



FAKULTNÍ NEMOCNICE®  
OLOMOUC



Lékařská  
fakulta

Univerzita Palackého  
v Olomouci



KOMPLEXNÍ  
KARDIOVASKULÁRNÍ CENTRUM  
FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC

# REÁLNÁ EFEKTIVITA KATETRIZAČNÍ RENÁLNÍ DENERVACE NA SYMPATICKOU RENÁLNÍ INERVACI: Animální histologická studie

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 8-10)

# 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 (48 hod.) po provedené RDN**
  - 2. za 9 měsíců po RDN (hypotéza možné reinervace)**
- TK neměřen
- Ovce suffolk, hmotnost 35-48 kg
- Etický kodex animální studie



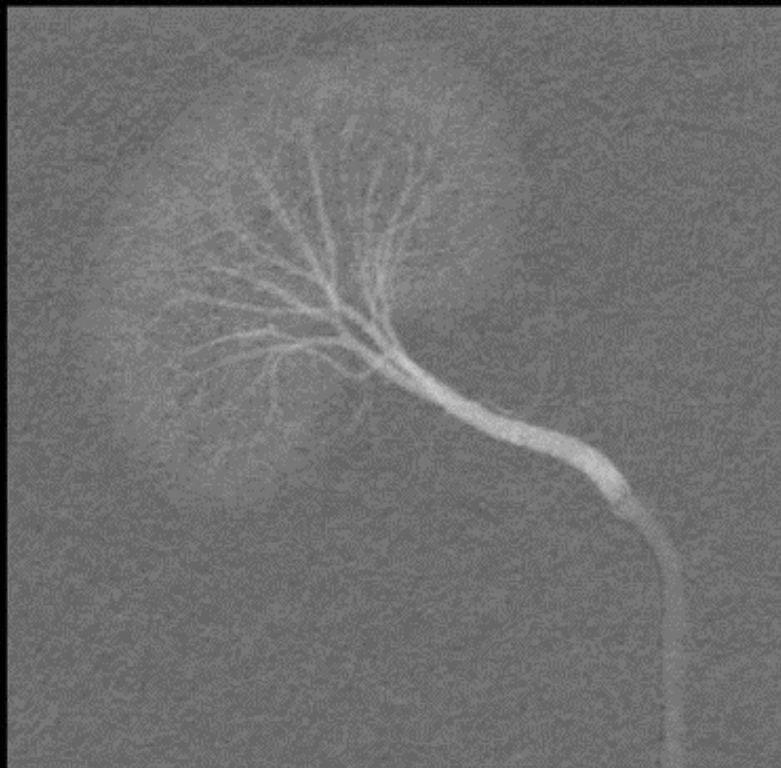
# Metodika I. – akutní efekt RDN

- Celková anestezie s umělou plicní ventilací
- Pravostranná RDN po preparaci pravé femorální tepny (levá ren. arterie, ledvina a nadledvina jako histologicky referenční), diametr tepen po nitrátu 4-5mm, 8-12 „úspěšných“ RF lézí v tepně v cloně heparinu 4000-5000 i.u. (dle hmotnosti), angiografická kontrola
- **6 ovcí:** jednoelektrodový systém Symplicity Flex
- **6 ovcí:** multielektrodový systém EnligHTN „Basket“  
..... automatické ablátory s bezpečnostními prvky (parametry nelze měnit: 4-8 W, 90-120 s, TT 50-70 °C...)
- **6 ovcí:** klasický cooling-proplachový EF katetr: 20-25W, 60 s, TT 30-42 °C  
..... závažné trombo-embolizační příhody (velké infarkty ledvin) ve 4/6 případech !! - **vyřazená větev**, podrobněji histologicky nehodnocena

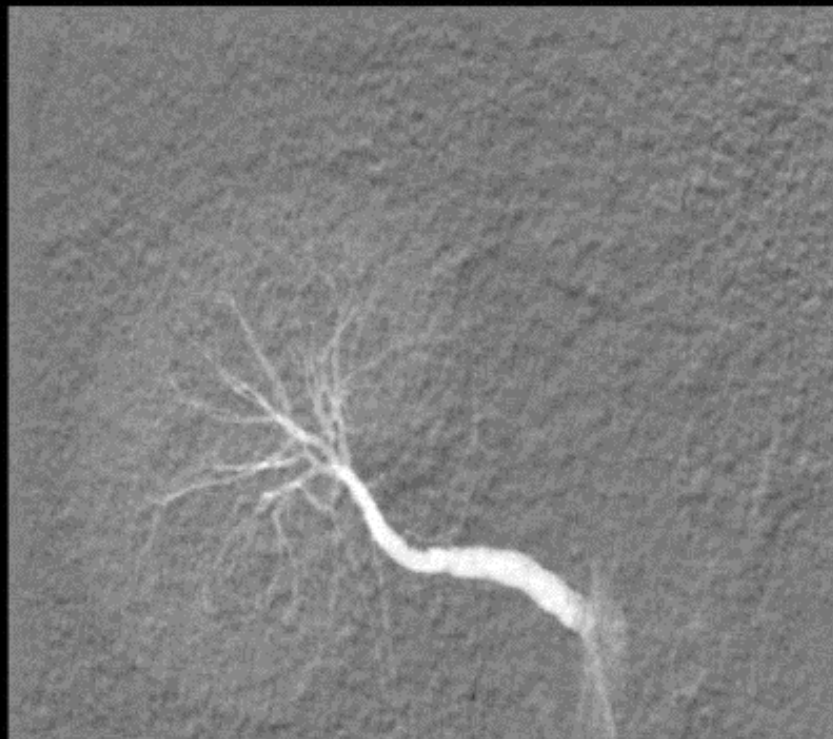
## Metodika II. – akutní efekt RDN

- Ukončení výkonu: podvaz pravé femor. tepny a vyvedení z anestésie (nikdy nedochází k ischemii zadního běhu)
- Za 48 hod. 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 – RDN



# Ovce – kontrola za 48 hod. 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

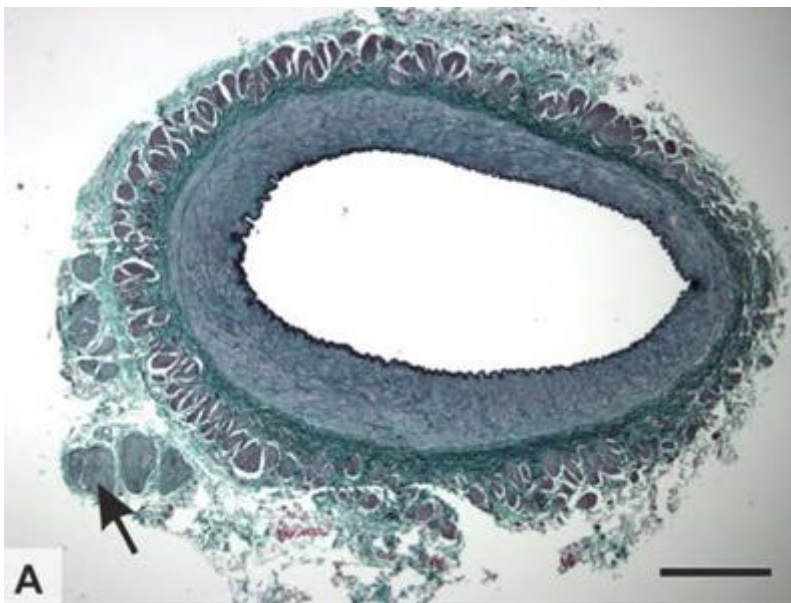
Injury assessment of the post-RDN peripheral nerves accompanying the renal artery

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

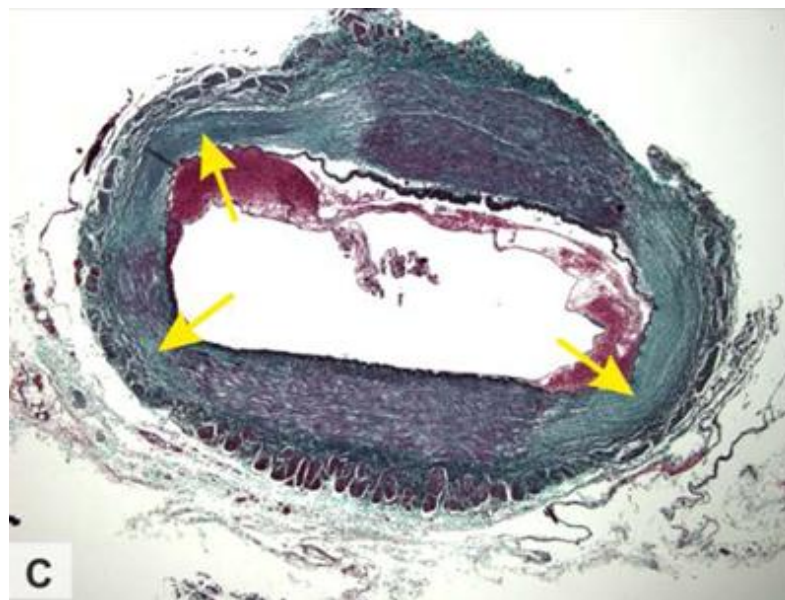
# Histologické výsledky II. – renální arterie

- RDN - bezpečná metoda bez komplikací (alespoň do 48 hod. po výkonu), pravidelný výskyt mikroskopických trombů na intimě ren. tepen v místech RF lézí bez manifestních klinických důsledků typu renálních mikro/infarktů - shoda s OCT nálezy těsně po RDN u lidí

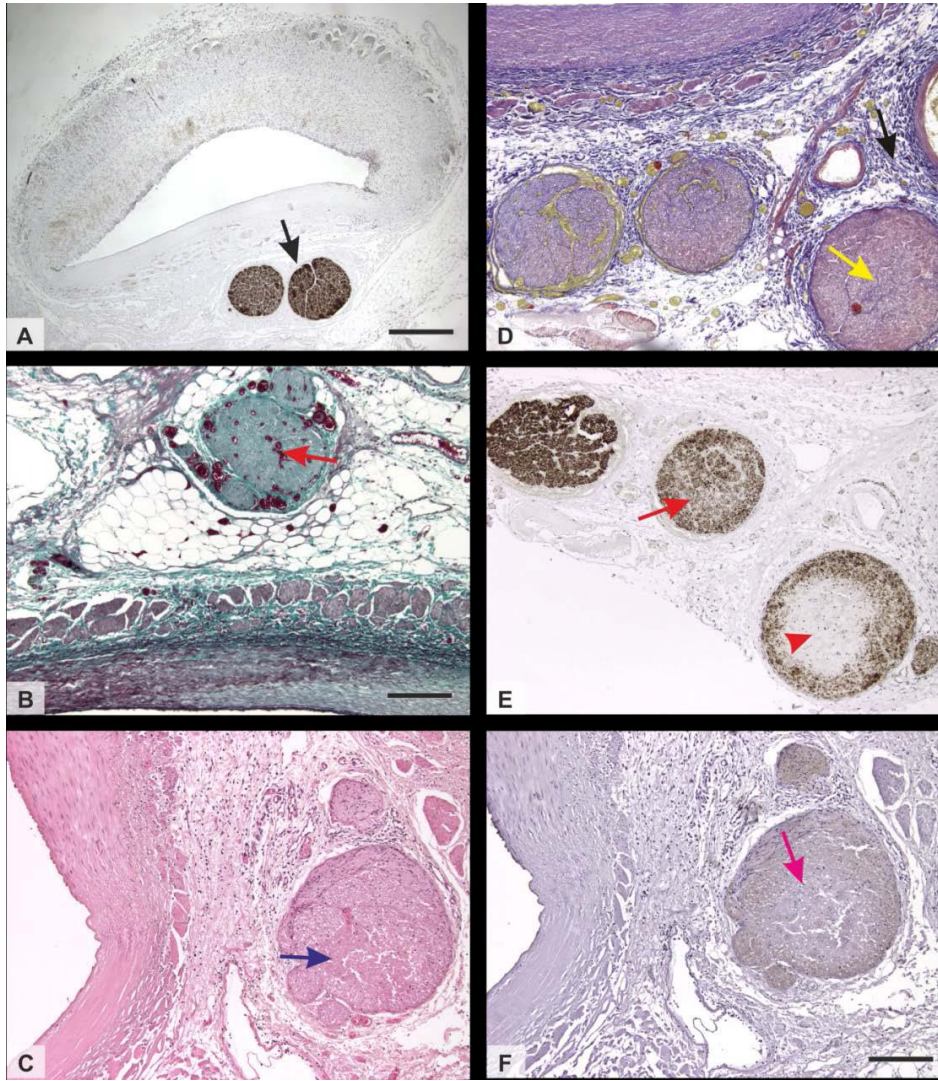
Normální nález – tepna i nerv (šipka)



Denaturace kolagenu (šipky), trombus



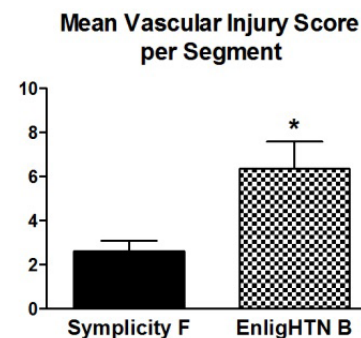
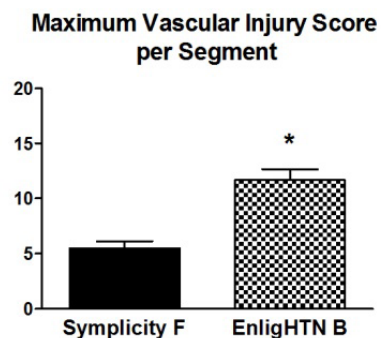
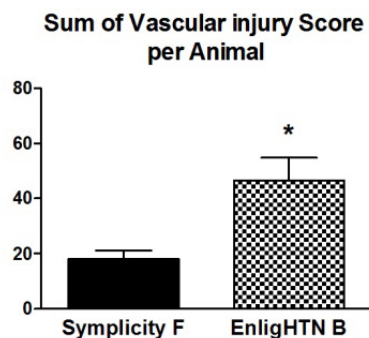
# Histologické výsledky III. – sympatické nervy



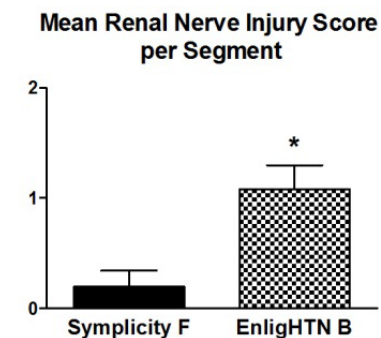
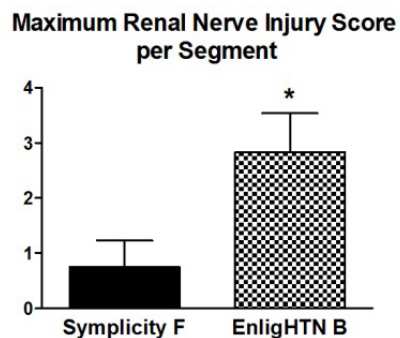
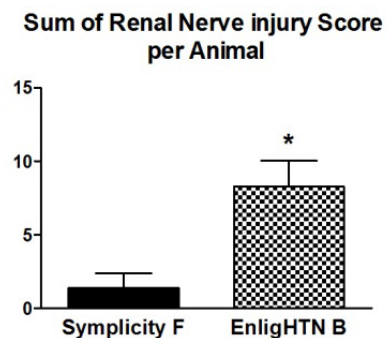
- A – normální nález
- B – hyperémie nervu
- C – fragmentace a ztráta jader gliových buněk
- D – ztráta jemné struktury endoneurinální pojivové tkáně mezi nervovými vlákny
- E – částečná až úplná ztráta neurofilamentárního proteinu
- F – ztráta imunohistopozitivity pro tyrozinhydroxylázu (stěžejní enzym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

# Histologické výsledky IV. – srovnání obou RF systémů

## A



## B



# Závěry – akutní efekt RDN (48 hod.) u ovcí

- Zcela kompletní histologicky prokazatelné sympatické denervace nedosaženo žádným z obou ablačních RDN-systémů ani u jedné z ovcí
- Multielektrodivý systém (EnligHTN™ „Basket“): inkompletní „histologická“ denervace, tj. multifokální významné poškození nervů v místě provedených RF lézí
- Jednoelektrodivý systém (Symplicity Flex™): jen minimální poškození nervů (stejný počet provedených lézí....etiolog. větší kontaktní plocha elektrody ??) ..... „rozpor“ ? s výsledkem předchozí práce Booth et al. 2015
- Fokální bodové „RF zničení“ sympatického nervu nevede k jeho celkovému „odumření“ v celé délce – anatomické (i funkční) vzájemné mnohočetné křížení nervových vláken (idem u lidí)
- 100% „akutní“ bezpečnost (do 48 hod.) obou RDN-systémů

# Limitace – rozdíly oproti lidské populaci

U ovcí:

- pozn.- levá ren. arterie níže než pravá – zřejmě nemá vliv na efekt RDN

## **Efekt RDN o 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
- možnost opožděného „definitivního histologického efektu“ detekovatelného až za více než 48 hod. po RDN (literárně i až za 7 a více dnů) - t.č. grant pokračuje další sérií pokusů (odběr histologie za 9-11 dnů po RDN)



DĚKUJI ZA POZORNOST

FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC



KOMPLEXNÍ  
KARDIOVASKULÁRNÍ CENTRUM  
FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC