

ÚJ KÍSÉRLETES MÓDSZEREK MYOCARDIALIS INFARCTUS
GENERÁLÁSÁRA ÉS KVANTIFIKÁLÁSÁRA

Ph.D. Tézis

Dr. Varga-Szemes Ákos

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel

Programvezető: Prof. Dr. Koller Ákos

Témavezető: Prof. Dr. Simor Tamás

Pécsi Tudományegyetem, Szívgyógyászati Klinika

Pécs

2013

1. BEVEZETÉS

A cardiovascularis betegségek a leggyakoribb haláloknak számítanak a nyugati világban. Az akut myocardialis infarctus (MI) esetében a mielőbbi revascularizatio a legfontosabb terápiás cél. Ezen cél teljeskörű elérése azonban közel lehetetlen. Figyelembe véve az esetek jelentős számát, amelyeknél akut MI-t követően valamilyen okból kifolyólag nem történik revascularizatio, egy nem-reperfundált kísérletes MI modell kiemelt fontosságú lehet az alternatív diagnosztikus és terápiás módszerek preklinikai fejlesztésében. Mivel a rendelkezésre álló MI modellek többségének alkalmazhatósága számos korláttal bír, egy egyszerű, költséghatékony, MRI kompatibilis, nem-reperfundált modell kifejlesztésének jelentős létjogosultsága van.

A MI diagnózisa rendszerint a beteg fizikális státuszán, EKG-n, a szívenzimek szintjén, illetve a coronarographián alapszik. Számos egyéb képalkotó módszer áll rendelkezésre a MI diagnózisának megerősítésére, a myocardialis károsodás kvantifikálására, illetve a bal kamra (LV) funkció monitorozására. A különböző technikák közül a késői típusú gadolínium (Gd) kontraszthalmozásos MRI (late gadolinium enhancement, LGE) vált a legmegbízhatóbb módszerré a szívizom életképességének meghatározására. A Gd-tartalmú kontrasztanyagokat azonban nem csak MRI-vel, hanem radiográfiai módszerekkel is lehet detektálni. A coronaria betegség noninvazív vizsgálatára kiválóan alkalmas coronaria CT angiográfiát (cCTA) validálták Gd-tartalmú kontrasztanyaggal végzett multi-detektoros CT (Gd-MDCT) használatával is. Miután a LGE jelenség az infarctusban történő Gd akkumuláción alapul, így feltételezhető, hogy hasonló jelenség CT-vel is észlelhető, hiszen ismert tény, hogy a CT alkalmas Gd detektálására. Bizonyos betegcsoportokban (pl. jódos kontrasztanyag kontraindikációja esetén) a Gd-alapú cCTA és a LGE protokoll kombinálásával egyúttal válna lehetővé a coronaria státusz és a myocardium viabilitás noninvazív megítélése.

2. CÉLKITŰZÉS

Célul tűztük ki egy megbízható, MRI kompatibilis, nem-reperfundált MI modell kifejlesztését, valamint annak vizsgálatát, hogy a Gd-MDCT alkalmas-e a MI detektálására és kvantifikálására.

2.1 Myocardialis infarctus modell fejlesztése

Célok: (1) nem-reperfundált MI modell kifejlesztése percutan technika felhasználásával; (2) az új modell MRI kompatibilitásának vizsgálata; (3) a nem-reperfundált jelleg post-mortem módszerekkel történő igazolása.

2.2 Gadolínium-alapú infarctus kvantifikáció fejlesztése

Célok: (1) ex vivo szívmodell fejlesztése; (2) Gd-MDCT alkalmasságának vizsgálata MI detektálására és (3) kvantifikálására; (4) a különböző MRI technikák pontosságának vizsgálata MI kvantifikációja során; (5) a módszerek összehasonlítása a referenciának tekintett Triphenyl-Tetrazolium-Chloride (TTC) technikával.

3. EMBOZENE™ MICROSPHERE INDUKÁLTA NEM-REPERFUNDÁLT MYOCARDIALIS INFARCTUS KÍSÉRLETES SERTÉS MODELLBEN

3.1 Bevezetés

A korábban MI modellezésére alkalmazott számos állatfaj közül bebizonyosodott, hogy a sertés szív anatómiája és koszorúér keringése áll az emberi anatómiához a legközelebb. A nem-reperfundált, úgynevezett “zárt mellkasú” MI modellek létrehozásához speciális technikákra van szükség, melyek lehetővé teszik valamilyen folyadék vagy részecske bejuttatását a coronariába, ezáltal direkt vagy indirekt mechanikus obstructiót, és rendszerint következményes thrombus képződést okozva. Az elmúlt évek során számos technikát fejlesztettek ki nem-reperfundált MI modellezésére, mint pl. felfújható/leválasztható ballon katéteres occlusio; rugalmas dugó, szivacs, tungsten spirál, és agar embolizáció; etanol, thrombin és n-butyl cyanoacrylat (n-BCA) befecskendezés. Mivel ezen technikák többségének az alkalmazása általában nem problémamentes, ezért célul tűztük ki egy új, egyszerűen alkalmazható, költséghatékony, MRI kompatibilis nem-reperfundált sertés modell kifejlesztését Embozene microsphere alkalmazásával.

3.2 Módszerek

3.2.1 Embozene előkészítés

Színes, 900µm átmérőjű, 1ml-es fecskendőbe töltött Embozene™ microsphere-t használtunk. A fecskendő tartalmát 7.0ml iohexol kontrasztanyaggal kevertük, hogy a folyadék röntgensugár által láthatóvá váljon.

3.2.2 Myocardialis infarctus modell

A kísérleteket hím sertéseken végeztük (n=31). Anesthesia alatt a jobb artéria femoralist kipreparáltuk, majd kanüláltuk. Egy 6F coronaria katétert vezettünk a bal főtrzsbe, és egy kiindulási coronarográfiát végeztünk. Ezt követően egy coronaria drótot, majd a dróton egy mikrokatétert vezettünk a bal elülső leszálló (left anterior descending, LAD), vagy a körbefutó coronaria ágba (left circumflex, LCX). Az angiogram és a mikrokatéteren található fém jelölés segítségével meghatároztuk az elzárás pontos pozícióját, majd átvilágítás közben az Embozene oldatot a coronariába fecskendeztük. Amikor a mikrokatéter hegyétől disztális coronaria lument teljesen feltöltötte az Embozene oldat, a beadást befejeztük, az ér elzáródását pedig angiográfiával ellenőriztük. Ezt követően a mikrokatétert eltávolítottuk, a femoralis artéria dekanülálása után az eret lekötöttük, a sebet pedig zártuk.

3.2.3 MRI

Az MRI vizsgálatokat egy 1.5T GE Signa-Horizon készüléken végeztük. A vizsgálatok altatásban, az állatok lélegeztetése mellett, kilégzésben történtek. A cine és T2 súlyozott felvételeket követően került sor a 0.2mmol/kg Gd-DTPA kontrasztanyag (CA) beadására. A viabilitás megítélésére T1 súlyozott “inversion recovery” (IR) LGE felvételeket készítettünk. Az MRI-t követően (2, 4, 14 vagy 56 nappal az MI indukálása után) eutanáziát hajtottunk végre.

3.2.4 Képanalízis

A MI lokalizációját a 17-szegmentumos szívmodell alapján határoztuk meg. Az Embozene által okozott esetleges műtermékeket a képminőség vizuális megítélésével vizsgáltuk.

3.2.5 Triphenyl-Tetrazolium-Chloride festés

TTC festést alkalmaztunk a MI post-mortem igazolására. A szívet felszeleteltük, majd a szeleteket 1.5%-os, 37°C-os TTC oldatban inkubáltuk 20 percig.

3.2.6 Szövettan

Szövetteni mintákat az infarctus, a peri-infarctus, és az egészséges myocardium régiókból készítettünk. A mintákat 10%-os formalinban fixáltuk, paraffinba ágyasztuk, majd 5µm-es metszeteket készítettünk és Hematoxylin-Eosin, illetve Masson's Trichrome festéseket végeztünk.

3.3 Eredmények

A microsphere beadást mind a 31 állaton sikeresen elvégeztük. A vizsgálatból 7 állatot zártunk ki (közülük 5 állat az infarctus generálást követő observatio alatt, míg másik 2 állat a későbbiekben a ketrecben elhalálozott). Összesen 24 állat érte el a tervezett végpontot, 22.6%-os mortalitást eredményezve.

Tizenegy állatban a LAD, míg 13 állatban a LCX került elzárásra. A megfigyelési időszakban 9 túlélő állatnál észleltünk különböző ritmuszavarokat. Izolált kamrai extrasystole és/vagy rövid kamrai tachycardia 7 esetben, másodfokú atrioventricularis blokk egy esetben, míg kamrafibrilláció szintén egy esetben fordult elő.

A microsphere környező erekbe történő véletlenszerű regurgitációja által okozott nem várt lokalizációjú infarctust egy állatnál észleltünk. A infarctus generálás sikerességét igazolta a különböző infarctus stádiumokban végzett MRI vizsgálat, TTC és hisztológia is. Az MRI és a TTC által meghatározott MI lokalizáció minden esetben megegyezett az intervenció során elzárt ér ellátási területével. A képminőséget szignifikánsan befolyásoló műterméket nem észleltünk az MRI felvételeken.

3.4 Megbeszélés

Vizsgálatunkban egy percutan Embozene feltöltéssel indukált, nem-reperfundált MI modellt mutattunk be. A vizsgálat során észlelt mortalitás hasonló volt, mint a más szerzők által leírt halálozás coil embolizáció során.

A procedúra egyszerűen nyomonkövethető fluoroscopiával, hiszen a microsphere oldatot jódos kontrasztanyaggal hígítottuk. Az Embozene befecskendezése ugyanakkor tapasztalatot is igényel. Az adagolást lassan, a fecskendőt vízszintes pozícióban tartva kell végezni, annak érdekében, hogy biztosítsuk a részecskék egyenletes eloszlását. A coronaria feltöltésének előrehaladtával a beadás fokozatosan nehezebbé válik, az áramlás a coronariában szignifikánsan csökken. Ezen a ponton az ér lumenét kirajzolja az Embozene részecskék között rekedt kontrasztanyag.

A nyitott mellkasú MI modellek jelentős hátrányai (pl. hosszabb beavatkozás, magasabb mortalitás, a thoracotomiának köszönhető magasabb komplikációs ráta, MRI inkompatibilitás, stb.) kedvező hatással voltak a zárt mellkasú modellek fejlődésére.

Ugyanakkor jónéhány, nem-reperfundált MI generálására használatos zárt mellkasú technikának is ismertek komoly hátrányai. A felfújható/leválasztható ballonokat biztonsági okokból kivonták a piacról. A nagyméretű részecskéknek (pl. dugó, szivacs) a koszorúérbe juttatása gyakran szükségessé teszi nagyobb lumennel bíró artériák, pl. carotis preparálását. A folyadék jellegű anyagok hirtelen befecskendezése regurgitáció útján véletlenszerű embolizációt okozhat egyéb, nem kívánatos myocardium területeken. Az itt, illetve a bevezetésben említett módszerek közül a tungsten spirál embolizáció tűnik a legígéretesebbnek. A tungsten spirál MRI szempontjából biztonságos, ezen spirálok MRI kompatibilitása azonban nem teljeskörűen tisztázott. A microsphere embolizációs technika ugyanakkor bizonyítottan nem okoz műterméket sem a T1, sem a T2 súlyozott MRI felvételeken.

A fent részletezett metódusok két csoportba sorolhatók: (1) a részecske-embolizációs technikák, melyek valamilyen részecske coronariába juttatásával azonnali occlusiót és következményes thrombosit okoznak, illetve (2) a folyadék-embolizációs módszerek, amelyek szöveti reakciókat kiváltva eredményeznek thrombus képződést és következményes occlusiót. Az általunk bemutatott módszer valamelyest a kettő keveréke. Az Embozene részecskék folyadékszerűen fecskendezhetők be a coronariába egy megfelelő méretű katéteren keresztül, ugyanakkor a részecskék méretéből adódóan mechanikai occlusio alakul ki az érben. Bizonyítható, hogy a részecskék az elakadás helyén maradnak akár 54 napig az infarctus indukcióját követően.

A bemutatott modellnek vannak előnyei, de egyben lehetséges hátrányai is a többi modellel összehasonlítva. A legfőbb előnye az Embozene technikának az egyszerű alkalmazhatóság, a költséghatékonyság, és az MRI kompatibilitás. A beadás ugyanakkor tapasztalatot igényel, az occlusio szintje pedig eltérést mutat más módszerekhez viszonyítva.

A folyadékok (pl. n-BCA, ethanol) elérik egészen a microvascularis szintet, míg a különböző dugókat, coilokat használó megoldások az occlusiót az alkalmazás helyén hozzák létre. Az Embozene részecskék az utóbbiakhoz hasonlóan működnek, hiszen megakadnak a lumenben és gyöngysorszerűen kitöltik a coronariát a 900 μ m és annál nagyobb átmérőjű szakaszokon. Bár tisztán látható, hogy az occlusio helye nem definiálható olyan egyértelműen, mint pl. coil-ok alkalmazásával, ugyanakkor a részecskék méretükből adódóan nem érik el a microvascularis szintet.

4. GADOLÍNIUM-ALAPÚ MULTI-DETEKTOROS CT TECHNIKÁVAL VÉGZETT INFARCTUS KVANTIFIKÁCIÓ EX VIVO SERTÉS SZÍVEN

4.1 Bevezetés

A Gd-alapú kontrasztanyagok első radiográfiai használatát 1989-ben közölték. Azóta számos egyéb esetet publikáltak, melyek során Gd-ot alkalmaztak kontrasztanyagként nem-MRI vizsgálatok során. Furuichi és mtsai Gd-DTPA használatával végeztek percutan coronaria interventiot. Gupta és mtsai aorta, nyaki és hasi CT angiográfia során megfelelő kontraszthatást tudtak elérni Gd-DTPA alkalmazásával. Kälsch és mtsai jódos kontrasztanyag kontraindikációja esetén alkalmaztak Gd-alapú kontrasztanyagot 19 betegnél coronaria angiográfia során. Tapasztalataink alapján a Gd-alapú kontrasztanyag diagnosztikus szempontból megfelelő minőségű kontrasztot biztosított. Strunk és mtsai által publikált összefoglaló közlemény szerint a Gd-DTPA kontrasztanyag biztonsággal használható nem-MRI célból, ugyanakkor lényeges megjegyezni, hogy jelenleg csak MRI használatra van engedélyezve.

Bár a Gd-alapú kontrasztanyagok számos radiográfiai alkalmazási lehetőségét leírták, MI kvantifikációjára Gd-alapú CT technikával még nem volt példa. Ezért célul tűztük ki a Gd-alapú MDCT (Gd-MDCT) technika alkalmazásának vizsgálatát a MI megítélésében. Eredményeinket LGE-MRI és post-mortem TTC referenciákhoz hasonlítottuk.

4.2 Módszerek

4.2.1 *Experimentális modell*

Hím sertésekben (n=6) reperfundált MI-t indukáltunk a LAD ellátási területében 90 perces percutan ballon occlusio alkalmazásával. A coronaria reperfúziójáról ismételt angiográfiával győződünk meg. Egy héttel a MI generálását követően 0.2mmol/kg Gd-DTPA kontrasztanyagot adtunk az állatoknak, majd 20 perccel később eutanáziát hajtottunk végre. Az eltávolított szíveket 4.2%-os agarba ágyasztuk, amely stabilizálta a szívet, ezáltal biztosítva a különböző képalkotó vizsgálatok közötti koregisztráció lehetőségét.

4.2.2 *MDCT*

Az MDCT felvételeket Philips Brilliance 64 készülékkel készítettük különböző csőfeszültségek használatával (80, 120, és 140kV).

4.2.3 *MRI*

Az MRI vizsgálatok 1.5T GE Signa-Horizon készülékkel történtek. Rövid tengelyi orientációjú, több szeletes LGE felvételeket készítettünk egy IR szekvenciát használva.

4.2.4 *TTC festés*

A képalkotó vizsgálatokat követően a szívet lefagyasztottuk, majd a tomografikus szeletekkel megegyező orientációban szeleteltük. A szeleteket 20 percig 1.5%-os TTC oldatban inkubáltuk.

4.2.5 Szövetten

Szövetteni eljárással igazoltuk a MI jelenlétét. A mintákat 10%-os formalinnal fixáltuk, paraffinba ágyasztuk, majd az 5µm-es szeleteket Hematoxylin-Eosinnal festettük.

4.2.6 Képanalízis

A CT és MRI felvételeket ImageJ v1.42 képelemző alkalmazással értékeltük ki. Megmértük a normál myocardium, az infarctus, és a háttér MRI szignál intenzitását (SI), illetve CT attenuációját. A képminőség CT és MRI közötti összehasonlításához kiszámoltuk a jel-zaj (signal to noise ratio, SNR), a kontraszt-zaj (contrast to noise ratio, CNR), és a szignál intenzitás arányokat (signal intensity ratio, SIR). A további analízis során megrajzoltuk a LV endocardiális és epicardiális kontúrjait, amelyek alapján számítottuk a bal kamrai izomtérfogatot (LVV). Az infarctus méretét a thresholding technikával határoztuk meg. Az MRI felvételek esetében a normál myocardiumban mért SI + 2, 3, 4, 5, vagy 6 standard deviáció (SD), illetve az úgynevezett “full width at half-maximum” (FWHM) metódusokat használtuk a küszöbértékek meghatározására. A CT felvételek esetében az infarctus elkülönítésére alkalmazott küszöbérték a normál terület attenuációja + 2SD volt. Az így meghatározott infarctusok térfogatát megmértük (IV), majd a bal kamrai izomtömeg százalékában fejeztük ki (infarctus frakció, IF).

4.2.7 Statisztikai analízis

A statisztikai analízishez SigmaStat v2.03 alkalmazást használtunk. Az adatokat átlag±szórás formában tüntettük fel. Egyszempontos varianciaanalízis (One-way ANOVA) tesztet használtunk a különböző képalkotók által mért eredmények TTC-vel történő összehasonlítására. Bland-Altman analízist végeztünk az egyes metódusok pontosságának megállapítására. A CNR, SNR, és SIR eredményeket ANOVA-val hasonlítottuk össze. $P < 0.05$ esetén állapítottunk meg szignifikáns különbséget.

4.3 Eredmények

Mindhárom vizsgált metódus megfelelő képminőséget biztosított a MI megítélésére. A mért SI és attenuáció értékeket, illetve a SNR, CNR és SIR eredményeket az 1. táblázat foglalja össze. A különböző csőfeszültséggel készült CT felvételeket összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a háttér, illetve a normál myocardium attenuációja a csőfeszültség változtatása ellenére is közel állandó. A myocardiumban mérhető zaj ugyanakkor lineáris összefüggést mutatott a csőfeszültséggel ($R^2=0.9999$). A háttérzaj hasonló korrelációt mutatott ($R^2=0.9786$). A 80kV csőfeszültség mellett mért MI attenuációs értékek szignifikánsan magasabbak voltak ($P < 0.01$) a másik két csőfeszültségen mért értékeknél, ugyanakkor utóbbi kettő között nem volt szignifikáns eltérés. A normál myocardiumban mért SNR szignifikánsan alacsonyabb volt 80kV csőfeszültség használata esetén. Az infarctusban mért SNR, CNR és SIR értékek között nem volt különbség a csőfeszültség függvényében. Ugyanakkor az SNR, CNR és SIR értékek jelentősen elmaradtak az MRI által mért eredményektől ($P < 0.001$).

MDCT, MRI és TTC által mért LVV, IV és IF eredmények a 2. táblázatban láthatók. A különböző metódusok által meghatározott LVV jó egyezést mutatott ($P=N.S.$).

1. Táblázat MDCT és MRI felvételeken mért attenuáció (HU) és SI értékek, illetve SNR, CNR és SIR eredmények (átlag±szórás, n=6)

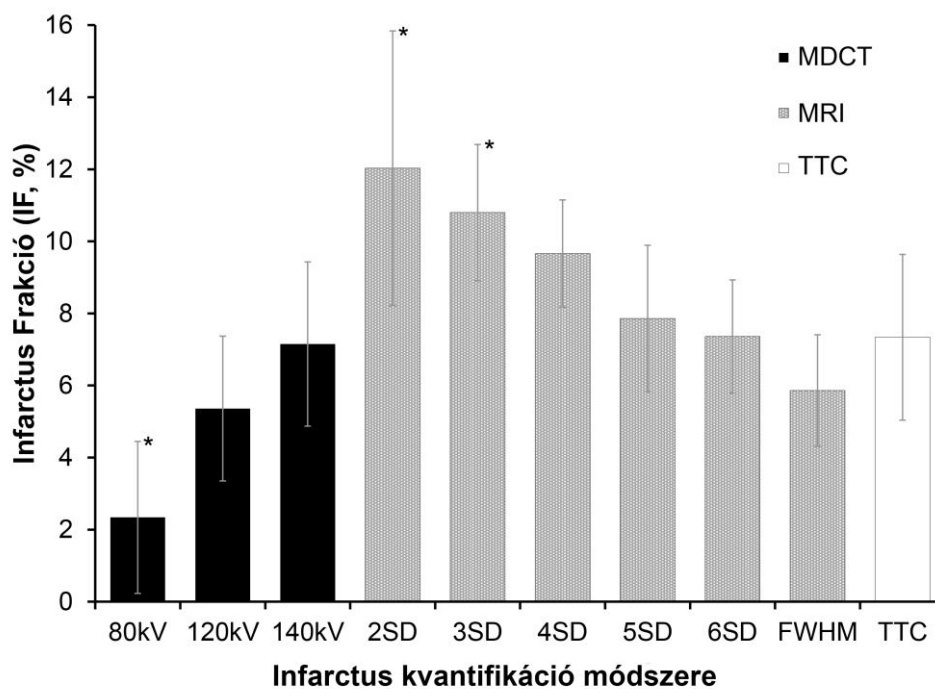
	MDCT			MRI	<i>P</i> -érték MDCT vs. MRI
	80kV	120kV	140kV		
Háttér	-1009±2.5	-1010±2.1	-1009±2.6	144±10.2	
Normál	43±1.9	42±1.9	42±2.0	168±12.5	
Normál SD	16±0.9	8±0.5	6±0.5	16±4.2	
Infarctus	91±6.2	81±5.1	80±5.0	734±118.1	
Infarctus max	133±16.1	109±12.3	100±5.4	921±42.4	
SNR normál	4.0±0.3	4.5±0.6	4.6±0.5	10.7±4.5	<0.05
SNR infarctus	8.5±1.0	8.8±1.1	8.8±1.2	46.9±11.2	<0.05
CNR	4.5±0.7	4.3±0.8	4.2±0.7	36.2±6.1	<0.05
SIR	2.1±0.2	1.9±0.1	1.9±0.1	4.4±0.7	<0.05

2. Táblázat A különböző technikák által mért LVV, IV, és IF értékek (átlag±szórás, n=6)

Módszer	Csőfeszültség (kV)	LVV (ml)	IV (ml)	IF (%)
MDCT	80	72.06±13.23*	1.65±1.24	2.34±2.11
	120		3.80±1.78	5.36±2.01
	140		5.06±1.64	7.15±2.28
Threshold				
MRI	2SD	74.72±13.15*	8.91±2.99	12.03±3.81
	3SD		8.07±1.15	10.80±1.89
	4SD		7.22±1.31	9.66±1.49
	5SD		5.87±1.26	7.86±2.03
	6SD		5.47±1.23	7.36±1.57
	FWHM			4.36±1.16
TTC		75.42±14.85	5.36±1.57	7.34±2.30

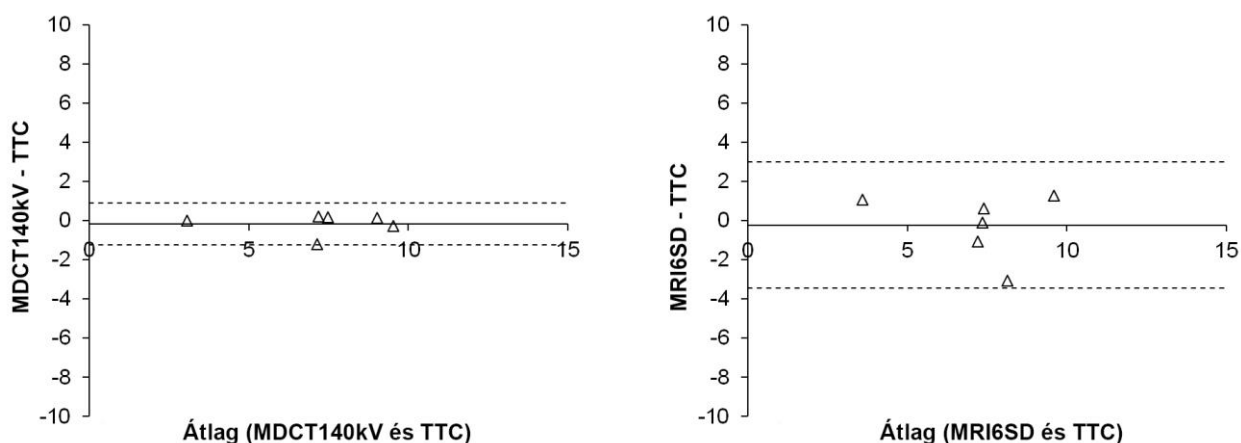
*Az LVV kiszámítását csak egyszer végeztük el, mivel a különböző thresholdok ugyanazt az endo és epicardiális kontúrt használják

A statisztikai analízis során a referencia TTC-hez viszonyítva szignifikánsan különbözőnek bizonyultak az IV és IF értékek MDCT_{80kV}, MRI_{2SD}, illetve MRI_{3SD} metódusok használatával ($P<0.05$). Ugyanakkor nem igazolódott statisztikai különbség a TTC által és a MDCT_{120kV}, MDCT_{140kV}, MRI_{4SD}, MRI_{5SD}, MRI_{6SD}, MRI_{FWHM} metódusok által meghatározott IV és IF értékek között (1. ábra).



1. ábra

A Bland-Altman analízis nagyfokú egyezést mutatott az IF értékek tekintetében az MDCT_{120kV}, MDCT_{140kV}, MRI_{5SD}, MRI_{6SD}, MRI_{FWHM} módszerek esetében a referencia TTC metódushoz hasonlítva. A különbségek átlaga az MDCT_{140kV} és MRI_{6SD} (2. ábra) metódusok esetében kisebb, mint 1%, míg az MDCT_{120kV}, MRI_{5SD} és MRI_{FWHM} metódusok esetében kisebb, mint 2%. A Bland-Altman analízis alapján az MDCT_{80kV} módszer szignifikánsan alulbecsüli az infarktust (-5.07%, ~3.7ml). Az MRI_{2SD} és MRI_{3SD} módszerek 4.68%, illetve 3.50%-kal szignifikánsan túlbecsülik az infarktust.



2. ábra

4.4 Megbeszélés

Vizsgálatainkkal demonstráltuk, hogy a Gd-MDCT technika ex vivo körülmények között alkalmas MI kvantifikációjára. Szintén bemutattuk, hogy az ex vivo agarba ágyazott szívmodell alkalmas sorozatos képalkotó vizsgálatok végzésére.

Az SNR, CNR és SIR eredmények jó egyezést mutattak az irodalmi adatokkal. Ezen paraméterek Gd-MDCT technika által mért értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak az MRI által mért adatokhoz képest.

Az infarctus mindhárom csőfeszültség mellett detektálható volt Gd-MDCT módszerrel. Az infarctus méretét azonban az alkalmazott csőfeszültség jelentősen befolyásolta. A normál myocardiumban észlelhető zaj jelentősen befolyásolta a MI kvantifikáció pontosságát, mivel az alkalmazott thresholding metódusok küszöbértékét a zaj mértéke határozza meg. Jelen vizsgálatunkban a Gd-MDCT technika 140kV csőfeszültség alkalmazásával mutatta a legpontosabb egyezést a referencia TTC-vel. 80kV csőfeszültség ugyanakkor jelentősen alulbecsülte az infarctus méretét, ami azzal magyarázható, hogy a csőfeszültség csökkenésével a zaj növekszik.

A vizsgált szívek esetében az LGE-MRI metódus 5SD, illetve 6SD thresholdok esetén mutatta a legpontosabb egyezést a TTC módszerrel. Alacsonyabb threshold értékeket használva az LGE-MRI túlbecsülte az infarctus méretét. Az LGE technika túlbecslésének oka jelentős részben a parciális volumen effektusban keresendő, amely elsősorban az infarctus széli, heterogén zónájában jelentkezik.

Több oka lehet annak, hogy a magas csőfeszültség alkalmazásával készült Gd-MDCT felvételek pontosabb infarctus adatokat szolgáltatnak, mint az azonos küszöböt alkalmazó MRI_{2SD} technika. Az MDCT térbeli felbontása jelentősen nagyobb, mint az MRI felbontása. A jelen vizsgálat során az MDCT voxel térfogat 0.1mm^3 , míg az MRI voxel térfogat 1.95mm^3 volt. Ez elhanyagolható parciális volumen effektust eredményezett az MDCT esetében, de jelentős effektust az MRI esetében. A különbség további oka lehet a Gd kontraszt-effektus eltérő mechanizmusa a két képalkotó eljárás esetében. Az MRI esetében a Gd kontrasztanyagok "contrast agent"-ként viselkednek, azaz, a szöveti vízmolekulák protonjaira fejtenek ki hatást, és ez a hatás észlelhető SI emelkedés formájában az MRI során. A Gd kontrasztanyag által okozott SI emelkedés nem-lineáris kapcsolatban áll a kontrasztanyag koncentrációjával. CT esetében ugyanakkor a Gd kontraszt "contrast medium"-ként funkcionál. Tehát nem a Gd által kifejtett hatást, hanem egyszerűen a Gd fizikai jelenlétét mérjük. A Gd által okozott attenuáció egyenesen arányos a Gd koncentrációjával. Az irodalom alapján azt mondhatjuk, hogy a Gd-alapú CT diagnosztikus értéke alulmarad a jódos vizsgálatokhoz képest. Evidens, hogy a Gd-MDCT kisebb kontrasztot biztosít, mint a Gd-MRI, vagy a jódos-CT, ugyanakkor, ez a kontraszt egyértelműen elegendő a normál és infarctusos myocardium elkülönítésére, akár 0.2mmol/kg Gd-DTPA alkalmazása mellett.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1 Myocardialis infarctus modell fejlesztése

Ugyan jelentős az erőfeszítés, hogy az akut MI-ban szenvedő betegek minél nagyobb hányada részesüljön revascularizációban, ennek ellenére szignifikáns számú MI marad kezeletlenül. Ez alátámasztja a létjogosultságát a nem-reperfundált infarctus kísérletes modelljeinek. Mivel a szív MRI az egyik legalkalmasabb módszerré nőtte ki magát számos cardiovascularis indikációban, ezért egy állatmodelltől elvárható, hogy MRI szempontjából biztonságos (MRI safe) és kompatibilis (MRI compatible) legyen. Tekintettel arra, hogy a jelenleg elérhető nem-reperfundált MI modellek jelentős hányadával felmerülnek problémák a biztonságosság, megbízhatóság, és MRI kompatibilitás szempontjából, egy egyszerű, költséghatékony, MRI kompatibilis modell kifejlesztésére jelentős igény mutatkozik.

Ebben a vizsgálatban bemutattunk egy új nem-reperfundált MI állatmodellt. A percutan Embozene microsphere technika egyszerűen alkalmazható és kontrollálható. A modell nem-reperfundált jellegét az infarctus indukciója után végzett coronaria angiográfiával, illetve 2, 4, 14, és 56 nap múlva végzett post-mortem vizsgálatokkal igazoltuk.

Az Embozene módszer legfőbb előnye, hogy relatíve egyszerű alkalmazni és olcsó. Az irodalomban az egyetlen modell a coil embolizáció, ami hasonló megbízhatósággal rendelkezik. A coil-ok MRI kompatibilitása azonban nem egyértelműen tisztázott. Miután az általunk bemutatott eljárás nem alkalmaz semmilyen fém komponenst, MRI szempontjából biztonságosnak és kompatibilisnek minősíthető, ahogyan ezt a nagyszámú kísérleteinkkel is igazoltuk.

5.2 Gadolínium-alapú infarctus kvantifikáció fejlesztése

Kísérleteinkkel bemutattuk, hogy az agarba ágyazott szívmodell alkalmas az ismételt, vagy különböző képalkotókat alkalmazó vizsgálatokra, különös tekintettel, ha azok koregisztrációt igényelnek egymással, vagy akár post-mortem felvételekkel. A modell segítségével demonstráltuk a Gd-MDCT alkalmasságát infarctus kvantifikációjára. A kísérleteink alapján a 140kV csőfeszültség alkalmazása nyújtotta a legpontosabb eredményeket a TTC-vel összehasonlítva.

Jelenleg a Gd-MDCT klinikai alkalmazásának lehetősége főként teoretikus. Egyrészt, további vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy a módszert in vivo körülmények között is validáljuk. Másrészt, az utóbbi időszakban megnövekedett aggodalom a Gd kontrasztanyagok biztonságával szemben jelentősen megnehezíti az indikációs körök kiterjesztését.

Kísérletes szempontból a Gd-MDCT alkalmas a Gd koncentráció meghatározására. A Gd-MDCT és LGE-MRI technikákat megfelelő koregisztráció mellett kombinálva korreláltatható az MRI által mért relaxáció (mint R1), és a CT által mért Gd koncentráció (mint denzitás) bármely szövetben ami Gd-ot halmoz (pl. infarctus, tumorok). Ezzel lehetőség nyílik a Gd kontraszthalmazos MRI független, akár in vivo validációjára.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálatunkban demonstráltuk az Embozene részecskék alkalmasságát nem-reperfundált MI létrehozására, illetve demonstráltuk a modell MRI kompatibilitását. Az általunk bemutatott módszer alternatívaként használható nem-reperfundált MI generálására.

Másik vizsgálatunkban ex vivo körülmények között bemutattuk a Gd-MDCT technika alkalmasságát MI vizsgálatára. Gd-MDCT alkalmas az infarctus kvantifikációjára a post-mortem referenciával megegyező pontossággal.

7. ÚJ EREDMÉNYEK

1. Kidolgoztunk egy új, költséghatékony percután technikát nem-reperfundált infarctus generálására.
2. Nagy számú MRI kísérletben bizonyítottuk az új infarctus modell MRI kompatibilitását.
3. Post-mortem vizsgálatokkal igazoltuk, hogy az Embozene részecskék permanens occlusiot és következményes thrombosist okoznak. Az occlusio megbízhatóan fennmarad akár 56 napon keresztül a MI indukcióját követően.
4. Kidolgoztunk egy ex vivo metódust, az agarba ágyazott szívmodellt, amely alkalmas olyan sorozatos képalkotó vizsgálatok lebonyolítására, amelyeknél a koregisztráció miatt elvárás a minta stabil pozíciója.
5. Demonstráltuk, hogy a Gd-MDCT technika alkalmas a myocardialis infarctus detektálására.
6. Szintén bemutattuk, hogy a Gd-MDCT technika megfelelő beállítások mellett alkalmas az infarctus pontos kvantifikálására.
7. Vizsgálatainkkal bebizonyítottuk, hogy a Gd-MDCT technika hasonló pontossággal képes meghatározni az infarctus méretét, mint az in vivo referenciaként használt LGE-MRI, és a post-mortem referenciaként ismert TTC technikák.

8. A SZERZŐ KÖZLEMÉNYEI

8.1 A dolgozat alapjául szolgáló lektorált eredeti közlemények

1. Varga-Szemes A, Kiss P, Brott BC, Wang D, Simor T, Elgavish GA: Embozene™ Microspheres Induced Non-reperfused Myocardial Infarction in an Experimental Swine Model. *Catheter Cardiovasc Interv* 2013;81(4):689-97 **IF: 2.398**
2. Varga-Szemes A, Ruzsics B, Kirschner R, Singh SP, Kiss P, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Determination of Infarct Size in Ex Vivo Swine Hearts by Multi-detector Computed Tomography Using Gadolinium as Contrast Medium. *Invest Radiol* 2012;47(5):277-283 **IF: 4.665**

8.2 A dolgozat alapjául szolgáló lektorált absztraktok

1. Varga-Szemes A, Ruzsics B, Kirschner R, Singh SP, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Determination of Infarct Size In Ex Vivo Swine Hearts Using Gadolinium-Enhanced Multi-Detector Computed Tomography. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2010;45:S53. 5th Annual Scientific Meeting of the Society of Cardiovascular Computed Tomography, 2010, Las Vegas, NV, USA
2. Varga-Szemes A, Ruzsics B, Kirschner R, Singh SP, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Gadolinium-Enhanced Multi-Detector Computed Tomography for the Evaluation of Myocardial Infarct. 38th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2010, Seattle, WA, USA
3. Varga-Szemes A, Kiss P, Brott BC, Simor T, Elgavish GA: Embozene microspheres for the generation of non-reperfused myocardial infarction. 39th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2011, Baltimore, MD, USA

8.3 A dolgozat témájához közvetlenül nem kapcsolódó lektorált eredeti közlemények

1. Faludi R, Toth L, Komocsi A, Varga-Szemes A, Simor T, Papp L: Chronic Postinfarction Pseudo-pseudoaneurysm Diagnosed by Cardiac MRI. *J Magn Reson Imaging* 2007;26:1656-1658
2. Kirschner R, Toth L, Varga-Szemes A, Simor T, Suranyi P, Ruzsics B, Kiss P, Toth A, Baker R, Brott BC, Litovsky S, Elgavish A, Elgavish GA: Differentiation of Acute and Four-week Old Myocardial Infarct with Gd(ABE-DTTA)-enhanced CMR. *J Cardiovasc Magn Reson* 2010;12:22
3. Simor T, Suranyi P, Ruzsics B, Toth A, Toth L, Kiss P, Brott BC, Varga-Szemes A, Elgavish A, Elgavish GA: Percent Infarct Mapping for Delayed Contrast Enhancement MR Imaging to Quantify Myocardial Viability by Gd(DTPA). *J Magn Reson Imaging* 2010;32:859-868
4. Kirschner R, Varga-Szemes A, Simor T, Suranyi P, Kiss P, Ruzsics B, Brott BC, Elgavish A, Elgavish GA: Acute Infarct Selective MRI Contrast Agent. *Int J Cardiovasc Imaging* 2012;28(2):285-93
5. Kirschner R, Varga-Szemes A, Brott BC, Litovsky S, Elgavish A, Elgavish GA, Simor T: Quantification of myocardial viability distribution with Gd(DTPA) bolus-enhanced, signal intensity-based percent infarct mapping. *Magn Reson Imaging* 2011;29(5):650-8

8.4 A dolgozat témájához közvetlenül nem kapcsolódó lektorált absztraktok

1. Toth L, Faludi R, Fodi E, Knausz M, Varga-Szemes A, Papp L, Simor T: Evidence Based, MRI Strengthened Risk Stratification Strategy for Hypertrophic Cardiomyopathy Patients – A Follow

- Up Study. Eur J Echocardiogr 2006;7:S205. 10th Annual Meeting of the European Association of Echocardiography, 2006, Prága
2. Toth L, Faludi R, Fodi E, Knausz M, Varga-Szemes A, Repa I, Papp L, Simor T: Cardiac MRI for the Assessment of Risk of Sudden Cardiac Death in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. Abstract Book p136. 5th Annual Meeting of the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging, 2006, Bécs
 3. Toth L, Varga-Szemes A, Faludi R, Toth A, Papp L, Simor T: MRI Study in Isolated Left Ventricular Noncompaction. J Magn Reson Imaging 2007;9:406-407. 10th Annual Meeting of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance, 2007, Róma
 4. Varga-Szemes Á, Tóth L, Faludi R, Tóth A, Repa I, Papp L, Simor T: Szív MR vizsgálat izolált bal kamrai nonkompakt cardiomyopathiás betegeken. Cardiologia Hungarica 2007;37:A72. Magyar Kardiológusok Társasága Tudományos Kongresszusa, 2007, Balatonfüred
 5. Tóth L, Horváth I, Varga-Szemes Á, Kántor M, Repa I, Papp L, Simor T: A szívizominfarktusz nagyságának vizsgálata krónikusan elzárt koszorúsér-ellátási területén szív MRI-vel. Cardiologia Hungarica 2007;37:A52. Magyar Kardiológusok Társasága Tudományos Kongresszusa, 2007, Balatonfüred
 6. Toth L, Faludi R, Toth A, Varga-Szemes A, Repa I, Papp L, Simor T: Correlation of the Extent of Left Ventricular Noncompaction and Left Ventricular Function. Eur J Heart Failure 2007;6:S161. Heart Failure Congress, 2007, Hamburg
 7. Varga-Szemes Á, Tóth L, Faludi R, Papp L, Simor T: EKG eltérések vizsgálata nonkompakt kardiomiopátiás betegeken. Cardiologia Hungarica 2007;37:C3. VI. Aritmia és Pacemaker Kongresszus, 2007, Szeged
 8. Toth L, Varga-Szemes A, Faludi R, Sepp R, Nagy V, Repa I, Varga A, Forster T, Papp L, Simor T: Which are the Determinant Factors Altering Left Ventricular Function and Clinical Outcome of Patients with Isolated Noncompact Cardiomyopathy? Eur J Echocardiogr 2007;8:S165. 11th Annual Meeting of the European Association of Echocardiography, 2007, Lisabon
 9. Varga-Szemes Á, Tóth L, Faludi R, Papp L, Simor T: A regionális bal kamra funkció vizsgálata izolált bal kamrai nonkompaktációban. Cardiologia Hungarica 2008;38:B7 Magyar Kardiológusok Társasága Tudományos Kongresszusa, 2008, Balatonfüred
 10. Mánfai B, Faludi R, Rausch P, Tahin T, Földi E, Tóth L, Varga-Szemes Á, Papp L, Simor T: A bal pitvar reverz-remodellációja pitvarfibrilláció radiofrekvenciás ablációja után. Cardiologia Hungarica 2008;38:B43 Magyar Kardiológusok Társasága Tudományos Kongresszusa, 2008, Balatonfüred
 11. Varga-Szemes A, Toth L, Faludi R, Papp L, Simor T: Novel Parameter for the Evaluation of Left Ventricular Noncompaction. Abstract CD #54. 6th Annual Meeting of the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging, 2008, Lisabon
 12. Kántor M, Toth L, Varga-Szemes A, Horvath I, Papp L, Simor T: The Relationship Between of the Extent of Myocardial Infarction and Global Cardiac Function in Chronic Total Occlusion in the Presence and Absence of Coronary Collateral Circulation. Abstract CD #35. 6th Annual Meeting of the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging, 2008, Lisabon

13. Varga-Szemes A, Toth L, Faludi R, Papp L, Simor T: Assessment of Regional Left Ventricular Function in Isolated Left Ventricular Noncompaction. Eur J Heart Failure 2008;7:S33. Heart Failure Congress, 2008, Milánó
14. Varga-Szemes A, Toth L, Faludi R, Papp L, Simor T: Assessment of ECG Abnormalities in Patients with Left Ventricular Noncompaction. Eur J Echocardiogr 2008;9:S96-97. 12th Annual Meeting of the European Association of Echocardiography, 2008, Lion
15. Faludi R, Toth L, Varga-Szemes A, Fodi E, Simor T: Correlations Between Systolic and Diastolic Function in a Group of Subjects with Variable Degrees of Left Ventricular Diastolic and Systolic Dysfunction. Eur J Heart Failure 2009;8:S1456. Heart Failure Congress, 2009, Nizza
16. Kirschner R, Varga-Szemes A, Toth L, Simor T, Suranyi P, Ruzsics B, Kiss P, Toth A, Baker R, Brott BC, Litovsky S, Elgavish A, Elgavish GA: Reinfarction-Specific Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent. J Am Coll Cardiol 2010;55:A84. 59th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology, 2010, Atlanta, GA
17. Singh SP, Varga-Szemes A, Goetze S, Nath H: Feasibility of combined adenosine augmented SPECT and MDCT for evaluation of myocardial perfusion and coronary artery morphology. J Cardiovasc Comput Tomogr 2010;45:S71. 5th Annual Scientific Meeting of the Society of Cardiovascular Computed Tomography, 2010, Las Vegas, NV
18. Kirschner R, Varga-Szemes A, Toth L, Simor T, Suranyi P, Kiss P, Ruzsics B, Toth A, Brott BC, Elgavish A, Elgavish GA: Acute Infarct Selective MRI Contrast Agent. J Am Coll Cardiol 2010;56:B88. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics Conference, 2010, Washington, DC
19. Varga-Szemes A, Kirschner R, Toth L, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA. In Vivo R1 Based Percent Infarct Mapping Using Continuous Gd(DTPA) Infusion Aided Magnetic Resonance Imaging. 38th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2010, Seattle, WA
20. Singh SP, Varga-Szemes A, Goetze S, Nath H: Quantitative Evaluation of Myocardial Perfusion Abnormalities Using Adenosine Augmented MDCT and SPECT. 38th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2010, Seattle, WA
21. Kirschner R, Varga-Szemes A, Toth L, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Accurate Determining of Myocardial Viability Distribution with Percent Infarct Mapping. 38th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2010, Seattle, WA
22. Kirschner R, Varga-Szemes A, Toth L, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Acute Infarct Selective Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent. 38th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2010, Seattle, WA
23. Singh SP, Varga-Szemes A, Goetze S, Nath H: Feasibility of Combined Adenosine Augmented SPECT and MDCT for Evaluation of Myocardial Perfusion and Coronary Artery Morphology. Abstract# LL-CAS-TH2B. 96th Scientific Assembly and Annual Meeting of the Radiological Society of North America, 2010, Chicago, IL
24. Pump Á, Rausch P, Varga-Szemes Á, Tahin T, Papp L, Simor T: Perzisztens pitvarfibrilláló betegeknel végzett pulmonalis véna izoláció hatékonysága néhány kiemelt paraméterre vonatkozóan. Cardiologia Hungarica 2010;37:C3. VII. Aritmia és Pacemaker Kongresszus, 2010, Budapest

25. Pump A, Simor P, Rausch P, Varga-Szemes A, Tahin T, Papp L: Efficacy of pulmonary vein isolation for persistent atrial fibrillation regarding some specific parameters. J Cardiovasc Electrophysiol 2011;22:S105. 12th International Workshop on Cardiac Arrhythmias, 2011, Velece
26. Kirschner R, Varga-Szemes Á, Simor T, Elgavish GA. A szívinfarktus korának differenciálása GD(ABE-DTTA) MRI kontrasztanyaggal. Cardiologia Hungarica 2011;41:F57, Magyar Kardiológusok Társasága Tudományos Kongresszusa, 2011, Balatonfüred
27. Kirschner R, Varga-Szemes A, Simor T, Brott BC, Litovsky S, Elgavish A, Elgavish GA: Quantification of infarct size and mixing of necrotic and viable myocardial tissue with signal intensity-based percent infarct mapping. Eur Heart J 2011;32:S46. Annual meeting of the European Society of Cardiology, 2011, Párizs
28. Varga-Szemes A, Kirschner R, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Percent Infarct Mapping for the evaluation of chronic myocardial infarction. 39th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2011, Baltimore, MD
29. Varga-Szemes A, Kirschner R, Brott BC, Simor T, Elgavish A, Elgavish GA: Myocardial infarct density distribution by MRI. 40th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2012, Pasadena, CA
30. Varga-Szemes A, Kirschner R, Brott BC, Simor T, Elgavish GA: Contrast uptake kinetics of microvascular obstruction in a reperfused and a non-reperfused acute infarct model. 40th Annual Meeting of the North American Society for Cardiovascular Imaging, 2012, Pasadena, CA

9. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Mindenek előtt szeretném kifejezni hálámat mentoromnak, Simor Tamás Professor Úrnak, aki nemcsak megismertette velem a szív MRI világát, de rendületlenül támogatott és bátorított a PhD tanulmányaim során, még több ezer kilométer távolságból is.

Szeretném megköszönni a segítséget, útmutatást és támogatást, amit Gabriel Elgavish Professor Úrtól kaptam. Az Elgavish Professor Úr által teremtett tökéletes atmoszféra biztosította a zavartalan tanulást és munkát, mely nélkülözhetetlen volt a tudományos fejlődésemben.

Különösen sok köszönettel tartozom az elmúlt évek közös munkájáért a következő kollégáimnak: Dr. Bodnár Tamás, Dr. Faludi Réka, Dr. Földi Eszter, Dr. Kirschner Róbert, Dr. Kiss Pál, Dr. Lenkey Zsófia, Dr. Ruzsics Balázs, Dr. Surányi Pál, és Dr. Tóth Levente. Emellett hálámat szeretném kifejezni a Szívgyógyászati Klinika korábbi és jelenlegi vezetőjének, Papp Lajos és Szabados Sándor Professor Uraknak, akik nemcsak a terveimben támogattak, de lehetővé tették egykori kalandozásaimat a szívsebészet világában.

Köszönet illeti továbbá a kutatásaimban résztvevőket (Dr. Brigitta C. Brott, Dr. Ada Elgavish, Dr. Satinder P. Singh, és Dr. Dezhi Wang), akik tudásukkal és önzetlenségükkel jelentősen hozzájárultak a munkámhoz, illetve szintén köszönettel tartozom a University of Alabama at Birmingham Animal Resources Program munkatársainak, akik nélkülözhetetlen szerepet tölthettek be az állakísérleteinkben (Dr. Robert A. Baker, Dr. Eric D. Dohm, Dr. Cheryl R. Killingsworth, és Deidra H. Isbell).

Szükségesnek tartom megemlíteni a National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute által szponzorált granteket (R41 HL-080886, R41 HL-084844), melyek nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Végül, de nem utolsó sorban, hálával tartozom szüleimnek, feleségemnek és kislányomnak az éveken át tartó türelmükért és támogatásukért.