



FAKULTNÍ NEMOCNICE[®]
OLOMOUC



Lékařská
fakulta

Univerzita Palackého
v Olomouci



KOMPLEXNÍ
KARDIOVASKULÁRNÍ CENTRUM
FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC

Renální denervace u ovcí: hodnocení histomorfologických změn renálních arterií a nervů, srovnání jedno- a multielektrodových ablačních katetrů

D. Richter, M. Táborský, L. Červenka*, L. Kopkan*,
Z. Tonar**, A. Herman*, J. Peregrin*, I. Mrázová*,
Z. Šimůnková*, M. Kamasová

* Centrum experimentální medicíny, IKEM Praha

** Ústav histologie a embryologie, LF UK Plzeň

Renální denervace (RDN) v humánní medicíně

- Několik systémů pro RDN - většina RF, event. UZ:
- bezpečná metoda + pozitivní výsledky prvních studií
- od r. 2011 léčba rezistentní HN v ČR - boom RDN (2011-2015 ve FN Olomouc 75 výkonů)
- r. 2015 stop RDN v ČR (Odborné stanovisko ČKS) - bezpečná metoda, ale nedostatečný průkaz efektu (studie Symplicity HTN-3, Prague 15)
- Klinický efekt RDN - některé problémy:
 - 15 % akutních non-responderů + 30-40 % výskyt „escape“ fenoménu v průběhu měsíců (reinervace ?)
 - optimální počet lézí/tepnu ? (studie 4-5...praxe 8-11)

Renální denervace (RDN) v humánní medicíně

1. systém: Symplicity Flex™
Medtronic
(jednoelektrodový RF
katetr)

EnligHTN™ St. Jude Medical
(multielektrodový RF
„Basket“ katetr)



Renální denervace - animální histologická studie

- IGA grant č. 15-34123A, řešení 2015-2019, název: Srovnání bezpečnosti a efektivity RDN u ovcí při použití různých technických systémů (návaznost na práci Booth et al. 2015)
- **Hlavní cíl: histologický průkaz denervace sympatických nervů v periadventiciálním prostoru renálních tepen :**
 - 1. akutní efekt RDN (za 48 hod.)**
 - 2. subakutní efekt RDN (za 10-11 dnů)**
- TK neměřen
- Ovce suffolk, hmotnost 35-48 kg
- Etický kodex animální studie



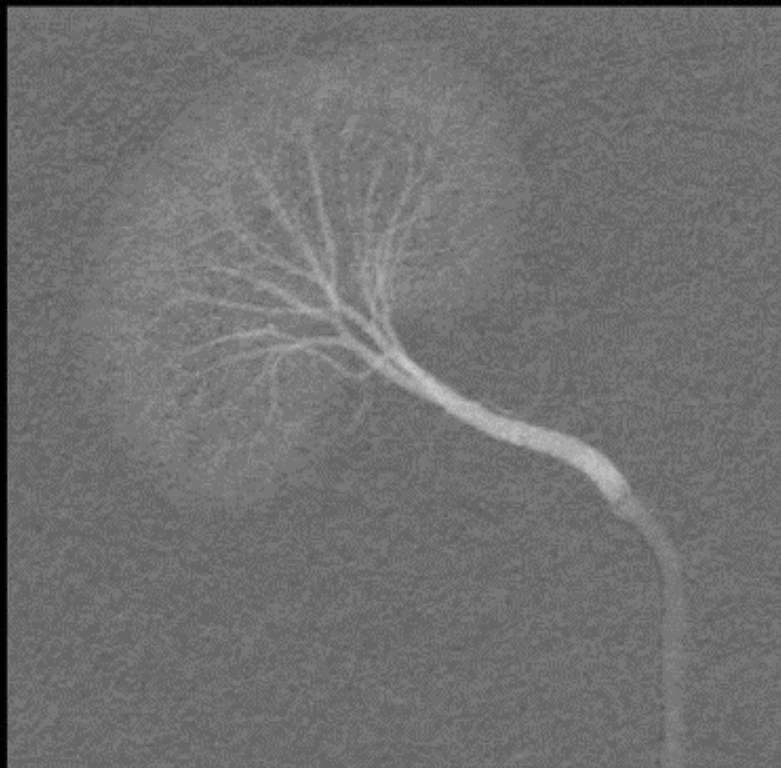
Metodika I.

- Celková anestezie s umělou plicní ventilací
- **Pravostranná RDN** po preparaci pravé femorální tepny (**levá ren. arterie a ledvina jako referenční**), diametr tepen po nitrátu 4-5mm, **8-12 „úspěšných“ RF lézí v tepně** v cloně heparinu 4-5 tis. i.u. , angiografická kontrola
- **6 + 6 ovcí (akutní + subakutní efekt):** jednoelektrodový systém Symplicity Flex
- **6 + 6 ovcí (akutní + subakutní efekt):** multielektrodový systém EnligHTN „Basket“
..... automatické ablátory s bezpečnostními prvky (parametry nelze měnit: 4-8 W, 90-120 s, TT 50-70 °C...)
- **6 ovcí (akutní efekt):** klasický cooling-proplachový EF katetr: 20-25W, 60 s, TT 30-42 °C závažné trombo-embolizační příhody (velké infarkty ledvin) ve 4/6 případů !! - **vyřazená větev**, podrobněji histologicky nehodnocena

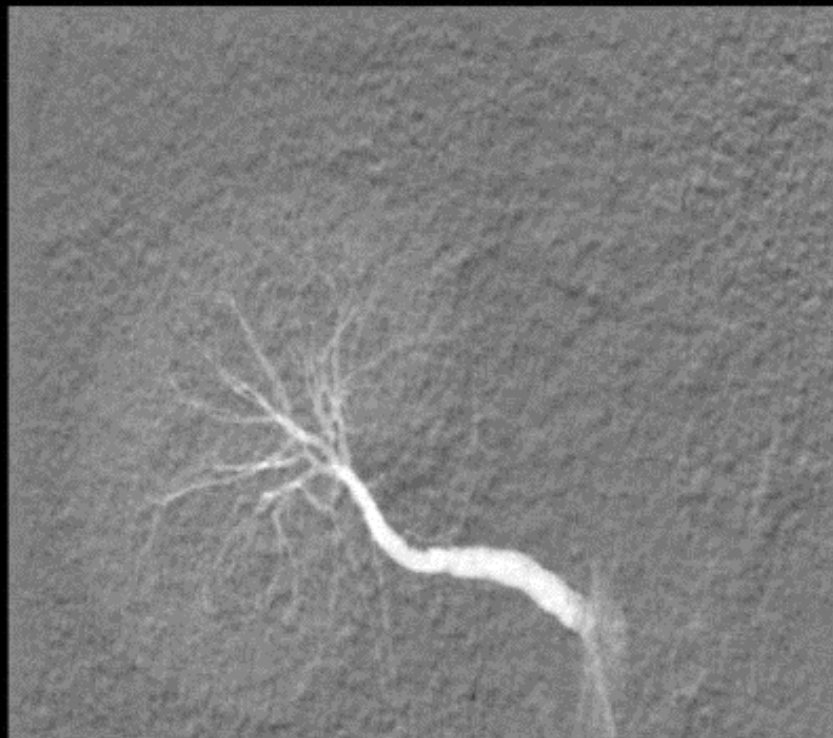
Metodika II.

- Ukončení výkonu: podvaz pravé femor. tepny a vyvedení z anestésie (nedochází k ischemii zadního běhu)
- **Za 48 hod. (akutní efekt RDN), resp. 10-11 dnů (subakutní efekt RDN):** opět anestésie a intubace, kontrolní renální angiografie (cestou levé femor. tepny), usmrcení ovce (thiopental + KCl i.v.), **en bloc odběr obou ledvin, nadledvin a ren. tepen**
- **Následné komplexní histologické vyšetření** (8-9 transverzálních řezů- vzorků každé ren. arterie, vyš. ledvin a nadledvin, typy barvení: hematoxylin-eosin, Verhoeffův hematoxylin, zelený trichrom, Malloryho trichrom, orcein, imunohistochemická vyšetření s protilátkami proti aktinu hladkých svalů, neurofilamentům atd.)

Ovce – před RDN



Ovce – po RDN



Histologické výsledky I.

- Histologický skórovací systém:** transverzální řezy á 3mm ren. arterií s přilehlými sympat. nervy (od ostia až k sekund. větvení- 7-9 vzorků na denervované i nedenerované tepně)

Injury assessment of the post-RDN renal artery

Points per each arterial segment	Histological injury found in renal artery
0	no histological signs of injury
1,2,3,4	eccentric focal damage and weakening of the wall
1,2,3,4	collagen denaturation
1,2,3,4	damaged elastic membranes
1,2,3,4	loss of immunopositivity for alpha-smooth muscle actin
1,2,3,4	damage to the vasa vasorum
1	presence of intraluminal thrombus

Injury assessment of the post-RDN peripheral nerves accompanying the renal artery

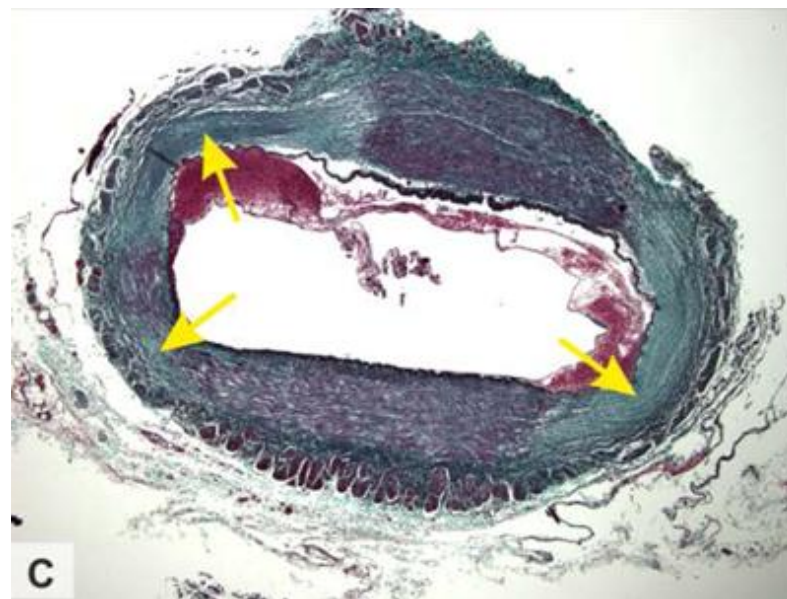
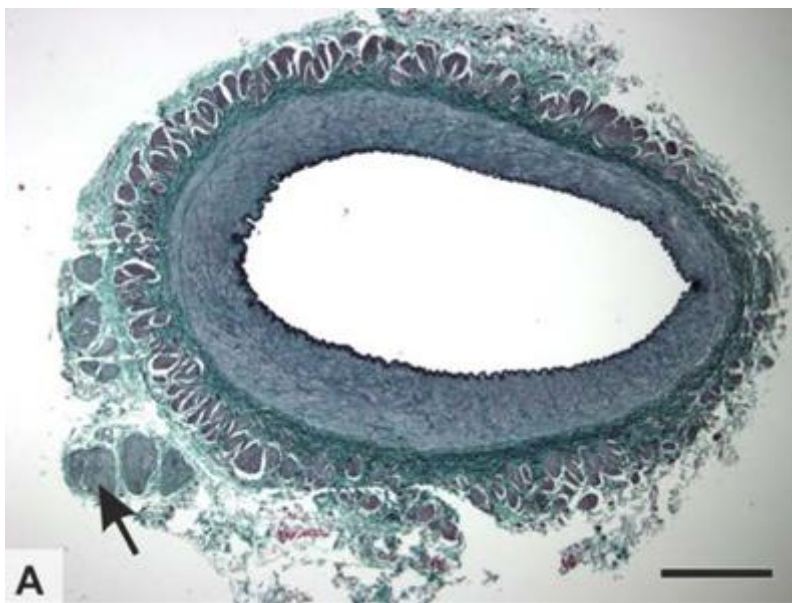
Points per each nerve segment	Histological injury found in nerves surrounding the renal artery
0	no histological signs of injury
1,2,3,4	hyperemia of nerve
1,2,3,4	destructive fragmentation or complete loss of nuclei of Schwann cells
1,2,3,4	damage to the inner nerve structure: loss of neurilemma and structure of the endoneurial connective tissue
1,2,3,4	loss of immunopositivity for neurofilament protein
1,2,3,4	loss of immunopositivity for tyrosine hydroxylase

Histologické výsledky II. – renální arterie

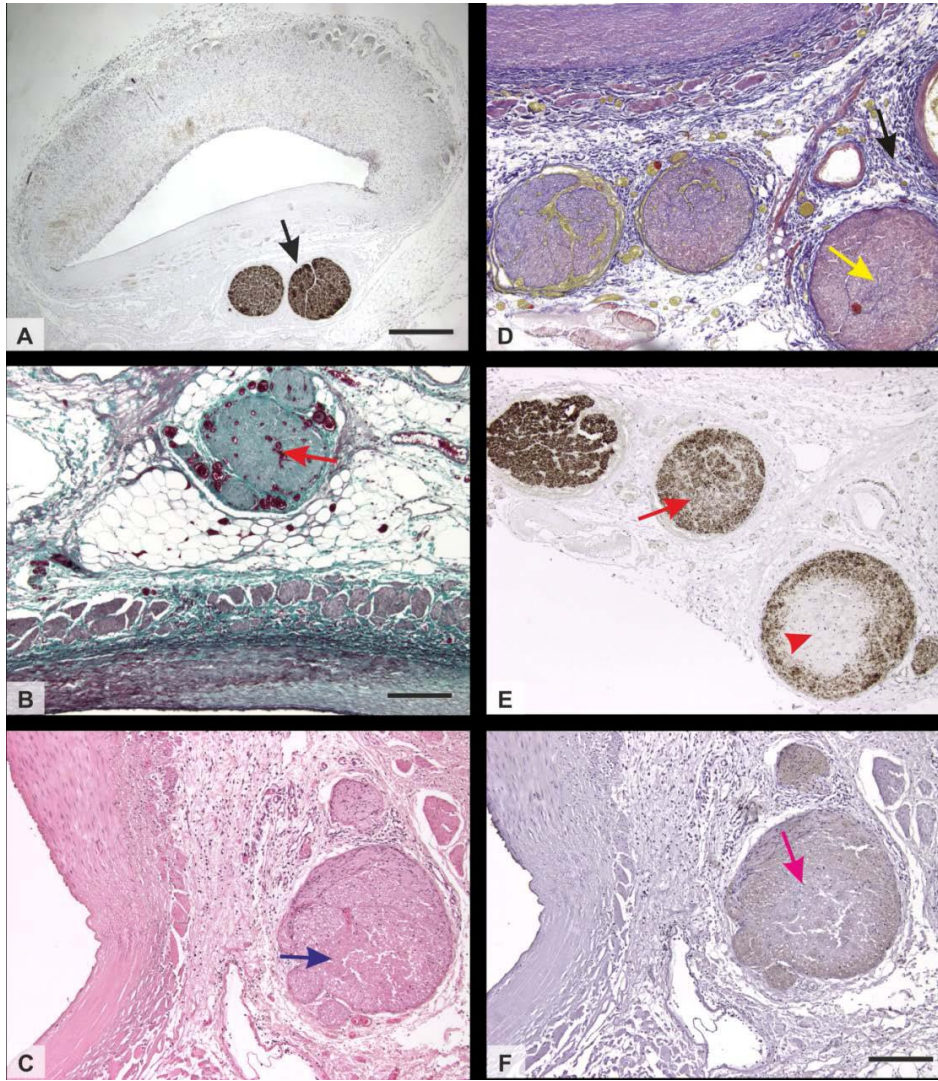
- RDN - za 48.hod. „běžný“ výskyt mikroskopických trombů na intimě v místech RF lézí – zcela vymizel za 10-11.dnů (bez manifestních klinických důsledků typu renálních mikro/infarktů- shoda s OCT nálezy těsně po RDN u lidí), za 10-11 dnů již patrné známky počínající reparace cévní stěny

Normální nález – tepna i nerv (šipka)

Denaturace kolagenu (šipky), trombus



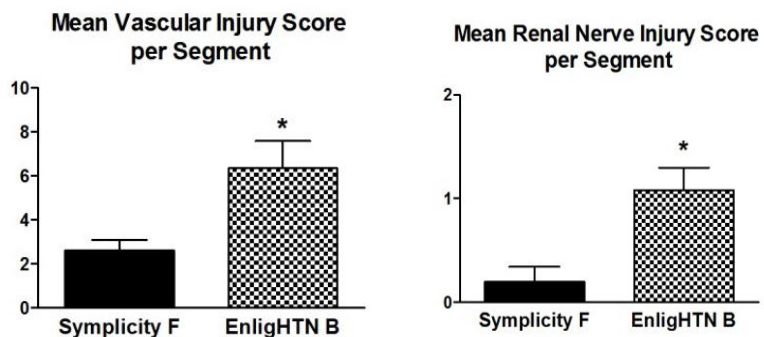
Histologické výsledky III. – sympatické nervy



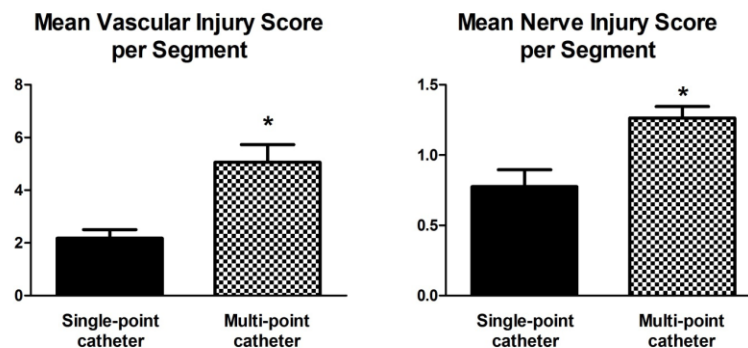
- A – normální nález
- B – hyperémie nervu
- C – fragmentace a ztráta jader gliových buněk
- D – ztráta jemné struktury endoneurinální pojivové tkáně mezi nervovými vlákny
- E – částečná až úplná ztráta neurofilamentárního proteinu
- F – ztráta imunohistopozitivity pro tyrozinhydroxylázu (stěžejní enzym pro tvorbu neurotransmiterů)

Histologické výsledky IV. – srovnání obou RF systémů

akutní efekt (48 hod. po RDN)



subakutní efekt (10-11 dnů po RDN)



Závěry – akutní + subakutní efekt RDN u ovcí

- 100% bezpečnost obou RDN-systémů
- Zcela kompletní histologicky prokazatelné sympatické denervace nedosaženo žádným z obou ablačních RDN-systémů ani u jedné z ovcí
- Multielektrodový systém (EnligHTN™ „Basket“): inkompletní „histologická“ denervace, tj. multifokální významné poškození nervů v místě provedených RF lézí – při stejném počtu RF lézí je mnohem efektnější než :
- Jednoelektrodový systém (Symplicity Flex™): jen minimální poškození nervů (...etiol. větší kontaktní plocha jednotlivé elektrody ??, „rozpor“ ? s výsledkem předchozí práce Booth et al. 2015)
- Fokální bodové „RF zničení“ sympatického nervu nevede k jeho celkovému „odumření“ distálně od RF léze ! – anatomické (i funkční) vzájemné mnohočetné křížení nervových vláken (více než u lidí)

Limitace – rozdíly oproti lidské populaci

Efekt RDN u ovcí může být negativně ovlivněn:

- standardně oproti lidem přítomná navíc jedna vrstva (zevní) svaloviny tunica media ren. tepny
- větší vzdálenost (hlavně relativní) intima – adventiciální nerv než u lidí, ale i dosti velká variabilita hustoty a vzdálenosti (uložení) nervů v průběhu ren. tepny u téže ovce
- četnější „fenomén křížení“ nervových vláken než u lidí



DĚKUJI ZA POZORNOST

FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC



KOMPLEXNÍ
KARDIOVASKULÁRNÍ CENTRUM
FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC