, a következményes szívelégtelenség, és a posztinfarktusos szövődmények kialakulását. Mindemellett a coil implantált csoportban az okklúzió permanens volta miatt a szívizom elhalás folyamata teljesen lezajlik, s ez a modell alkalmas ezáltal a primer perkután koronária intervencióra későn érkező betegekben, illetve a régi infarkussal észlelt, úgynevezett „no-option” betegekben lezajló folyamatok modellezésére. Maga az implantált coil nem okoz artefaktot a szív MR képalkotás során, ugyanakkor használatukkal igen pontosan lokalizálható és reprodukálható a kísérletek során az okklúzió helye. A beültetett coil felületén thrombus képződés zajlik, mely jól modellezi továbbá a humánban is észlelt plakk ruptúrát és

következményes thrombus keletkezést is. A fentiek alapján mindkét modell megfelelő alapot képez az újabb, és egyre inkább előtérbe kerülő regeneratív terápiák, úgymint sejterápiák, növekedési faktor terápiák effektivitásának elemzésére is. Van der Spoel és munkatársai 2011-ben megjelent metaanalízise rávilágított arra, hogy a preklinikai sejterápiás vizsgálatok során a permanens okklúziós modellek esetén a sejterápia effektivitása jobb, mint a reperfúziós modell esetén. Ezen eltérés hátterében a permanens okklúzió során észlelt jelentősebb infarktus expanzió állhat, mely jelentősebb javulást tesz lehetővé. Ezen eredmény ugyanakkor azt támogatja, hogy az új terápiás eljárások minél objektívebb értékelése érdekében azok mind reperfúziós, mind permanens okklúziós modellen történő tesztelése szükséges. Az általunk vizsgált csoportok esetén a mortalitási adatok között nem volt szignifikáns különbség, és a mortalitás jelentős része a nem uralható kamrafibrilláció okán következett be. Jól ismert, hogy az infarktus méretét az okklúzió magassága és időtartama befolyásolja. Az állatkísérletek során jelentős szerepet tölt be az infarktus méret reprodukálhatósága, ezt biztosítják az anatómiai viszonyítási alapként a LAD-on szerepet játszó diagonális ágak. Mindemellett Huang és munkatársai vizsgálataik során felvetették, hogy a diagonális ágak helyett a LAD teljes hosszát kellene figyelembe venni, mind a coil, mind a ballon pozicionálásakor. Tapasztalataink alapján mind a LAD-ballon, mind a LAD-coil csoportban azonos méretű infarktusok voltak indukálhatóak a diagonális ág figyelembe vétele esetén. Ismert, hogy a sejterápiás vizsgálatok során a bal kamrai ejekciós frakcióban észlelt javulás 10% alatti, mindez szintén azt hangsúlyozza, hogy a kísérletek során jelentősége van az azonos méretű infarktusos terület létrehozásának.

4. A globális és regionális bal karma funkció jellemzőinek meghatározása invazív és nem invazív módszerekkel eltérő infarctus modelleken

4.1 Bevezetés

A korai sikeres reperfúziós terapia a veszélyeztetett szívizomterület jelentős részének megmentésével jár, mely által az infarktus mérete kisebb lesz, továbbá a falfeszülés, a kamrai dilatáció, a remodeling és a szívelégtelenség gyakorisága is csökkenni fog. A szívfunkció meghatározásában az MRI vizsgálatok már az 1980-as évektől jelentős szerepet játszottak, köszönhetően az igen nagy térbeli és időbeli felbontóképességüknek, mely által a falvastagodás és az infarktusos terület pontos meghatározására nyílt lehetőség. Irodalmi adatok alapján összejt terápiával átlagosan 7,5% javulás érhető el preklinikai modelleken az ejekciós frakció tekintetében, mindez külön rávilágít arra, hogy igen pontos mérőmódszerek alkalmazása szükséges a továbbkövetés során.

1996-ban vezették be az in vivo térképezés és navigáció, illetve az elektrofiziológiában alkalmazott katéter házasításából kialakult elektromechanikus térképezési rendszert (EMM). A rendszer széles körben alkalmazásra került mind perklinikai és klinikai, mind pedig iszkémiás és nem iszkémiás szívbetegségek kutatása során. A vizsgálat során a katéter helymeghatározása egy ultra-alacsony mágneses mezőben történik a bal kamrában, mely által egy 3 dimenziós térkép nyerhető a szív endokardiális felületéről. Az így létrejött térkép alapján meghatározhatóak a globális bal kamra funkció adatai [a

végdiasztolés- (EDV), végszisztolés- (ESV) és verővolumen (SV), ejekciós frakció (EF)]. Mindemellett a katéter végén elhelyezkedő szenzor a lokális elektromos aktivitás mérésére képes. Ezen elektromos jel (unipoláris feszültség érték - UV, bipoláris feszültség érték - BV) jó korrelációt mutat a miokardiális nekrozis és az iszkémia kiterjedésével. Továbbá információ nyerhető a regionális bal kamrai falmozgásról is az úgynevezett lineáris lokális rövidülés (linear local shortening - LLS) érték alkalmazásával. Ezen változó az egymással szomszédos pontok végdiasztole és végszisztole során mért lineáris távolságából származtatható érték. Az EMM-mel mért globális és regionális bal kamra funkciók értékek validálása megtörtént az ismert és rendszeresen alkalmazott non-invazív és invazív vizsgálómódszerekkel (echokardiográfia, ventrikulográfia, szcintigráfia, pozitron emissziós tomográfia, szív MRI) szemben. A csökkent feszültség és LLS értékek miokardiális nekrozist jeleznek. A feszültség és LLS értékek parallel meghatározása lehetővé teszi a hibernált miokardium identifikálását is: ilyen esetben megtartott feszültség értékek mellett csökkent LLS értékeket mérünk. A fenti ismeretek ellenére a bal kamra funkció tekintetében részletes összevetés a szív MRI-vel, mint gold standarddal még nem történt két különböző preklinikai infarktus modellen.

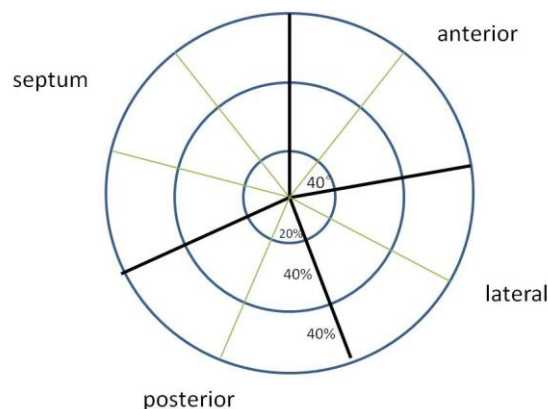
4.2 Célok

Vizsgálataink második felében szív MRI és EMM vizsgálatok során kapott globális és regionális bal kamra funkciót illető adatokat dolgoztuk fel.

4.3 Módszerek

4.3.1 Elektromechanikus térképezés

Az előző fejezetben ismertetett aneszteziológiai és MI indukciós beavatkozásokat követően 6 nappal EMM vizsgálatot végeztünk (NOGA, Biosense Webster, Cordis, Johnson and Johnson, Diamond Bar, CA). A beavatkozás során a bal oldali artéria femorálisba 8F sheath-et helyeztünk, és a diagnosztikus katétert retrográd úton az aorta aszcendensbe, majd az aorta billentyűn át a bal kamra üregébe juttattuk. Az első, tájékozódást segítő pontok felvétele fluoroszkópia segítségével történt, a csúcs és a bal kamra bázisának területéről. Ezt követően a bal kamra endokardiális felszínének szisztematikus feltérképezése történt. A tájékozódó pontok felvételének jelentős szerepe van a csúcs megfelelő lokalizációjában, ezáltal a későbbiekben alkalmazott poláris térkép pontos pozicionálásában. A beavatkozás végén 3 dimenziós, színekódolt térképek alakultak ki a bal kamra belső felszínéről. Az úgynevezett nem endokardiális felszínen, hanem a bal kamra üregében felvett belső pontokat, illetve a pitvarban felvett, és ST szakasz eleváció alatt felvett pontokat egy posztprocessziós analízis során azonosítottuk és töröltük. Az analízis során az így kapott poláris térképeket az EMM rendszer által biztosított 12 szegmentumot tartalmazó beosztás segítségével elemeztük. Ezen 12 szegmentumos térképet elemzéseink során további részekre osztottuk az 1. ábrán feltüntetett módon. Ezáltal lehetőségünk volt egy igen részletes, ugyanakkor a szív MRI eredményekkel az összehasonlítást könnyebbé tévő analízis folytatására.



1. ábra: A bal kamrai térképezés során nyert poláris térkép szegmentációja, mely lehetővé tette a szív MRI és EMM során nyert adatok pontos regionális összevetését.

4.3.2 Szív MRI felvételek és analízis

A szív MRI vizsgálatok altatott állatokon, EKG-kapuzással, légzésszünetben készültek. A késői kontraszthalmozású felvételek 10 perccel korábban intravénásan adott 0,15 mmol/kg Gd(DTPA-BMA, Omniscan) adását követően készültek. Rövid és hossztengetyű mozgókép, valamint késői kontraszthalmozást mutató felvételek készültek a pozicionálást és az angulációkat követően. A rövid- és hossztengetyű mozgókép felvételek során az alábbi paramétereket alkalmaztuk: szeletvastagság: 8 mm, vizsgálati látótér: 300x206 mm, felbontás: 256x192 pixel, echo idő: 1.1 ms, repetíciós idő: 38.75 ms). A viabilitási vizsgálatok során a rövidtengetyű felvételeket elemeztük 10 perccel kontrasztanyag adását követően (paraméterek: szeletvastagság 8 mm, vizsgálati látótér 300x206 mm, felbontás: 192x132 mm, echo idő: 1.14 ms, repetíciós idő: 465 ms). Az inverziós idő meghatározása minden esetben az intakt miokardium maximális nulla intenzitásához képest történt. A kapott képek értékelését MASS program (Medis, NL, 6.1.6 verzió) segítségével végeztük. A végdiasztolés és végszisztolés fázisokban az endo- és epikardiális határok megrajzolását követően nyertünk adatot a globális és regionális bal kamra funkcióról. Részletesen, szegmentenkénti felbontásban elemeztük a végdiasztolés- és végszisztolés falvastagság értékeit, és ezek különbségét (falvastagodás), melyeket a statisztikai analízis során összevetettünk a szintén azonos szegmentációban mért EMM adatokkal. A viabilitás vizsgálatok során mértük a szegmentenkénti átlagos szignál intenzitás mértékét (SI), valamint az infarktust jelző, emelkedett szignál intenzitás transzmurális kiterjedését (T%).

4.3.3. Statisztikai analízis

Eredményeink ismertetésekor minden esetben az átlag $\pm$ standard hiba értékét adtuk meg (standard error of mean - S.E.M.). MedCalc program alkalmazásával Bland-Altman analízist végeztünk a globális bal kamra funkció adatai felhasználásával. A szegmentálisan vizsgált regionális bal kamra funkciót illető paraméterek (végdiasztolés falvastagság - EDWT, végszisztolés falvastagság - ESWT, falmozgás - WM) és az EMM vizsgálat során nyert UV,

BV, LLS értékek közötti korrelációt Pearson-féle próbával vizsgáltuk, SPSS program alkalmazásával.

4.4 Eredmények

4.4.1 Az EMM vizsgálatok általános jellemzői

Egy vizsgálat során átlagosan 138 ± 30 pontot vettünk fel állatonként, mely az off- és online utólagos analízis során 38 ± 19 , illetve 24 ± 7 ponttal csökkent átlagosan. Ezt követően a tényleges, megfelelő pontok átlagos száma 80 ± 12 volt. Azon szegmentekeket, melyek 2-nél kevesebb felvett pontot tartalmaztak, kizártuk a további analízisből, így összesen 166 szegment adata állt rendelkezésünkre, mely az össz-szegmentszám 68.1%-a volt.

4.4.2 A globális bal kamra funkció és a viabilitás adatainak általános elemzése

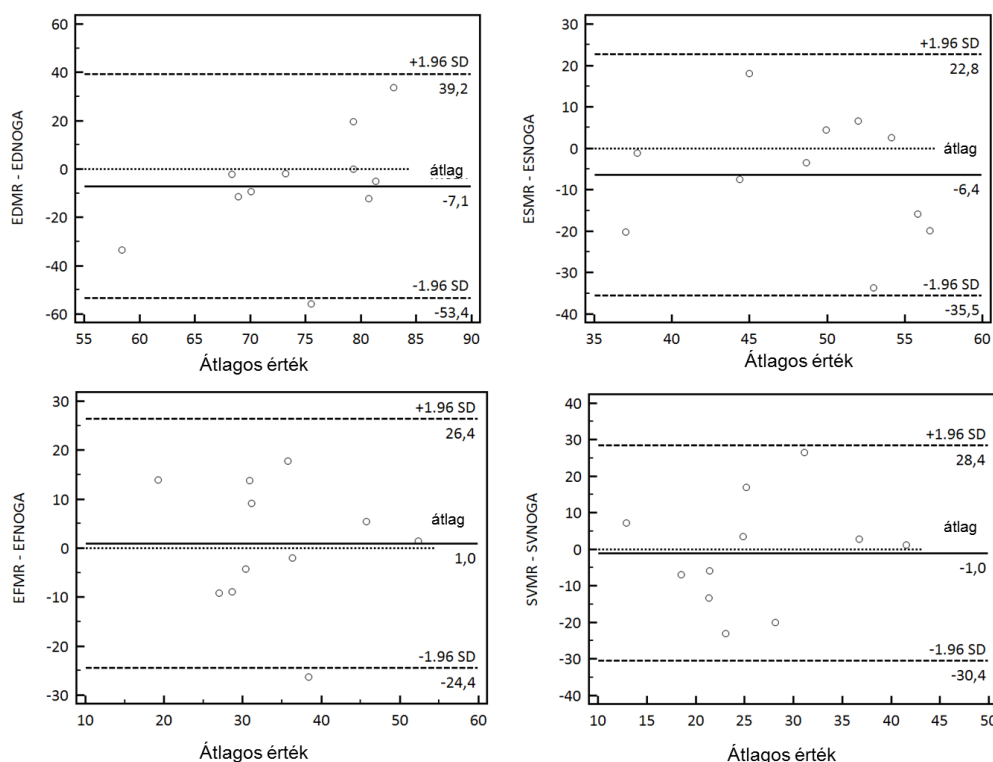
Az első táblázat tartalmazza az csoportonkénti átlagos UV, BV, LLS értékeket, valamint az EMM and cMRI vizsgálatok során nyert EF, EDV, ESV és SV értékeket. Az EMM elemzés során nyert verővolumen értéke és az UV, illetve BV érték között szignifikáns korreláció volt kimutatható ($r=0.605$, $p=0.049$, and $r=0.671$, $p=0.024$). Ugyanakkor mind a szív MRI, mind az EMM során mért ejekciós frakció (EF) és az UV érték között szintén szignifikáns kapcsolat volt kimutatható ($r=0.603$, $p=0.05$; $r=0.641$, $p=0.034$). Továbbá a csoportonkénti átlagos LLS érték és az EMM során nyert EF között szintén szignifikáns korreláció igazolódott ($r=0.604$, $p=0.049$). Végül az átlagos UV értékek és az MRI során mért végdiasztolés bal kamra tömeg (LVmassED) között is szignifikáns kapcsolat volt ($r=0.755$, $p=0.007$).

EMM adatok	UV (mV)	BV (mV)	LLS (%)	EF (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	SV (ml)
LAD ballon	6.48 ± 0.32	1.96 ± 0.37	8.06 ± 1.61	35.95 ± 4.24	71.89 ± 1.77	45.96 ± 2.57	26.07 ± 3.45
LAD coil	7.51 ± 0.48	2.98 ± 0.42	9.18 ± 3.61	39.54 ± 8.18	77.55 ± 4.25	46.42 ± 4.26	30.96 ± 7.34
Cx coil	6.97 ± 0.96	2.26 ± 0.33	5.44 ± 0.92	24 ± 6.17	88.27 ± 8.31	66.72 ± 1.76	22.34 ± 7.32

cMRI adatok	EF (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	SV (ml)	Infarktusos terület (g)	Infarktusos terület (%)
LAD ballon	31.16 ± 3.99	69.25 ± 9.27	47.07 ± 5.23	22.18 ± 5.62	13.09 ± 1.52	19.2 ± 1.43
LAD coil	46.43 ± 4.52	82.39 ± 3.37	44.41 ± 5.6	37.98 ± 2.45	13.07 ± 0.63	17.33 ± 0.67
Cx coil	28.7 ± 3.55	61.82 ± 7.81	43.58 ± 3.75	18.24 ± 4.44	8.17 ± 0.79	12.33 ± 0.67

1. táblázat. Az EMM és szív MRI vizsgálatok során mért globális bal kamra funkciót jellemző értékek

Az infarktus abszolút méretét tekintve a három csoport között nem mutatkozott szignifikáns különbség. Ugyanakkor amennyiben a százalékos kiterjedést vizsgáltuk, úgy a LAD-ballon ($19.2 \pm 1.43\%$) és Cx-coil ($12.33 \pm 0.67\%$) csoportok között szignifikáns különbség mutatkozott, a varianciaanalízis és post-hoc tesztek során (LAD-ballon vs. Cx-coil, $p=0.011$). Bland-Altman diagramon ábrázolva láthatjuk, hogy a szív MRI, mint gold-standard által kapott globális bal kamra funkció értékek és az EMM során nyert értékek között jó megfeleltethetőség volt igazolható (2. ábra).

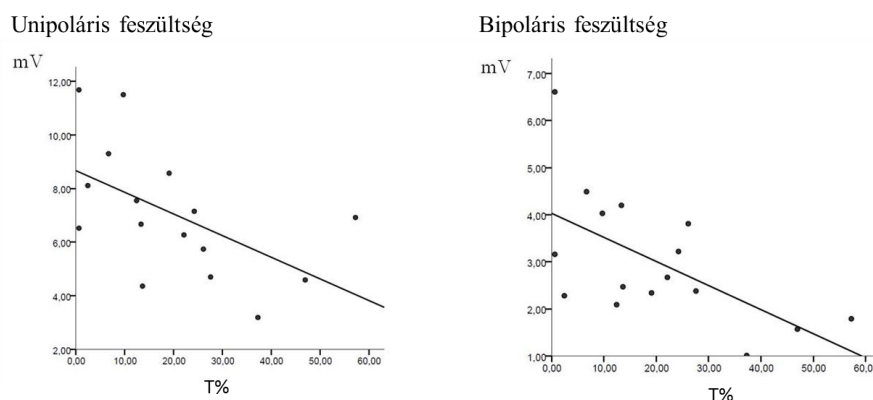


2. ábra A szív MRI és EMM vizsgálatok során nyert globális bal kamra funkció változóinak Bland-Altman analízise, a méréspárok különbségei láthatóak az átlaguk függvényében.

4.4.3 Szegmentális bal kamra funkció és viabilitás vizsgálatok

A szegmentális átlagos UV, BV, LLS értékek és a szív MRI során számolt átlagos EDWT, ESWT, WT, SI, T% értékek közötti kapcsolatot vizsgáltuk. Minden csoport esetén egy adott állat vizsgálata során kapott szignifikáns eredményeket demonstráljuk.

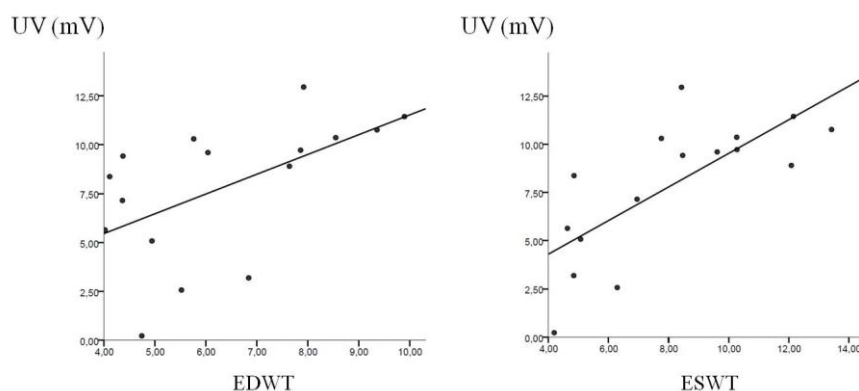
I. LAD-ballon csoport: a szegmentális átlagos UV értékek és a szegmentenkénti átlagos SI és T% érték között szignifikáns korreláció mutatkozott ($r=-0.571$, $p=0.021$ and $r=-0.631$, $p=0.009$). Mindemellett az átlagos szegmentenkénti BV érték és az SI és T% érték között szintén hasonló összefüggés mutatkozott ($r=-0.503$, $p=0.047$ and $r=-0.586$, $p=0.017$), 3. ábra.



3. ábra Kapcsolat a szegmentális átlagos UV és BV érték és a nekrosis transzmurális kiterjedése között a LAD-ballon csoportban

II. LAD-coil csoport: ezen csoportban csupán az átlagos BV érték és az SI érték között volt szignifikáns összefüggés ($r=-0.432$, $p=0.05$).

III. Cx-coil csoport: az átlagos UV érték és az SI, T% érték szintén szignifikáns korrelációt mutatott ($r=-0.818$, $p < 0.001$, $r=-0.778$, $p < 0.001$), mindemellett az UV érték és az EDWT és ESWT értékek között is szignifikáns korreláció volt észlelhető ($r=0.782$, $p < 0.001$, $r=0.694$, $p=0.003$), 4. ábra.



4. ábra Kapcsolat az átlagos UV és EDWT és ESWT értékek között a Cx-coil csoportban

4.5 Diskusszió

A korábbi preklinikai és klinikai eredményekhez hasonlóan az általunk vizsgált csoportokban is mérsékelt egyezés volt kimutatható a szív MRI, mint gold-standard és az EMM mérte globális bal kamra funkciók paraméterek között, ugyanakkor vizsgálataink során a két mérőmódszer eredményei között szignifikáns korreláció nem volt kimutatható. Az EMM jelentősége a katéteres laborral való integrálásban és az on-line információnyerésben rejlik, mely által a katéteres vizsgálattal egy időben nyerünk információkat a bal kamra funkciót illetően, addicionális sugárdózis növekedés nélkül. Az általunk is alkalmazott vizsgálati felállásban az indukált infarktusz következményeként lehetőségünk van igen alacsony ejekciós

frakcióval rendelkező állatok vizsgálatára is. Az UV érték esetén jó korrelációt kaptunk mind az ejekciós frakcióval, mind a verővolumennel, mely összefüggés e változó nemcsak jó diagnosztikai, hanem prognosztikai értékét jelzi. Ezen összefüggés hátterében természetesen átlagolódnak az elhalt területek jelentősen csökkent és az ép területek megtartott UV értékei, s ezáltal az átlagos érték függ a falvastagságtól, a remodelling fokától és a szívelégtelenség meglététől is. Ismert továbbá, hogy az UV érték mérésében jelentős szerepet játszanak az úgynevezett távoli komponensek is. Az LLS érték pontossága jelentősen függ a felvett pontok homogenitásától, hiszen az értéke ezen felszíni pontok egymáshoz történő mozgását mutatja, ugyanakkor a falvastagodás tényét figyelmen kívül hagyja. Vizsgálataink alapján az átlagos LLS érték moderált korrelációt mutatott az ejekciós frakcióval, ugyanakkor az EDWT, ESWT és WT értékekkel nem mutatott szignifikáns korrelációt. Mindezek alapján az LLS alkalmazása főképp a globális térkép elemzés-értékelés során nyújt segítséget, a feszültség értékekkel együtt értékelve. Ismert, hogy a szív MRI vizsgálatok során a számított EDWT, ESWT és WT értékek jól tükrözik a bal kamrai remodeling folyamatát, progresszióját. Eredményeink alapján ezen folyamat jellemzésére a feszültség értékek is alkalmasak lehetnek. Méréseink alapján az UV és BV értékek jó korrelációt mutattak a regionális viabilitást jelző SI és T% értékekkel, mely eredmény megfelelő alapul szolgált a további vizsgálataink tervezése során.

5. Miokardiális viabilitás vizsgálatok sertés MI modelleken

5.1 In-vivo infarctus kiterjedés meghatározás - képalkotó eljárások

Az infarktus méretének pontos kvantifikálása igen nagy prognosztikai jelentőségű, számos preklinikai vizsgálatban fontos végpont, mindezt többféle vizsgálóeljárás is elterjedt a nekrotikus terület pontos meghatározására. A non-invazív vizsgálatok, úgymint a szcintigráfia, pozitron emissziós tomográfia, az echokardiográfia kevés szövődményt rejtnek magukban, ugyanakkor képesek a reverzibilis károsodások kimutatására is. Az utóbbi évtizedekben a szív MRI megbízhatónak és pontosnak bizonyult az elhalt és a viabilis területek meghatározására, mindmellett eredményeinek jelentős prognosztikai értéke is van. A 10 perccel kontrasztanyag adást követően jelentkező úgynevezett késői kontraszthalmozás jól jelzi a nekrotikus terület kiterjedését, mind akut, mind krónikus MI esetén is, s jelentőségét tovább növeli, hogy a nekrosis transzmurális kiterjedését is pontosan meghatározhatjuk. Akut MI esetén a késői kontraszthalmozás jelensége csak részben megmagyarázott jelenség, mely a kontrasztanyag diffúziós terét megnövelő miocita nekrozison, szarkomér membrán ruptúrán alapul. A krónikus MI vizsgálata során látott halmozás a kontrasztanyag nekrotikus szövetbe történő bemosásának, illetve az onnan történő kimosásának megláthatóságából adódik. A szív MRI ezen tulajdonságai kiváló vizsgálati módszerré teszik azt preklinikai, és továbbkövetéses vizsgálatok során. Mindemellett az újabb technikák elterjedésével az MRI vizsgálatok jelölt sejtek szerkezetbeli helyének meghatározására is képesek. Napjainkban azonban a katéteres labor mellett igen kevés számban áll rendelkezésre azonnal elérhető szív MRI vizsgálat, a szívizom viabilitás vizsgálatának elvégzésére. Ugyanakkor a korábban említett EMM segítségével - mely a katéteres labor eszköztárába könnyen beintegrálható - lehetőségünk van

„real-time” viabilitás vizsgálatok elvégzésére. Ismert, hogy az EMM online módon ad információt mind a globális és regionális bal kamra funkcióról, mind a viabilitásról is. Az UV és BV érték nemcsak a viabilitást, hanem annak transzmurális kiterjedését is megfelelően képes jelezni. Az LLS érték a lokális falmozgásról ad információt, s a feszültség értékekkel együtt értékelve jelzi mind a hibernált miokardium, mind az ép és elhalt szövet jelenlétét is. Az EMM igazi jelentősége mindezek mellett a speciális injektáló katéterrel elérhető intramiokardiális injekciók kivitelezésében rejlik, melyen keresztül mind növekedési faktorok, mind sejtek közvetlen, előre meghatározott területre adhatók.

5.2 Célok

Ahogy korábban említettük, az EMM jelentősége a lokális terápiás lehetőségek kihasználásában van, melyhez azonban elengedhetetlenül szükséges az adott szívizomterület pontos lokalizálása és karakterizálása is. A viabilitás meghatározása terén a szív MRI mérések gold-standardnak tekinthetők igen kiváló felbontásuk miatt. Vizsgálataink utolsó részében az EMM diagnosztikus pontosságát vizsgáltuk a szív MRI-vel összehasonlítva, eltérő lokalizációjú és patomechanizmusú sertés MI modellek segítségével.

5.3 Módszerek

A vizsgálatok protokollja, módszerei és az alkalmazott eszközök a korábbi fejezetekben kerültek részletezésre (3.4, 4.3.2 és 4.3.1 fejezetek). A vizsgálatok során mind a szív MRI, mind az EMM adatok elemzésekor a 2.-es ábrán ismertetett szegmentációs módszert alkalmaztuk.

5.3.1. Statisztikai analízis

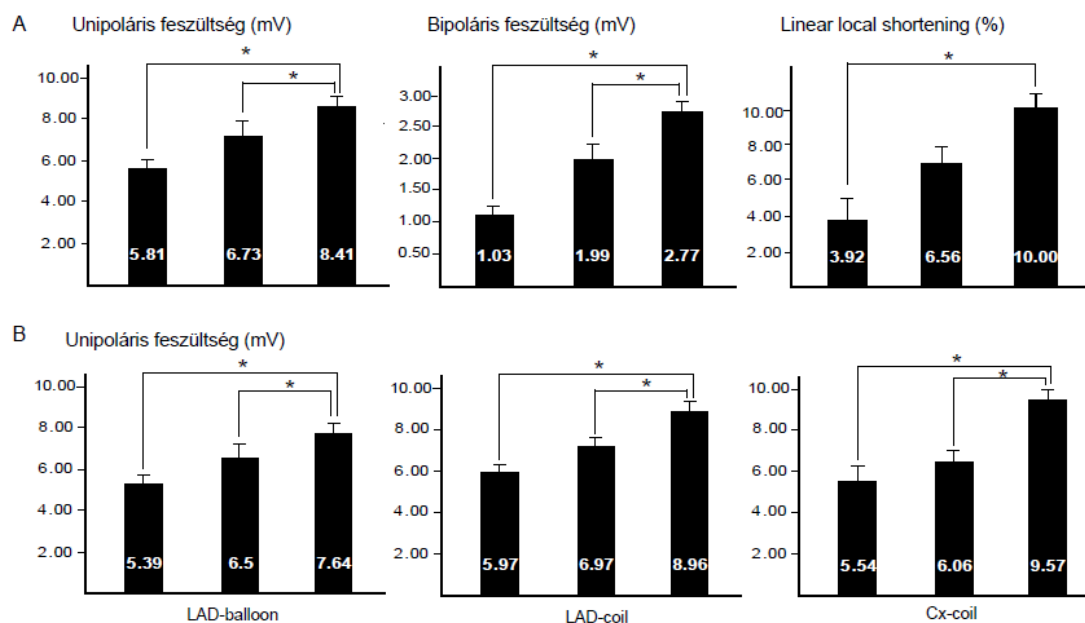
Eredményeink ismertetésekor az átlag $\pm$ standard hiba értékeit tüntettük fel. A szegmentális átlagos UV, BV és LLS értékeket a szív MRI adatok alapján csoportosítottuk, külön véve a transzmurális infarktust, a szubendokardiális infarktust (a nekrozist jelző emelkedett szignál intenzitás a kamra falvastagság 50%-a alatt volt), és az ép szívizomszövetet tartalmazó szegmentek értékeit. Ezen csoportokat ezt követően egy-utas variancia analízist alkalmazva hasonlítottuk össze, Tukey-HSD post hoc tesztet alkalmazva. Az EMM diagnosztikus pontosságának megítélésére ROC analízist alkalmaztunk. A 0,05-nél kisebb p értéket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai analíziseket SPSS program segítségével végeztük el.

5.4 Eredmények

5.4.1 A nekrozis transzmurális kiterjedésének vizsgálata

Az elvégzett varianciaanalízis során a transzmurális, szubendokardiális és viabilis szövetet tartalmazó szegmentek átlagos UV, BV és LLS értékei között szignifikáns különbség volt. Post hoc analízis során mind a transzmurális, mind a szubendokardiális szegmentek

átlagos UV és BV értékei szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkoztak a viábilis szívizomzatot tartalmazó szegmentek átlagos feszültség értékeinél. Az LSS érték a transzmurális elhalást tartalmazó szegmentekben volt csak szignifikánsan alacsonyabb a viábilis területek átlag értékeihez képest (5A ábra).



5. ábra A: Mindhárom állatcsoport adatainak összesített vizsgálata látható, az oszlopok a transzmurális, szubendokardiális kiterjedésű infarktusz szegmentek, illetve a viábilis szegmentek átlagos UV, BV és LLS értékeit reprezentálja. B: Az UV érték állatcsoportokra (LAD-balloon, LAD-coil, Cx-coil) lebontott, szegmentenként csoportosított átlag értékei láthatóak (*<0,05).

A fenti analízist ezt követően elvégeztük mind a 3 állatcsoporton külön-külön is, az eredmények a 2.-es táblázatban láthatóak, míg az UV érték szív MRI viabilitás szerinti átlag értékeit az 5B. ábra szemlélteti. Mindhárom csoportban a transzmurális és szubendokardiális nekrozist mutató szegmentek átlagos UV értékei szignifikánsan kisebbek voltak a viábilis szöveteket tartalmazó szegmentek értékeinél. A BV érték esetén ezen összefüggés csak a LAD-balloon csoportban volt szignifikáns mértékű.

		Ép szívizom	Szubendokardiális infarktus	Transzmurális infarktus
UV (mV)		8.41±0.27	6.73±0.33 *	5.81±0.28 *
BV (mV)		2.77±0.19	1.99±0.18 *	1.03±0.16 *
LLS (%)		10±0.83	6.56±1.31	3.92±1.73 *
UV (mV)	LAD-ballon	7.64±0.33	6.5±0.26 *	5.39±0.32 *
	LAD-coil	8.96±0.56	6.97±0.46 *	5.97±0.5 *
	Cx-coil	9.57±0.53	6.06±0.61 *	5.54±1.07 *
BV (mV)	LAD-ballon	2.2±0.26	1.76±0.24	0.7±0.13 *
	LAD-coil	3.65±0.39	2.42±0.35	1.36±0.28 *
	Cx-coil	2.8±0.35	1.82±0.3	1.68±0.8 *

2. táblázat: a felső harmadban a mindhárom csoport adatainak bevonásával mért átlagos UV, BV és LLS értékek láthatóak, míg az alsó két-harmadban az UV és BV értékek csoportokra lebontott átlagait láthatjuk (*<0,05).

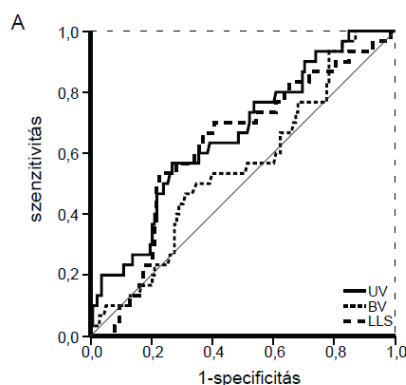
5.4.2 Az EMM diagnosztikai hatékonyságának vizsgálata ROC analízissel

A korábbi vizsgálathoz hasonlóan elsőként a csoportok adatait együtt elemeztük. Az ROC görbék elkészítése során a szív MRI vizsgálat eredményeit standard vizsgálati módszernek véve a transzmurális infarktusos és viábilis szegmentek, illetve a szubendokardiális infarktusos és viábilis szegmentek UV, BV és LLS értékeinek összevetése történt. A kapott ROC görbék a 6. ábrán láthatóak, míg a kapott görbék jellemzőit a 3.-as táblázatban tüntettük fel. Az görbe alatti (AUC) érték az UV esetén 0.657 (p=0.007), illetve 0.783 (p<0.001) volt a szubendokardiális infarktust és ép szívizomszövetet tartalmazó szegmentek, illetve a transzmurális infarktust, és ép szöveteket tartalmazó szegmentek vizsgálata esetén. A BV érték esetén ugyanezen vizsgálati elrendezést alkalmazva az AUC 0.551 (p=0.378), illetve 0.824 (p<0.001) volt.

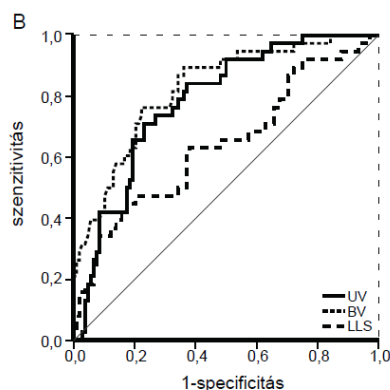
	Szubendokardiális infarktus vs. ép szívizom				Transzmurális infarktus vs. ép szívizom			
	AUC	95% CI	SEM	P érték	AUC	95% CI	SEM	P érték
UV	0.657	0.552-0.763	0.054	0.007	0.783	0.704-0.861	0.04	<0.001
BV	0.551	0.442-0.661	0.056	0.378	0.824	0.749-0.9	0.038	<0.001
LLS	0.623	0.515-0.731	0.055	0.035	0.642	0.534-0.750	0.05	0.009

3. táblázat Az összes csoport adatait egyszerre vizsgáló ROC görbék főbb változói

Szubendokardiális infarktus vs. ép szívizom



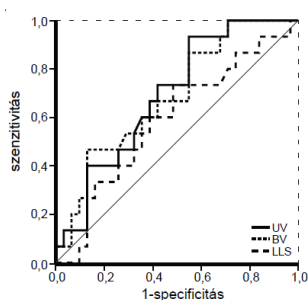
Transzmurális infarktus vs. ép szívizom



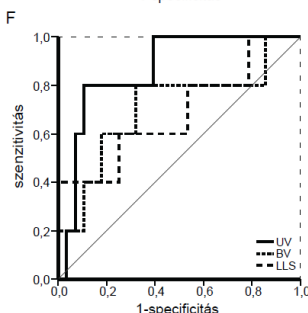
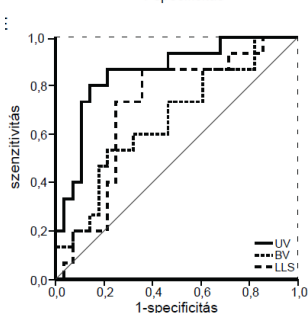
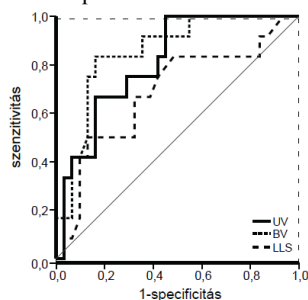
6. ábra Az összes csoport adatait vizsgáló ROC analízis görbéi az UV, BV és LLS érték esetén

Ezt követően az infarktus lokalizációjának megfelelően végeztünk ROC analízist, külön vizsgálva a LAD területi (LAD-ballon és LAD-coil) és Cx területi infarktust (Cx-coil) elszenvedett állatok csoportjait. A kapott eredményeket a 4. táblázat és a 7. ábra foglalja össze. Az UV érték esetén a szubendokardiális, illetve a transmurális és ép szegmentek vizsgálata esetén az alábbi AUC értékeket kaptuk: 0.691 ($p=0.037$) és 0.809 ($p=0.002$), míg a Cx területi infarktus esetén ugyanezen értékek 0.855 ($p<0.001$) és 0.864 ($p=0.001$) voltak. A BV érték esetén a LAD területi infarktusos csoportoknál szintén jó diagnosztikus elkülönítést mutató eredményt kaptunk: $AUC=0.687$, $p=0.041$, illetve $AUC=0.853$, $p<0.001$ a szubendokardiális, és transmurális illetve ép szívizomszövet összehasonlítása esetén. A Cx területi infarktusos egyedeknél a BV érték nem mutatott szignifikáns AUC értéket, ezáltal jó elkülönítő kapacitást.

Szubendokardiális infarktus vs. ép szívizom



Transzmurális infarktus vs. ép szívizom



7. ábra ROC analízis a LAD illetve Cx területi infarktust elszenvedett állatok csoportjainak külön vizsgálata során

Szubendokardiális infarktus vs. ép szívizom						Transzmurális infarktus vs. ép szívizom					
		AUC	95% CI	SEM	P value			AUC	95% CI	SEM	P value
LAD	UV	0.691	0.538-0.845	0.082	0.037	UV	0.809	0.66-0.913	0.068	0.002	
	BV	0.687	0.534-0.816	0.082	0.041	BV	0.853	0.713-0.943	0.062	<0.001	
	LLS	0.588	0.412-0.764	0.09	0.337	LLS	0.685	0.499-0.872	0.095	0.062	
		AUC	95% CI	SEM	P value			AUC	95% CI	SEM	P value
Cx	UV	0.855	0.714-0.943	0.061	<0.001	UV	0.864	0.716-1.013	0.076	<0.001	
	BV	0.662	0.491-0.833	0.087	0.083	BV	0.707	0.427-0.987	0.143	0.145	
	LLS	0.71	0.547-0.872	0.083	0.055	LLS	0.686	0.401-0.971	0.145	0.192	

4. táblázat. A LAD, illetve Cx területi infarktust szenvedett állatok ROC görbéinek jellemzői

5.5 Diszkusszió

Vizsgálataink során az UV érték szignifikánsan alacsonyabb volt mind a transmurális, mind pedig a szubendokardiális infarktusos szegmentek esetén, s ezen eltérés mind az infarktus patomechanizmusától, mind a lokalizációjától független volt. Az ROC analízis során szintén hasonló eredményt kaptunk az UV érték diagnosztikus pontosságának vizsgálatakor. Ugyan a szív MRI vizsgálatok során a klinikumban elfogadott az úgynevezett 17 szegmentumos modell alkalmazása, az általunk alkalmazott 27 szegmentumos modell azonban részletesebb elemzést tett lehetővé, s így a két képalkotó módszer elemzése során kisebb esélye volt a szegmentek össze nem egyezésének az anatómiai illesztéskor. Ugyan irodalmi adatok alapján a szív MRI mérések kissé felülbecslik az infarktusos terület méretét,

azonban így is egy igen nagy pontosságú entitásról beszélhetünk, mely a szívizom viabilitás vizsgálatának elfogadott módszere. Elemzéseink során az 50%-nál kisebb transzmurális kiterjedésű infarktusos terület esetén azt szubendokardiális nekrozisnak tekintettük, mely érték jelentősége a korábbi klinikai vizsgálatok során annak jelentős prognosztikus értékéből ered. E szerint az 50%-nál kisebb transzmurális kiterjedésű infarktus esetén a revaszkularizációt követően jelentős falmozgásbeli javulás várható. Wolf és munkatársai vizsgálata alapján a BV érték mutatott jobb diagnosztikus értéket kutya infarktus modellen eltérő transzmuralitású infarktus esetén. Bár ők eredményeik validálásához szövettani elemzést végeztek, azonban nem alkalmaztak szisztematikus szegmentális beosztást. Az ROC analízis vizsgálatok fő célja a lokalizációbeli EMM diagnosztikus érzékenység különbségek elemzése volt. Irodalmi adatok alapján a poszterobazális régióban észlelt infarktus esetén az EMM érzékenysége kisebb. Eredményeink alapján az UV érték mind a transzmurális, mind a szubendokardiális kiterjedésű infarktus esetén jó elkülönítő kapacitással bírt, bár az AUC értékek az ép szívizom, és a szubendokardiális elhalás között kissé alacsonyabbak, de szignifikánsak voltak. A LAD területi infarktus esetén mind a BV és UV érték jó elkülönítő kapacitással bírt, míg a Cx területi infarktus esetén csak az UV érték mutatott szignifikáns AUC értéket. Az UV érték mérésnek pontossága nagyban függ a katéter stabilitásától, és az úgynevezett távoli hatásoktól, a referencia elektródtól is, míg a BV érték mérését a katéter endokardiumhoz viszonyított lokalizációja befolyásolja. Amennyiben a katéter az endokardium felszínén nem merőleges szöget zár be, megnő az álpozitív, azaz csökkent feszültségű pontok száma. Fallavolita és munkatársai vizsgálatuk során a BV érték mérésekor nagyobb variabilitást észleltek, ugyan ők vizsgálataikat nem akut MI modellen végezték. Az LLS diagnosztikus értéke jelentősen függ a felvett pontok homogenitásától, ahogy azt már az előző fejezetben is hangsúlyoztuk. Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az EMM vizsgálat eredményei, különösen az UV érték jól jelezte a szubendokardiális, transzmurális kiterjedésű nekrozist és az ép szívizomszövetet is, patomechanizmustól és lokalizációtól függetlenül. Mindemellett az UV érték jó korrelációt mutatott a globális bal kamra funkciót leíró értékekkel is. Vizsgálataink alapján az EMM diagnosztikus pontossága megfelelő, mely tényező elengedhetetlen az EMM-mel végzett terápiás beavatkozások során is. Az EMM vezette katéteres intramiokardiális terápia különösen jelentős szerepet tölthet be az időablakon kívül érkező betegek esetén, ahol a revaszkularizáció már nem jár miokardium mentéssel. A módszer által lehetőség nyílik mind sejt, mind más biológiai terápiák közvetlen, célzott intramiokardiális alkalmazására a bal kamra funkció javulása érdekében.

6. Új eredmények

Vizsgálataink során első alkalommal végeztük párhuzamosan és szisztematikusan két eltérő patomechanizmusú (reperfúziós és nem reperfúziós), és eltérő lokalizációjú (LAD és Cx) preklinikai MI modellek összevetését.

Az általunk alkalmazott részletes szegmentációs eljárás nagyban segíti eltérő képalkotó eredmények regionális szintű összehasonlítását.

Az unipoláris feszültség érték jó korrelációt mutatott mind a nekrozist jelző regionális átlagos szignál intenzitás, mind a nekrosis transmuralitásának átlagos értékével. Mindezek alapján az unipoláris feszültség érték megfelelően jelezte a nekrosis jelenlétét.

Az unipoláris feszültség érték mind a reperfúziós, mind a nem reperfúziós modell esetén megfelelően mutatta az infarktusos terület jelenlétét.

Az unipoláris feszültség érték ezen kórjelző értéke függetlennek bizonyult az infarktus lokalizációjától is.

9. A szerző publikációi

Az értekezés témájával összefüggő közlemények:

Lukács E, Magyari B, Tóth L, Petrási Zs, Repa I, Koller Á, Horváth I:

Overview of large animal myocardial infarction models

Acta Physiol. 2012;99,4, 365-381

IF.: 0,821

Lukács E, Magyari B, Tóth L, Petrási Zs, Petneházy Ö, Simor T, Gyöngyösi M, Repa I,

Koller Á, Róth E, Horváth IG:

Evaluation of experimental myocardial infarction models via electromechanical mapping and magnetic resonance imaging

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology (accepted)

IF.: 1,953

Lukács E, Kónyi A, Horváth I:

Az ivabradin alkalmazása miokardiális infarktuson átesett betegek körében – Irodalmi áttekintés az intervenciós kardiológus szemével

Card Hung, 40, 152-156 (2010)

Magyari B, **Lukács E**, Horváth I:

Az elektromechanikus térképezési rendszer (NOGA) szerepe a kardiológiában

Cardiologia Hungarica, 40:3, 216-220 (2010)

Idézhető absztraktok:

Lukács E, Magyari B, Horváth I, Petrási Zs, Petneházy Ö, Seffer I, Simor T, Repa I:

Embrionális őssejtek intramiokardiális implantációját követő bal kamra funkció és infarktus kiterjedés vizsgálata sertés infarktus modellen

MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2010

Cardiologia Hungarica, 2010, 40, G:45

Lukács E, Magyari B, Horváth I, Petrási Zs, Petneházy Ö, Seffer I, Simor T, Repa I:

A NOGA illetve MRI, mint diagnosztikus vizsgálatok összehasonlítása kísérletes szívinfarktusban sertés modellen

MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2010

Cardiologia Hungarica, 2010, 40, G:64

Edit Lukács, Balázs Magyari, Örs Petneházy, Zsolt Petrási, Levente Tóth, Imre Repa, Iván Horváth:

Characterisation of the Infarcted Myocardium via an Electroanatomical Mapping System in Different Porcine Models of Myocardial Infarction

Sixth International Conference on Cell Therapy for Cardiovascular Disease, 2011

Lukács E, Magyari B, Tóth L., Petrási Zs, Petneházy Ö, Simor T, Repa I, Horváth I.:

Különböző állatkísérletes modellen létrehozott miokardiális infarktus jellemzőinek vizsgálata elektromechanikus térképezési rendszer segítségével

MKT Kongresszus, Balatonfüred, 2011

Cardiologia Hungarica, 2011, 41, F:36

Edit Lukács, Balázs Magyari, Örs Petneházy, Zsolt Petrási, Levente Tóth, Imre Repa, Iván

Horváth: Comparison of two different myocardial infarction models in porcine utilizing electromechanical mapping system validated by cardiovascular magnetic resonance imaging ESC congress, 2011

Lukács E, Magyari B, Petneházy Ö, Petrási Zs, Tóth L, Simor T, Repa I, Róth E, Horváth I:

Investigation of two different myocardial infarction models in porcine from the aspect of myocardial viability via non-invasive and invasive methods

Conference & Advanced Research Workshop, Sudden Cardiac Death & Cardioprotection, Temesvár, 2012□

E. Lukács, B. Magyari, Ö. Petneházy, Zs. Petrási, L. Tóth, T. Simor, I. Repa, Á. Koller, IG

Horváth: Evaluation of experimental reperfused and nonreperfused myocardial infarction models from the aspect of myocardial viability via magnetic resonance imaging

8th International Conference on Cell Therapy for Cardiovascular Disease, 2013

Az értekezés témájával szorosan nem összefüggő közlemények:

Lukács E., Magyari B., Horváth I.:

Unusual thrombectomy in acute myocardial infarction

Euro PCR, Párizs, 2010

Lukács E, Horváth I:

A frekvenciakontroll jelentősége a centrális vérnyomás és a szívfrekvencia variabilitás tükrében

Cardiologia Hungarica, 42, 100-105 (2012)

Köszönetnyilvánítás:

Szeretném megköszönni témavezetőmnek a mindenre kiterjedő szakmai támogatásért és a lelkiismeretes témavezetésért. Hálával tartozom Prof. Dr. Róth Erzsébetnek és Prof. Dr. Koller Ákosnak a PhD dolgozat megírásában nyújtott segítségért és a szakmai tanácsokért. Köszönettel tartozom Prof. Dr. Szabados Sándornak, hogy lehetővé tette a Szívgyógyászati Klinikán folyó elméleti és klinikai munkába történő részvételemet. Köszönettel tartozom Dr. Magyar Balázsnak a kísérletek során nyújtott segítségéért. Hálával tartozom Prof. Dr. Simor Tamásnak és Dr. Tóth Leventének az MRI vizsgálatok és a kísérletek szervezése során nyújtott segítségéért. Vizsgálatainkat a Kaposvári Egyetem állatkísérletes laboratóriumában, az ott dolgozók (Dr. Petrási Zsolt, Dr. Petneházy Örs, Szabó Gergő, Takács István) segítségével végeztük, akiknek szintén köszönettel tartozom. A kísérletek során nyújtott technikai segítségért szeretnék köszönetet mondani Háberkorn Anitának, Németh Brigittának és Witzl Brigittának.

Végül, és nem utolsósorban szeretném megköszönni családomnak a munkám során folyamatosan nyújtott önzetlen támogatásért, erősítésért.