

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

DR. KŐRÖSI DÉNES

KAPOSVÁR

2025.



MAGYAR AGRÁR-ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
KAPOSVÁRI CAMPUS

NAGYÁLLAT INFARKTUS MODELL ADAPTÁLÁSA
PANNON TÖRPESERTÉSEKRE

DOI: 10.54598/005700

Készítette:
DR. KÖRÖSI DÉNES

Kaposvár

2025.

A doktori iskola

Megnevezése: Állattenyésztési tudományok Doktori Iskola

Tudományága: Állattenyésztés-tudományok

Vezetője: Dr. Szabó András
MTA doktora, tanszékvezető, egyetemi tanár
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Élettani és Takarmányozástani Intézet, Élettani és
Állategészségügyi Tanszék

Témavezető: Dr. Garamvölgyi Rita
c. egyetemi docens
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Tartalomjegyzék

1	A munka előzményei, célkitűzések	3
2	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	6
2.1	<i>Kísérleti állatok</i>	6
2.2	<i>Kísérleti elrendezés</i>	6
2.3	<i>Az állatok elhelyezése.....</i>	7
2.4	<i>cMRI (a szív mágneses rezonancia vizsgálata)</i>	8
2.5	<i>Az intervenciót megelőző beavatkozások</i>	10
2.6	<i>Akut miokardiális infarktus indukció</i>	11
2.7	<i>A nyomonkövetési időszak</i>	13
2.8	<i>Vérvizsgálatok</i>	14
2.9	<i>Statisztikai elemzés.....</i>	15
2.9.1	<i>MRI eredmények statisztikai értékelése</i>	15
2.9.2	<i>Véreredmények statisztikai értékelése</i>	15
3	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	17
3.1	<i>Előkészítés és angiográfia</i>	17
3.1.1	<i>Anatómia és viselkedés</i>	17
3.1.2	<i>Szövődmények, elhullások</i>	18
3.2	<i>MRI.....</i>	19
3.2.1	<i>Anatómia és viselkedés</i>	19
3.2.2	<i>Szoftveres kiértékelés.....</i>	19
3.2.3	<i>A szív mérhető paraméterei</i>	20
3.2.4	<i>MRI eredmények értékelése</i>	22
3.3	<i>Véreredmények.....</i>	25
3.3.1	<i>ALT</i>	25
3.3.2	<i>AST</i>	26
3.3.3	<i>LDH</i>	26
3.3.4	<i>CK</i>	27
3.3.5	<i>Troponin</i>	27
3.3.6	<i>A véreredmények értékelése.....</i>	27
4	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	30
5	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	32
6	AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK	33

6.1	<i>Közlemények idegen nyelvű referált folyóiratban</i>	33
6.2	<i>Közlemények magyar referált folyóiratban</i>	34
6.3	<i>Előadások magyar nyelven</i>	34

1 A munka előzményei, célkitűzések

Az Európai Unió legfrissebb, 2020-as jelentése szerint évente közel 10 millió kísérleti állatot használnak fel kutatási projekteken. Ennek 92%-a laboratóriumi patkány és egér, hal, és körülbelül 70.000-80.000 a kísérleti sertések száma. A felhasznált kísérleti állatok 90%-a regisztrált tenyésztőknél kimondottan kísérleti célra tenyésztett egyed, ami összhangban van az uniós irányelv célkitűzéseiben foglaltakkal és a 3R elvével (replacement, reduction, refinement) (EUR-Lex, 2020). Az orvostudományi kutatásokban használt kísérleti állatoknál a legfontosabb követelmény, hogy anatómiai és élettani paramétereik hasonlítsanak az emberéhez. A sertés nagyon sok szempontból megfelel ennek az elvárásnak. Az utóbbi évtizedekben a sertések rendkívül fontos laboratóriumi állatokká váltak több tudományterületen is, a szív- és érrendszeri kutatásokban pedig gyakorlatilag megkerülhetetlen a sertések használata (Smith et al., 2006).

A hagyományos hússertések – jellemzően a nagyfehér és lapály fajtacsoportba tartozó fajták és hibridek – fiatal, 3-4 hónapos életkorban rendelkeznek azokkal a testméretekkel, melyek alkalmassá teszik őket az emberi keringési rendszer modellezésére. Alkalmazásuk legfőbb korlátozó tényezője a gyors testméret-növekedés, mely a krónikus, illetve a kizárólag felnőtt egyedeken elvégezhető kísérleteket lehetetlenné, vagy nehezen megvalósíthatóvá teszi. Ilyenek pl. a stent-implantációk, amikor a koszorúerekben rögzített, fix méretű implantátumoknak hosszú ideig kell a változatlan méretű erekben maradni, vagy a szívinfarktus kutatások. Ezen esetekben az akár 100 kg feletti sertések fizikai méretei lehetetlenné tesznek

olyan diagnosztikus eljárásokat, mint pl. a mágneses rezonanciás képalkotó (MRI) vizsgálat. Hosszú utánkövetést igénylő állatmodell kísérletekben megoldást jelenthet lassú növekedési erélyű, ősi sertésfajták, mint például a mangalica alkalmazása. Azonban mangalicák esetében is jelentős az a méretnövekedés, ami például egy érbe helyezett implantátum 6-12 hónapos utánkövetését lehetővé teszi. Többek között ezért is indokolt törpesertések, úgynevezett minipigek bevonásával végezni állatkísérleteket.

Számos miokardiális infarktussal kapcsolatos állatkísérlet történt világszerte az elmúlt évtizedekben, amiben az SM KMOK Dr. Baka József Diagnosztikai, Onkoradiológiai, Kutatási és Oktatási Központ, valamint jogelődei is meghatározó szerepet töltöttek be. Az Intézet az elmúlt közel 3 évtizedben több száz kardiovaszkuláris állatmodell projektet hajtott végre különböző genotípusú sertéseken (húshibridek, mangalica, göttingeni törpesertés, pannon minipig). Ezek a szívkatéteres és képalkotó diagnosztikai vizsgálatok már számos élettani és anatómiai eltérést igazoltak a genotípusok között és újabb kérdéseket is felvetettek (Petrási, 2002; Petrási, 2008; Petrási et al., 2008). Kutatásomban olyan vizsgálatokat végeztünk, amellyel a pannon törpesertések szív- és érrendszeri kutatásokban való felhasználhatóságát és az ezt befolyásoló tulajdonságait térképeztük fel.

Kutatásom során a következő célokat tűztem ki:

1. Magyar, kísérleti célra tenyésztett törpesertés fajta (pannon minipig) alkalmasságának vizsgálata a húshibrid sertéseken kialakított preklinikai kutatásokban használt infarktus modellben.
2. A törpesertések fajtaspecifikus karakterjegyeinek vizsgálata angiográfiás vizsgálatok és MRI vizsgálatok során.
3. A törpesertések szív működési paramétereinek vizsgálata MRI-vel.
4. A törpesertések vérparamétereinek és szívspecifikus nekroenzimeinek vizsgálata.

5. A törpesertések válaszreakciójának vizsgálata AMI (akut miokardiális infarktus) indukcióra.

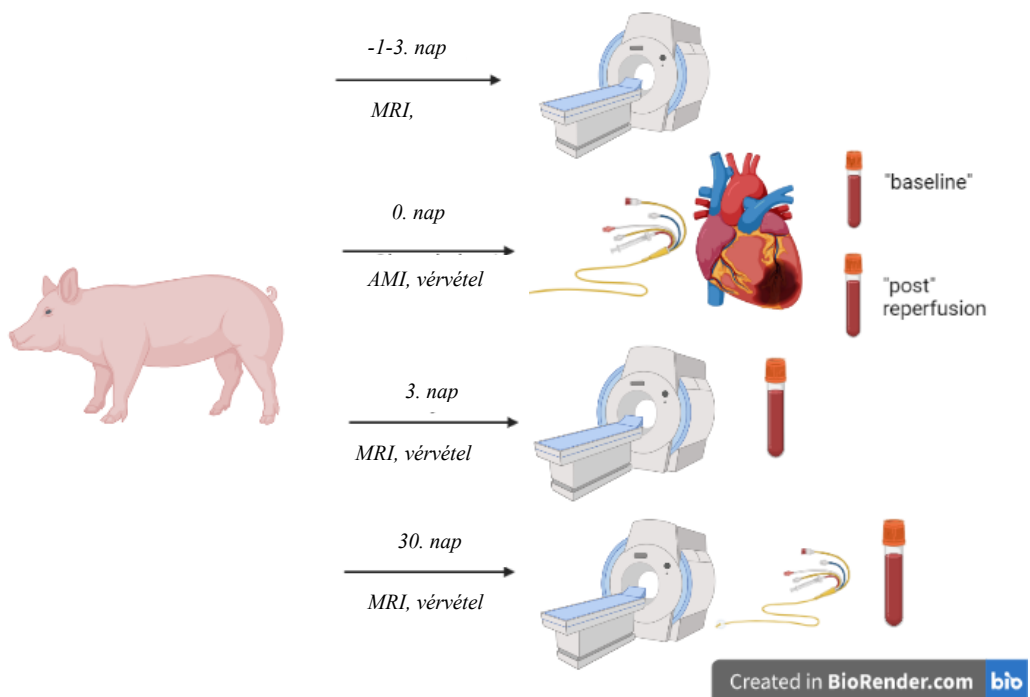
2 ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 Kísérleti állatok

A kísérletben összesen 24, egészséges, 55 – 90 kg súlyú, 15 – 24 hónapos kifejlett nőstény pannon törpesertés használtunk, amelyeket nyilvántartásba vett (ENAR) és hatóságilag minősített állategészségügyi státusszal rendelkező állományból származtak (Pannon Minipig Kft., Kiskorpad). A pannon törpesertés származási állományának tartása kis csoportokban (6 – 8 egyed), hagyományos, tömör aljzatú, szalmával almolt, zárt istállóban történt. Takarmányozásuk során rostban gazdag, energiában szegény tápot használtak, csökkentve a fajta zsírsertésekhez hasonló hízási hajlamát. A kísérlet 3. napját követően a nyomonkövetési időszakban a származási telepükre tértek vissza, ahol az állatokat elkülönítettük, de a tartási és takarmányozási mód a korábbiakhoz hasonló volt (lásd később).

2.2 Kísérleti elrendezés

Kísérletünk elrendezése „longitudinális kutatás” jellegű volt, melynek során az egyes egyedeken véletlenszerű csoportba sorolás nélkül azonos változók ismételt megfigyelését terveztük el, úgy, hogy az állatokat saját kontrolljukként használtuk. A vizsgálat célja ugyanakkor a Dr. Baka József Központban évtizedek óta kialakított zárt mellkasú nagyállat iszkémia – reperfüziós modell megvalósíthatóságának tesztelése volt a pannon törpesertéseken. A statisztikai függetlenség biztosítása érdekében a bevont állatok nem voltak családi kapcsolatban. Valamennyi egyed azonos eljárás ment keresztül, mely szerint egy baseline MRI vizsgálatot követően az egyedek zárt mellkasi infarktus – indukción estek át, ezt követte a 3. napon és a 30. napon végzett kontroll MRI vizsgálat. Az 1. ábra a kísérleti elrendezést mutatja be.



1. ábra: Kísérleti protokoll

Minden állaton ugyanazt az eljárást végeztük, a kísérleti egység egy egyed volt.

2.3 Az állatok elhelyezése

Az állatokat kis csoportokban szállítottuk a Központba 24 – 72 órával az MRI vizsgálatok megkezdése előtt. A Központ kutatási területén, klimatizált helyiségben véletlenszerűen, egyedi ketrecekbe helyeztük el őket, és az egyes egyedeket egy egyszerűen növekvő számsorral jelöltük. A sertések tartós füljelzővel és mikrochippel is meg lettek jelölve. Az állatokat

a kísérlet 3. napjáig egyedi ketrecben tartottuk, a gyógyszeres kezelések elvégzése és a szükségtelen agresszió elkerülése érdekében. Az állatok láthatták, érzékelhették egymást, egy légtérben tartózkodtak. Az egyedi tartás és az elkülönítési időszak a katéteres beavatkozást is beleértve összesen 4 nap volt, ezt követően újra kis csoportokban kerültek elhelyezésre.

2.4 cMRI (a szív mágneses rezonancia vizsgálata)

A kiindulási bal kamrai (LV) funkciók értékeléséhez mágneses rezonancia vizsgálatot (cMRI) végeztünk 24 – 48 órával a szívinfarktus kiváltását megelőzően. Az MRI vizsgálatok szükségszerűen teljes narkózisban történtek, ezért az egy-három nappal az MRI vizsgálat előtt az intézetbe szállított állatokat 12 órán át koplaltattuk. Az altatási metodika kezdő lépéseként a törpesertéseket 12 mg/kg ketamin-hidroklorid (Narkamon 100mg/ml injekció, Bioveta; Ivanovice na Hané, Csehország), 1 mg/kg xilazin (CP-Xylazin 2% injekció, CP-Pharma GmbH, Burgdorf, Németország) és 0,04 mg/kg atropin-szulfát (Atropin sulfuricum-EGIS 1mg/ml inj., Egis; Budapest, Magyarország) kombinációval premedikáltuk, intramuszkulárisan beadva. Ezt követően előbb gumiharang, majd a garatreflexek kiesését követően 5,0-6,0F méretű endotracheális tubust (Chanelmed Kft.); alkalmazva inhalációs narkózist biztosítottunk a képalkotó vizsgálat teljes időtartama alatt 1,5-2,5 m/m% izoflurán (Isoflutek 1000 mg/g, Karizoo; Barcelona, Spanyolország) és 2 l/perc oxigén adagolásával. Az állatokon vénát biztosítottunk a gyógyszerek beadásához és mellkasi EKG elektródákat helyeztünk fel.

A képalkotás Siemens Magnetom Vision 1,5 Tesla térerősségű berendezéssel (Siemens AG; Erlangen) készült a humán gyógyászatban

kialakított EKG vezérelt szekvenciák segítségével, melynek során a szív rövid és hosszú tengelyű nézeteiben, 1,2 ms echoidővel, 50 fokos flipszöggel, 40 ms ismétlési idő, 300 mm-es látómezővel, valamint 8 mm-es szeletvastagsággal dolgoztunk. A felvételek során 32 csatornás ágytekercset és mellkasi tekercset is használtunk. A szív mozgókép-cine felvételeinek elkészítése alatt a képminőség javítása és a légúti műtermékek elkerülése érdekében a spontán lélegzést megállítottuk 0,4-0,6 mg/kg atracium-bezilát vénás beadásával (Tracrium 10mg/ml inj., GlaxoSmithKline, Egyesült Királyság) (nem depolarizáló, vázizom relaxáns). Két mérés között pozitív nyomású lélegeztetés történt 300 ml térfogattal, 13/perc gyakorisággal és 25-30 Hgmm nyomással a spontán légzés helyreállításáig.

A vizsgálat során keletkezett képanyag elemzése révén elvégeztük a bal kamra funkciójának, perfúziójának és életképességének számszerű, mennyiségi méréseit. Az elsődleges cél az volt, hogy adatokat gyűjtsünk a pannon törpesertés specifikus szív működési paramétereiről. Az alábbi paramétereket határoztuk meg:

- EDV: A végdiasztolés térfogat
- ESV: A végszisztolés térfogat
- SV: egy szisztolé alatt a szívből kilökött vérmennyiség, lökettérfogat.
- CO: A szív által egy perc alatt továbbított vérmennyiség.
- LVEF: A bal kamrai ejekciós frakció.

Valamennyi képanyag elemzése és bírálata a szabadon elérhető (freeware) Segment 3.0 RXXXX (<http://segment.heiberg.se>) szoftver felhasználásával történt (Heiberg et al. 2010). Kísérletünkben a szubjektivitás kiküszöbölése érdekében az összes felvételt ugyanaz a 3 személy (GR, VA, KD) értékelte, a végső eredményt pedig e három, különböző értékelő által kapott eredmény konszenzusos összesítéseként kaptuk meg.

2.5 Az intervenciót megelőző beavatkozások

A katéteres beavatkozást megelőzően az ESC STEMI irányelveknek (Steg et al. 2012, Roffi et al. 2016) és a korábbi protokolloknak megfelelően a sertések antikoaguláns terápiaként 500 mg acetilszalicilsavat (Aspirin 100 mg tabletta, Bayer) és 300 mg klopidoგრელт (Trombex 75 mg tabletta, Zentiva) kaptak szájon át, majd azt követően 100 mg aszpirint és 75 mg klopidoგრелт szájon át naponta, takarmányhoz keverve. A katéteres beavatkozás teljes anesztéziában történt. Akár csak az MRI beavatkozásoknál a premedikációja során az állatok 12 mg/kg ketamin-hidrokloridot (Narkamon 100 mg/ml injekció, Bioveta) és 1 mg/kg xylazint (CP-Xylazin 2% inj., CP-Pharma GmbH) és 0,04 mg atropint (Atropin sulfuricum 1 mg /ml inj., Egis) intramuszkulárisan a nyak izomzatába. Ezt követően izofluránnal (Isoflutek 1000 mg/g, Karizoo; Barcelona, Spanyolország) (5 térfogat%) és oxigénnel (3 l/perc), arcmaszkon keresztül elaltattuk, majd intubáltuk és izoflurán-oxigén (2 térfogat%, illetve 3 l/perc) inhalációs narkózisban tartottuk őket a beavatkozás teljes ideje alatt. Miután az állatokat áthelyeztük a műtőasztalra, intravénás kanült helyeztünk a fülvénaiba, amelyen keresztül ringerlaktát infúziót (Ringer-laktat infúzió, 500 ml, Fresenius; Bad Homburg, Németország) ~5 ml/kg/óra sebességgel adagoltunk. A törpesertéseket háti fekvésbe helyeztük. A műtéti területet izoláltuk, majd sebészeti feltárás révén hozzáférést biztosítottunk a femoralis artériához és a juguláris vénához. Az erekbe 6F vastagságú introducert (F = French = 1/3 mm) (St. Jude Medical, Little Canada, Minesotta) helyeztünk be a beavatkozáshoz használt katéterek bevezetéséhez. A végtagokra elektródákat helyeztünk el, és megkezdjük EKG segítségével az állatok szív működésének folyamatos nyomonkövetését Einthoven bipoláris elvezetés mellett. Az artériás katéteren keresztül ezen felül invazívan

mérhettük az állatok vérnyomását, valamint pulzoximéter segítségével a véroxigén szaturációt és légzésszámot is folyamatosan monitoroztuk. Fenti adatokat az állatok altatási dokumentációjában rögzítettük. Biokémiai vizsgálatok céljából vért vettünk a juguláris vénába helyezett katéterből, majd ezt követően 5000 NE heparint adtunk be az introduceren keresztül, a trombusképződés meggátolására.

2.6 Akut miokardiális infarktus indukció

A fentiek szerint előkészített állatokat áthelyeztük az angiográfiás helyiségbe, ahol elsőként szelektív angiográfiás vizsgálatot végeztünk a bal koszorúérén, amelyet elemezve megterveztük a várható koronária elzárás helyét. Az angiográfiás eljárás során Siemens Cios Alpha C-kart, Siemens Axiom Sensis hemodinamikai egységet és Comen C-50V betegmonitort használtunk. A vizsgálatok során használt kontrasztanyag a Xenetix 350 mg l/ml (iobitridol); Guerbet), a kontraszt térfogata 50-100 ml/sertés volt. Az AMI-indukciót invazív hemodinamikai monitorozás mellett végeztük úgy, hogy ballonkatétert (2,5-2,75 mm átmérőjű, 8-15 mm hosszúságú) helyeztünk a bal elülső leszálló koszorúér-artériába (LAD) a 2. diagonális ág eredése után, majd a ballont felfújtuk 5-6 atm nyomásra 90 perces időtartamra, amelyet a ballon leengedése után reperfúzió követett. Közvetlenül a reperfúzió indukciója előtt újabb 5000 NE frakcionálatlan heparint adtunk be intrakoronáriálisan. A reperfúziót minden esetben koronarográfiával igazoltuk. Ezt követően a bal kamra funkcióit vizsgáltuk meg kontrasztos ventrikulográfiával 5F pigtail katéter segítségével. A reperfúziót követően újabb vérmintát gyűjtöttünk a véna jugulárisból. Az intervenciós eljárás során folyamatosan monitoroztuk az EKG-t, az oxigénszaturációt, a szívfrekvenciát, a vérnyomást és a légzésszámot. Az adatokat 10 percenként az állatok altatási lapján rögzítettük. Az

angiográfiás felvételeket, vérnyomásadatokat és az EKG-t digitálisan rögzítettük.

Az eljárás végén a katétereket és introducereket eltávolítottuk és a femorális artériát megfelelő méretű felszívódó varróanyaggal lekötöttük. A sebet rétegenként, megfelelő varróanyaggal lezártuk és a műtési területet alumínium tartalmú polimer spray-vel lefedtük. Az állatok a szövődmenyes bakteriális fertőzések megelőzése érdekében széles spektrumú, hosszú hatású antibiotikumot (prokain benzilpenicillin 5-5 mg/kg és dihidrosztrepomicin 10 mg/kg) (Shotapen inj., Virbac; Carros, Franciaország), valamint nem szteroid gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító gyógyszert (0,4 mg/kg meloxicam) (Meloxidyl inj., Ceva; Marseille, Franciaország) kaptak a műtési eljárás kezdetekor.

Az állatok ébredése folyamatos felügyelet mellett, extubálásuk a nyelési reflex visszatérésekor történt meg. Ezt követően a teljes rekonvaleszcenciáig egyedi ketrecekben kerültek elhelyezésre az ellenőrzött teremhőmérsékletű (23 °C) helyiségben. Megfigyeltük általános állapotukat, ellenőriztük a műtési seb környékét, vérzés, fertőzés, gyulladás jeleit keresve. Az állatokat ebben a helyiségben, egyedi ketrecekben tartottuk a 3 napig, a kontroll MRI vizsgálatokig.

A kontroll cMRI vizsgálatokat az MI utáni 3. napon (72 ± 12 óra) és az 1 hónapos utánkövetési idő végén (30. nap ± 2 nap) végeztük el. Az MRI vizsgálatok során a sertések előkészítése és a vizsgálat végrehajtása megegyezett az alap mérésekével. A kontroll vizsgálatok során viszont az AMI következtében károsodott szívizom működésének vizsgálatára kontrasztanyagot, gadobutrolt is alkalmaztunk intravénásan (Gadovist 1mmol/ml inj., Bayer, Németország) 0,16 mmol/ttkg dózisban és a korábbi szekvenciákat a 3. és a 30. napi cMRI vizsgálatok során késői halmozásos képekkel egészítettük ki. Az alap cMRI-t késői halmozásos vizsgálat nélkül

végeztük, mivel természetesen nem volt várható az izomzatban hegszövet képződés. A kontroll cMRI-vizsgálatok után az alap képalkotásnál meghatározott funkcionális méréseket (EDV, ESV, SV, EF%, CO) végeztük kiegészítve a szívizom defektusok (heg%,) mérésével. A képanyag bírálatához ismét a Segment 3.0 RXXXX szoftvert használtuk (<http://segment.heiberg.se>) (Heiberg, 2010).

2.7 A nyomonkövetési időszak

A 3. napon végzett MRI vizsgálatot követően az állatokat a származási helyükön lévő sertéstelepre szállítottuk és ott zárt istállóban tartottuk. A tartás során az állatokat 6-7 egyed nagyságú csoportokban helyeztük el. A hagyományos tartási mód során igyekeztünk biztosítani számukra a természetes viselkedésmintázatuk gyakorlását, hogy az izolációból adódó szociális stresszt kiküszöböljük.

A kísérlet ideje alatt a sertéseket speciális táppal etettük, amely 88,2% szárazanyagot, 14,01% nyersfehérjét, 2,57% nyers zsírt, 10,13% nyersrostot és 11,35 MJ/kg (Agroszász Kísérleti Sertéstáp; Szászvár, Magyarország). emészthető energiát tartalmazott. A takarmány összetételében a korábbi, az állatok tartása és nevelése alatt alkalmazott takarmányukhoz hasonló volt. A sertések testtömegük 1,5%-ának megfelelő tápmennyiséget kaptak naponta kétszer, ad libitum vízfelvételi lehetőséggel, emellett alomszalmát biztosítottunk manipulálható anyagként és búvóhelyként. Az állatok a 30 napos tartás alatt rendszeres állatorvosi felügyelet alatt álltak, állategészségügyi beavatkozásra ezen idő alatt nem volt szükség.

A 30. napon végzetük el az állatok kontroll MRI vizsgálatát, amelyet megelőző napon visszaszállítottuk a törpesertéseket a Központba. A 30. napon végzett MR képalkotás előkészítése és vizsgálati módja megegyezett

a 3. napi vizsgálattal, melynek során az állatok gadobutrolt kaptak intravénásan (Gadovist 1 mmol/ml inj., Bayer, Leverkusen, Németország) 0,16 mmol/dózisban és elvégeztük a balkamrai funkció, a perfúzió és a viabilitás mérését célzó vizsgálatokat.

A kísérlet végén, a 30. napon az állatokat 5 térfogat%-os izoflurán belélegzésével kíméletesen túlaltattuk, majd 30 mg/testtömeg-kg kálium-kloridnak a jugularis vénába történő beadásával eutanáziát végeztünk.

2.8 Vérvizsgálatok

A kísérlet négy pontján, a myokardiális infarktus különböző szakaszaiban vérmintákat gyűjtöttünk az állatoktól: az infarktus indukciót megelőzően, majd a reperfúzió után közvetlenül, majd az utánkövetési időszak 3. és 30. napján. A kontroll MRI vizsgálatok alkalmával alkalmazott narkózisban, az AMI indukcióval mindenben megegyező műtéti előkészítést követően vénás introducer segítségével vettünk vért az állatokból. szállításig. A laboratóriumi vizsgálatokat a Praxislab Kft. (Budapest) állatorvosi laboratóriumában vizsgáltattuk, amely során biokémiai paramétereket határoztak meg: ALT (GPT) (alanin aminosztransferáz/glutamát-piruvát transzamináz), AST (GOT) (aszpartát-aminotranszferáz, szérum glutamin-oxálecetsav-transzamináz), CK (kreatin-kináz), LDH (laktát-dehidrogenáz), Hs (high sensitivity) troponin.

Az ALT, AST, GGT, lipáz, CK, LDH, koleszterin, glükóz, kreatinin, nátrium és kálium mérését Beckman Coulter AU480 autoanalizátoron végezték erre a célra szolgáló reagenskészletek (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) segítségével. A C-reaktív protein méréseket ugyanazon az analizátoron végezték, sertés-specifikus immunturbidimetriás vizsgálattal (Turbovet Pig CRP, Acuvetbiotech, Zaragoza, Spanyolország). A troponin I meghatározása nagy érzékenységű humán elektro-kemilumineszcens

immunoassay-vel (Acces hsTnI; B52699) történt Beckman Coulter Access 2 analízátoron.

2.9 Statisztikai elemzés

2.9.1 MRI eredmények statisztikai értékelése

Vizsgálatunkban a kísérleti végpontok mennyiségi adatainak statisztikai elemzését végeztük el. Minden állat a saját kontrollja volt. A kísérletbe vonás kritériuma a sikeres LAD-elzáródás-reperfúziós folyamat és az infarktus után 72 órával végzett cMRI-n kimutatható infarktus volt. Azokat az állatokat kizártuk, amelyek nem voltak alkalmasak az eljárásra, nem volt infarktuszuk, vagy elpusztultak a katéterezés előtt vagy alatt. A különbségek tesztelésére lineáris vegyes modellt alkalmaztunk, ahol az állatok azonosítóját használtuk véletlenszerű tényezőként. Az eredményeket átlagban (M) és szórásban (SD) adjuk meg. Holm post hoc tesztet használtunk a különböző időpontokban végzett MRI vizsgálatokból nyert eredmények összehasonlítására. Az eredményeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a $p < 0,05$. Minden számítás az R statisztikai szoftverrel történt (R Core Team (2021)).

2.9.2 Véreredmények statisztikai értékelése

A különböző időpontokban mért eredmények közötti különbségek tesztelésére lineáris vegyes modellt alkalmaztunk. Az állatok azonosítóját véletlenszerű faktorként használtuk, más faktort nem használtunk a beállításnál. Az összehasonlításhoz a marginális átlagokat a Restricted Maximum Likelihood (REML) illesztési módszerrel becsültük meg. A p-érték kiszámításához Satterthwaite módszerét alkalmaztuk. A vizsgált vérparaméterek nem normális jellege miatt a számítások elvégzéséhez az adatokat logaritmizáltuk. Az eredményeknél az adatokat

visszatranszformáltuk, és átlagként (M) és szórásként (SD) jelenítettük meg. Bonferonni-Holm post hoc eljárást használtunk a különböző időpontokban mért eredmények összehasonlításánál a családra vonatkozó hibaarány FWER (Family-wise error rate) szabályozására. Az eredményeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a $p < 0,05$. Minden számítás az R statisztikai szoftverrel történt (R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>), packages lme4 (Bates et al. 2015.) and lmerTest (Kuznetsova et al. 2017.)

3 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1 Előkészítés és angiográfia

3.1.1 Anatómia és viselkedés

Saját kísérletünkben általánosságban megállapítható volt, hogy a törpesertések habitusukat tekintve a húshibridekhez és a mangalicákhoz képest könnyen kezelhetők voltak: indokolatlan, túlzott agressziót vagy izgatottságot csak nagyon ritkán észleltünk, ami nagyban megkönnyítette a velük való munkát (szállítások, áthelyezések, etetés, itatás stb.). A kísérletben a katéteres beavatkozásokat előkészítő eljárások során a combokon végzett érsebészeti beavatkozásokat a vastag zsírréteg ellenére könnyű volt kivitelezni, ebben segített a viszonylag gyenge izmoltság a végtagokon. Az ereknek a műtétek során a teljes, akár kétoldali lekötése sem eredményezett súlyos, vagy akár néhány óránál hosszabb klinikai tünetekben megmutatkozó keringési zavart a végtagokban. A nyaki erek esetében a fajtára jellemző extrém mennyiségű nyaki zsírréteg miatt a sebészeti feltárás komoly kihívást jelentett az operatőr számára, de kellő gyakorlattal kivitelezhető volt. Tapasztalataink szerint a szív koszorúereinek lefutása és anatómiája az egyes egyedekben igen nagy változatosságot mutatott.

A rendelkezésre álló adataink alapján úgy ítéltető, hogy LAD dominancia volt többségében (70%) a törpesertések kamrai vérellátásában. Ennél kisebb arányban, mintegy 30%-ban fordult elő a LAD-ból eredő erőteljesebb, domináns diagonális ág. Az állatok többségének az 1. diagonális ág alatt (1 állatnak a 2. alatt is), 3 állatnak viszont az 1. diagonális ág fölött történt a koszorúér elzárása. Ezt minden egyes állatnál egyedi elbírálás alapján határoztuk meg törekedve arra, hogy hasonló méretű legyen a szívizom

károsodás. Az elvégzett angiográfiás vizsgálatok alapján az összes kísérletben részt vett törpesertésről általánosságban elmondható volt, hogy a LAD rövidebb lefutású, mint ahogy azt a hús típusú sertéseknél korábban tapasztaltuk, ezért a LAD ballonos lezárásának a megfelelő pozícióját nehezebb meghatározni, mint a húshibrideknél. Nagyobb területű infarktus létrehozásához nagyobb vérrellátási zavar előidézésére van szükség, azonban a minipigeknél a viszonylag rövid LAD elzárása az első diagonális ágnál legtöbbször olyan súlyos szívizom iszkémiát eredményez, ami végzetes kimenetelű ritmuszavarokkal járhat és csak a 2. vagy 3. diagonális ág lezárása idéz elő hasonló méretű infarktust, mint a hússertésben alkalmazott 1. diagonális ágnál végzett obstrukció (Schuleri et al., 2008).

3.1.2 Szövődmények, elhullások

A kísérlet folyamán összesen 6 állat pusztult el. Az összes veszteség az AMI kialakítása folyamán a katéteres eljárás közben, vagy az azt közvetlenül követő terminusban történt. Az utánkövetési időszakban elhullás nem volt. Egy állatot a katéteres beavatkozás szövődménye miatt veszítettünk el (artéria disszekció). A további 5 állat közvetlenül az AMI-t követően pusztult el rosszul kezelhető aritmiák (kamarafibrilláció, kamrai tachycardia) miatt a szakszerű antiaritmiás beavatkozások ellenére (24%-os elhullás). Az elhullottakon kívül további 6 állat igényelt műszeres defibrillációt és antiaritmiás gyógyszeres kezelést az AMI után. Az antiaritmiás kezeléseket a szakma szabályai szerint kardiológus irányításával végeztük az EKG és nyomásértékek, valamint egyéb monitorozott paraméterek alapján. A felhasznált gyógyszerek adagja és beadásuk ideje (Lidocain, Cormagnesin, Cordarone Atropin, Tonogen stb.), valamint a defibrillációs shock kezelések rögzítésre kerültek az állatok dokumentációjában. Összesen 24 törpesertés közül 12-nél (50%)

jelentkezett valamilyen rosszindulatú szívritmuszavar, amely 12-ből 6-nál végzetes kimenetelű volt.

3.2 MRI

3.2.1 Anatómia és viselkedés

A cMRI vizsgálatok kivitelezésénél alkalmazott anesztézia könnyen kivitelezhető volt törpesertéseken, bár az állatoknál gyakran észleltünk olyan, részben kardiológiai dekompenzációra utaló klinikai tüneteket, mint a rossz oxigén szaturáció, vagy enyhe tüdőödéma jelei. Ezek a problémák nem befolyásolták érdemben a vizsgálatok elvégzését és a cMRI végeztével az állatok ébresztésekor és hasra fektetésekor minden esetben megszűntek. Az MRI vizsgálatokat a több évtizedes protokollnak megfelelően EKG vezérelt, adaptált, humán szekvenciák segítségével végeztük. A cMRI vizsgálatok kivitelezése során a mellkasra helyezett EKG elektródák megfelelő elhelyezése sokszor nehezebb volt, mint egy testméretéhez képest arányában nagyobb mellkassal rendelkező hússertésnél, ami miatt az elvezetések EKG görbéit a szofverek nem, vagy nehezen ismerték fel, ezáltal nehezítve a vizsgálat lefolytatását. Az MRI készülékben a megfelelő pozicionálás, centrálás szintén körülményes volt az állatok testalkata miatt és ebből eredően több rutint igényelt a radiográfustól a megfelelő vizsgálati síkok, valamint a szív hosszanti- és keresztirányú tengelyeinek meghatározása, holott ezek sokszor kulcsfontosságúak a felvételek későbbi szoftveres elemzése során.

3.2.2 Szoftveres kiértékelés

A humán kardiológiai vizsgálatokhoz használt szoftver a képek kiértékelésére – kísérletünkben a kiértékelés Segment 3.0 szoftverrel

(Medviso) történt – akkor ad használható eredményt, ha a felvétel megfelelő minőségű, különös tekintettel a hosszanti tengelyre (Kramer et al., 2013). A szoftver által biztosított automatizálás nagymértékben segítheti és sztenderdizálhatja az értékelést, de az emberi beavatkozás így is elengedhetetlen, azaz a számszerű eredmény szoftverhasználat mellett is bizonyos fokú szubjektivitást hordoz magában. A szofveres bírálat eredményeként kapott funkcionálitást jellemző számok (CO, LVEF% stb.) tapasztalatunk szerint sokszor mutattak eltérést a különböző személyek értékelései között, ezért 3 egymástól független bíráló személy konszenzusos eredményét tekintettük véglegesnek. Az egyedi eltéréseknek az a magyarázata, hogy a kamra üregében lévő papillaris izmok megítélése, valamint a figyelembe vehető horizontális szeletek száma, és az aorta beszájadzásának egyéni minősítése különböző lehet az egyes bírálóknál.

3.2.3 A szív mérhető paraméterei

A cMRI és a késői gadolínium halmozásos képalkotás a „gold standard” eljárásnak számít a szívinfarktus kutatásban, a szívizom hegyszövetének és a kamrai funkcionálitásnak az ábrázolásában. A saját kísérletünkben az alap méréseket a 3. és 30. napon számított eredményekkel vetettük össze abból a célból, hogy az AMI következtében képződött hegyszövetet és a következményesen kialakult csökkent bal kamrai szisztolés funkciót kimutassuk. Az MRI képanyag bírálata révén számszerűsített eredményeket kaptunk a pannon minipigek specifikus szívműködési paramétereiről a kísérlet 3 mérési pontjában: végdiasztolés térfogat (EDV), végszisztolés térfogat (ESV), perctérfogat (CO), lökettérfogat (SV), bal kamrai ejekciós frakció (LVEF).

Kísérletünkben az MRI vizsgálatok során nyert szív funkcionális adatok átlagait a 1. táblázat tartalmazza.

MRI időpont	elem-szám	alap			72 óra			30 nap		
		átlag	szórás	terjedelem	átlag	szórás	terjedelem	átlag	szórás	terjedelem
EDV (ml)	18	57,7	15,5	62	66,0	13,0	40	74,8	14,1	51
ESV (ml)	18	25,9	9,4	35	35,7	9,4	30	35,9	10,6	39
SV (ml)	18	31,9	9,3	29	30,3	7,4	29	38,7	9,3	37
EF (%)	18	55,5	8,3	30	46,0	7,7	27	52,2	8,8	30
CO (l/min)	18	2,6	0,5	2	2,4	0,6	1,9	3,1	0,6	1,8
HR (bpm)	18	84,8	23,4	75	81,1	20,5	66	81,0	17,8	60
Scar (ml)	18	57,7	15,5	62	13,4	5,8	17,8	8,7	4,65	16,8
Scar (%%)	18	25,9	9,4	35	20,0	8,8	27	13,3	6,50	24

1. táblázat: Az MRI bírálat eredményei

EDV: end-diastolic volume, végdiasztolés térfogat; ESV: end-systolic volume, végszisztolés térfogat; SV: stroke volume, lökettérfogat; CO: cardiac output, szív perctérfogat; LVEF: left ventricular ejection fraction, bal kamrai ejekciós frakció; HR: szívferkvencia; Scar: bal kamrai hegszövet

3.2.3.1 A hegszövet mérete

A LAD sikeres elzárását koronarográfia igazolta, de az AMI kialakulását az elzárást követően 72 órával végzett késői gadolínium halmozásos cMRI vizsgálattal tudtuk bizonyítani. A felvételek szoftveres értékelésével pontosan meghatározhattuk az infarktus kiterjedését és méretét, mivel az ödémás, sérült szövetek is jól detektálhatóak voltak. A hegek többnyire a szív elülső, anteroapikális, apikális anteroszeptális és szeptális, szegmensében voltak behatárolhatóak. A szívizom hegesedésének százalékos arányát (total scar%) a teljes miokardium százalékában határoztuk meg. A kísérleti állataink bal kamrai szívizomzat károsodása a 3. napon $20 \pm 9\%$ volt, a 30. napon mért eredmények átlaga lényegesen alacsonyabb, $13 \pm 7\%$ volt.

3.2.3.2 Végdiasztolés térfogat (EDV)

A kiindulási cMRI-vizsgálatok alatt mértékhez képest a végdiasztolés térfogat (EDV) folyamatosan nőtt a 3. és a 30. napon vizsgálva. Statisztikailag a Holm-féle post hoc teszt a EDV növekedést szignifikánsnak mutatta a 72 órás és 30 napos kiindulási értékekhez képest ($p=0,012$, $<0,001$). Az EDV 30. napi további növekedése szintén szignifikánsnak bizonyult a 3. naphoz képest ($p=0,022$).

3.2.3.3 Végszisztolés térfogat (ESV)

Az ESV az infarktusz után 72 órával szignifikáns növekedést mutatott ($p=0,001$), de a 30. napon már nem különbözött szignifikánsan ($p=0,781$) a 3. naphoz képest. Az alap érték és a 30. napi érték között statisztikai különbség mutatkozott.

3.2.3.4 Keringési perctérfogat (Cardiac Output; CO)

A keringési perctérfogat Cardiac Output a 30. napra változott szignifikánsan (növekedett) az alap értékhez képest.

3.2.3.5 Lökettérfogat SV (Stroke Volume)

A lökettérfogat (SV) 72 óránál enyhén csökkent, de a 30. napon szignifikánsan nőtt ($p=0,001$) a kiindulási értékkel összehasonlítva.

3.2.3.6 Bal kamrai ejekciós frakció (LVEF)

A 3. napon a bal kamrai ejekciós frakció (LVEF) csökkent ($p<0,001$) az egészséges állatokhoz viszonyítva, de nem volt statisztikai különbség a kiindulási és a 30. napi mérések között.

3.2.4 MRI eredmények értékelése

3.2.4.1 SV, CO, ESV, EDV értékelése

Méréseink szerint a pannon törpesertésekben az egészséges állatoknál a kiindulási, egészséges bal kamrai lökettérfogat (SV) átlaga 32.5 ± 9.3 ml, a szív perctérfogata (CO) pedig 2.6 ± 0.5 l/min volt a 60,4 kg-os átlagos testtömegű állatokban. A saját kísérletünk során a törpesertésekben mért SV és CO alapértékek általában alacsonyabbak voltak a kaposvári központban korábban, más hasonló kísérletekben tapasztaltakhoz képest. Más fajtnál, mint az intenzív növekedésű hústípusú hibrideknél és a lassú növekedésű zsírsertésnél (mangalica) hasonló felépítésű állat-modellben 41,2 ml és 54 ml lökettérfogat (SV), illetve 4,4 l/min és 3,9 l/min szívteljesítmény (CO) volt kimutatható (Petrási et al., 2008). Az eredmények értékelésénél figyelembe kell venni, hogy bár a fenti értékeket szintén 60 kg körüli testtömegnél mérték, ezek a fajták fiatalabb, növekedésben lévő egyedek voltak, összevetve a jelenleg vizsgált állatokkal. A fenti adatok alapján arra következtethetünk, hogy a törpesertéseknek ebben az életkorban kardiológiai funkcionális terén jelentős hátrányuk lehet a fiatal intenzív húshibridekhez és a mangalicákhoz képest.

Saját méréseinknél az infarktust követően az ESV, EDV és SV statisztikailag kimutatható növekedése feltehetően a kamrai remodelling eredménye, ami a károsodott szíven kialakuló progresszív méretbeli növekedésként és funkcióromlást okozó alakbeli változásként definiálható. Az állatmodell-kísérletekben molekuláris, sejtes és intersticiális változások következnek be az infarktust követően, akár az azt követő reperfúzióval, akár anélkül, amelyek klinikailag az LV méretének, alakjának és funkciójának változásaként jelentkezhetnek. Ezt a jelenséget myocardialis remodellingnek nevezik. Az infarktus utáni kamrai megnagyobbodás mértéke összefügg a kezdeti szívizomkárosodás mértékével, és bár a kamrai üreg méretének növekedése segít helyreállítani az SV-t a tartósan alacsony ejekciós frakció ellenére, a kamratágulat a túlélés csökkenésével jár. A

kamratágulás folyamatát három egymástól függő tényező befolyásolhatja: az infarktus mérete, az infarktus gyógyulása és az infarktus utáni kamrai remodelling (Pfeffer et al., 1990). Állatmodell-kísérletekben az indukált iszkémia szintén LV-remodellinghez vezet, amelyet a megváltozott végszisztolés és végdiasztolés térfogat (ESV, EDV) és nyomás (ESP, EDP) jellemez. Prognosztikai tényezőként az ESV a szívinfarktus utáni túlélés elsődleges előrejelzője, és pontosabb, mint az ejekciós frakció, ezért fontos kiegészítő paramétere az LVEF változásainak (White et al., 1987).

Kísérletünkben az ESV az infarktust követő 72 órában szignifikáns növekedést mutatott, de a 30. napon nem változott jelentősen. Kísérleti állatainkban szignifikáns korrelációt mutattunk ki a kialakult hegszövet mérete és az ESV értékek között. Ezek az eredmények összhangban vannak a jelenlegi irodalmi adatokkal: Eredményeink alapján az infarktus utáni kamrai remodelling az infarktust követő 3. napon nem jelentős tényező. A remodelling miatt a bal kamrai végdiasztolés térfogat növekedésével párhuzamosan a SV folyamatos növekedését tudtuk kimutatni. A 30. napon az LVEF jelentős javulását is kimutattuk.

A Központban végzett hasonló kísérletek során az AMI utáni kedvezőtlen remodelling jeleként az LV ESV mangelica sertésekben is hasonlóan szignifikánsan emelkedett (Foinquinos et al., 2020). Brenner és munkatársai (2021) ugyanezt a növekedést mérték az SV és EDV értékekben a göttingeni törpesertésekben és a hús típusú sertésekben is a 2., 3. és 6. hónapban. A kérdés azért is fontos, mert humán klinikai körülmények között az LVEF mellett a bal kamrai térfogat is fontos betekintést nyújt az infarktus utáni betegek hosszú távú prognózisába és halálozási arányába (Cohn et al., 2000).

Hús típusú sertések esetében ezeket az eredményeket természetesen óvatosan kell értelmezni, hiszen a megnövekedett ESV, EDV és SV

valószínűleg inkább az intenzív testméret- és szívnövekedéssel függenek össze. Saját vizsgálatunkban felnőtt testmérettel rendelkező állatok révén érdemi testtömeg-változás nem történt az utánkövetési időszakban (a testtömeg változás átlaga 30 nap folyamán -0,2kg volt).

3.2.4.2 LVEF eredmények értékelése

Az LVEF a humán diagnosztikában a szívelégtelenségben szenvedő betegek diagnosztizálásának és kezelésének egyik legfontosabb paramétere (Cikes és Solomon, 2016). Az infarktus modellekben szintén az LVEF a bal kamra pumpafunkciójának legszélesebb körben használt mérőszáma. A szakirodalomban a hasonló körülmények között (90 perces LAD elzárás, majd reperfúzió, hosszú távú utánkövetés) végzett nagyállatkísérletekben mért LVEF-értékek változó eredményeket mutatnak.

Saját kísérletünkben nem volt szignifikáns különbség a törpesertések kiindulási és 30. napi LVEF értékei között. Korábban 8 pannon törpeserten végzett, nem publikált kutatásunkban hasonló kiterjedésű infarktust idézve elő (19 scar%) szintén nem tudtunk mérni szignifikáns csökkenést 28 nappal az infarktust követően. Mindez arra utal, hogy a pannon minipig fajta szív adaptációs képessége kiemelkedően jó, ami a megnövekedett volumetrikus paraméterek okozta remodellingre épül, mivel esetünkben a kísérlet során felnőtt állatok révén nem volt jelentős méretbeli növekedés.

3.3 Véreredmények

3.3.1 ALT

Az ALT-szintek az AMI indukciója előtt vett kiindulási mintákban ($M=18,6$ U/l $SD=9,54$) és a közvetlenül a reperfúziót követően vett mintákban

($M=19,3$ U/l, $SD=10,99$) az élettani referenciatartomány értékein belül voltak (5-40 U/l). Az átlagérték nem emelkedett szignifikánsan, nagy egyéni szórással ($M=36,6$ U/l, $SD=54,52$, $p=0,873$) a 72 órán belül vett minták esetében. A 30. napon vett vérmintákból kapott eredmények átlaga statisztikailag alacsonyabb volt ($p=0,001$), mint a kiindulási értékek ($M=11,7$ U/l, $SD=9,08$). A modellezést/elemzést logaritmizált adatokkal végeztük el.

3.3.2 AST

Az AST-szintek átlaga a kiindulási értéken belül volt a referenciatartományban (10-45 U/l) ($M=16,89$ U/l, $SD=15,61$) A reperfúzió utáni ($M=27,38$ U/l, $SD=19,56$) és a 72 órás ($M=37,4$ U/l, $SD=71,87$) vérvételek eredményei statisztikailag nem különböztek ($p=0,532$, illetve $p=0,884$). A 30. napi értékek alacsonyabbak voltak, mint a kiindulási értékek ($M=8$ U/l, $SD=7,66$), és a különbség statisztikailag szignifikáns volt ($p=0,011$). A modellezést/elemzést logaritmizált adatokkal végeztük el.

Az AST/ALT arányban statisztikailag szignifikáns ($p=0,075$) különbség volt a kiindulási és a 30. napi értékek között.

3.3.3 LDH

Az LDH átlagos szérumszintje a 72 órás mintákban jelentősen megemelkedett ($M=2334$ U/l, $SD=2970$) $p<0,001$) a kiindulási ($M=601$ U/l, $SD=208$) és a reperfúzió utáni ($M=768$ U/l, $SD=264$) értékekhez képest, és meghaladta a sertés referencia tartományban mért értékeket (50-985 U/l).

Az LDH-értékek a 30. napon szignifikánsan a kiindulási értékek alá csökkentek ($M=420$ U/l, $SD=210$) $p=0,013$.

3.3.4 CK

A CK-szintek már az első vérvételi időpontban a referenciatartomány értékei felett voltak ($M=1606$ U/l, $SD=832$). A reperfúziót követő ($M=2400$ U/l, $SD=844$, $p=0,389$) és a 72 órás ($M=2349$ U/l, $SD=2300$, $p=0,021$) minták esetében növekvő tendencia volt megfigyelhető.

A 30. napi értékek átlaga ($M=374$ U/l, $SD=201$) alacsonyabb volt ($p<0,001$), mint a kiindulási értékeké. A sertések CK-referenciatartománya (20-200 U/l).

3.3.5 Troponin

A c-troponin I átlagértékek közvetlenül az AMI-t követően szignifikánsan emelkedtek ($M=237,2$ pg/ml, $SD=354,7$, $p<0,001$), és a 72 órára sokszorosára nőttek ($M=2933$ pg/ml, $SD=4573$, $p<0,001$). A 30. napra a c-troponinszintek normális szintre, szinte nullára csökkentek ($M=19,8$ pg/ml, $SD=70,4$, $p=0,426$), és nem különböztek a kiindulási érték eredményeitől.

A vérben mérhető nekroenzimek közül a nagy érzékenységgű troponin és laktát-dehidrogenáz enzimszint szignifikánsan korrelált az MRI mérések alapján számolt LVEF-fel ($p = 0,008$ és $p = 0,005$).

3.3.6 A véreredmények értékelése

Feltételezhető, hogy kísérletünk során a peri-procedurális környezet és az állatokat ért stresszfaktorok a szívinfarktus mellett a nekroenzimek kinetikáját is befolyásolták. A használt kísérleti elrendezés (többnyire a több évtizedes bevált és kialakított protokoll szerint) az állatok változó akklimatizációja során, az állatokat ért stresszfaktorok révén befolyásolhat néhány biokémiai vérparamétert. Az ALT és az AST kevésbé specifikus szívbiomarkerek, a 72 órás mintákban emelkedett szinteket mutattak ki nagy szórással. Vizsgálatunkban különböző tényezők befolyásolhatták ezen

paraméterek tekintetében az eredményeket: gyógyszerkészítmények intramuszkuláris beadása, az introducerek behelyezéséhez szükséges kisebb sebészeti beavatkozás és a gyógyszerek okozta májkárosodás – ezek mind hozzájárulhattak a szívizomkárosodás mellett a 72 órás időpontban mért értékek emelkedéséhez. A c-troponin, a CK és az LDH specifikusabb eredményeket mutat, mint az ALT és az AST. Az értékek változása 72 órán belül egyértelműbben tükrözik a szívizomkárosodást, illetve a regenerációt. Feltűnő, hogy a 30. napi eredmények a c-troponin kivételével jelentősen alacsonyabbak voltak, mint a kiindulási értékek. A kísérlet folyamán az állatokat 72 órán keresztül tartottuk a kísérleti helyszínen az alap vérminták levétele előtt. Egyéni ketrecekben helyeztük el őket, gyógyszeres kezelést kaptak, és MRI-vizsgálatot végeztünk rajtuk. Ezzel szemben a 30. napon az állatok csak 24 órát töltöttek a kísérleti helyszínen, és a vérmintákat közvetlenül az MRI-vizsgálat után vettük, ugyanabban az altatási eljárásban. Az állatok hasonló orvosi beavatkozásokon estek át mind a gyógyszeres kezelés, mind az invazív eljárások tekintetében, az intézetben töltött idő alatt csak az egyéni ketrecekben való tartózkodásuk hossza volt az egyetlen különbség. A megnövekedett értékeket a fizikai expozíció (injekciók beadása, a vázizmok kisebb sérülése, fizikai megterhelés), valamint a jelentős szociális és egyéb stresszorok okozhatták. Ebből azt a következtetést lehet levonni, hogy a sertések stresszérzékenységét figyelembe kell venni az állatmodell-vizsgálatok tervezésekor és értelmezésekor. Alapvető fontosságú a vérvétel optimális időpontjának meghatározása és az állatok jólétének előtérbe helyezése a korrekt eredmények elérése céljából.

A c-troponin I szintje az alap vérvételeknél fenti behatások ellenére változatlan maradt, ami specifikitásának és gyors kinetikájának is köszönhető. Ezzel szemben a lassabb kinetikájú biomarkerek magasabb szintje a kísérleti módszereknek tudható be. A szívspecifikus c-troponin I (cTnI) az

akut szívizomsérülés „gold standard” diagnosztikai biomarkerének tekinthető, mivel kizárólag a szívizomban található meg, és a nekrotikus szívizomszövetből szabadul fel. Sertésben – csakúgy, mint emberben – a szérum c-troponinszintek a szívizom iszkémiás károsodásának jelzésére használhatók (Bertsch et al., 2000; Létienne et al., 2006). Vizsgálatunkban a c-troponinszintek 24 órán túli szignifikáns emelkedése akut szívelégtelenségnek volt tulajdonítható követve az MRI eredményeket.

4 KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Megfelelően adaptálva a magyar törpefajtákból létrehozott sertések felhasználhatók a krónikus kardiovaszkuláris kísérletekhez. A pannon törpesertések könnyen kezelhetők, az anesztéziai és műtéti eljárások kivitelezése rajtuk egyszerűen megvalósítható. A mellkas anatómiája és a szív helyeződése azonban eltérő a hús típusú sertésekétől, amit figyelembe kell venni a szív MR vizsgálat elvégzésekor.

A pannon törpesertések nagyállatmodell esetében számolni kell az infarktus következményeként egyéb sertésfajtákhoz képest nagyobb mortalitással (30-35%). Nagy az anatómiai változatosság a koszorúerek lefutásában, ami a ballon-elzárást megnehezítheti. A rosszindulatú, részben terápia-rezisztens aritmiák nagy százalékban fordultak elő az AMI eljárás során, relatív magas elhullási arányt okozva. A kiindulási SV és CO értékek alapján a törpesertések szívének mérhető funkcionális gyengébbnek mutatkozott a szakirodalmi leírások alapján hasonló méretű intenzív növekedésű sertésekhez képest. A bal kamrai ejekciós frakció változása a törpesertések szívének nagyfokú kompenzációs képességére utal. Vizsgálatunkban a pannon törpesertések szívének kiváló kompenzációs képességét az SV és CO értékek infarktust követő növekedése és az infarktus területének a nyomonkövetési időszak alatti csökkenése jelezte. A bal kamrai diszfunkció a legtöbb állatmodell-kísérletben enyhe vagy közepes mértékű, mivel egyensúlyt kell teremteni az iszkémiás károsodás mértéke és a keletkező infarktus mérete, valamint az állatok végzetes ritmuszavarokra való hajlama között. Bár a modell az első 72 órában akut hemodinamikai változásokat eredményezett, amelyek összhangban vannak az akut MI-vel, a hosszabb távú hatás befolyásolja a szívelégtelenség kulcsfontosságú hemodinamikai mutatóit. Ezért kísérletünk nagyállatmodelljét inkább az enyhe vagy közepes mértékű LV-

diszfunkcióval járó akut szívinfarktus modelljének kell tekinteni, mintsem a szívelégtelenség modelljének. Kísérletünkben az LVEF a cMRI során készített cine felvételeken észlelt kamrai falmozgási anomáliák (infarktusos terület hipokinézise és a távoli terület hiperkinézise) ellenére a 30. napra gyakorlatilag helyreáll, mindebből arra következtethetünk, hogy a bal kamrai ejekciós frakció mellett más klinikai, pl. kontraktilitási paramétereket is fel kell használni az iszkémiás szívbetegség modellezéséhez.

A szívizom funkcionális változása és károsodása jól követhető volt a necroenzimek (LDH, c-troponin I) segítségével. Az értékek követték az MRI vizsgálatok során mért szívfunkciós paraméterek változását. Feltételezhető, hogy a peri-procedurális környezet és a stresszfaktorok a szívinfarktus indukciója mellett a nekroenzimek kinetikáját is befolyásolták. A kísérleti protokoll magában foglalja az állatok nem megfelelő hozzászoktatási idejét, ami erősen befolyásolhat néhány biokémiai vérparamétert, amire a kísérletek tervezésekor figyelemmel kell lenni.

Bár a hosszútávú nyomonkövetés lehetséges, de a magas mortalitás, a ballonbehelyezés és a cMRI-képalkotás nehézségei azt jelzik, hogy a pannon törpesertés nem feltétlenül ideális sertésfajta a szív- és érrendszeri betegségek vizsgálatára. A pannon minipig szívének túlzott anatómiai variabilitása és a szív sokszor kiszámíthatatlan válaszreakciója (kamrai aritmiák) a jövőben kiküszöbölhető lenne a kizárólag kardiovaszkuláris kísérletekhez tenyésztett minipigek alkalmazásával, ami használhatóbb modellt és az állattóléti előírásoknak való megfelelést eredményezhetne. Állattenyésztési szempontból a szív anatómiájának nagy fokú változatossága miatt szelekcióval kardiológiai kísérletre alkalmasabb, egységesebb vonal létrehozása lehet az új tenyészcél.

5 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A vizsgálatok során adaptáltam a Dr. Baka József Központban korábban húshibrid sertéseken kialakított infarktus-modellt pannon törpesertésekre. Meghatároztam a cMRI vizsgálat és az angiográfiás vizsgálatok fajtaspecifikus elemeit, úgy mint a pozicionálás, EKG felvételezés, légzés-stimulálás, perifériás erek elérhetősége, a koronáriák anatómiai elérhetősége, MRI képanyag értékelése. A cMRI vizsgálatok során meghatároztam a pannon törpesertések szív funkció paramétereit, amely alapján megállapítottam, hogy az egészséges állatok bal kamrájának pumpa funkciói gyengébbek a hasonló méretű intenzív fajtáknál.
2. A vizsgálatok során megállapítottam, hogy a pannon törpesertések infarktusa során magas arányban jelentkezik rosszindulatú, nehezen kezelhető ritmuszavar és következményes elhullás.
3. A cMRI vizsgálatok eredményeként mért funkcionális paraméterek értékei alapján megállapítottam, hogy a pannon törpesertések infarktusra adott válaszreakciója során a szív hosszútávú kompenzációs képessége rendkívül jó, ezért önmagában az ejekciós frakció, mint mérőszám nem elegendő az infarktus megítélésére.
4. Megállapítottam, hogy a pannon törpesertések szív specifikus nekroenzimeit, az LDH és a c-troponon I alkalmasak a szívinfarktus hatásainak követésére, valamint, hogy a kevésbé specifikus enzimek aktivitását befolyásolhatják az állatok kezelésének és tartásának körülményei.

6 AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

6.1 Közlemények idegen nyelvű referált folyóiratban

1. Brenner, G. B., Giricz, Z., Garamvölgyi, R., Makkos, A., Onódi, Z., Sayour, N. V., Gergely, T. G., Baranyai, T., Petneházy, Ö., Körösi, D., Szabó, G. P., Vago, H., Dohy, Z., Czimbalmos, C., Merkely, B., Boldin-Adamsky, S., Feinstein, E., Horváth, I. G., Ferdinandy, P.: Post-Myocardial Infarction Heart Failure in Closed-chest Coronary Occlusion/Reperfusion Model in Göttingen Minipigs and Landrace Pigs. *J. Vis. Exp.* (170), e61901, doi:10.3791/61901 (2021).
2. Körösi, D., Vorobcsuk, A., Fajtai, D., Tátrai, O., Bodor, E., Farkas, K., & Garamvölgyi, R. (2023). Adaptation of closed-chest infarction porcine model to adult Pannon minipigs. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 123, 107469. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2023.107469>
3. Dénes Körösi, András Vorobcsuk, Dániel Fajtai, Tihamér Papp, Emőke Bodor, Rita Garamvölgyi: Closed-chest occlusion of the left anterior descending artery in swine infarction model. *ACTA AGRARIA KAPOSVÁRIENSIS* (2023) 27 (1), xx–xx; DOI: 10.31914/aak.xxxx
4. Garamvölgyi, R., Körösi, D., Tátrai, O., Bodor, E., Fajtai, D., Farkas, K., & Vorobcsuk, A. (2024). dp/dt_{max} : An underestimated prognostic factor in large animal infarction model. *Animal models and experimental medicine*, 10.1002/ame2.12502. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/ame2.12502>
5. Dénes Körösi, Ágoston Göcző, Noémi Varga, Rita Garamvölgyi*, Nándor Balogh, Kornélia Farkas and András Vorobcsuk: Blood biochemistry changes in a minipig infarction model. *Front. Vet. Sci. Sec. Veterinary Experimental and Diagnostic Pathology* Volume 12 - 2025 | doi: 10.3389/fvets.2025.1493660.

6.2 Közlemények magyar referált folyóiratban

1. Kőrösi Dénes, Garamvölgyi Rita, Vorobcsuk András, Szabó András, Petrás Zsolt: Különböző sertéstípusok az orvostudományi kardiovaszkuláris kutatásokban (Irodalmi áttekintés), ACTA AGRARIA KAPOSVÁRIENSIS (2020) 24(2), 47–60; DOI: 10.31914/aak.2442.

6.3 Előadások magyar nyelven

1. Nagyállat infarktus modell adaptálása pannon törpesertésekre. dr. Kőrösi Dénes, dr. Vorobcsuk András, dr. Bodor Emőke, dr. Tátrai Ottó, dr. Garamvölgyi Rita:
I. MAGYAR AGRÁRTUDOMÁNYI DOKTORANDUSZOK SZIMPÓZIUM,
DEBRECEN 2023. FEBRUÁR 24-25.