

Aus der Klinik für Pädiatrische Kardiologie und Intensivmedizin
(Prof. Dr. med. T. Paul)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Einfluss der Anpresskraft des
Hochfrequenzstromablationskatheters
auf die Läsionsbildung und das
Auftreten von Koronarstenosen am
wachsenden Schweineherz**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Teresa Sarah Betz

aus

Bad Soden-Salmünster

Göttingen 2020

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer/in PD Dr. med. D. Backhoff

Ko-Betreuer/in: Prof. Dr. med. M. Zabel

Prüfungskommission

Referent/in PD Dr. med. D. Backhoff

Ko-Referent/in: Prof. Dr. med. M. Zabel

Drittreferent/in: Prof. Dr. med. T. Meyer

Datum der mündlichen Prüfung: 02.09.2021

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Einfluss der Anpresskraft des Hochfrequenzstromablationskatheters auf die Läsionsbildung und das Auftreten von Koronarstenosen am wachsenden Schweineherz" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den
.....
(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Einführung in das Thema der Arbeit.....	1
1.2 Epidemiologie supraventrikulärer Tachykardien im Kindesalter	1
1.3 Therapieindikation supraventrikulärer Tachykardien.....	2
1.4 Ablationstherapie.....	3
1.4.1 Hochfrequenzstromablation.....	3
1.4.2 Katheter mit Anpresskraft-Sensor.....	3
1.4.3 Effektivität und Sicherheit der Hochfrequenzstromablation.....	4
1.5 Aktueller Stand der Wissenschaft	5
1.5.1 Auswirkungen thermischer Energie auf das wachsende Myokardgewebe.....	5
1.5.2 Schäden an Koronararterien.....	6
1.5.3 Einflussgrößen auf die Läsionsbildung während der Hochfrequenzstromablation	7
1.6 Arbeitshypothesen und Versuchsziel	8
2 Material und Methoden	10
2.1 Tiermodell und Versuchsskizze	10
2.2 Durchführung des Tierexperimentes	11
2.2.1 Betreuung und Anästhesie der Tiere	11
2.2.2 Koronarangiographie vor Ablation	12
2.2.3 Katheterführung und Radiofrequenzablation.....	12
2.2.4 Postinterventionelle Koronarangiographie	13
2.2.5 Tod der Versuchstiere und Entnahme der Herzen	13
2.3 Makroskopische Aufarbeitung	14
2.4 Histopathologische Aufarbeitung.....	14
2.4.1 Probenfixierung und -einbettung.....	14
2.4.2 Schneiden der Paraffinblöcke.....	15
2.4.3 Färbemethoden.....	16
2.5 Mikroskopische Aufarbeitung	19
2.6 Statistische Auswertung.....	20
3 Ergebnisse.....	21
3.1 Stichprobe.....	21
3.2 Ergebnisse der makroskopischen Auswertung nach 48 Stunden.....	21
3.2.1 Makroskopische Besonderheiten	22

3.3	Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung.....	27
3.3.1	Histologische Darstellung der Hochfrequenzstrom-Läsionen	27
3.3.2	Veränderungen der Koronararterien in der mikroskopischen Auswertung	30
3.3.3	Weitere Gewebeauffälligkeiten.....	33
3.4	Läsionsvolumina nach 48 Stunden.....	35
3.4.1	Transmuralität.....	39
3.5	Angiographische Veränderung an den Koronararterien nach 48 Stunden.....	39
4	Diskussion.....	41
4.1	Volumen und Morphologie der Läsionen	41
4.2	Strukturelle Koronararterienveränderung	42
4.3	Tiere mit Protokollverletzung	43
4.4	Limitationen und methodische Einschränkungen	44
4.5	Klinische Bedeutung und Ausblick	46
5	Zusammenfassung.....	48
	Literaturverzeichnis	50

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schema der ausgewählten Hochfrequenzstromablations-Läsionsorte	10
Abbildung 2: Makroskopische Ansicht einer Läsion an der Spitze des linken Ventrikels.....	22
Abbildung 3: Makroskopische Ansicht einer Läsion am rechten Vorhofohr.....	22
Abbildung 4: Läsionsabdruck auf der Lunge	22
Abbildung 5: Makroskopische Befunde des Herzens eines Tieres, das vier Stunden post- interventionell am plötzlichen Herztod verstarb.....	23
Abbildung 6: Hämorrhagische Infarzierung des linken Herzohres.....	24
Abbildung 7: Sondierter Sinus coronarius	24
Abbildung 8: Ventrikuläres Infarktareal.....	25
Abbildung 9: Einblutung in das apikale linksventrikuläre Myokard.....	25
Abbildung 10: Läsionsabdruck auf der A. pulmonalis	26
Abbildung 11: Läsionsabdruck auf der Aorta	27
Abbildung 12: Mikroskopische Ansicht einer septalen rechtsventrikulären Läsion.	28
Abbildung 13: Mikroskopische Ansicht einer rechtsatrialen Läsion.....	29
Abbildung 14: Transmurale Läsion	30
Abbildung 15: Transmurale Läsion der Atrioventrikularklappen-Ebene	30
Abbildung 16: Mikroskopische Ansicht der rechten Koronararterie innerhalb der Läsionszone.....	32
Abbildung 17: Strukturelle Veränderung der rechten Koronararterie nach Ablation	33
Abbildung 18: Sinus coronarius-Thrombose	34
Abbildung 19: Myokardialer Thrombus nach Einblutung in die Läsion.....	34
Abbildung 20: Thrombose der V. cordis media	35
Abbildung 21: Darstellung der Läsionsvolumina der unterschiedlichen Lokalisationen 48 Stun- den nach Hochfrequenzstromablation.....	36
Abbildung 22: Vergleich der Läsionsvolumina zwischen niedriger-mittlerer und hoher- mittlerer Anpresskraft	37
Abbildung 23: Streudiagramm der Läsionsvolumina atrialer Läsionen in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft	37
Abbildung 24: Streudiagramm der Läsionsvolumina der Läsionen in der Atrioventrikular- klappen-Ebene in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft.....	38
Abbildung 25: Streudiagramm der Läsionsvolumina ventrikulärer Läsionen in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft	38
Abbildung 26: Koronarangiographie und Histologie der stenosierten linken Koronararterie nach Ablation	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schritte der Gewebeeinbettung im Einbettautomat Shandon-Citadel 1000.....	15
Tabelle 2: Schritte der Entparaffinierung.	17
Tabelle 3: Schritte der Hämatoxylin-Eosin-Färbung.	17
Tabelle 4: Schritte der Entplastung im Technovit 9100.....	18
Tabelle 5: Schritte der Desminfärbung.	19
Tabelle 6: Verteilung der Koronararterienveränderungen in Abhängigkeit von der Lokalisation und der angewendeten Anpresskraft.	31

Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Arteria</i> (Arterie)
AP	<i>Accessory pathway</i> (akzessorische Leitungsbahn)
AV	Atrioventrikular
AVNRT	Atrioventrikularknoten-Reentry-Tachykardie
AVRT	Atrioventrikuläre Reentry-Tachykardie
CF	<i>Contact force</i> (Anpresskraft)
CHD	<i>Congenital heart disease</i> (angeborener Herzfehler)
CS	<i>Sinus coronarius</i> (Koronarvenensinus)
DGPK	Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie
EPU	Elektrophysiologische Untersuchung
F	<i>French</i> (1 French = 1/3 mm)
FTI	<i>Force-time-integral</i> (Kraft-Zeit-Integral)
HE	Hämatoxylin-Eosin
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i> (Meerrettichperoxidase)
i.m.	Intramuskulär
i.v.	Intravenös
IVUS	Intravaskulärer Ultraschall
KG	Körpergewicht
LA	Linker Vorhof
LV	Linker Ventrikel
MK	Mitralklappe
RA	Rechter Vorhof
RCA	<i>Right coronary artery</i> (rechte Koronararterie)
RFA	<i>Radiofrequency ablation</i> (Hochfrequenzstrom-Ablation)
RT	Raumtemperatur
RV	Rechter Ventrikel
SCD	<i>Sudden cardiac death</i> (plötzlicher Herztod)
SVT	Supraventrikuläre Tachykardie
TBS-T	<i>Tris-buffered saline with tween-20</i> -Pufferlösung
TK	Trikuspidalklappe
V.	<i>Vena</i> (Vene)

Vv.	<i>Venae</i> (Venen)
VF	<i>Ventricular fibrillation</i> (Kammerflimmern)

1 Einleitung

1.1 Einführung in das Thema der Arbeit

Die Katheterablation von Substraten supraventrikulärer Tachykardien (SVT) durch Hochfrequenzstrom-Ablation (RFA) wurde seit Ende der 1980er Jahre bei Kindern angewandt (Al-Ammouri und Perry 2006). Seitdem stieg der Stellenwert dieses Therapieverfahrens schnell an. Heute stellt die RFA nicht nur die Therapiealternative für medikamentös refraktäre Arrhythmien dar, sondern ist in vielen Fällen Mittel der ersten Wahl, sowie Eltern- und/oder Patientenwunsch (DGPK 2018; Thomas und Macicek 2016).

Die Ablationstherapie findet sowohl bei Kindern und Jugendlichen mit strukturell gesunden Herzen, als auch bei jenen mit angeborenen Herzfehlern (CHD) ihren Einsatz und erspart als kurative Therapie häufig die lebenslange Einnahme antiarrhythmischer Medikamente (Brugada et al. 2013).

Während der RFA werden anatomische Substrate, die für die Entstehung der SVT verantwortlich sind, thermisch zerstört. Mittels eines in die Herzhöhlen eingebrachten Hochfrequenzstrom-Ablationskatheters, dessen Spitze durch Wechselstrom erhitzt wird, findet eine Verödung (Ablation) statt (Paul 2002, S. 177).

Trotz der nun schon langen Anwendungsdauer dieses Verfahrens am kindlichen Herzen sind die Langzeitfolgen nach RFA am juvenilen Myokard bislang weitgehend unbekannt. Die Frage nach dem Stellenwert der Anpresskraft (CF) zwischen Myokard und Katheterspitze während des Ablationsvorgangs ist nicht abschließend geklärt.

Um hierüber neue Forschungserkenntnisse zu erlangen, beschäftigt sich der durchgeführte tierexperimentelle Versuch zum Thema „Einfluss der Anpresskraft des Hochfrequenzstrom-ablationskatheters auf die Läsionsbildung und das Auftreten von Koronarstenosen am wachsenden Schweineherz“ sowohl mit den akuten Gewebeeffekten der RFA am Herzen junger Schweine, als auch mit den langfristigen Folgen, die daraus am wachsenden Myokard resultieren.

1.2 Epidemiologie supraventrikulärer Tachykardien im Kindesalter

Die SVT ist mit einer Prävalenz von 2,25/1000 die häufigste Tachyarrhythmie bei Kindern, Jugendlichen und Patienten mit einem angeborenen Herzfehler (Brugada et al. 2013; DGPK 2018). Im Säuglingsalter ist eine atrioventrikuläre Reentry-Tachykardie (AVRT) auf

Grundlage einer akzessorischen Leitungsbahn (AP) die häufigste SVT (Ko et al. 1992). Ein Teil der AP verliert im ersten Lebensjahr die Leitfähigkeit, sodass bei den Patienten dann keine SVT mehr auftritt. Die Atrioventrikularknoten-Reentry-Tachykardie (AVNRT) ist im ersten Lebensjahr eine Rarität, wird jedoch ab der zweiten Lebensdekade häufigste Form der SVT (Anand et al. 2009). Unabhängig vom Alter ist eine AVRT bei Jungen gegenüber Mädchen häufiger, während die AVNRT gehäuft bei Mädchen auftritt (Anand et al. 2009).

Eine Besonderheit stellen Kinder mit CHD dar. Sie sind einerseits durch die Anatomie des Herzfehlers selbst, andererseits durch die daraus entstehenden hämodynamischen Veränderungen, sowie durch Operationsnarben, für die Entstehung einer SVT prädisponiert (Brugada et al. 2013; Thomas und Macicek 2016). Bei diesen Patienten kommen gehäuft intraatriale Reentry-Tachykardien vor (Saul et al. 2016).

1.3 Therapieindikation supraventrikulärer Tachykardien

SVT bedürfen einer Behandlung, wenn sie symptomatisch sind, mit Zeichen kardialer Funktionseinschränkung einhergehen (z.B. Zunahme der Ventrikelweite) oder eine Operation bei Kindern mit CHD ansteht, bei der das Auftreten der SVT den perioperativen Verlauf gefährden kann (DGPK 2018; Saul et al. 2016). Therapieziele sind die Beendigung einer akuten SVT-Episode und die Anfallsprophylaxe (DGPK 2018).

Hierfür stehen nicht-medikamentöse, medikamentöse und interventionelle Maßnahmen zur Verfügung. Im Gegensatz zur Durchbrechung Atrioventrikular (AV)-Knoten-abhängiger SVT durch Vagusmanöver oder medikamentöser „Dauer-Prophylaxe“, stellt die Ablationstherapie eine kurative Therapie dar. Sie wird in vielen Fällen mittlerweile klar empfohlen, beispielsweise bei Patienten mit rezidivierenden oder permanenten SVT, welche eine ventrikuläre Dysfunktion entwickeln. Eine nicht erfolgreiche medikamentöse Therapie oder die Entwicklung relevanter Nebenwirkungen stellen weitere Indikationen dar (DGPK 2018; Saul et al. 2016). Bei Patienten > 15 kg zählt auch der Patienten- oder Elternwunsch zur Vermeidung einer dauerhaften antiarrhythmischen Medikation (DGPK 2018; Saul et al. 2016). Neben der RFA ist die kälteinduzierte Unterbrechung eines Tachykardiesubstrates durch Kühlung der Katheterspitze mit flüssigem Stickstoff während einer sogenannten „Kryoablation“ eine Methode der Ablationstherapie.

1.4 Ablationstherapie

1.4.1 Hochfrequenzstromablation

Die RFA findet im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung mit elektrophysiologischer Untersuchung (EPU) statt. Ziel der EPU ist die Charakterisierung und Lokalisierung des Tachykardiesubstrates, z.B. der AP einer AVRT oder des AV-Knotenschenkels mit dualen Leitungseigenschaften und konsekutiv induzierbarer AVNRT. Hierfür werden mehrere multipolare Elektrokatheter in das Herz eingebracht und zumeist im rechten Vorhof (RA), im Koronarvenensinus (CS), am HIS-Potential und im rechten Ventrikel (RV) positioniert (Paul 2002, S. 175). Nach Identifizierung des auslösenden Mechanismus der Tachykardie wird mit der Spitze des manövrierbaren Mapping- und Ablationskatheters die Lokalisation des anatomischen Substrates aufgesucht (Paul 2002, S. 177). Durch Hochfrequenzstrom (500 kHz) wird die Katheterspitze erhitzt und induziert an der Kontaktstelle mit dem Endokard eine Koagulationsnekrose des Tachykardiesubstrates einschließlich des umgebenden Myokards (Paul 2002, S. 177).

Während einer konventionellen Ablation im ungekühlten Modus können am Endokard Thromben und Verkohlungen durch hohe Temperaturen entstehen (Haines 2004). Die Nutzung von Ablationskathetern, deren Katheterspitze während des Ablationsvorgangs mit Kochsalzlösung umspült wird, kann dies vermindern (Haines 2004). Hierbei resultiert durch eine gleichmäßigere Abgabe des Hochfrequenzstromes in das Gewebe eine größere und tiefere Läsionsausbildung und das Risiko für eine oberflächliche Thrombenbildung wird reduziert (García-García et al. 2002; Gulletta et al. 2013; Haines 2004).

1.4.2 Katheter mit Anpresskraft-Sensor

Die CF der Katheterspitze an das zu behandelnde Gewebe ist ein wesentlicher Parameter der Läsionsbildung (Avitall et al. 1997; Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008). Daher wurden Katheter entwickelt, die einen Kraftsensor beinhalten, u.a. der *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter (Abbott Laboratories, Chicago [Illinois], USA). Er ermöglicht die Erfassung der CF der Katheterspitze während des Mappings und der RFA.

Der *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter besitzt einen Außendurchmesser von 7 French (F) und eine 3,5 mm breite Spitze, in der ein fiberoptisches System integriert ist (Abbott Cardiovascular n.d.; Franco et al. 2018). Dieses besteht aus drei optischen Fasern, die im Winkel von je 120° zueinander in der Katheterspitze platziert sind (Abbott Cardiovascular n.d.). Sie senden Licht mit einer definierten Wellenlänge aus, welches an der

Katheterspitze reflektiert und über das *TactiSys™ Quartz Hardware* System (Abbott Laboratories, Chicago [Illinois], USA) analysiert wird (Abbott Cardiovascular n.d.; Franco et al. 2018). Mit der Applikation von Kraft auf die Katheterspitze tritt eine Mikrodeformation und damit eine Veränderung des über die optischen Fasern gesendeten und reflektierten Lichtsignals auf (Abbott Cardiovascular n.d.). Hieraus wird die absolute Kraft und räumliche Anordnung der Krafteinwirkung berechnet (Abbott Cardiovascular n.d.; Franco et al. 2018). Über sechs zirkulär angeordnete Öffnungen an der Katheterspitze kann während der RFA Spülflüssigkeit ausgeleitet werden (Franco et al. 2018).

Zusätzlich ist die Katheterspitze mit einem elektromagnetischen Sensor für nicht fluoroskopiegestützte Navigationssysteme ausgestattet (Abbott Cardiovascular n.d.).

Klinische Studien an erwachsenen Patienten mit Vorhofflimmern zeigen, dass die Anwendung des *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationkatheters sicher ist (Kuck et al. 2012; Reddy et al. 2015). Die Genauigkeit und Sensitivität des Kraftsensors wurde in experimentellen Arbeiten demonstriert (mean-error ≤ 1 g) (Yokoyama et al. 2008).

1.4.3 Effektivität und Sicherheit der Hochfrequenzstromablation

Die RFA ist aufgrund der hohen Erfolgs- und niedrigen Komplikationsrate ein sicheres und effektives Verfahren zur Behandlung tachykarder Herzrhythmusstörungen bei Kindern und Jugendlichen (Brugada et al. 2013; Kugler et al. 2002; Saul et al. 2016). Je nach Substrat und Lokalisation beträgt die akute prozedurale Erfolgsquote 87-98 %, bezogen auf Patienten mit strukturell normalen Herzen (Saul et al. 2016). Im Hinblick auf Komplikationen wurde ein tendenzielles Absinken der Komplikationshäufigkeit im Vergleich der Registerstudien der letzten zwei Jahrzehnte aufgezeichnet (Dubin et al. 2019).

Als schwerwiegende Komplikationen der RFA werden jene definiert, durch die eine weitere Behandlung erforderlich wird. Hier sind vor allem ein höhergradiger oder kompletter AV-Block, eine Katheterperforation von Herzhöhlen oder Gefäßen, sowie Thromboembolien von Bedeutung (Saul et al. 2016). Komplikationen treten je nach Substrat und Lokalisation in ca. 1-3 % der Fälle auf (Brugada et al. 2013; Saul et al. 2016; van Hare et al. 2004).

Die Induktion eines permanenten AV-Blocks gehört zu den folgenschwersten Komplikationen, da sie zu einer lebenslangen Abhängigkeit des Kindes von einem Schrittmachersystem führt. In einer tschechischen multizentrischen Studie sowie der PAPCA-Studie betrug die Komplikationsrate für permanente AV-Blockierungen ca. 1 % für die Gesamtheit der behandelten Substrate (Kubuš et al. 2014; van Hare et al. 2004). Bei AV-Knoten-nahen Substraten (u.a. atypische AVNRT, parahissäre AP) ist das Risiko für das Auftreten eines AV-Blocks erhöht (van Hare et al. 2004). Dies gilt ebenfalls beim Vorliegen einer strukturellen

Herzfehlbildung des Patienten mit atypischer Lokalisation des Reizleitungssystems (Backhoff et al. 2016).

Kleinere vaskuläre Komplikationen, die keiner weiteren Therapie bedürfen, z.B. ausgedehnte Hämatome und kleinere Blutungen, treten in 1-3 % der Fälle auf und werden in Studien oft nicht miterfasst (Saul et al. 2016).

Einzelne Fallbeispiele berichten vom Verschluss eines Koronargefäßes nach RFA, für den verschiedene Ursachen zugrunde liegen können (Blaufox und Saul 2004; Khanal et al. 1999; Paul et al. 2003). Die thermische Gefäßveränderung kann zu einem Ödem, Spasmus oder Thrombus des Koronargefäßes führen (Leo et al. 2014; Spar et al. 2010; Wong et al. 2010). Folgen können ein Myokardinfarkt, Herzrhythmusstörungen und der Tod des Patienten sein (Makimoto et al. 2013; Sakamoto et al. 2018). Es werden sowohl akute, als auch chronische Koronarverschlüsse beschrieben (Kaneko et al. 2017; Pons et al. 1997). Eine Koronarangiographie nach Ende der Ablation wird an den meisten Kliniken nicht routinemäßig durchgeführt, sodass asymptotische Verletzungen der Koronararterien in diesem Fall nicht ausgeschlossen sind. Sie werden in ihrer Häufigkeit potenziell unterschätzt (Saul et al. 2016; Schneider et al. 2009).

Während der RFA kann es zu einer Ungleichheit zwischen der Temperatur des subendothelialen Gewebes und der Katheterspitze kommen, die das Risiko einer Wasserdampfentwicklung im Gewebe mit sich führt (Ikeda et al. 2014; Matsumoto et al. 2003; Theis et al. 2015). Diese können als hörbare myokardiale Einreißungen wahrgenommen werden (sog. „*Steam-Pop*“), wenn eine unerwünscht hohe Gewebeerhitzung von ≥ 100 °C in der Tiefe entsteht. Intramyokardiale Hämatombildung, Perikardtamponade oder Myokardperforation können die Folgen sein (Cochet et al. 2014; Hsu et al. 2005; Matsumoto et al. 2003). *Steam-Pops* treten in ca. 2 % der RFA auf (Seiler et al. 2008).

1.5 Aktueller Stand der Wissenschaft

1.5.1 Auswirkungen thermischer Energie auf das wachsende Myokardgewebe

Die Applikation von Hochfrequenzstrom induziert am Myokard eine Koagulationsnekrose (Paul 2002, S. 177). Diese stellt sich mikroskopisch durch einen Verlust der Myofibrillenstruktur, Kontraktionsbandnekrosen, intramyokardiale Hämorrhagie und einen leukozytären Randsaum als scharfe Abgrenzung zum umgebenden gesunden Myokard dar (Paul et al. 1997; Saul et al. 1994). An der durch die RFA unterbrochenen Endothelschicht können sich Ulzerationen bilden oder Thromben anhaften (Khairy et al. 2011; Saul et al. 1994).

Nach mehreren Monaten stellen sich die Läsionen als eine kompakt-fibrosierte und mittelmäßig vaskularisierte Myokardnarbe dar (Paul et al. 1997). Die Grenze zum umgebenden Myokard wird undeutlich und subepikardiales Bindegewebe teilweise durch Fettgewebe ersetzt (Bökenkamp et al. 2000; Paul et al. 1997).

Saul et al. (1994) führten RFA an jungen Lämmern durch und beobachteten die Läsionsentwicklung akut, nach einem und nach acht Monaten. Die Läsionen im Atrium und in den Ventrikeln vergrößerten sich während der Nachbeobachtung, die Läsionen in der AV-Klappenebene jedoch nicht. Das Wachstum der Läsionen wurde im Atrium bereits nach einem Monat, im Ventrikel erst nach acht Monaten beobachtet.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam die Arbeitsgruppe von Khairy et al. (2011), die Kryoablationen und RFA an jungen Lämmern applizierten. Sie stellten nach insgesamt 12-monatiger Wachstumsphase signifikant vergrößerte atriale und ventrikuläre Läsionen, aber nur unwesentlich vergrößerte Läsionen an der AV-Klappenebene fest.

Demgegenüber beschrieben Paul et al. (1997) sechs Monate nach RFA eine signifikante Größenabnahme von Läsionen im Atrium und Ventrikel bei jungen Schweinen.

Diese teils gegensätzlichen Ergebnisse verdeutlichen, dass die Größenveränderung der Läsionen im wachsenden Myokard bislang nicht abschließend geklärt ist.

1.5.2 Schäden an Koronararterien

Tierexperimentelle Untersuchungen unterschiedlicher Arbeitsgruppen haben sich mit der Morphologie von Gefäßen beschäftigt, die an RFA-Läsionen angrenzen. Die Arbeitsgruppe Paul et al. (1997) beschrieb eine Koronararterienbeteiligung bei 4/5 der Schweine, deren Herzen 48 h postinterventionell untersucht wurden. Histologisch wurden Inflammationsreaktionen bis in die rechte Koronararterie (RCA) durch rechtsatriale Läsionen nahe des Trikuspidalklappenannulus nachgewiesen. In einer Vergleichskohorte entstanden durch Läsionen derselben Lokalisation bei 4/5 der Schweine nach sechs Monaten Veränderungen der RCA-Wandschichten bis zur Lamina media, teils mit resultierender Lumenreduktion (Paul et al. 1997).

In einer Untersuchung der Elektrophysiologischen Forschungsgruppe aus Oklahoma wurden RFA und Kryoläsionen im CS von Hunden appliziert (Aoyama et al. 2005). Der Ramus circumflexus befand sich dabei gezielt max. 2 mm von der Ablationsstelle entfernt. Durch beide Energiearten kam es zu Medianekrosen, die bei RFA jedoch häufiger beobachtet wurden (70 % vs. 48 %).

1.5.3 Einflussgrößen auf die Läsionsbildung während der Hochfrequenzstrom-ablation

Die wesentlichen zur Läsionsbildung bei der RFA beitragenden Parameter werden seit Etablierung der Ablationstherapie untersucht (Haines 1991). Die CF der Katheterspitze an das Myokard stellte sich in experimentellen Arbeiten als Prädiktor eines stabilen Wandkontaktes und als wesentliche Variable für die Läsionsbildung heraus (Avital et al. 1997; Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008).

Ein stabiler Wandkontakt zwischen Katheterspitze und Myokard während der Ablation wird benötigt, um Energieverluste durch Konvektion, bedingt durch den Blutfluss im Herzen, gering zu halten (Haines 1991; Zheng et al. 2000). Dies würde zu einer ineffizienten Läsionsbildung führen (Haines 1991; Zheng et al. 2000). Ein intermittierender Wandkontakt während des Herzzyklus tritt bei niedriger CF < 10 g auf (Franco et al. 2018; Reddy et al. 2012; Reddy et al. 2015).

Die Läsionsformation selbst wird durch das Zusammenwirken der Hochfrequenzstromleistung, der Applikationsdauer und der CF der Katheterspitze bestimmt (Reddy et al. 2015; Shah et al. 2010). Mit einem Standard-Ablationskatheter ohne Kraftsensor wird die CF während der RFA nicht erfasst, sondern durch die Hand des Anwenders subjektiv wahrgenommen. Surrogatparameter, wie beispielsweise Impedanzveränderungen während der RFA, Temperatur an der Katheterspitze oder Verlust der Elektrogramm-Amplitude können eine Abschätzung der Effektivität der Läsion erlauben (Ikeda et al. 2014; Reddy et al. 2015; Zheng et al. 2000). Diese Surrogatparameter weisen jedoch nur eine begrenzte Vorhersagekraft auf und sind der Prädiktion der mit einem spezialisierten Katheter erfassten CF im Hinblick auf die resultierende Läsionsausdehnung unterlegen (Ikeda et al. 2014).

Experimentelle Studien zeigten eine Zunahme von Läsionstiefe, -durchmesser und -volumen bei steigender CF (Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008). Es wurden größere Läsionen durch niedrigere Leistung (30 W) mit höherer CF (30 g oder 40 g) erzielt, als durch höhere Leistung (50 W) mit niedriger CF (2-10 g) (Yokoyama et al. 2008). Wong et al. (2013) beobachteten bei epikardialen RFA im Schafsmodell einen direkten linearen Zusammenhang zwischen einer CF im Bereich zwischen 5-40 g und dem korrespondierenden Läsionsvolumen.

Auf der anderen Seite ist eine überschießend hohe CF zu vermeiden. Ab einer CF > 10 g bzw. > 20 g steigt das Risiko für das Auftreten von *Steam-Pops* und Thromben in Abhängigkeit von der angewendeten Leistung > 30 W (Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008).

Andere Arbeitsgruppen beschäftigten sich mit der Frage nach dem Zielwert der „optimalen“ CF, die mit einem Maximum an Effektivität und Sicherheit einhergeht. Für Pulmonalvenenisolationen bei erwachsenen Patienten bestand ein besseres Langzeitergebnis, wenn die überwiegende Zahl der Ablationspunkte ($> 90\%$) mit einer CF ≥ 10 g appliziert wurde (Reddy et al. 2015).

Neben der Erfassung der mittleren CF während der Ablation können abgeleitete Werte zur Vorhersage von Läsionsgröße sowie Transmuralität klinisch genutzt werden (Squara et al. 2014; Whitaker et al. 2018): Das *Force-Time-Integral (FTI)* stellt das Produkt aus CF und Ablationszeit dar und berücksichtigt somit die mitunter unterschiedliche Applikationszeit des Hochfrequenzstromes (Squara et al. 2014). Ein FTI > 400 gs oder eine mittlere CF > 20 g ist für Pulmonalvenenisolationen anzustreben (Kautzner et al. 2015; Neuzil et al. 2013; Reddy et al. 2012).

Der *Lesion-Size-Index* stellt eine Kombination aus Anpresskraftdaten, den elektrischen Messdaten und einer Zeitkonstante dar und spiegelt die nicht-lineare Ausbreitung der Läsion während der Applikation von Hochfrequenzstrom wider (Calzolari et al. 2017; de Mattia et al. 2018; Whitaker et al. 2018).

Ablationskatheter mit integriertem Kraftsensor, wie der *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter, können die Läsionsbildung optimieren und zu einer Erhöhung des Sicherheitsprofils beitragen (Kuck et al. 2012; Reddy et al. 2012).

Dalal et al. (2017) behandelten kindliche Tachykardiesubstrate mit Hochfrequenzstrom unter Berücksichtigung der CF (mediane CF 6 g). Sie kamen zu dem Ergebnis, dass bei pädiatrischen Patienten effektive Läsionen mit einer deutlich niedrigeren CF erzielt werden können, als bisher in der Literatur für erwachsene Patienten beschrieben (Dalal et al. 2017). Aussagen, die darüber hinaus für die generelle Anwendbarkeit der CF-Technik bei Kindern hinausgehen, liegen derzeit nicht vor. Die vorliegende Forschungsarbeit soll daher den Stellenwert einer systematischen Erfassung der CF bei Ablation im kindlichen Myokard erfassen.

1.6 Arbeitshypothesen und Versuchsziel

Der Einfluss der CF während der Hochfrequenzstromapplikation wurde bisher nicht am wachsenden Myokard untersucht. Denkbar ist es, dass bei den zarten anatomischen Strukturen kindlicher Herzen eine geringere CF von 10-20 g genügt, um eine effektive, transmurale Läsion und damit kurative Unterbrechung eines Tachykardiesubstrates zu erzeugen. Möglicherweise kann dadurch die mit dem Wachstum auftretende Tiefenausdehnung und Größenzunahme der Läsion vermieden oder verringert werden.

Es ist davon auszugehen, dass durch die geringere CF weniger oder keine Verletzungen der Koronararterien auftreten, als bei einer hohen CF.

Auf Grundlage dieser Annahmen entstanden folgende Arbeitshypothesen für die tierexperimentelle Studie:

- 1.) Eine definierte CF von 10-20 g genügt bei der RFA am juvenilen Myokard, um ein effektives Läsionsvolumen und damit eine komplette Ablation des Tachykardiesubstrates zu erzielen.
- 2.) Bei einer CF von 10-20 g treten keine oder signifikant weniger Verletzungen der Koronararterien auf, als bei einer höheren CF von 20-60 g.

Durch die kontinuierliche Erfassung der CF während der RFA an den Herzen junger Läuferschweine und die sich anschließende histologische Untersuchung des Läsionsgewebes, sollen neue Erkenntnisse zur optimalen CF am wachsenden Myokard gewonnen werden. Ein besonderer Schwerpunkt der histologischen Aufarbeitung liegt auf der Volumetrie der Läsionen und der Beurteilung von Myokard- und Koronararterienveränderung in Abhängigkeit von der angewandten CF. Das Ziel ist, mit den Ergebnissen zu einer Erhöhung der Effektivität und Sicherheit der RFA von SVT bei Kindern beizutragen.

2 Material und Methoden

2.1 Tiermodell und Versuchsskizze

Das menschliche Herz und das Schweineherz ähneln sich in ihren anatomischen Grundstrukturen sehr, weshalb die in diesem Tierversuch gewonnenen Ergebnisse auf das menschliche Herz übertragen werden können (Lelovas et al. 2014).

Um die Gewebefeffekte der RFA am juvenilen Myokard bei unterschiedlichen Ziel-CF zu untersuchen, wurden an 12 jungen Läuferschweinen (Deutsche Landrasse, Alter ca. sechs Wochen, Gewicht 15-22 kg) mit dem 7 F *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter je sieben RFA-Läsionen pro Tier appliziert. Als Läsionsorte wurden festgelegt:

- a.) zwei Läsionen im RA
- b.) drei Läsionen auf Höhe der AV-Klappenebene
(zwei am atrialen Aspekt der Trikuspidalklappe [TK], eine am ventrikulären Aspekt der Mitralklappe [MK])
- c.) zwei ventrikuläre Läsionen
(eine am RV-Apex, eine an der freien Wand des linken Ventrikels [LV])

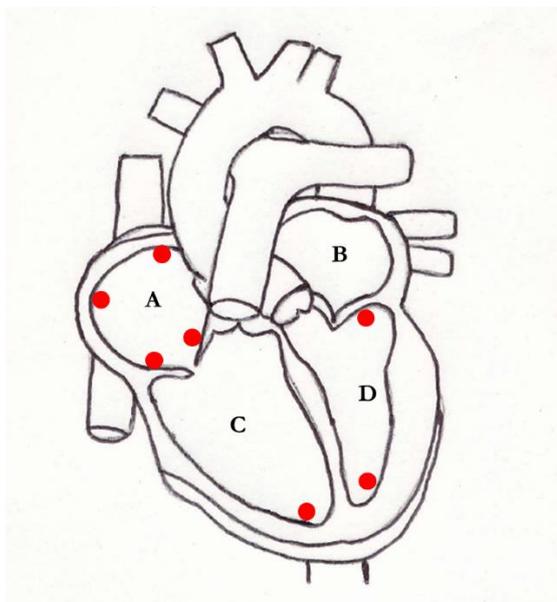


Abbildung 1: Schema der ausgewählten Hochfrequenzstromablations-Läsionsorte (eigene Darstellung). (A) Rechter Vorhof mit zwei Läsionen (septal, lateral oder apikal) sowie zwei Läsionen am atrialen Aspekt der Trikuspidalklappe. (B) Linker Vorhof. (C) Rechter Ventrikel mit Läsion am Apex. (D) Linker Ventrikel mit Läsion am ventrikulären Aspekt der Mitralklappe sowie Läsion an der freien Wand.

Bei jedem Tier wurden randomisiert sowohl Läsionen mit niedriger-mittlerer (10-20 g), als auch mit hoher-mittlerer (20-60 g) CF appliziert, um anatomische Variabilität, Unterschiede im zeitlichen Ablauf oder gegebenenfalls auftretende Komplikationen als Einflussparameter auf das Gesamtergebnis zu minimieren. Um die Zuordnung der CF-Daten und der Läsionen in der späteren Aufarbeitung des Herzens zu erleichtern, wurde pro Herzhöhle eine einheitliche, entweder niedrige-mittlere oder hohe-mittlere CF angestrebt.

Vor der Applikation von Hochfrequenzstrom wurde bei jedem Tier eine selektive Koronarangiographie durchgeführt. Diese wurde 30 min im Anschluss an die letzte RFA wiederholt, um ablationsinduzierte Veränderungen der Koronararterien zu untersuchen. Die Tiere wurden nach 48 h erneut mittels selektiver Koronarangiographie untersucht, an deren Ende sie durch intrakoronare Kaliumgabe getötet und die Herzen zur histologischen Analyse entnommen wurden.

Die tierärztliche Betreuung und Kontrolle der Tiere fanden über den gesamten Zeitraum des Versuchs statt.

Eine Genehmigung zur Durchführung dieses beschriebenen Tierversuches wurde vom Niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit erteilt (Vorgang 33.9-42502-04-16/2171).

2.2 Durchführung des Tierexperimentes

2.2.1 Betreuung und Anästhesie der Tiere

Die Unterbringung der Läufer Schweine fand während der Studie im Stall der tierexperimentellen Einrichtung der Universitätsmedizin Göttingen statt. Die Untersuchungen und Ablationen der 12 Tiere wurden innerhalb einer Woche durchgeführt.

Zur Prämedikation erhielt jedes Tier 2 mg/kg Körpergewicht (KG) Azaperon (Stresnil 40mg/ml, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg) intramuskulär (i.m.) sowie 20 mg/kg KG Ketamin (Ketamin-Hameln 50mg/ml, Hameln Group GmbH, Hameln) i.m..

Nachdem ein Gefäßzugang in die Vena (V.) auricularis gelegt wurde, erhielten die Tiere eine Narkoseeinleitung mit 1 mg/kg KG mit Propofol (Propofol-Lipuro 1 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) intravenös (i.v.). Es folgte die orotracheale Intubation der Tiere mit einem Tubus der Größe 5,5 Charrière. Die Narkose wurde fortan mit 2 Vol. % Sevofluran (Sevofluran-Baxter, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim) und 5-10 µg/kg KG/h Fentanyl (Fentanyl-Hexal 0,1 mg/2 ml, Hexal AG, Holzkirchen) i.v. aufrechterhalten. Während der Narkose wurde ein Monitoring der Atem- und Herzfrequenz, der peripheren Sauerstoffsättigung sowie eine Kapnometrie und Elektrokardiogramm durchgeführt.

Nach sonographischem Aufsuchen der Arteria (A.) und V. femoralis und Gabe von 2-5 ml Lidocain (Lidocain-Braun 2%, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) am Ort der Punktionsstelle wurde je eine 8 F Schleuse (St. Jude Medical, Plymouth [Minnesota], USA) mittels Seldinger-Technik in A. und V. femoralis platziert.

Die für die Untersuchung notwendige Antikoagulation wurde mit einmalig 5000 I.E. Heparin (Heparin-Natrium-5000-Ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm) i.v. erzielt. Zur Infektionsprophylaxe erhielten die Tiere postoperativ einmalig 15 mg/kg KG Amoxicillin i.m. (Duphamox L.A., Zoetis Deutschland GmbH, Berlin).

2.2.2 Koronarangiographie vor Ablation

Die selektive Koronarangiographie der rechten und linken Koronararterie vor Ablation in zwei Ebenen (rechtsschräge Projektion [RAO 30°] und linksschräge Projektion [LAO 60°]) wurde mit einem 5 F Koronarangiographiekatheter (Amplatz rechts bzw. links/spezial, Fa. Cordis, Milpitas [Kalifornien], USA oder Judkins-Katheter, Fa. Cordis, Milpitas (Kalifornien), USA) durch die Gabe von 5-6 ml Kontrastmittel (Imeron 300mg Iod/ml, Bracco-Imaging Deutschland GmbH, Konstanz) durchgeführt. Die Fluoroskopie, Angiographien und Katheternavigation erfolgten unter Röntgendurchleuchtung mit einem C-Bogen (Philips GmbH, Hamburg).

2.2.3 Katheterführung und Radiofrequenzablation

Zur Prävention von Herzrhythmusstörungen während der Intervention erhielt jedes Tier vor der ersten Ablation 150 mg Amiodaron (Amiodaron-ratiopharm 150 mg/3 ml, ratiopharm GmbH, Ulm) i.v..

Für Läsionen im RA und RV und wurde der Ablationskatheter antegrad über die Hohlvene und TK eingebracht, für Läsionen im linken Vorhof (LA) und LV wurde ein retrograder, transaortaler Zugangsweg gewählt.

Zur elektronanatomischen Navigation im Herzen wurden die elektrischen intrakardialen Signale, die sich zwischen den vier Elektodenpaaren des Ablationskatheters ableiten lassen, verwendet. Für jede Läsion wurde Hochfrequenzstrom mit 30 W und einer Zieltemperatur von 65 °C für 30 s appliziert. Der Katheter wurde während der Ablation nicht separat gespült, sondern der Spülkanal des Katheters lediglich mit 2 ml/h NaCl 0,9 % (NaCl 0,9 %, Fa. B.Braun Melsungen AG, Melsungen) befahren. Diese niedrige, kontinuierliche Spülrate diente ausschließlich dem Verhindern einer Verlegung des Spülkanals, sollte jedoch keinen Effekt auf die Ablation vorweisen.

Während der Ablation wurde entweder eine niedrige-mittlere CF (10-20 g) oder hohe-mittlere CF (50-60 g) angestrebt.

Neben der mittleren CF wurden FTI und der *Lesion-Size-Index* mit dem *TactiSys™ Quartz Hardware* System festgehalten.

Die Lokalisation jeder RFA-Läsion wurde protokolliert, um bei der späteren makroskopischen Aufarbeitung der Herzen eine eindeutige Zuordnung sicherzustellen.

2.2.4 Postinterventionelle Koronarangiographie

Zur Beurteilung akut induzierter Gefäßveränderungen wurde 30 min nach der letzten RFA erneut eine Koronarangiographie durchgeführt. Nach Abschluss dieser wurden die Fremdmaterialien entfernt und die Punktionsstellen 20 min lang komprimiert, um Blutungskomplikationen zu vermeiden. Währenddessen wurde die Narkose ausgeleitet und bei auftretenden Schutzreflexen sowie Spontanatmung der Tubus entfernt. Zur postprozeduralen Überwachung wurden die Schweine in ihren Stall gebracht und dort in einer separaten Box mit einer Rotlichtlampe gewärmt.

Um weiterhin auch subakute Gefäßveränderungen darzustellen, wurde die Koronarangiographie 48 h nach RFA wiederholt. Hierfür wurde in erneuter Intubationsnarkose (Verfahren s.o.) ausschließlich die A. femoralis punktiert und in Seldinger-Technik eine 6 F Schleuse (St. Jude Medical, Plymouth [Minnesota], USA) eingebracht. Nach erneuter Koronarangiographie mit einem 5 F Angiographie-Katheter (Verfahren s.o.) wurde ein 6 F Führungskatheter (*Sherpa NX* Katheter, Medtronic, Minneapolis [Minnesota], USA) genutzt, um eine intravasculäre Ultraschalluntersuchung (IVUS) der Koronargefäße durchzuführen. Hierfür wurde ein Y-Adapter mit pneumatischem Ventil (*Gateway Advantage Y-Adapter*, Boston Scientific, Marlborough [Massachusetts], USA) an den 6 F *Sherpa*-Katheter angeschlossen und ein Koronardraht (0,014“ *Balace Middelweight*, Abbott Laboratories, Chicago [Illinois] USA) in den Hauptstamm der zu untersuchenden Koronararterie vorgebracht. Über diesen Draht wurde ein Ultraschallkatheter (*Eagle Eye Platinum*, Phillips, Amsterdam, Niederlande) eingeführt. Während des Rückzugs des *Eagle Eye Platinum* wurde das Lumen der Koronararterie analysiert.

2.2.5 Tod der Versuchstiere und Entnahme der Herzen

Im Anschluss an Koronarangiographie nach 48 h wurde die Narkose mit 200 µg Fentanyl i.v. vertieft und selektiv 20 ml KCl-Lösung (Kaliumchlorid 7,45 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) in das Ostium der linken Koronararterie appliziert. Der Tod der Tiere wurde durch anhaltende Asystolie und fehlendes endtidales CO₂ in der Kapnometrie festgestellt.

Mittels medianer Sternotomie wurde der knöcherne Thorax der verstorbenen Tiere geöffnet. Nach Einschneiden des fibrösen Perikards wurden die herznahen Gefäße (Aorta ascendens, Truncus pulmonalis, Venae [Vv.] pulmonales, Vv. cavae superior et inferior) ligiert, vom Herzen abgetrennt und dieses entnommen. Nun erfolgte eine äußere und innere Spülung des Herzens mit Leitungswasser zum Ablösen von Blutkoageln.

2.3 Makroskopische Aufarbeitung

Der Transport eines entnommenen Herzens ins Forschungslabor erfolgte in einem mit physiologischer NaCl-Lösung (NaCl 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gefüllten Gefäß. Jedes Herz wurde gewogen und makroskopisch analysiert. Es erfolgte die fotografische Dokumentation aller Herzseiten (Panasonic Lumix FZ100, Panasonic Deutschland GmbH, Hamburg). Im nächsten Schritt mussten systematisch die im Protokoll vermerkten Läsionen in den vier Herzhöhlen aufgesucht, bzw. den Ablationsdaten zugeordnet werden. Hierfür wurde zunächst ein intercavaler Zugangsweg zum RA und ein transtrikuspidaler Zugang zum RV gewählt. Nach Absetzen der Herzspitze waren die Läsionen des LV und der MK-Ebene auffindbar. Wurden alle Läsionen eindeutig den protokollierten Ablationsorten zugeordnet, erfolgte das Herauspräparieren. Läsionen in der Nähe eines Koronargefäßes oder einer Herzklappe wurden unter Mitnahme dieser Strukturen entnommen. Es entstanden kleine Gewebelöcher, welche nummeriert, vermessen, fotografiert und zur Fixierung in formalingefüllte (Formalinlösung 10 %, Roti-Histofix, Carl Roth-GmbH und Co.KG, Karlsruhe) Gefäße eingelegt wurden.

2.4 Histopathologische Aufarbeitung

2.4.1 Probenfixierung und -einbettung

Die Gewebeprobe wurden in den formalingefüllten Gefäßen über einen Zeitraum von vier Wochen auf einem Laborschüttler (*New Brunswick-Innova 2100*, Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf) unter permanentem Schwenken fixiert, was zur kompletten Durchtränkung des Gewebes mit Formalin führte. Diese lange Fixierungsdauer war aufgrund der Probengröße und des kompakten Myokardgewebes erforderlich und Grundvoraussetzung für die weitere Verarbeitung. Die Formalinfixierung wirkt generell einer Autolyse der Zellproteine entgegen und verhindert Fäulnis (Noll und Schaub-Kuhnen 2000, S. 20).

Im Anschluss wurden die Gewebelöcher ca. einen Tag unter fließendem Leitungswasser ausgewaschen. In einem Gewebereinbettungsautomat (*Shandon-Citadel 1000*, Shandon GmbH,

Frankfurt am Main) fanden über einen Zeitraum von 17 h die Schritte der Entwässerung und Paraffineinbettung statt (Tabelle 1). Ethanol (Ethanol Chemsolute 99 %, Th. Geyer, Reningen) wurde in aufsteigenden Konzentrationen genutzt (aufsteigende Alkoholreihe), um dem Gewebe Wasser zu entziehen. Xylol (Xylol [Isomere] > 98 %, Carl Roth-GmbH und Co. KG, Karlsruhe) fungierte als Zwischenmedium, da es sich sowohl mit Ethanol, als auch mit Paraffin verbindet. Es folgte die Infiltration mit flüssigem Paraffin (Roti®-Plast 100 % Paraffin, Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe), das sich hierbei in den Räumen ausbreitete, die zuvor mit Wasser gefüllt waren.

Tabelle 1: Schritte der Gewebereinbettung im Einbettautomat Shandon-Citadel 1000.

Probengefäß	Lösung	Zeit [h]
1	H ₂ O bzw. Ethanol 60 %	bis Start 3:00
2	Ethanol 70 %	01:00
3	Ethanol 80 %	01:00
4	Ethanol 96 %	01:00
5	Ethanol 100 %	01:00
6	Ethanol 100 %	01:00
7	Ethanol 100 %	01:00
8	Xylol	01:30
9	Xylol	01:30
10	Paraffin	01:00
11	Paraffin	01:00
12	Paraffin	03:00

In einer Ausgießstation (Leica EG1150H, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar) wurden Einbettformen zu ca. 1/3 mit heißem Paraffin befüllt, die Gewebeprobe positioniert und der Rest der Form mit Paraffin aufgefüllt. Durch Auflegen eines beschrifteten Rahmens behielt jeder Paraffinblock seine Zuordnung und Läsionsnummer. Die Blöcke wurden nach dem Erkalten im Gefrierfach gelagert, um die zum Schneiden benötigte Festigkeit zu erhalten.

2.4.2 Schneiden der Paraffinblöcke

Mit einem Rotationsmikrotom (Leica RM2165, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar) wurden die gefrorenen Paraffinblöcke nach einem Schnittprotokoll in 5 µm dicken Scheiben aufgearbeitet. Für eine Schnittserie wurden im Abstand von 100 µm sechs Schnitte à 5 µm (für die Hämatoxylin-Eosin-[HE]-Färbung sowie als Reserveschnitte) auf Objektträger (Objektträger mit Mattrand, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen. Alle

500 µm wurden zwei der sechs Schnitte auf spezielle Objektträger (Superfrost-Plus Objektträger, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen, die später für die Desmin-Färbung genutzt wurden. Die folgenden 14 Schnitte bis zum Erreichen der nächsten 100 µm-Marke wurden verworfen. Dieses Schnittprotokoll wurde solange wiederholt, bis sich der Block unter Raumtemperatur (RT) zu sehr erwärmte, um ihn sicher weiter zu schneiden. Durch erneutes Einfrieren konnte zu einem späteren Zeitpunkt das Aufschneiden durch den gesamten Block hindurch fortgesetzt werden.

Ein Objektträger mit aufgezogenem Gewebeschnitt musste vor der weiteren Verarbeitung in einem Wasserbad (45-50 °C, destilliertes Wasser) erwärmt werden, wodurch sich das Paraffin des aufgebrachten Schnittes erwärmte. Der feine, vom Schneiden teils wellige Schnitt, glättete sich durch diesen Vorgang und wurde gleichzeitig auf dem Objektträger fixiert. In Styroporkisten wurden die nassen Objektträger zum Trocknen aufgereiht, währenddessen mit Tier-, Läsions-, Serien- und Schnittnummer manuell beschriftet. Über Nacht wurden die Schnitte bei 37 °C im Brutschrank getrocknet.

2.4.3 Färbemethoden

Zur mikroskopischen Beurteilung der RFA-Läsionen wurde die HE-Färbung als Standardfärbung festgelegt. Zusätzlich wurde eine immunhistochemische Färbung mit anti-Desmin-Antikörpern in größeren Abständen durchgeführt. Desmin ist ein Intermediärfilament der Kardiomyozyten und Markerprotein für intakte Herz- sowie Skelettmuskulatur und glatte Muskulatur.

Vor den Färbevorgängen mussten die Schnitte zunächst von Paraffin befreit werden, um ein wässriges Medium zu erzielen, was durch ein wiederholtes Auswaschen mit abnehmender Alkoholkonzentration erfolgte (Tabelle 2).

Tabelle 2: Schritte der Entparaffinierung.

Durchgänge	Substanz	Zeit [min]	Anmerkung
3	Xylol	je 8	Xylol nach 5-7 Durchgängen erneuern
2	100 % Alkohol	je 3	Alkohol nach 5-7 Durchgängen erneuern
1	96 % Alkohol	5	
1	70 % Alkohol	5	
1	50 % Alkohol	5	
1	30 % Alkohol	5	
1	entionisiertes H ₂ O	5	

Die HE-Übersichts-Färbung liefert mit der basischen Substanz Hämaun (Hämaunlösung sauer nach Meyer, Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe) eine dunkelblaue bis violette Färbung der Zellkernstrukturen, wohingegen der saure Farbstoff Eosin (Eosin G, Merck, Darmstadt) das Zytoplasma, die Kollagenfasern, restliche Gewebeanteile und Erythrozyten rosa bis hellrot markiert (Lang 2013, S. 204).

Hierfür wurden die Schnitte im Anschluss an die absteigende Alkoholreihe wie folgt gefärbt (Tabelle 3):

Tabelle 3: Schritte der Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

Durchgänge	Substanz	Zeit [min]
3	Hämaun nach Meyer	je 3
1	fließendes Leitungswasser	6
1	entionisiertes H ₂ O	2
2	Eosin	je 2
1	entionisiertes H ₂ O	spülen
1	96 % Alkohol	1
2	100 % Alkohol	je 2
3	Xylol	je 3

Für die Desminfärbung musste im Anschluss an das Auswaschen mit absteigender Alkoholkonzentration (Verfahren s.o.) zusätzlich eine Entplastung (Technovit 9100, Morphisto GmbH, Frankfurt a.M.) stattfinden (Tabelle 4). Durch Herauslösen des Einbettmediums lassen sich die Dünnschnitte differenzierter anfärben (Lang 2013, S.121).

Tabelle 4: Schritte der Entplastung im Technovit 9100.

Durchgänge	Substanz	Zeit [min]
2-3	Xylol	je 20
1	2-Methoxy-EthylAcetat	20
2	Aceton	5
2	destilliertes H ₂ O	2

Im Anschluss konnte die weitere Vorbehandlung zur enzymatischen Antigendemaskierung stattfinden (Tabelle 5). Um durch die Formalinfixierung entstandene Aldehydvernetzungen im Gewebe aufzuheben, war zunächst eine Vorbehandlung mit TBS-T Puffer (*Tris-buffered saline with tween-20*, pH 7.6, Agilent, Waldbronn) erforderlich (Lang 2013, S.41). Endogene Peroxidasen, die zu falsch-positiven Färbereaktionen des Chromogens führen können, mussten blockiert werden (Lang 2013, S.55). Hierfür wurden die Schnitte mit einer entsprechenden Lösung behandelt (*Dako real peroxidase-blocking solution*, Agilent, Waldbronn). Nun wurde der Primärantikörper inkubiert (anti-Desmin-Antikörper, D9 *mouse monoclonal* IgG1, Progen, Heidelberg). Am nächsten Tag folgte das Auswaschen mit TBS-T Puffer und im Anschluss die Inkubation mit dem Sekundärantikörper (*Polyclonal rabbit anti-mouse* Immunglobulin HRP, Agilent, Waldbronn), welcher am Primärantikörper bindet. Der Sekundärantikörper ist mit dem Markerenzym Meerrettichperoxidase (*horseradish* [HRP]) gekoppelt, welches mit einem entsprechend entgegengerichteten Komplex aus der Chromogen-Lösung durch eine Enzym-Substrat-Reaktion zu einem farbigen Endprodukt führt (Tabelle 5).

Durch diese Farbreaktion erscheint gesundes Myokardgewebe (Nachweis von Desmin) braun, während die Läsionszone mit geschädigten Proteinstrukturen (Antigenen) weiß entfärbt aufleuchtet. Diese anti-Desmin-Antikörperfärbung kann somit als Übersichtsfärbung benutzt werden.

Abschließend wurden die Schnitte in alkoholisches Eindeckmittel eingedeckt (Entellan, Merck, Darmstadt).

Tabelle 5: Schritte der Desminfärbung.

Arbeitsschritt	Zeiten und Reagenzien
Vorbehandlung	<i>EnVision flex target retrieval solution high pH concentrate</i> (Agilent, Waldbronn)
Inkubation	20 min im Dampfkochtopf bei 90° C
Waschen mit Puffer	5 x 2 min mit TBS-T Puffer
Blockieren der endogenen Peroxidase	<i>Dako real peroxidase blocking solution</i>
Inkubation	17 min bei RT
Waschen	5 x 2 min mit TBS-T Puffer
Inkubation mit Antikörper-Verdünnung	30 min mit <i>Dako real antibody diluent</i> (Agilent, Waldbronn)
1. Antikörper	Desmin, D9 <i>mouse monoclonal IgG1</i> in Verdünnung 1:100
Inkubation	Bei 4 °C über Nacht
Waschen	5 x 2 min mit TBS-T Puffer
2. Antikörper	<i>Polyclonal rabbit anti-mouse</i> Immunglobulin HRP in Verdünnung 1:100
Inkubation	30 min bei RT
Waschen	5 x 2 min mit TBS-T Puffer
Substrat-Chromogen-System	DAB frisch ansetzen: pro 1 ml Substrat + 50 µl Zytochem DAB <i>Substrat Kit high control</i> (Zytomed Systems, Berlin) 5-30 min Inkubation unter Mikroskopkontrolle
Abstoppen der Färbereaktion	4 x 1 min destilliertes H ₂ O, 1 x 5 min destilliertes H ₂ O
Gegenfärbung	3 min Hämalaun, 3-4 min fließendes Leitungswasser (Vorsicht bei Kernfärbung, wird leicht überdeckt)
Entwässerung	1 x 1 min 96 % Alkohol, 2 x 2 min 100 % Alkohol, 3 x 3 min Xylol, Eindecken mit Entellan

2.5 Mikroskopische Aufarbeitung

Zur mikroskopischen Auswertung wurden die gefärbten Gewebeschnitte mit einem automatisierten Präparatescanner erfasst. Hierbei konnten max. 50 Objektträger gleichzeitig pro Einlesevorgang auf eine Ladestation aufgelegt werden. Die Objektträger wurden dann einzeln durch eine Luftansaugvorrichtung aus ihrer Einheit angesaugt, unter einem Mikroskop (BX 69vs, Olympus Europe SE & Co.KG, Hamburg) platziert und mit 20-facher

Vergrößerung eingelesen. Durch eine am Mikroskop angeschlossene Kamera (Olympus xc10, Olympus Europe SE & Co.KG, Hamburg) wurde das Bild erfasst und mit Hilfe des zugehörigen Programmes (DotSlide, Olympus Europe SE & Co.KG, Hamburg) elektronisch gespeichert.

Die erzeugten Bilddateien ließen sich zur Auswertung mit einer speziellen Mikroskopiesoftware (Virtual Slide Desktop-Software, Olympus Europe SE & Co.KG, Hamburg) öffnen und bearbeiten. Mittels dieser Mikroskopiesoftware wurde auf jedem eingescannten Schnitt durch das Setzen vieler einzelner Randpunkte ein Polygon erzeugt, welches die Läsionsränder markierte. Jeder der insgesamt ca. 6500 Schnitte wurde auf diese Weise bearbeitet. Die Fläche des Polygons, entsprechend dem Querschnitt der Läsion, ließ sich hierdurch berechnen. Aus der Querschnittsfläche der Polygone und dem definierten Abstand zueinander (100 μm) wurde das Volumen für jede Läsion erzeugt nach

$$V_{\text{Läsion}} = A_{\text{Polygon}} * 100 \mu\text{m}$$

2.6 Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden in Tabellenform (Microsoft Excel 2010, Microsoft Corporation, Redmont [Washington], USA) aufbereitet.

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte mit dem Programm SPSS (Version 25.0, IBM Corporation, Armonk [New York], USA). Zunächst wurden die erhobenen Daten auf Normalverteilung hin überprüft (Histogramme, Quantil-Quantil-Diagramme, Kolmogorow-Smirnow-Test). Nach Analyse der Datenstruktur und Verteilung wurde eine deskriptive Statistik durchgeführt. Unterschiede zwischen stetigen Datengruppen (z.B. Volumina zwischen atrialen und ventrikulären Läsionen) wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test für Rangsummen dargestellt. Unterschiede zwischen binomial verteilten Datengruppen (z.B. Koronarstenosen bei atrialen und ventrikulären Läsionen) wurden mit dem Chi-Quadrat-Test bzw. dem Fischer-Test berechnet. Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant definiert.

3 Ergebnisse

3.1 Stichprobe

Es wurden insgesamt 87 RFA Läsionen bei 12 jungen Läuferschweinen appliziert.

Bei 5/12 Tieren (42 %) der Kohorte traten Komplikationen im Zusammenhang mit der Intervention auf, die damit ein Abweichen von dem geplanten Versuchsaufbau zur Folge hatten.

Während der RFA kam es bei zwei Tieren zu Kammerflimmern (VF), das nicht durch Defibrillation terminiert werden konnte. Sie verstarben periprozedural bei erfolgloser Reanimation.

Zwei Tiere entwickelten 27 h und 36 h nach Ablation ein schmerzendes Hämatom an der Punktionsstelle. Nach Vorstellung der Tiere bei der betreuenden Tierärztin wurde die Belastung für die Tiere als „hoch“ eingestuft und die Tiere entsprechend der festgelegten Verfahrensanweisungen im Tierversuchsantrag aus dem Versuch genommen und unverzüglich getötet.

Ein weiteres Tier verstarb 4 h postinterventionell am plötzlichen Herztod (SCD).

Auch die Herzen und zuvor applizierten Läsionen ($n = 26/87$) dieser Tiere mit vorzeitiger Organentnahme wurden in der vorliegenden Studie verwendet.

3.2 Ergebnisse der makroskopischen Auswertung nach 48 Stunden

Das Gewicht der Herzen betrug im Median 133 g (Interquartilsabstand 111-137 g).

Bei der makroskopischen Aufarbeitung wurden 79/87 Läsionen (91 %) zweifelsfrei identifiziert und zur weiteren Aufarbeitung präpariert.

Makroskopisch erschienen die RFA-Läsionen nach 48 h als derb tastbare, rund-ovale, weiß-graue Myokardaufhellungen mit kräftig ausgebildetem, dunkelrotem hämorrhagischem Randsaum und teils zentraler Rötung (Abbildung 2, Abbildung 3). Der Durchmesser betrug ca. 6 mm. Alle atrialen Läsionen erschienen bereits epikardial und hatten somit eine transmurale Ausdehnung.



Abbildung 2: Makroskopische Ansicht einer Läsion (*) an der Spitze des linken Ventrikels.

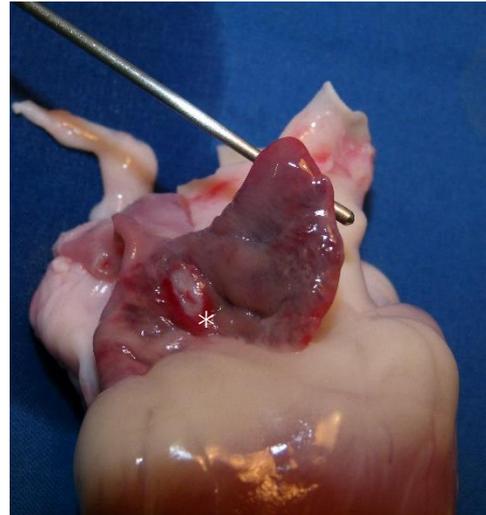


Abbildung 3: Makroskopische Ansicht einer Läsion (*) am rechten Vorhof.

3.2.1 Makroskopische Besonderheiten

Während der Explantation des Herzens wurde bei einem Tier der Abdruck einer Läsion des RA und Vorhofes durch das Perikard ins Lungenparenchym der rechten Lunge sichtbar (Abbildung 4).

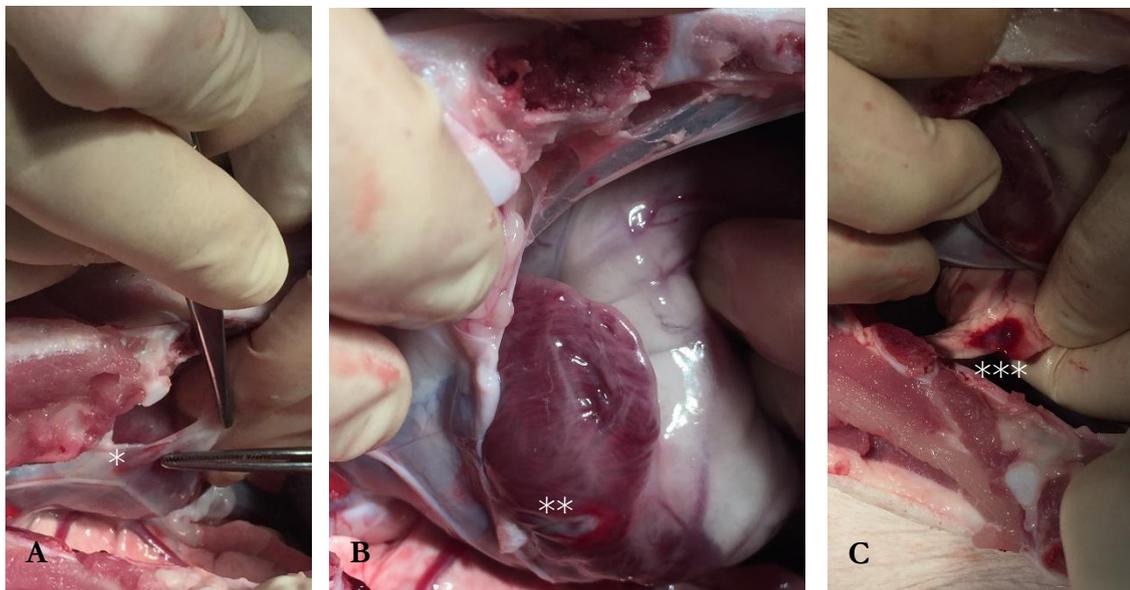


Abbildung 4: Läsionsabdruck auf der Lunge. (A,B) Die Läsion ist auf dem Perikard zu sehen (A:*) und wurde mit einer mittleren Anpresskraft von 12 g an der Basis des rechten Vorhofes (B:**) appliziert. (C) Ein Abdruck der Läsion ist auf dem rechten Lungenunterlappen (***) zu sehen.

Weitere makroskopische Auffälligkeiten waren Infarktareale, die bei vier Tieren in der Umgebung einer Läsionsstelle festgestellt wurden.

Bei einem Tier zeigte sich auf der dorsalen Herzseite ein keilförmiges hämorrhagisches Areal, das sich über die Herzspitze bis auf die Ventralseite des LV ausbreitete und auch in der Tiefenausdehnung große Teile des Myokards betraf (Abbildung 5). Das Tier verstarb 4 h postinterventionell am SCD. In der histologischen Aufarbeitung wurde ein Verschluss der V. cordis media vor der Einmündung in den CS als Ursache für die hämorrhagische Infarzierung und den plötzlichen Herztod identifiziert. Die Läsion grenzt an den posteroseptalen Ast der RCA, der sich in der Koronarangiographie unauffällig darstellen ließ (vgl. auch Abbildung 20).

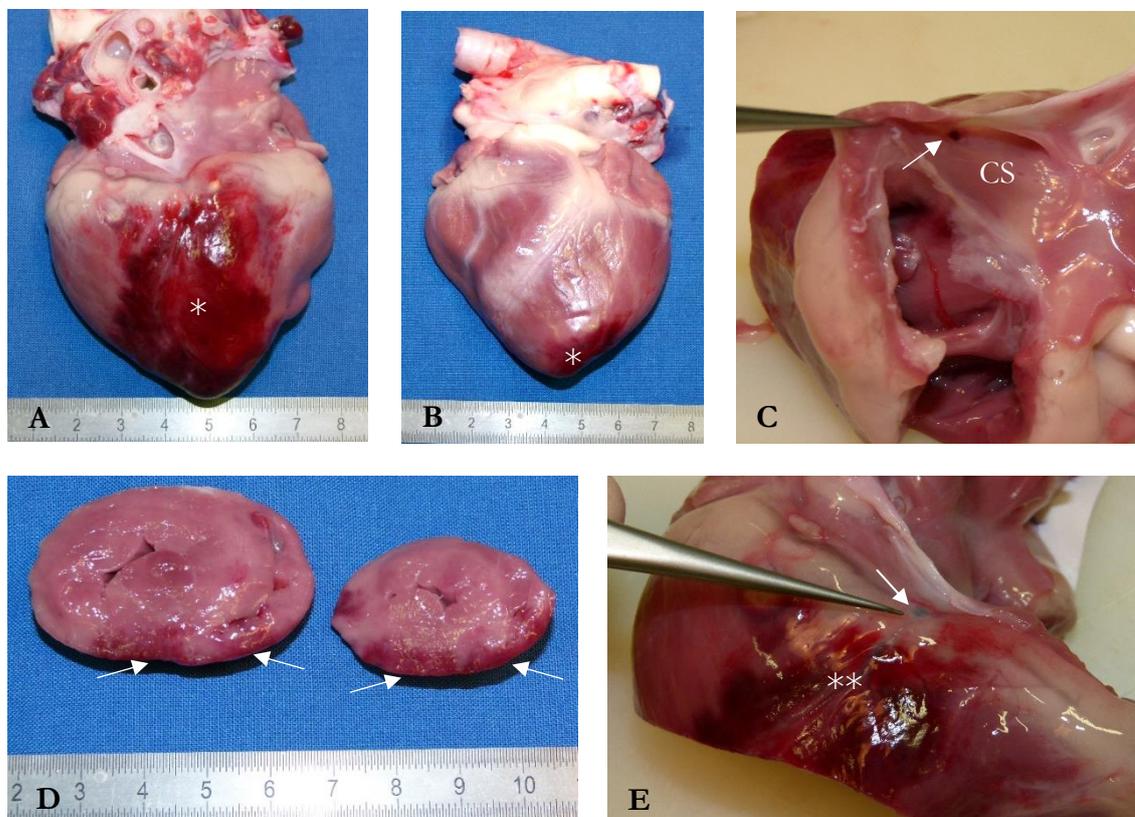


Abbildung 5: Makroskopische Befunde des Herzens eines Tieres, das vier Stunden postinterventionell am plötzlichen Herztod verstarb. (A,B) Ansicht der Dorsalseite des Herzens mit hämorrhagischer Infarzierung (A:*) entlang des *Sulcus interventricularis posterior* mit Ausbreitung dieser über die Herzspitze auf die Ventralseite des Herzens (B:*). (C) Blick in den eröffneten rechten Vorhof. Der weiße Pfeil kennzeichnet die Läsion (mittlere Anpresskraft 58 g) an der Einmündung des *Sinus coronarius* (CS). (D) Querschnitte auf ventrikulärer Ebene lassen die Tiefenausdehnung des hämorrhagisch infarzierten Areals erkennen (Pfeile). (E) Ansicht des Herzens von dorsal mit Blick auf die Läsion (weißer Pfeil) nahe des Posteroseptalastes der rechten Koronararterie (**)

Bei einem weiteren Tier entstand durch eine Läsion im CS eine hämorrhagische Infarzierung von Anteilen des linken Herzohres (Abbildung 6). Zusätzlich zu diesem Befund ließ sich der CS aufgrund einer Thrombose ab der Läsionsstelle nicht mehr mit einer Sonde passieren (Abbildung 7).

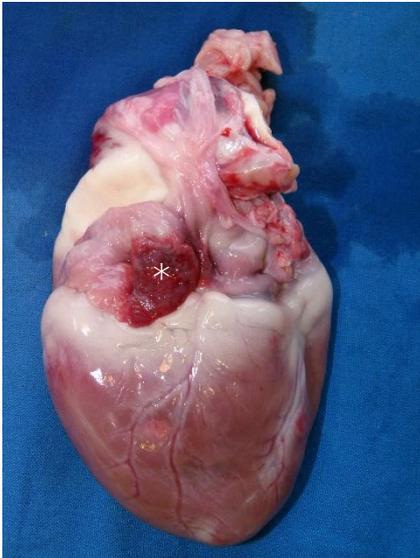


Abbildung 6: Hämorrhagische Infarzierung des linken Herzohres (*). Verursacht durch eine Läsion am *Sinus coronarius* mit einer mittleren Anpresskraft von 15 g.

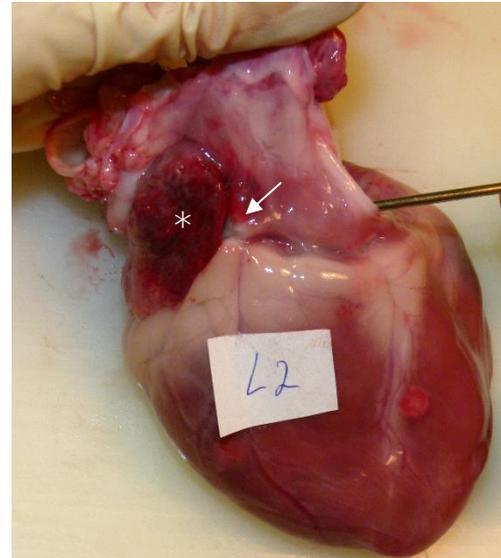


Abbildung 7: Sondierter *Sinus coronarius*. Ansicht auf die Dorsalseite des Herzens. Hämorrhagische Infarzierung des linken Herzohres (*). Die Sonde ist im *Sinus coronarius* platziert, der ab der Läsion (Pfeil) nicht mehr passierbar ist.

Bei einem Tier lag ein Infarktareal nahe einer posteroseptalen TK-Läsion vor (Abbildung 8). Bei Applikation der zugeordneten Läsion entwickelte das Tier VF. Die Koronarangiographie dieses Tieres zeigte nach 30 min sowie 48 h eine leichte RCA-Stenose, die histologisch im Gewebeausschnitt allerdings nicht erkennbar war. Eine erneute Koronarangiographie nach 48 h konnte bei diesem Tier nicht durchgeführt werden, da es auf Grundlage eines schmerzenden Leistenhämatoms an der Punktionsstelle vorzeitig aus dem Versuch genommen und getötet werden musste.

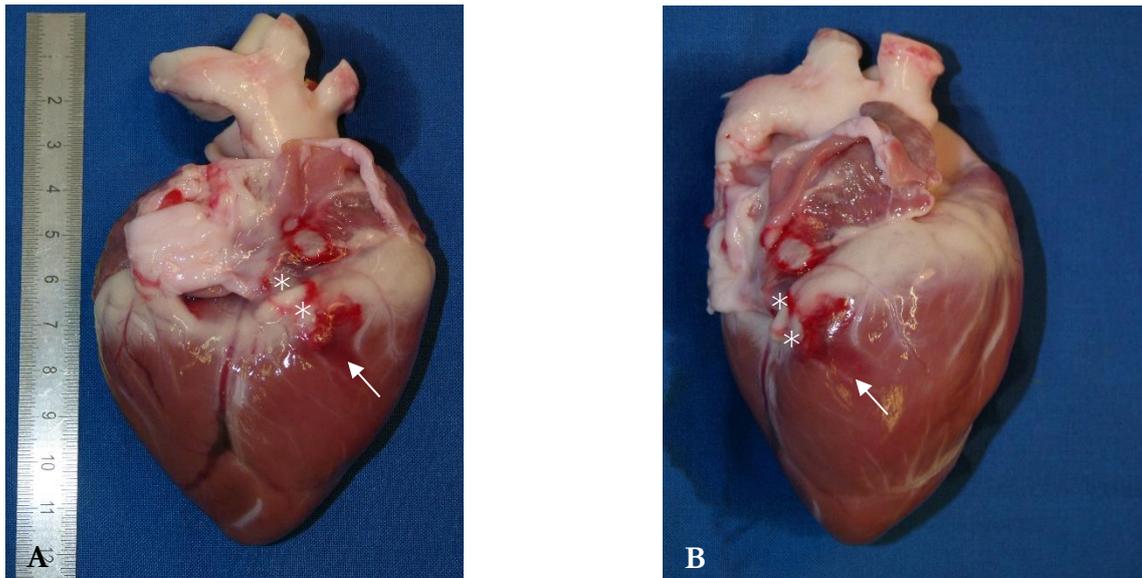


Abbildung 8: Ventrikuläres Infarktareal. Ansicht des Herzens von ventral (A) und lateral (B) mit einer Doppelläsion (A,B: *,*) (mittlere Anpresskraft 14 g) an der posteroseptalen Trikuspidalklappe. Ausbreitung des darunter liegenden ventrikulären Infarktareals (Pfeil).

Bei einem Tier mit komplikationsloser Intervention sowie Verlauf zeigte sich eine Einblutung nahe einer posterioren MK-Läsion, die sich auf das ventrikuläre Myokard ausbreitete (Abbildung 9).

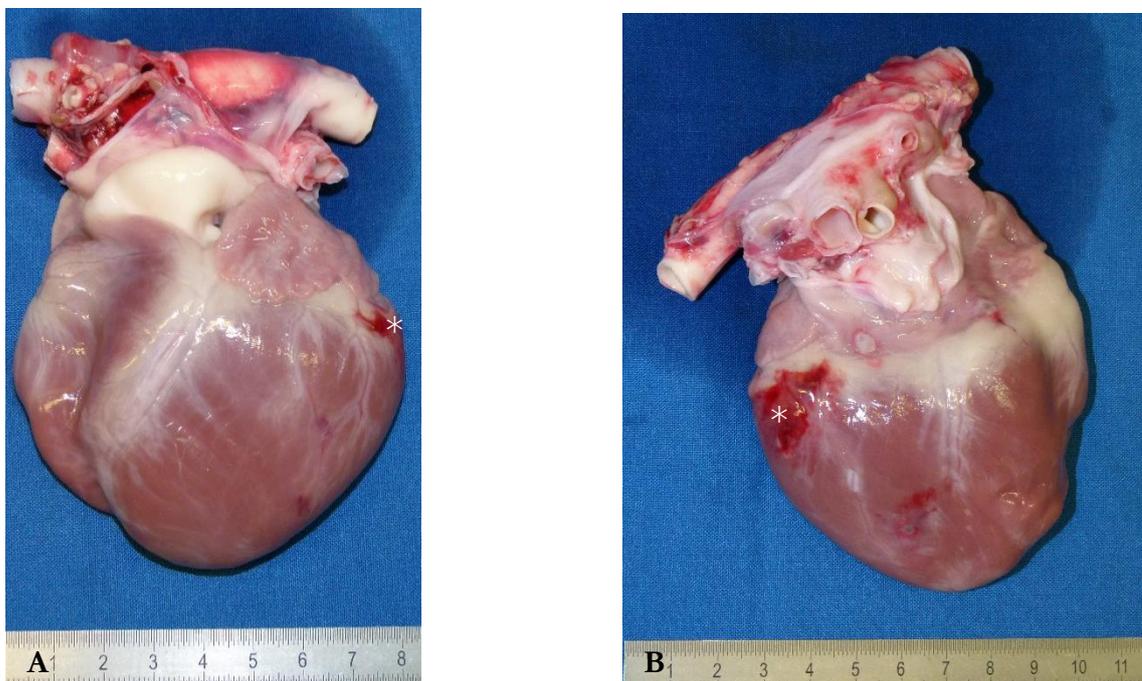


Abbildung 9: Einblutung in das apikale linksventrikuläre Myokard. Ansicht des Herzens von ventral (A) und lateral-dorsal (B) mit Einblutung (*) in das apikale linksventrikuläre Myokard. Die ursächliche Läsion (mittlere Anpresskraft 17 g) nahe des posterioren Anteils der Mitralklappe ist nicht ersichtlich, da sie nicht transmural war.

Zudem wurden extrakardiale Abdrücke von Läsionen auf die A. pulmonalis (n=3) (Abbildung 10) und Aorta (n=4) (Abbildung 11) ersichtlich. Sie wurden in der Mehrzahl der Fälle durch Applikation der Läsion mit niedriger-mittlerer CF (6-22 g) erzeugt.

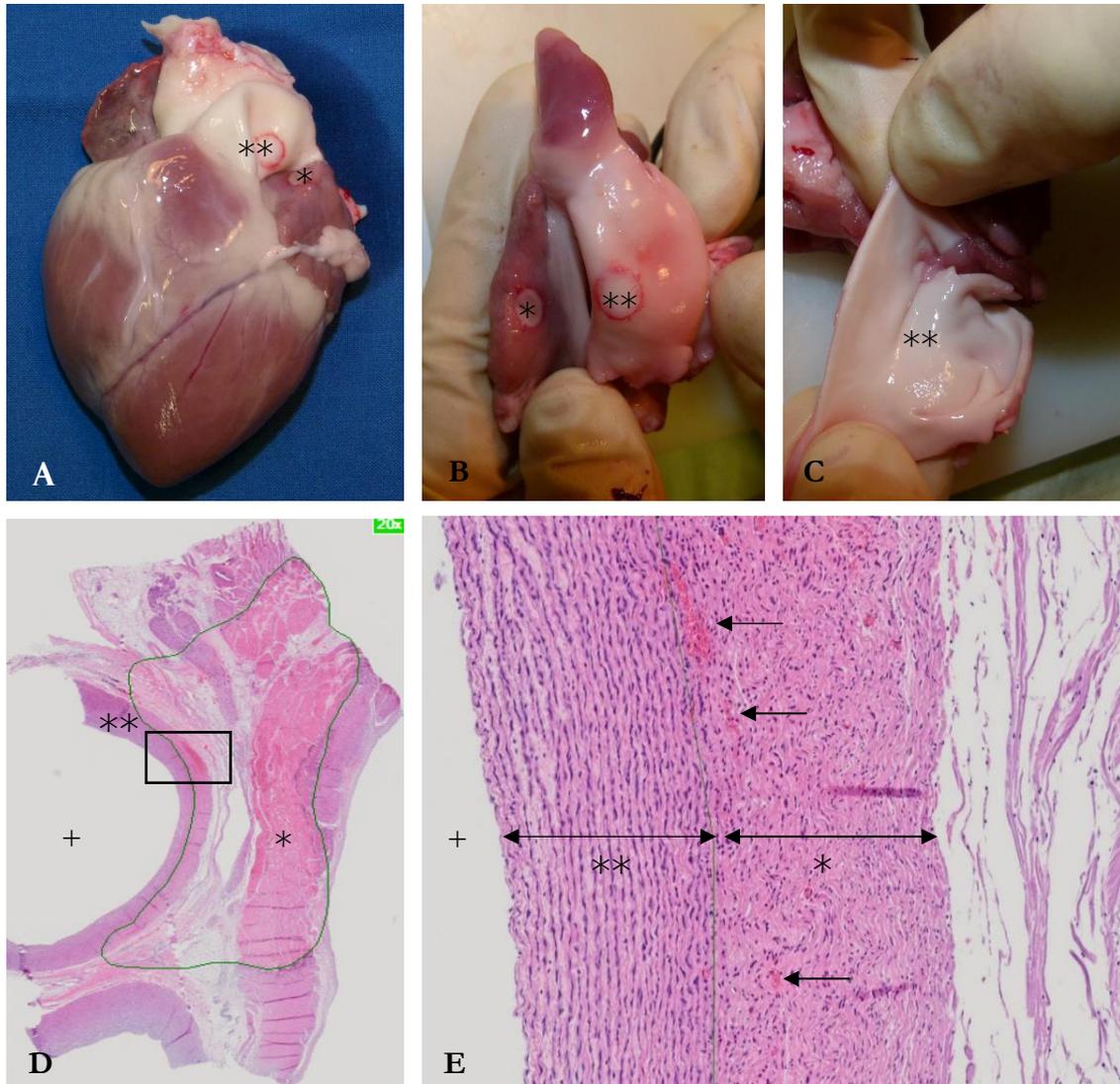


Abbildung 10: Läsionsabdruck auf der A. pulmonalis. Exemplarische Makroskopie und Histologie eines Läsionsabdruckes auf die A. pulmonalis. (A) Ansicht des Herzens von ventral mit transmuralem Läsion (mittlere Anpresskraft 44 g) des linken Vorhofohres (*) und Abdruck dieser auf die A. pulmonalis (**). (B) Detailansicht der transmuralem Läsion (*) und des Abdruckes (**). (C) Eröffnete A. pulmonalis ohne endovaskulären Abdruck der Läsion (**).

(D) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Histologische Darstellung einer transmuralem Läsion (mittlere Anpresskraft 12 g) des linken Atriums (*, eingekreistes Areal) mit Abdruck auf die benachbart liegende A. pulmonalis (**). Lumen der A. pulmonalis (+). (E) Nahausschnitt des eingerahmten Bereiches aus (D). Die von der Läsion mit betroffenen Wandabschnitte der Lamina media sind als wellig angeordnete Gefäßmuskelnzellen erkennbar (*), teils mit Einblutungen (kleine Pfeile). Die unversehrten Abschnitte der Lamina media lassen demgegenüber eine radiäre, geordnete Anordnung erkennen (**). Lumen der A. pulmonalis (+).

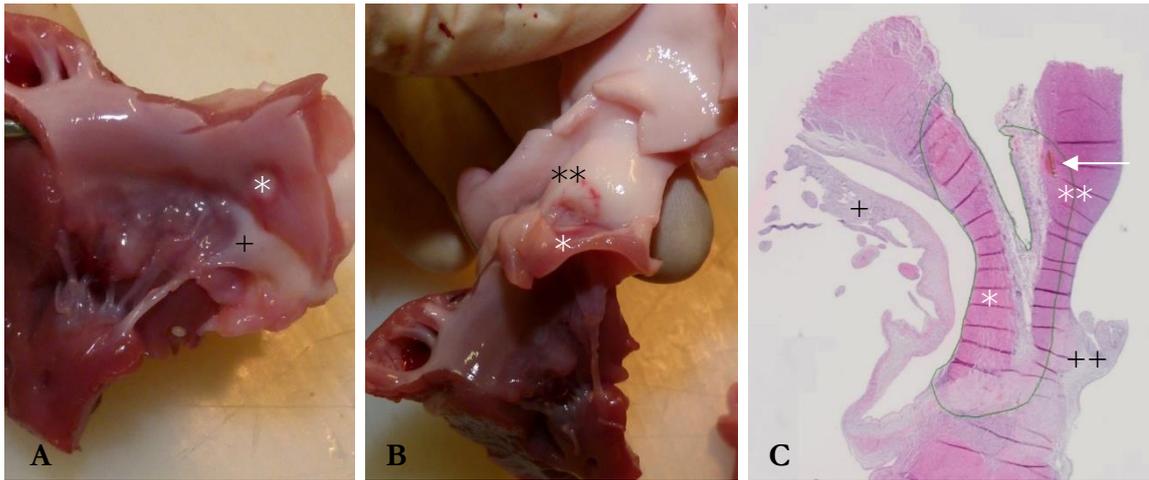


Abbildung 11: Läsionsabdruck auf der Aorta. Exemplarische Makroskopie und Histologie eines Läsionsabdruckes auf der Aorta. (A) Ansicht auf die Atrioventrikularklappen-Ebene mit posteriorem Mitralklappen-Segel (+) und Läsion (*) (mittlere Anpresskraft 10 g). (B) Ansicht der transmuralen Läsion (*) mit Abdruck auf die Aortenwurzel bzw. Aorta ascendens (**). (C) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Histologische Darstellung einer Läsion (*, umkreistes Areal) (mittlere Anpresskraft 22 g) der anteroseptalen Trikuspidalklappe (+) mit Abdruck auf die Aortenwurzel und Aorta ascendens (**). Anschnitt der Aortenklappe (++). Die Läsion breitet sich bis in die Lamina media der Gefäßwand aus, teils mit Einblutungen (Pfeil).

3.3 Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung

3.3.1 Histologische Darstellung der Hochfrequenzstrom-Läsionen

Zur Läsion wurde in der histologischen Auswertung jegliches Gewebe gezählt, welches Zeichen einer thermischen Schädigung durch den Hochfrequenzstrom aufwies. Dies betraf je nach Lokalisation im Herzen teils Endokard und darunterliegendes Myokardgewebe, andernorts zusätzlich epikardiales Fettgewebe, Herzklappen, oder benachbarte Gefäße, in einem Fall sogar das Lungenparenchym.

Ablationsstellen ließen sich durch eine Unterbrechung des Endokards an der Stelle der Stromapplikation erkennen. Diese Areale zeichneten sich zudem durch eine hämorrhagisch-fibrinös zersetzte Zellstruktur aus. Um die Kontaktstelle zwischen Ablationskatheter und Endo-Myokard herum breiteten sich die Läsionsstellen rund-oval im Sinne einer Koagulationsnekrose in die Peripherie aus (Abbildung 12).

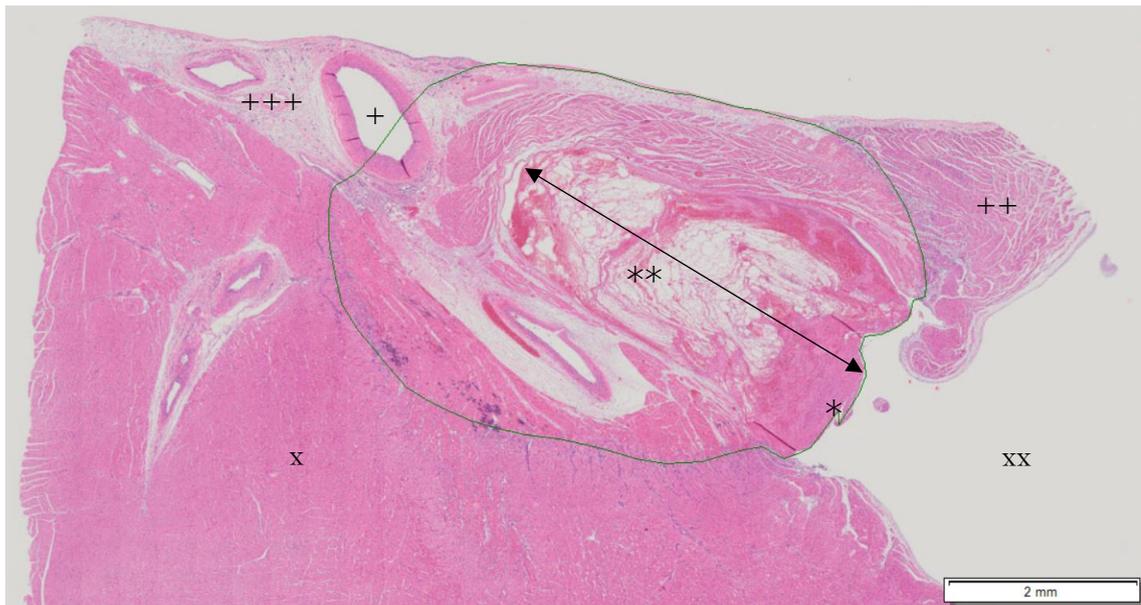


Abbildung 12: Mikroskopische Ansicht einer septalen rechtsventrikulären Läsion. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Histologische Ansicht einer septalen rechtsventrikulären Läsion (mittlere Anpresskraft 46 g) mit Anteilen des Ramus interventricularis anterior (+) innerhalb der Läsionszone (umkreistes Areal). Die Kontaktstelle mit dem Ablationskatheter zeigt eine Unterbrechung der Endokardschicht (*) mit zentraler Gewebnekrose, die hämorrhagisch-fibrinös durchsetzt ist (**). Sie breitet sich rund-oval in das umgebende Myokard aus (Pfeil). Ventrikelseptum (++). Epikard (+++). Rechtsventrikuläres Myokard (x). Rechtsventrikuläres Lumen (xx).

Je nach postinterventioneller Überlebenszeit des Tieres gab es unterschiedliche Läsionscharakteristika der entstandenen Koagulationsnekrose. Bei Tieren, die aufgrund von Komplikationen (s.o.) eine Nachbeobachtungszeit < 32 h bis zur Entnahme der Herzen hatten, fanden sich im Vergleich zum umgebenden Myokard an den Läsionsstellen vor allem eosinophile Kardiomyozyten. Das Gewebe erschien mit zahlreichen Erythrozyten durchsetzt, typischerweise gelockert und ödematös. Die Abgrenzung dieser Läsionen nach kurzer Nachbeobachtungszeit (n = 26) zum gesunden Myokard war hierbei im Vergleich zu Läsionen von Tieren, die eine Nachbeobachtungszeit von > 32 h hatten (n = 53), erschwert, da die Gewebeveränderungen weniger ausgeprägt vorlagen (Abbildung 13). Hier erwies sich die Desminfärbung als hilfreich, mit der sich Läsionen aufgrund der geschädigten Desminfilamente als entfärbte Areale darstellen, gegenüber den braun angefärbten, intakten Desminfilamenten außerhalb der Läsionszone (Abbildung 13).

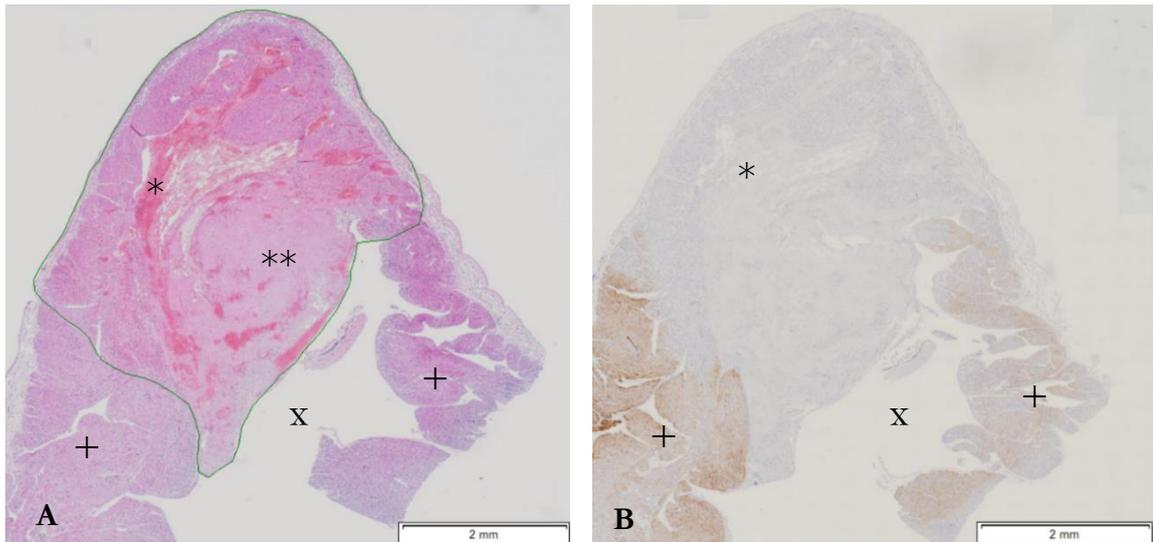


Abbildung 13: Mikroskopische Ansicht einer rechtsatrialen Läsion. Läsion (umkreistes Areal) am rechten Vorhof (mittlere Anpresskraft 33 g) eines vier Stunden postinterventionell am plötzlichen Herztod verstorbenen Tieres. (A) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Einblutungen (*), Fibrin (**) und hyper-eosinophiles Gewebe innerhalb der Läsionszone. Strukturell intaktes Myokard (+). (B) anti-Desmin-Antikörperfärbung. Die durch die Ablation strukturell veränderten Desminfilamente der Kardiomyozyten binden den anti-Desmin-Antikörper nicht, das Areal erscheint farblos (*). Umgebende, unbeschädigte Desminfilamente mit Antikörperbindung erscheinen in der Färbung braun (+) und ermöglichen dadurch die exakte Läsionsbegrenzung. Rechtsatriales Lumen (x).

Ab einer Nachbeobachtungsspanne von > 32 h bestand zusätzlich als Randbegrenzung der Läsionen ein teils doppelt ausgebildeter Leukozytenwall (Abbildung 14).

In der mikroskopischen Ansicht ließ sich die Transmuralität der Läsion beurteilen. Als transmural wurde hierbei eine Läsion definiert, die sich vom endokardialen Applikationsort durch das gesamte Myokard bis auf die gegenüberliegende epikardiale Seite erstreckt (Abbildung 14, Abbildung 15). In der AV-Klappenebene wurde eine Läsion als transmural definiert, wenn durch ihre Ausdehnung eine komplette Unterbrechung des atrialen vom ventrikulären Myokard erreicht wurde (Abbildung 15).



Abbildung 14: Transmurale Läsion. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Läsion (mittlere Anpresskraft 48 g) an der Spitze des linken Ventrikels 48 Stunden nach Ablation. Der doppelte Leukozyten-Randwall (**) stellt die äußere Begrenzung der Läsion dar. Links-ventrikuläres Lumen (x).



Abbildung 15: Transmurale Läsion der Atrioventrikularklappen-Ebene. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Läsion (mittlere Anpresskraft 40 g) des rechten Atriums mit angrenzender rechter Koronararterie (*) und Anschnitt der Trikuspidalklappe (**). Durch die transmurale Läsion (umkreistes Areal) wird eine Isolation des atrialen (+) vom ventrikulären (++) Myokard erreicht.

3.3.2 Veränderungen der Koronararterien in der mikroskopischen Auswertung

Mikroskopisch wurde in 11/79 Läsionen (14 %) eine strukturell veränderte Koronararterie bzw. Anteile dieser innerhalb der Läsionszone gefunden. Von den elf betroffenen Koronararterien lag eine im Atrium, acht in der AV-Klappenebene und zwei im Ventrikel (Tabelle 6). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der angewendeten mittleren CF und der Häufigkeit der strukturellen Koronararterienveränderung ergab sich im exakten Test nach Fisher weder für die einzelnen Lokalisationen, noch für die Gesamtheit der Läsionen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Verteilung der Koronararterienveränderungen in Abhängigkeit von der Lokalisation und der angewendeten Anpresskraft.

Ablationsstelle	Koronararterien- veränderung	Anpresskraft		Exakter Test nach Fischer
		0-20 g	20-60 g	
Atrium	Nein	11	11	p = 0,522
	Ja	1	0	
AV-Klappen- ebene	Nein	13	11	p = 0,579
	Ja	4	4	
Ventrikel	Nein	10	12	p = 0,330
	Ja	0	2	

Hinsichtlich der betroffenen Arterien war in der Mehrzahl der Fälle ($n = 7$) die RCA nach Ablationen des posteroseptalen RA oder der lateralen-posteroseptalen TK-Region betroffen, wobei Schädigungen sowohl nach Ablation mit niedriger-mittlerer, als auch hoher-mittlerer CF auftraten. Koronarien an der Randzone einer Läsion ($n = 5$) zeigten außer geringen Einblutungen in die Adventitia keine weiteren Veränderungen der Media oder Intima. Koronarien innerhalb der Läsionszone ($n = 6$) zeigten Einblutungen bis in die Lamina Media, eine gelockerte Zellstruktur aller Schichten, teils Ödembildung und eine Veränderung der Wanddicke (Abbildung 16, Abbildung 17). Stenosen oder Thrombusformation im Gefäßlumen wurden in der histologischen Aufarbeitung nicht beobachtet.

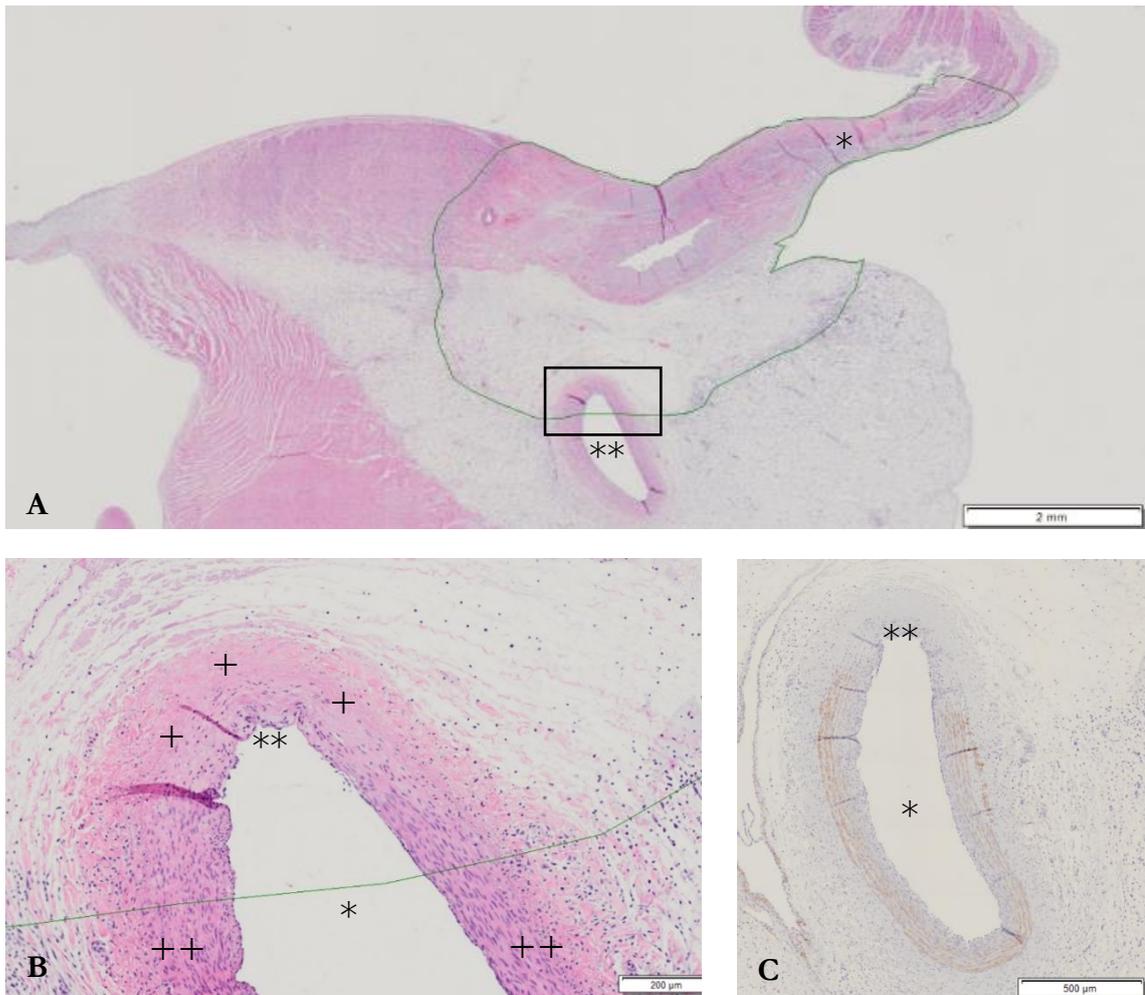


Abbildung 16: Mikroskopische Ansicht der rechten Koronararterie innerhalb der Läsionszone. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. (A) Ansicht einer Läsion (mittlere Anpresskraft 7 g) an der posterioren Trikuspidalklappe (*) mit Anteilen der rechten Koronararterie (**) innerhalb der Läsionszone (umkreistes Areal). (B) Nahausschnitt des eingerahmten Bereiches aus (A). Die im Bild oberen Anteile der rechten Koronararterie, die innerhalb der Läsionszone liegen, erscheinen ödematös (+) im Vergleich zur Wanddicke außerhalb der Läsionszone (++). Die laminäre Anordnung der Gefäßmuskelzellen der Lamina media ist innerhalb der Läsionszone aufgehoben. Die Auskleidung des Gefäßlumens durch das Endothel ist unterbrochen (**). Lumen der rechten Koronararterie (*). (C) anti-Desmin-Antikörperfärbung. Es findet keine Bindung des anti-Desmin-Antikörpers innerhalb der von der Läsionszone betroffenen Gefäßmuskelzellen (**) statt. Die Schädigung dieser Gefäßabschnitte ist belegt. Lumen der rechten Koronararterie (*).

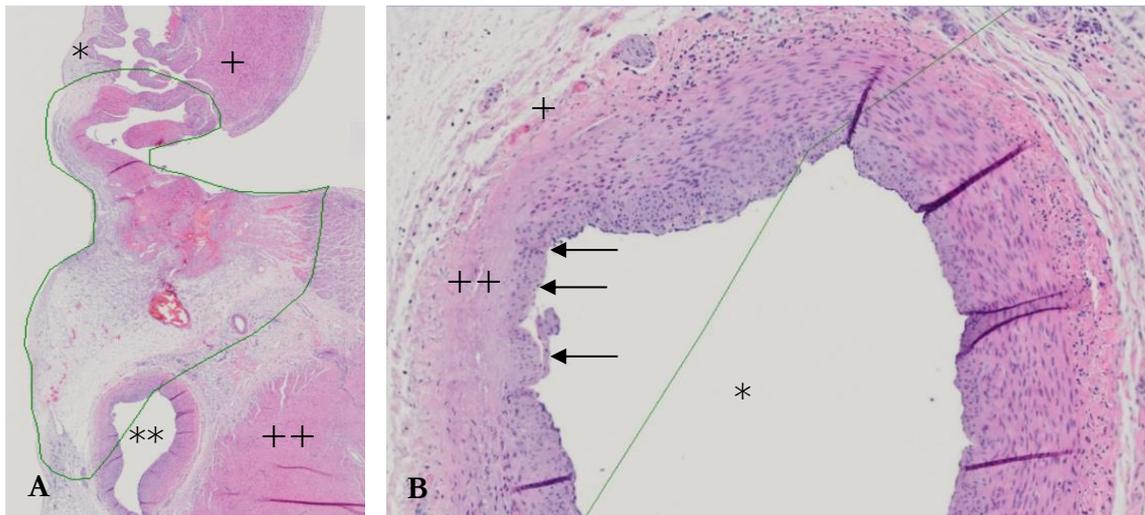


Abbildung 17: Strukturelle Veränderung der rechten Koronararterie nach Ablation. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Ansicht einer Läsion (mittlere Anpresskraft 35 g) an der lateralen Trikuspidalklappe (*) mit Anteilen der rechten Koronararterie (**) innerhalb der Läsionszone (umkreistes Areal). Atriales Myokard (+). Ventrikuläres Myokard (++) (B) Ausschnitt aus (A). Lumen der rechten Koronararterie (*). Der linke, innerhalb der Läsionszone liegende Anteil der rechten Koronararterie zeigt Einblutungen in die Lamina adventitia (+), sowie einen Bereich, in dem die Lamina media verdünnt und strukturverändert ist (++) Das Endothel ist stellenweise unterbrochen (Pfeile).

3.3.3 Weitere Gewebeauffälligkeiten

Weitere Auffälligkeiten in der mikroskopischen Aufarbeitung waren einerseits eine ablationsbedingte Stenose des CS, die die Passage der Knopfsonde in den distalen CS unmöglich machte (Abbildung 18, vgl. auch Abbildung 6, Abbildung 7). Andererseits fielen innerhalb der Läsionen in einigen Fällen myokardiale ($n = 3$) und epikardiale ($n = 3$) Einblutungen auf (Abbildung 19). Diese können durch hitzebedingte Gasentwicklung im Zentrum der Läsion entstehen. Die Einblutungen wurden jedoch nicht mit Komplikationen während oder nach der Ablation in Zusammenhang gebracht.

Durch die histologische Aufarbeitung konnte die Ursache des SCD eines Versuchstieres geklärt werden. Es zeigte sich ein Verschluss der V. cordis media, der die makroskopische hämorrhagische Infarzierung weiter Teile der Hinterwand und damit den SCD erklärte (Abbildung 20, vgl. auch Abbildung 5).

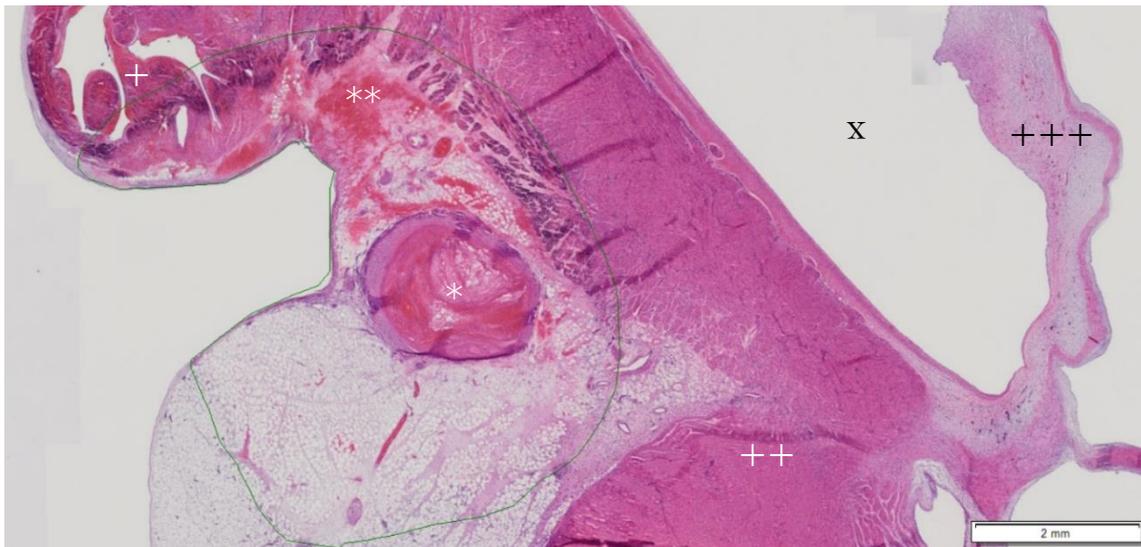


Abbildung 18: Sinus coronarius-Thrombose. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Ansicht einer Läsion (mittlere Anpresskraft 15 g), die innerhalb des *Sinus coronarius* platziert wurde. Das Lumen des *Sinus coronarius* (*) ist thrombosiert. In der makroskopischen Aufarbeitung war eine Sondierung nicht möglich. Im Bindegewebe innerhalb der Läsionszone (umkreistes Areal) sind Einblutungen (**) zu erkennen. Atriales Myokard (+), ventrikuläres Myokard (++) , Mitralklappe (+++). Rechtsatriales Lumen (x).

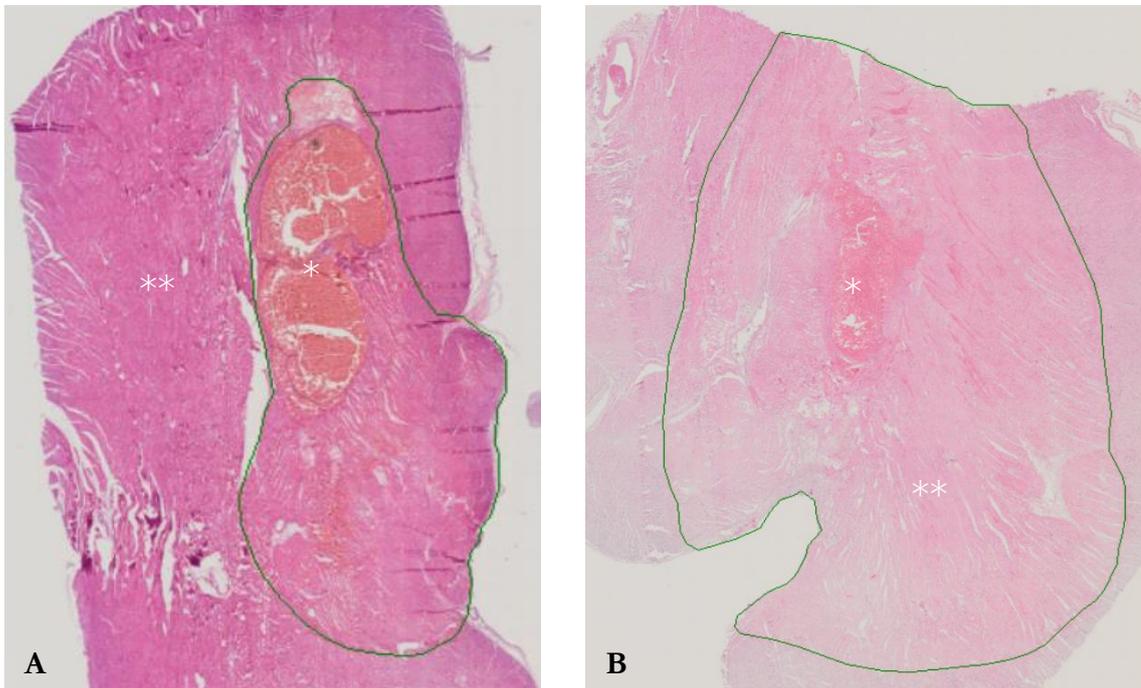


Abbildung 19: Myokardialer Thrombus nach Einblutung in die Läsion. (A) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Ansicht einer Läsion (umkreistes Areal, mittlere Anpresskraft 11 g) im rechtsventrikulären Myokard mit zentraler Einblutung nach *Steam-Pop* (*), die sich in ihrer Ausbreitung durch den Großteil der Querschnittsserie der Läsion erstreckt. Ventrikuläres Myokard (**).

(B) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Ansicht einer Läsion (umkreistes Areal, mittlere Anpresskraft 34 g) des rechtsventrikulären Ausflusstraktes mit mittiger Einblutung nach *Steam-Pop* (*). Ventrikuläres Myokard (**).

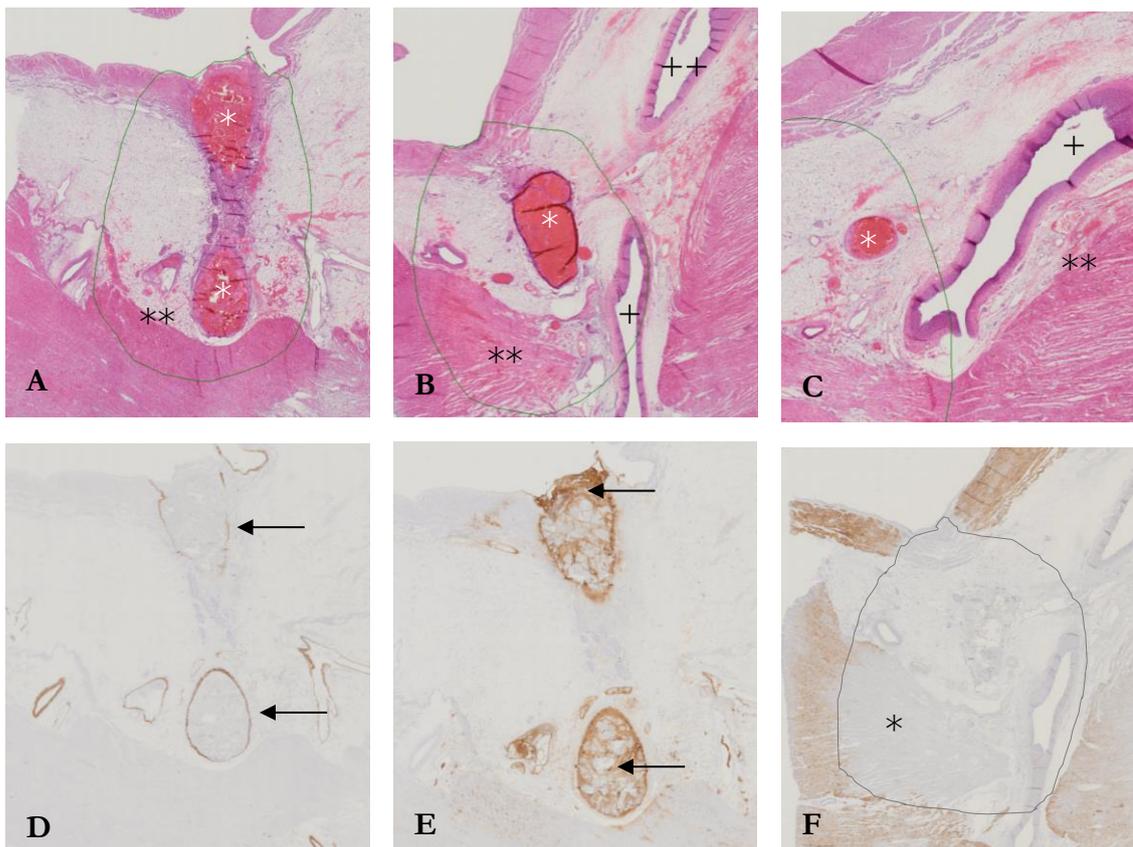


Abbildung 20: Thrombose der V. cordis media. Mikroskopische Befunde einer Läsion (mittlere Anpresskraft 58 g) des posterosseptalen rechten Atriums vor der Einmündung des *Sinus oronarius* des nach vier Stunden am plötzlichen Herztod verstorbenen Tieres. Orthogonale Schnitfführung durch die Atrioventrikularklappen-Ebene. (A)-(C) Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Die histologischen Anschnitte zeigen einen Thrombus (A-C: *) innerhalb der Läsionszone (eingekreistes Areal), der die Läsion im vollständigen Durchmesser durchzieht. Innerhalb der Läsion finden sich zahlreiche Einblutungen (A-C: **). Anteile des Ramus posterosseptalis (B: +) der rechten Koronararterie (B: ++) liegen innerhalb der Läsion. Beide stellen sich in der Koronarangiographie postinterventionell unauffällig dar. (D, E) Durch immunhistochemische Färbungen kann der Thrombus einem venösen Gefäß zugeordnet werden. (D) *anti-Smooth-Muscle*-Färbung. Die braune Färbung der Gefäßwände (Pfeile) beweist die Lage des Thrombus im venösen Gefäß. (E) von-Willebrand-Faktor-Färbung mit brauner Anfärbung von Bereichen, in denen Blutgerinnung stattfindet (Pfeile). (F) *anti-Desmin*-Antikörperfärbung zur exakten Abgrenzbarkeit des von der Läsion (eingekreistes Areal) betroffenen Myokards, welches nicht anfärbbar erscheint (*). In Zusammenschau wird der hier dargestellte Verschluss der V. cordis media als Ursache für den plötzlichen Herztod des Tieres angenommen.

3.4 Läsionsvolumina nach 48 Stunden

Von 79 identifizierten Läsionen waren 23 Läsionen im atrialen Myokard lokalisiert, 32 Läsionen in der AV-Klappenebene und 24 Läsionen im ventrikulären Myokard. Das mediane Läsionsvolumen (Interquartilsabstand) betrug im Atrium $35,4 \text{ mm}^3$ ($27,8\text{-}75 \text{ mm}^3$), in der AV-Klappenebene $69,3 \text{ mm}^3$ ($45,3\text{-}116,7 \text{ mm}^3$) und im Ventrikel $116,1 \text{ mm}^3$ ($79,9\text{-}160,9 \text{ mm}^3$).

Eine Normalverteilung lag nur für die Volumina der ventrikulären Läsionen vor (Kolmogorov-Smirnov $p > 0,2$), für die Volumina der Läsionen im Vorhof und an der AV-

Klappenebene konnte keine Normalverteilung angenommen werden (Kolmogorov-Smirnov $p = 0,001$ / $p = 0,009$).

Im Man-Whitney-U-Test ergibt sich ein signifikant niedrigeres Volumen für die atrialen Läsionen, als für die der AV-Klappenebene ($p = 0,015$) und des Ventrikels ($p < 0,001$) (Abbildung 21). Die ventrikulären Läsionen hingegen waren wiederum signifikant größer, als die der AV-Klappenebene ($p = 0,016$).

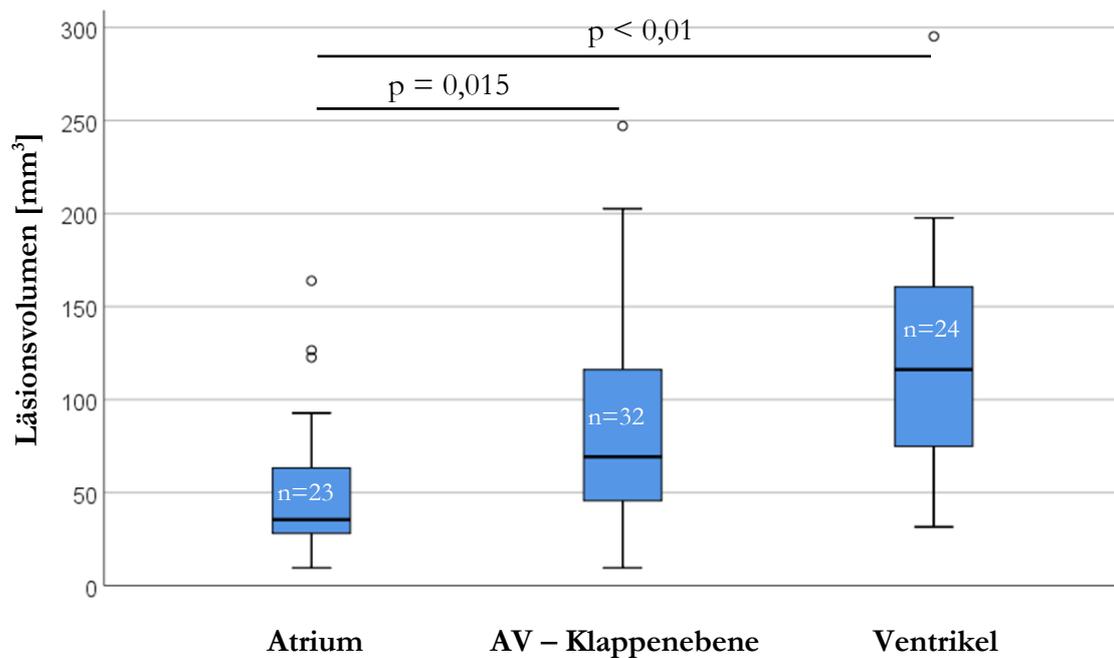


Abbildung 21: Darstellung der Läsionsvolumina der unterschiedlichen Lokalisationen 48 Stunden nach Hochfrequenzstromablation. Es ergibt sich im Man-Whitney-U-Test ein signifikant niedrigeres Volumen für atriale Läsionen, verglichen mit denen der Atrioventrikular-Klappenebene ($p = 0,015$) und der Ventrikel ($p < 0,01$).

Ein signifikanter Unterschied des Volumens zwischen Läsionen, die mit niedriger-mittlerer CF (10-20 g) und Läsionen, die mit hoher-mittlerer CF (20-60 g) appliziert wurden, bestätigte sich weder für die Gesamtheit der Läsionen ($\tau_B = -0,002$; $p = 0,967$), noch innerhalb der einzelnen Lokalisationen (Atrium, AV-Klappenebene, Ventrikel) (Abbildung 22, Abbildung 23, Abbildung 24, Abbildung 25).

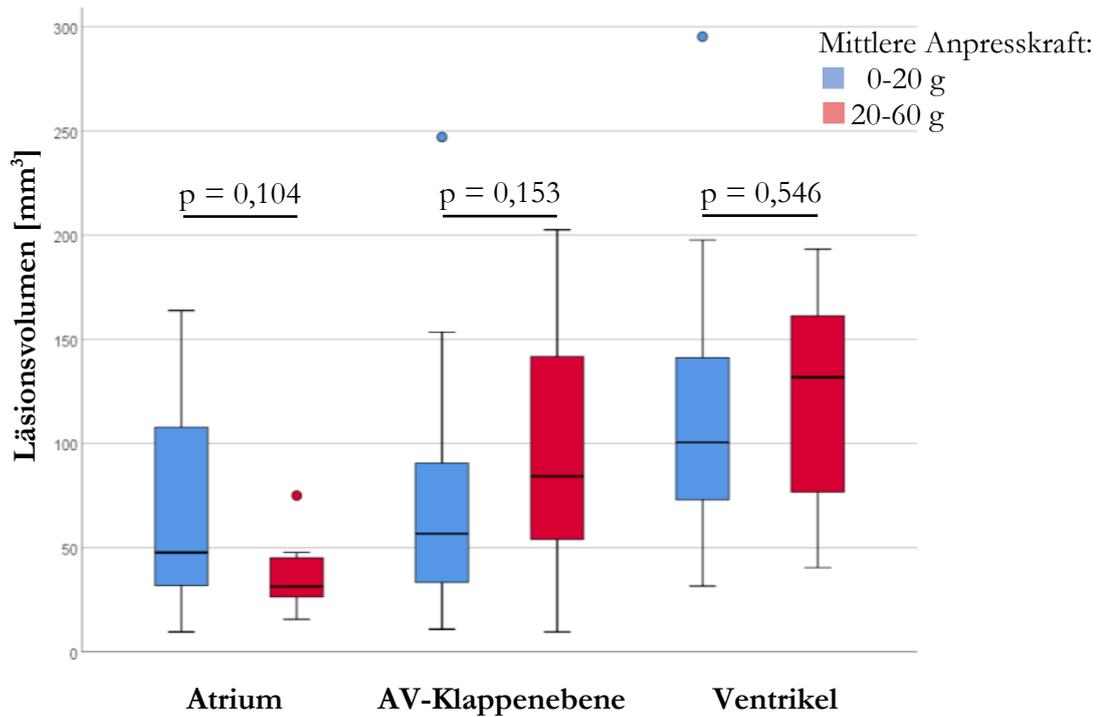


Abbildung 22: Vergleich der Läsionsvolumina zwischen niedriger-mittlerer und hoher-mittlerer Anpresskraft: Es zeigt sich weder innerhalb der verschiedenen Lokalisationen, noch für die Gesamtheit ein signifikanter Unterschied.

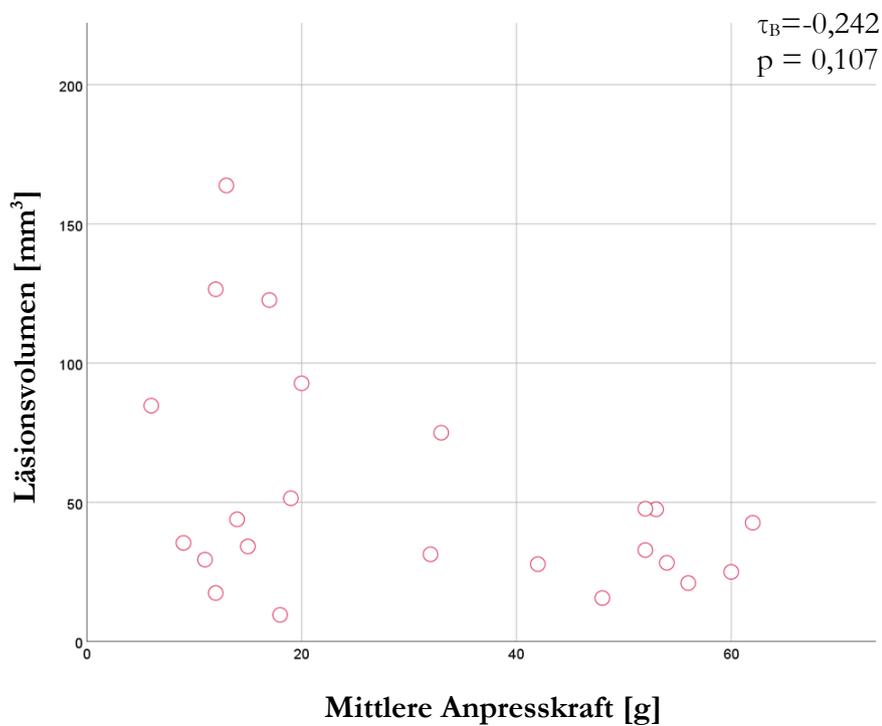


Abbildung 23: Streudiagramm der Läsionsvolumina atrialer Läsionen in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft.

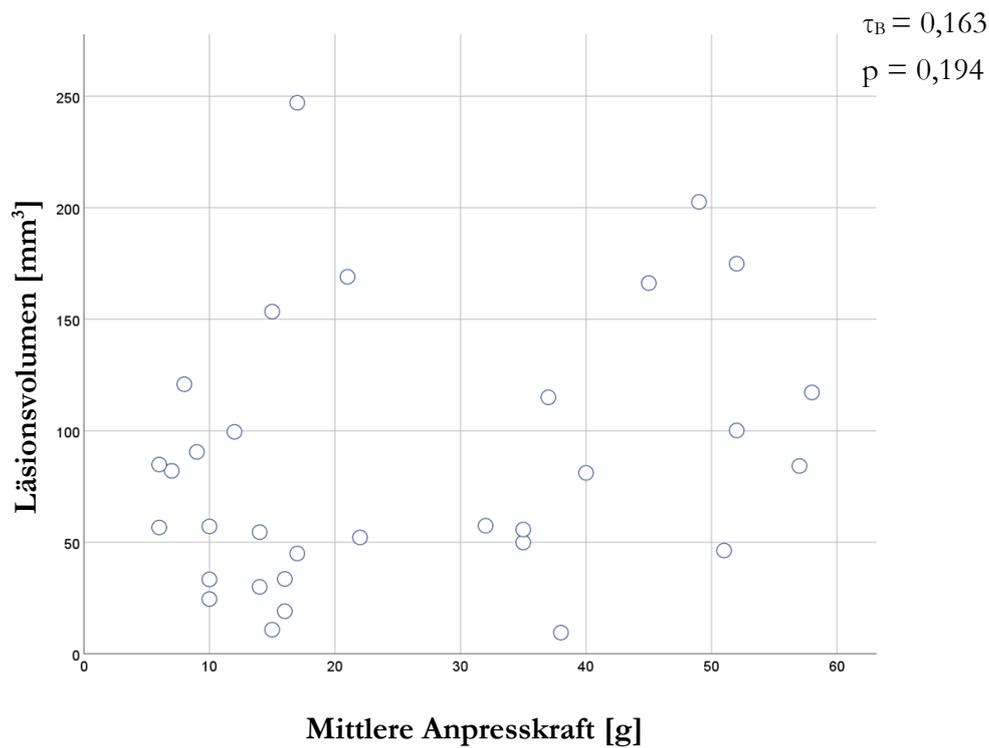


Abbildung 24: Streudiagramm der Läsionsvolumina der Läsionen in der Atrioventrikular-Klappebene in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft.

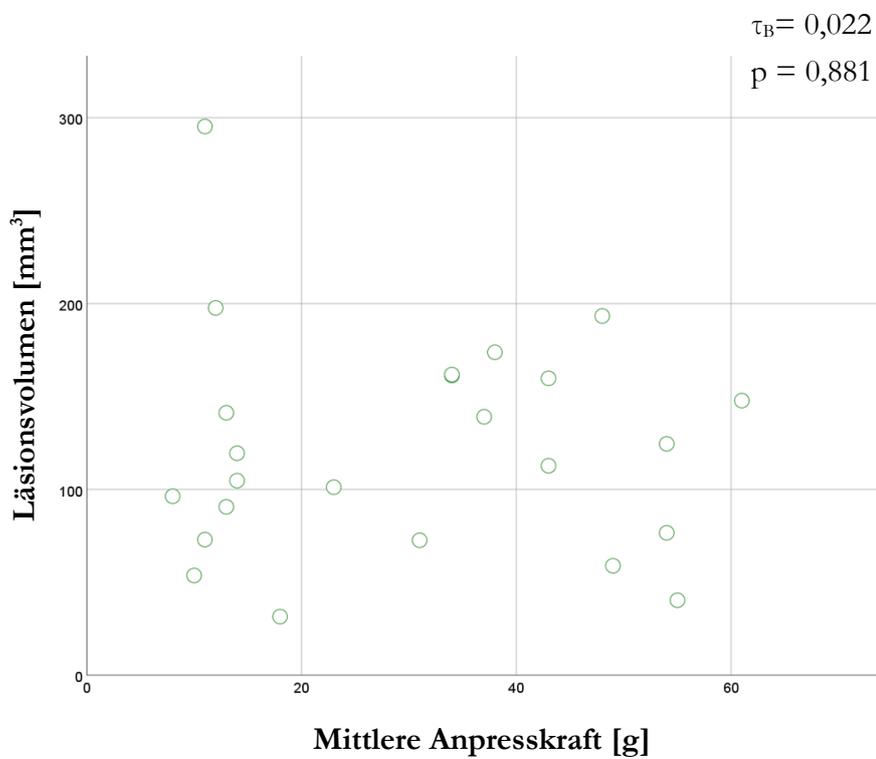


Abbildung 25: Streudiagramm der Läsionsvolumina ventrikulärer Läsionen in Abhängigkeit von der angewendeten Anpresskraft.

3.4.1 Transmuralität

Von den 79 identifizierten Läsionen erwiesen sich 65 Läsionen (82 %) als transmural. Dies betraf alle atrialen Läsionen ($n = 23$), 24/32 (75 %) Läsionen der AV-Klappenebene und 18/24 (75 %) ventrikuläre Läsionen.

Sowohl in der AV-Klappenebene, als auch im Ventrikel, bestand kein Unterschied hinsichtlich Transmuralität und verwendeter CF (Chi-Quadrat $p = 0,42$; $p = 0,49$).

3.5 Angiographische Veränderung an den Koronararterien nach 48 Stunden

Bei allen 12 jungen Läuferschweinen konnten die Koronarangiographien der rechten und linken Koronararterie vor der RFA, wie vorgesehen, durchgeführt werden. Es stellte sich stets eine unauffällige Gefäßsituation dar.

Die Koronarangiographie 30 min nach Intervention wurde bei 11/12 Tieren durchgeführt, ausgenommen das während der Intervention verstorbene Tier. Die Koronarangiographie 48 h nach RFA wurde bei 7/12 Tieren durchgeführt. Bei 1/7 Tieren zeigte sich hierbei eine RCA-Stenose, die in der Koronarangiographie 30 min nach Ablation noch nicht sichtbar war. Die Gefäßsituation der übrigen Tiere blieb ohne Unterschied zur Voraufnahme.

Insgesamt wurde postinterventionell bei 5/12 (42 %) Tieren eine Einengung an einem der Koronararterien-Hauptstämme, bei 2/12 (17 %) Tieren eine Verengung eines Koronararterienendastes registriert (Abbildung 26).

Bei 3/12 Tieren konnten IVUS-Untersuchungen der rechten und linken Koronararterie durchgeführt werden. Die Auswertung brachte keine verwertbaren Ergebnisse, da der verwendete IVUS-Katheter das Lumen der Koronararterien nahezu vollständig ausfüllte. Eine Beurteilung des Durchmessers im ungedehnten Zustand war nur im proximalen Hauptstamm der Koronararterien, nicht aber im Bereich der RFA-Läsionen möglich.

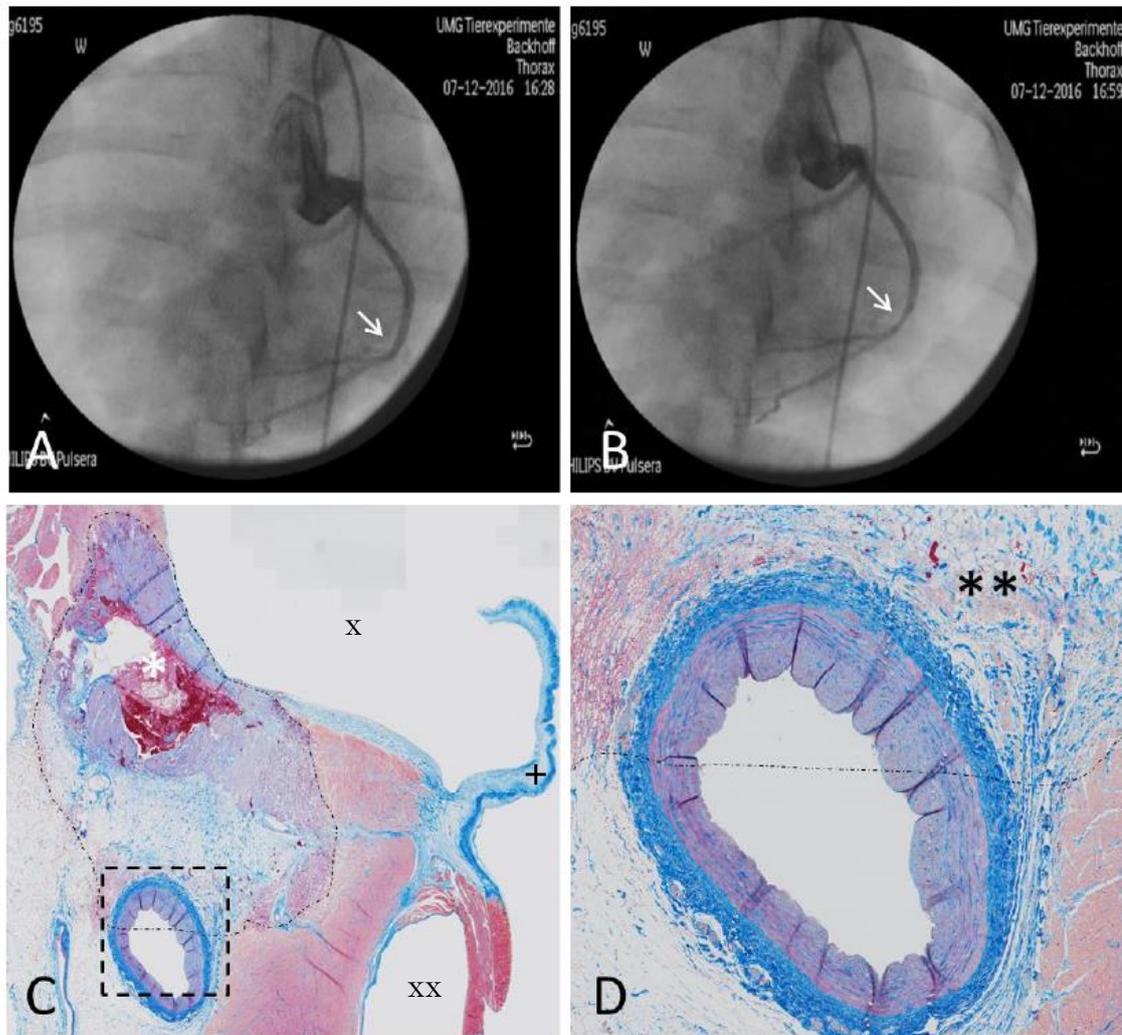


Abbildung 26: Koronarangiographie und Histologie der stenosierten linken Koronararterie nach Ablation. (A) Koronarangiographie der linken Koronararterie (Pfeil) vor Ablation in 60° *left-anterior-oblique*-Projektion. (B) Koronarangiographie der linken Koronararterie nach Ablation mit hoher-mittlerer Anpresskraft von 40 g in 60° *left-anterior-oblique*-Projektion. Es liegt eine ca. 30 %-ige Einengung des Ramus circumflexus vor (Pfeil). (C) Histologische Aufarbeitung der Läsion am posterioren Mitralklappen-Ring, die für die Stenose in (B) als ursächlich angesehen wurde mittels Azan-Färbung 48 Stunden nach Ablation. Es besteht eine zentrale Einblutung (*), der Ramus circumflexus ist teilweise innerhalb der Läsionszone (umkreistes Areal) lokalisiert (**). Linksatriales Lumen (x). Linksventrikuläres Lumen (xx). Mitralklappe (+). (D) Detailansicht des Ramus circumflexus aus (C) mit aufgetriebener Lamina adventitia und -media in den innerhalb der Läsion liegenden, oberen Bereichen (**). Das Lumen der Koronararterie ist nicht relevant verengt. Möglicherweise hatte sich die durch Ödem bedingte koronarangiographisch sichtbare Stenose zu diesem Zeitpunkt bereits zurückgebildet.

4 Diskussion

4.1 Volumen und Morphologie der Läsionen

In dieser Arbeit wurde bei konventioneller RFA ohne aktive Kühlung der Katheterspitze kein Einfluss der CF auf das Läsionsvolumen dargestellt – weder für die Gesamtheit der Läsionen, noch innerhalb der einzelnen Lokalisationen (Atrium, AV-Klappenebene, Ventrikel).

Die CF gilt jedoch als einer der wesentlichen physikalischen Parameter für eine effektive Läsionsbildung bei einer Ablation mit aktiver Kühlung der Katheterspitze (Avitall et al. 1997; Ikeda et al. 2014; Shah et al. 2010; Yokoyama et al. 2008). In einigen experimentellen Studien stellte sie sich als stärkster Prädiktor für Läsionsgröße und Transmuralität heraus und war dabei der Voraussagekraft anderer klinisch genutzter Parameter (Impedanzabfall, Amplitude der lokalen elektrischen Signale, Elektrodentemperatur) überlegen (Ikeda et al. 2014; Okumura et al. 2008). Einzelne Studien protokollierten demgegenüber nur einen schwachen oder fehlenden Zusammenhang zwischen der angewendeten CF und der Läsionsausdehnung (Calzolari et al. 2017, Haines 1991).

Unser Ergebnis steht daher im Kontrast zu experimentellen Studien, die eine Zunahme von Läsionstiefe, -durchmesser und -volumen bei steigender CF während einer RFA mit Spülung der Katheterspitze beobachteten (Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008). Da der mit einem CF-Sensor versehene *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter für diese aktive Kühlung der Katheterspitze entwickelt wurde, liegen bislang keine Vergleichsdaten für den Stellenwert der CF bei konventioneller, nicht-gekühlter RFA vor. Möglicherweise ist die unterschiedliche Energieausbreitung mit bzw. ohne Spülung der Katheterspitze Ursache für den in der vorliegenden Arbeit erfassten fehlenden Zusammenhang zwischen CF und Läsionsvolumen. Bei fehlender Spülung der Katheterspitze kommt es zu einer oberflächlicheren Läsionsausdehnung, da bei Denaturierung des Myokards („Verkohlung“) der elektrische Widerstand bedeutend steigt und weniger Energie in die Tiefe des Gewebes transportiert werden kann (Haines 2004; Nakagawa et al. 1995).

Alle atrialen Läsionen waren in unserer Auswertung transmural, unabhängig von der angewendeten CF. Gleichzeitig ergab sich im Vergleich der Volumina dieser drei Lokalisationen ein signifikant niedrigeres Volumen der atrialen Läsionen (medianes Volumen im Atrium 35,4 mm³, in der AV-Klappenebene 69,3 mm³, im Ventrikel 116,1 mm³). Sowohl die

Transmuralität als auch die niedrigen Volumina der atrialen Läsionen sind somit auf die dünne Wand der Vorhöfe zurückzuführen, die am ausgewachsenen Schweineherzen $2,4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$ beträgt und beim nicht-ausgewachsenen Myokard noch geringer sein wird (Bökenkamp et al. 2000). Möglicherweise ist ein Teil der Läsion extrakardial (z.B. Perikard, Mediastinum) appliziert und nicht in der vorliegenden Volumetrie erfasst worden.

Läsionen mit niedriger-mittlerer CF induzierten auch in der AV-Klappenebene und im Ventrikel häufig eine transmurale Ausdehnung (AV-Klappenebene: 71 %, Ventrikel: 70 %). Dieser Anteil wird durch eine hohe-mittlere CF an der AV-Klappenebene und im Ventrikel nur geringfügig gesteigert (80 % bzw. 79 %) und spiegelt den fehlenden Zusammenhang zwischen CF und Volumen bzw. Transmuralität wider. Diese Beobachtung betont jedoch auch, dass erfolgreiche Läsionen mit niedriger-mittlerer CF erzielt werden können.

Die morphologischen Auffälligkeiten (Infarktareale und Infarzierungen, Ausdehnung der Läsion bis hin zur Aorta und A. pulmonalis, Läsionsabdruck ins Lungenparenchym) wurden bis auf einen Fall alle durch niedrige-mittlere CF erzeugt. Bei einer Läsion mit hoher-mittlerer CF entstand eine hämorrhagische Infarzierung durch den Verschluss der V. cordis media an der Einmündung des CS in das RA. Dies zeigt, dass im juvenilen Myokard auch bei Ablation mit geringer Anpresskraft morphologische Schäden an Koronarien, großen Gefäßen oder Nachbarorganen durch transmurale Läsionsausdehnung entstehen können. Im Umkehrschluss sollte deshalb gerade im juvenilen Myokard von der Anwendung einer hohen CF abgesehen werden, da diese das Risiko für *Steam-Pops* oder Thromben erhöht (Ikeda et al. 2014; Yokoyama et al. 2008).

4.2 Strukturelle Koronararterienveränderung

Während der RFA besteht das Risiko, ein Koronargefäß thermisch zu schädigen. In den postinterventionellen Koronarangiographien unserer Versuche zeigten sich bei 5/12 Tieren (42 %) eine Einengung am Hauptstamm, bei 2/12 Tieren (17 %) am Koronararterienendast. Das Risiko für die thermische Schädigung einer Koronararterie ist eine seltene Komplikation, die möglicherweise unterschätzt wird (Blaufox und Saul 2004; Castaño et al. 2011; Mao et al. 2015). Das Risiko hierfür beträgt für Patienten < 21 Jahren ca. 2 % (Schneider et al. 2009). Die häufigsten akuten Veränderungen sind Thrombosen und reversible Gefäßspasmen (Pons et al. 1997; Pothineni et al. 2019). Es ist daher möglich, dass es sich nicht bei allen in unserer Tierversuchsserie erfassten Koronarstenosen um eine persistierende oder fortschreitende Schädigung handelt. Im Langzeitverlauf können sich jedoch klinisch relevante Stenosen entwickeln (Pons et al. 1997). Bertram et al. (2001) berichten von asymptomatischen

Stenosen der RCA nach > 1 Jahr im Anschluss an RFA am Trikuspidalklappenring. Der Stellenwert der bei der RFA akut induzierten Koronarverletzungen ist bislang weitestgehend unklar.

Histologisch wurde in unserer Studie innerhalb von 11/79 der Läsionen (14 %) ein strukturell verändertes Koronargefäß erfasst. Dabei fanden sich in 6/11 Fällen (55 %) Veränderungen bis in die Intima der Gefäße hinein, in den übrigen 5/11 Fällen (45 %) Veränderungen der Media und Adventitia. Eine relevante Reduktion des Lumens haben wir jedoch nicht erfasst. Die Arbeitsgruppe Paul et al. (1997) fand sechs Monate nach RFA bei 2/5 Ferkel-Herzen Stenosen der RCA, wobei ebenfalls eine Intimaverdickung im Läsionsbereich beschrieben wurde. In derselben Arbeitsgruppe wurden fibröse Verdickungen aller Wand-schichten der RCA in 3/8 Läsionen beobachtet (Bökenkamp et al. 2000). Bei allen drei Tieren führten diese Wandverdickungen jedoch zu einer Stenose, die in maximaler Ausprägung eine 60 %-ige Lumenreduktion über 5 mm betraß.

Die Mehrzahl der histologisch sowie fluoroskopisch gesicherten Koronararterienveränderungen unserer Arbeit betrafen die RCA (64 % bzw. 57 %). Auch klinisch betreffen Koronarstenosen nach RFA in 2/3 der Fälle die RCA (Pothineni et al. 2019). Ablationsorte mit hohem Risiko für eine Koronarschädigung sind der posteroseptale Trichter und der proximale CS (Mao et al. 2015). Möglicherweise wird dieses Risiko unterschätzt (Alazard et al. 2018). Gerade bei Ablation an Hochrisiko-Lokalisationen empfiehlt sich daher ein vorsichtiges Vorgehen und die Vermeidung großer Läsionen, sofern diese nicht zwingend notwendig sind. In unserer Arbeit haben wir keinen Einfluss der CF auf das Auftreten von Koronarstenosen feststellen können, die Höhe der CF scheint so nicht als klarer Prädiktor für das Auftreten von Koronarstenosen nutzbar zu sein.

4.3 Tiere mit Protokollverletzung

Die klinische Sicherheit der RFA ist sehr hoch, schwerwiegende Komplikationen (höhergradiger AV-Block, Perforation und Perikardtamponade, Thromboembolien) treten in Abhängigkeit von Substrat und Lokalisation bei ca. 1-3 % der Behandlungen auf (Brugada et al. 2013; Saul et al. 2016; van Hare et al. 2004). Tödliche Komplikationen sind eine Rarität (Kugler et al. 2002; van Hare et al. 2004). Daher stechen die 5/12 Tiere, die vorzeitig aus dem Versuch genommen werden mussten, in dieser Arbeit hervor. Bei der Mehrzahl der vorzeitig aus dem Versuch genommenen Tiere liegt die Ursache in dem Tiermodell begründet: Zwei dieser Tiere entwickelten ein großes Hämatom im Hinterlauf, da die Tiere nach dem

schnellen Aufwachen aus der Narkose sofort liefen und der Druckverband nicht ausreichend komprimierte.

Bei zwei weiteren Schweinen trat während der RFA nicht-terminierbares VF auf. Makroskopisch und histologisch wurden an den Herzen dieser Tiere keine Auffälligkeit gefunden. Es ist bekannt, dass der Wechselstrom-Effekt der RFA im porcinen Myokard maligne Arrhythmien induzieren kann. Diese Beobachtung wird durch die hohe Vulnerabilität von Schweinen hinsichtlich des SCD-Risikos und das nativ lange QT-Intervall der Tiere unterstützt (Crick et al. 1998; Lelovas et al. 2014). Wir haben das unerwartete Auftreten von malignen Arrhythmien auf die RFA bei Schweinen im Allgemeinen, nicht jedoch auf die CF im Speziellen attribuiert.

Ein Tier verstarb unerwartet 4 h nach der RFA. Makroskopisch erfassten wir einen Verschluss der V. cordis media durch eine Läsion mit hoher-mittlerer CF nahe der Einmündung des CS. Dieser Gefäßverschluss führte zu einer großen hämorrhagischen Infarzierung, v.a. im Bereich der LV-Hinterwand. Ablationen innerhalb des CS sind aufgrund besonderer Nähe zu den Koronargefäßen risikoreich (Stavrakis et al. 2014). Der Abstand zwischen der Ablationsstelle und dem nächsten Koronargefäß betrug in einer CT-Studie erwachsener Patienten bei der Mehrzahl < 2 mm und bei nur einem Viertel der Patienten > 5 mm (Stavrakis et al. 2014). Der fehlende Abstand zwischen der Ablationsstelle und der Koronarvene scheint auch in unserem Fall Grundlage der schweren Komplikation zu sein. Inwiefern die hohe-mittlere CF der Läsion zu der Entwicklung der Komplikation beigetragen hat bleibt unklar, da alle weiteren erfassten Koronarstenosen (s.o.) auf Läsionen mit niedriger-mittlerer CF zurückzuführen sind. In Anbetracht der Schwere dieser Komplikation sollte jedoch gerade an Orten mit erhöhtem Risiko, wie dem proximalen CS, der Einsatz hoher-mittlerer CF vermieden werden.

4.4 Limitationen und methodische Einschränkungen

Zunächst ergibt sich aus der Anzahl an Versuchstieren ($n = 12$) und untersuchten RFA-Läsionen ($n = 79$) eine limitierte Aussagekraft dieser Studie. Der Stichprobenumfang dieser Studie wurde zur Detektion eines relevanten Einflusses der CF auf das zu erzielende Läsionsvolumen kalkuliert. Das Fehlen eines statistischen Nachweises in der untersuchten Kohorte schließt jedoch einen sehr kleinen Einfluss nicht vollständig aus, hierfür wäre ggf. ein weitaus größerer Stichprobenumfang nötig gewesen. Ein direkter Hinweis auf einen solchen Zusammenhang liegt auf Grundlage unserer Ergebnisse jedoch nicht vor. Der beschriebene Versuch wurde an einem etablierten Tiermodell durchgeführt, mit dem unsere Arbeitsgruppe

aus früheren Experimenten vertraut war. Die Nutzung von Schweinen begründet sich in der anatomischen Ähnlichkeit zum menschlichen Herzen (Lelovas et al. 2014). Dennoch ist das Schweineherz in einer horizontalen und vom Menschen grundsätzlich unterschiedlichen Konfiguration im Thorax angeordnet, was die Katheterorientierung und Läsionsplatzierung während des Versuchs erschwerte (Crick et al. 1998; Lelovas et al. 2014). Anders als in der klinischen Praxis wurde für den Versuch auf die Nutzung eines teuren nicht-Fluoroskopie-Navigationssystems verzichtet und die Navigation ausschließlich durch Fluoroskopie und elektroanatomisches Mapping gesteuert. Diese Technik entspricht somit eher der Ablationsbehandlung der „frühen Ära“, als dem technischen Stand der aktuellen Behandlung (Kugler et al. 2002; Seizer et al. 2016). Im Gegensatz zur gezielten RFA von Tachykardiesubstraten wurden in dieser Studie die Herzen gesunder, junger Läuferschweine an definierten Stellen ablatiert. Die Beurteilung der Effektivität stützt sich somit auf die histologische Beurteilung der Transmuralität und des Läsionsvolumens, konnte aber nicht klinisch und elektrophysiologisch bestätigt werden, da kein tachykardieauslösendes Substrat vorlag.

Komplikationsbedingt konnte nicht bei allen Versuchstieren die gesamte Untersuchung durchgeführt werden. So lagen zur Auswertung dieser Studie nur von 7/12 Versuchstieren (58 %) Koronarangiographien nach 48 h vor, da es bei den übrigen Tieren zum verfrühten Tod kam. Möglicherweise im Verlauf koronarangiographisch sichtbare Veränderungen dieser Tiere bleiben somit unklar.

Der geplante Einsatz des IVUS-Katheters stellte sich bei den sechs Wochen alten Versuchstieren als nicht praktikabel dar, da durch das noch geringe Lumen der Koronarien lediglich die Hauptstämme, nicht aber periphere Bereiche der RFA Läsionen, erreicht werden konnten. Es bleibt offen, ob mit dieser Technik weitere Veränderungen der Koronararterien hätten entdeckt werden können.

Durch den vorzeitigen Abbruch des Versuches bei 5/12 Tieren (42 %) war die histologische Auswertung durch die nicht-einheitliche Zeitspanne zwischen RFA und Entnahme des Herzens erschwert. Läsionen von Tieren mit postinterventioneller Überlebensdauer von < 32 h hatten keine klar demarkierten Läsionen (n = 26/79). Zur Bestimmung der Läsionsgröße mussten weitere Kriterien und Spezialfärbungen zur Hilfe genommen werden. Es bleibt unklar, ob das so bestimmte Läsionsvolumen identisch ist mit dem, das nach 48 h durch deutlichere Begrenzung hätte erhoben werden können.

4.5 Klinische Bedeutung und Ausblick

Die in dieser tierexperimentellen Studie erfassten Läsionsvolumina korrelierten nicht mit der angewendeten mittleren CF. Im Gegenzug bedeutet dies, dass es durchaus vorstellbar ist, effektive RFA am nicht-ausgewachsenen Myokard mit einem niedrigen-mittleren Ziel-CF von 10-20 g durchzuführen. Der Stichprobenumfang der vorliegenden Arbeit war jedoch nicht für eine Subanalyse des CF-Bereiches unter 10 g kalkuliert. Dies steht in Einklang mit dem Ergebnis der Arbeitsgruppe Dalal et al. (2017), die kindliche Tachykardiesubstrate mit RFA und moderater Spülung der Katheterspitze unter der Berücksichtigung der CF (mediane CF 6 g) behandelten. Schlussfolgerung der Autoren ist, dass effektive Läsionen in dieser Patientengruppe auch mit einer deutlich niedrigeren CF erzielt werden können, als bisher in der Literatur für erwachsene Patienten beschrieben (Dalal et al. 2017).

Unsere Ergebnisse betonen, dass ein relevantes Risiko einer Schädigung der Koronarien durch RFA besteht, sowohl durch niedrige-mittlere als auch durch hohe-mittlere CF. Dieses Risiko sollte bei Indikationsstellung zur RFA bei Kindern berücksichtigt werden. Die Mehrheit (92 %) der Koronararterienveränderungen nach RFA lässt sich auf die anatomische Nähe zwischen Gefäß und Ablationsstelle zurückführen (Pothineni et al. 2019). Für RFA von AP in Regionen mit hohem Risiko einer Koronararterienschädigung (u.a. lateral-postero-septalen TK-Region innerhalb des CS) sollte der exakte Verlauf und Abstand eines Koronargefäßes von der bestmöglichen Ablationsstelle evaluiert und alternative Energieformen (z.B. Kryoablation) in Betracht gezogen werden (Alazard et al. 2018; Pothineni et al. 2019). Bei einem Abstand < 5 mm zu einem Koronargefäß sollte von einer RFA abgesehen werden (Pothineni et al. 2019).

Die Ablation mit Kryoenergie erweist sich im Hinblick auf die Sicherheit überlegen (Aoyama et al. 2005; Bravo et al. 2018; Stavrakis et al. 2014). In tierexperimentellen Studien unserer Arbeitsgruppe zu Kryoablationen an der AV-Klappenebene wurden keine Koronarstenosen detektiert (Krause et al. 2017; Kriebel et al. 2009; Schneider et al. 2013; Schneider et al. 2019). Die aktuelle Empfehlung zur Katheterablation bei Kindern sieht daher die Verwendung von Kryoenergie (Klasse IIa Empfehlung) für Lokalisationen mit hohem Risiko für eine Verletzung der Koronargefäße vor (Saul et al. 2016).

Ein geringeres Auftreten von strukturellen Koronararterienveränderungen durch Anwendung einer niedrigeren-mittleren CF konnte durch diese Studie nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse beziehen sich jedoch auf koronarangiographische sowie histologische Untersuchungen des Zeitraumes bis 48 h postinterventionell. Ergebnisse über langfristige, wachstumsbedingte Veränderungen bleiben hiermit offen. Es ist denkbar, dass es sich bei koronarangiographisch belegten Stenosen teilweise um passagere Veränderungen, wie einen

Spasmus oder ein Ödem handeln könnte. Die weitere Entwicklung der Läsionen und betroffener Koronargefäße während des Wachstums ist nicht abschließend geklärt und wird in einer zweiten Kohorte mit einer sechs-monatigen Nachverfolgung der Tiere untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Die Hochfrequenzstromablation (RFA) anatomischer Substrate supraventrikulärer Tachykardien ist bei Kindern und Jugendlichen eine etablierte Therapieoption. Durch den Einsatz thermischer Energie wird am Myokard eine Koagulationsnekrose induziert. Der Langzeitverlauf dieser Läsionen am juvenilen Myokard ist bislang nicht abschließend geklärt. Die Tiefenausdehnung und Volumenentwicklung einer Läsion während der RFA wird durch verschiedene Parameter, darunter die Anpresskraft (CF) der Ablationskatheter-Spitze an das Myokard, beeinflusst. Bislang wurde der Einfluss der CF während der RFA auf die Läsionsbildung nicht am wachsenden Myokard untersucht.

In dieser tierexperimentellen Studie wurde daher der Einfluss der CF während der RFA auf die myokardiale Läsionsbildung und die Bildung von Koronarstenosen bei 12 jungen Läufer Schweinen untersucht. Hierfür wurden insgesamt 87 RFA-Läsionen mit niedriger-mittlerer CF (10-20 g) und hoher-mittlerer CF (20-60 g) mit dem *TactiCath™ Quartz Contact Force* Ablationskatheter appliziert. Die RFA erfolgten jeweils mit 30 W, einer Zieltemperatur von 65 °C für 30 s ohne Spülung der Katheterspitze.

Ergänzend wurden vor und im Anschluss an die RFA je eine selektive Koronarangiographie der rechten Koronararterie und der linken Koronararterie durchgeführt. Die Herzen der Tiere wurden nach einer weiteren Koronarangiographie 48 h postinterventionell entnommen und makroskopisch begutachtet. Die Läsionen wurden exzidiert, histopathologisch aufgearbeitet, mikroskopisch vermessen sowie volumetriert.

Die in unserer Studie erfassten RFA-Läsionsvolumina waren im Atrium gering (medianes Volumen 35,4 mm³) und wiesen an der Atrioventrikular-Klappenebene sowie im Ventrikelmyokard ein signifikant größeres Volumen auf (69,3 mm³ bzw. 116,1 mm³). Es ließ sich weder für die Gesamtheit der Läsionen, noch für die Subgruppen der einzelnen Lokalisationen ein signifikanter Unterschied im Läsionsvolumen zwischen Läsionen mit niedriger-mittlerer CF und hoher-mittlerer CF feststellen. Die gemessenen Läsionsvolumina korrelierten nicht mit der angewendeten CF.

Koronarangiographisch bestand nach RFA bei 5/12 (42 %) Tieren eine Stenose am Hauptstamm, bei 2/12 (17 %) Tieren eine Stenose des Endastes. Eine strukturelle, aber subklinische Veränderung der Koronararterien wurde in 14 % der Läsionen histologisch gesichert. Diese betraf vorwiegend die RCA (64%) und trat nach Ablation an der Atrioventrikular-

Klappenebene auf. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen der angewendeten mittleren CF und dem Auftreten struktureller Koronararterienveränderungen.

Für die hier verwendete Ablationsmodalität am juvenilen Myokard ist daher die Verwendung einer niedrigen-mittleren Ziel-CF denkbar, um eine effektive Läsionsbildung zu erreichen. Die Bedeutung der CF für die Läsionsbildung bei Verzicht auf eine Spülung des Katheters ist nicht abschließend geklärt.

Offen bleibt weiterhin die Bedeutung der CF für die langfristige Läsionsentwicklung am wachsenden Myokard sowie der langfristige Verlauf struktureller Koronararterienveränderungen in Abhängigkeit von der bei der RFA angewendeten CF. Hierfür müssen die Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe einer separat ausgewerteten Gruppe identisch behandelter Läuferchweine mit einer Nachbeobachtungszeit von sechs Monaten abgewartet werden.

Literaturverzeichnis

- Abbott Cardiovascular (n.d.): TactiCath Quartz Contact Force Ablation Catheter.
<https://www.cardiovascular.abbott/us/en/hcp/products/electrophysiology/tacticath-quartz-contact-force-ablation-catheter.html>; abgerufen am 02.05.2020
- Al-Ammouri I, Perry JC (2006): Proximity of coronary arteries to the atrioventricular valve annulus in young patients and implications for ablation procedures. *Am J Cardiol* 97, 1752-1755
- Alazard M, Lacotte J, Horvilleur J, Ait-Said M, Salerno F, Manenti V, Piechaud JF, Garot J, Bonnet D, Maltret A (2018): Preventing the risk of coronary injury in posteroseptal accessory pathway ablation in children: Different strategies and advantages of fluoroscopy integrated 3D-mapping system (CARTO-UNIVU™). *J Interv Card Electrophysiol* 52, 127-135
- Anand RG, Rosenthal GL, van Hare GF, Snyder CS (2009): Is the mechanism of supraventricular tachycardia in pediatrics influenced by age, gender or ethnicity? *Congenit Heart Dis* 4, 464-468
- Aoyama H, Nakagawa H, Pitha JV, Khammar GS, Chandrasekaran K, Matsudaira K, Yagi T, Yokoyama K, Lazzara R, Jackman WM (2005): Comparison of cryothermia and radiofrequency current in safety and efficacy of catheter ablation within the canine coronary sinus close to the left circumflex coronary artery. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16, 1218-1226
- Avitall B, Mughal K, Hare J, Helms R, Krum D (1997): The effects of electrode-tissue contact on radiofrequency lesion generation. *Pacing Clin Electrophysiol* 20, 2899-2910
- Backhoff D, Klehs S, Müller MJ, Schneider H, Kriebel T, Paul T, Krause U (2016): Radiofrequency catheter ablation of accessory atrioventricular pathways in infants and toddlers ≤ 15 kg. *Pediatr Cardiol* 37, 892-898
- Bertram H, Bökenkamp R, Peuster M, Hausdorf G, Paul T. (2001): Coronary artery stenosis after radiofrequency catheter ablation of accessory atrioventricular pathways in children with Ebstein's malformation. *Circulation* 103, 538-543

- Blaufox AD, Saul JP (2004): Acute coronary artery stenosis during slow pathway ablation for atrioventricular nodal reentrant tachycardia in a child. *J Cardiovasc Electrophysiol* 15, 97-100
- Bökenkamp R, Wibbelt G, Sturm M, Windhagen-Mahnert B, Bertram H, Hausdorf G, Paul T (2000): Effects of intracardiac radiofrequency current application on coronary artery vessels in young pigs. *J Cardiovasc Electrophysiol* 11, 565-571
- Bravo L, Atienza F, Eidelman G, Ávila P, Pelliza M, Castellanos E, Loughlin G, Datino T, Torrecilla EG, Almendral J et al. (2018): Safety and efficacy of cryoablation vs. radiofrequency ablation of septal accessory pathways: Systematic review of the literature and meta-analyses. *Europace* 20, 1334-1342
- Brugada J, Blom N, Sarquella-Brugada G, Blomstrom-Lundqvist C, Deanfield J, Janousek J, Abrams D, Bauersfeld U, Brugada R, Drago F et al. (2013): Pharmacological and non-pharmacological therapy for arrhythmias in the pediatric population: EHRA and AEPC-arrhythmia working group joint consensus statement. *Europace* 15, 1337-1382
- Calzolari V, de Mattia L, Indiani S, Crosato M, Furlanetto A, Licciardello C, Squasi PAM, Olivari Z (2017): In vitro validation of the lesion size index to predict lesion width and depth after irrigated radiofrequency ablation in a porcine model. *JACC Clin Electrophysiol* 3, 1126-1135
- Castaño A, Crawford T, Yamazaki M, Avula UMR, Kalifa J (2011): Coronary artery pathophysiology after radiofrequency catheter ablation: Review and perspectives. *Heart Rhythm* 8, 1975-1980
- Cochet H, Sacher F, Chaumeil A, Jais P (2014): Steam pop during radiofrequency ablation: Imaging features on magnetic resonance imaging and multidetector computed tomography. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 7, 559-560
- Crick SJ, Sheppard MN, Ho SY, Gebstein L, Anderson RH (1998): Anatomy of the pig heart: Comparisons with normal human cardiac structure. *J Anat* 193, 105-119
- Dalal AS, Nguyen HH, Bowman T, van Hare GF, Avari Silva JN (2017): Force-sensing catheters during pediatric radiofrequency ablation: The FEDERATION Study. *J Am Heart Assoc* 6, e005772
- de Mattia L, Crosato M, Indiani S, Causin E, Licciardello C, Squasi PAM, de Leo A (2018): Prospective evaluation of lesion index-guided pulmonary vein isolation technique in patients with paroxysmal atrial fibrillation: 1-year follow-up. *J Atr Fibrillation* 10, 1858

- DGPK (2018): Tachykarde Herzrhythmusstörungen im Kindes-, Jugend- und jungen Erwachsenenalter (EMAH-Patienten). S2k-Leitlinie der deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie. <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/ll/023-022.html>; abgerufen am 30.04.2020
- Dubin AM, Jorgensen NW, Raddbill AE, Bradley DJ, Silva JN, Tsao S, Kanter RJ, Tanel RE, Trivedi B, Young ML et al. (2019): What have we learned in the last 20 years? A comparison of a modern era pediatric and congenital catheter ablation registry to previous pediatric ablation registries. *Heart rhythm* 16, 57-63
- Franco E, Muñoz DR, Matía R, Hernández-Madrid A, Pérez IS, Zamorano JL, Moreno J (2018): Contact force-sensing catheters: performance in an ex vivo porcine heart model. *J Interv Card Electrophysiol* 53, 141-150
- García-García J, Almendral J, Arenal A, Serrano JA, Rodríguez JC, Medina O, Villacastín J, Torrecilla E, Nieto V (2002): Irrigated tip catheter ablation in right posteroseptal accessory pathways resistant to conventional ablation. *Pacing Clin Electrophysiol* 25, 799-803
- Gulletta S, Tsiachris D, Radinovic A, Bisceglia C, Mazzone P, Trevisi N, Paglino G, Bellini B, Sala S, Della Bella P (2013): Safety and efficacy of open irrigated-tip catheter ablation of wolff-parkinson-white syndrome in children and adolescents. *Pacing Clin Electrophysiol* 36, 486-490
- Haines DE (1991): Determinants of lesion size during radiofrequency catheter ablation: The role of electrode-tissue contact pressure and duration of energy delivery. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2, 509-515
- Haines D (2004): Biophysics of ablation: application to technology. *J Cardiovasc Electrophysiol* 15, 2-11
- Hsu LF, Jais P, Hocini M, Sanders P, Scavée C, Sacher F, Takahashi Y, Rotter M, Pasquie JL, Clémenty J et al. (2005): Incidence and prevention of cardiac tamponade complicating ablation for atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* 28, 106-109
- Ikeda A, Nakagawa H, Lambert H, Shah DC, Fonck E, Yulzari A, Sharma T, Pitha JV, Lazzara R, Jackman WM (2014): Relationship between catheter contact force and radiofrequency lesion size and incidence of steam pop in the beating canine heart: Electrogram amplitude, impedance, and electrode temperature are poor predictors of electrode-tissue contact force and lesion size. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 7, 1174-1180

- Kaneko U, Kashima Y, Kanno D, Kitai T, Taniguchi H, Uno K, Fujita T (2017): Delayed left main coronary artery obstruction after radiofrequency-induced coronary dissection and spasm: Insights from optical frequency-domain imaging and intravascular ultrasound imaging. *JACC Cardiovasc Interv* 10, 2009-2011
- Kautzner J, Neuzil P, Lambert H, Peichl P, Petru J, Cihak R, Skoda J, Wichterle D, Wissner E, Yulzari A et al. (2015): EFFICAS II: Optimization of catheter contact force improves outcome of pulmonary vein isolation for paroxysmal atrial fibrillation. *Europace* 17, 1229-1235
- Khairy P, Guerra PG, Rivard L, Tanguay JF, Landry E, Guertin MC, Macle L, Thibault B, Tardif JC, Talajic M et al. (2011): Enlargement of catheter ablation lesions in infant hearts with cryothermal versus radiofrequency energy: An animal study. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 4, 211-217
- Khanal S, Ribeiro PA, Platt M, Kuhn MA (1999). Right coronary artery occlusion as a complication of accessory pathway ablation in a 12-year-old treated with stenting. *Catheter Cardiovasc Interv* 46, 59-61
- Ko JK, Deal BJ, Strasburger JF, Benson DW (1992): Supraventricular tachycardia mechanisms and their age distribution in pediatric patients. *Am J Cardiol* 69, 1028-1032
- Krause U, Abreu da Cunha FD, Backhoff D, Jacobshagen C, Klehs S, Schneider HE, Paul T (2017): Effects of triple cryoenergy application on lesion formation and coronary arteries in the developing myocardium. *Pediatr Cardiol* 38, 663-668
- Kriebel T, Hermann HP, Schneider H, Kroll M, Selle J, Overwaul A, Sigler M, Paul T (2009): Cryoablation at growing myocardium: No evidence of coronary artery obstruction or intimal plaque formation early and late after energy application. *Pacing Clin Electrophysiol* 32, 1197-1202
- Kubuř P, Vít P, Gebauer RA, Zaoral L, Peichl P, Fiala M, Janoušek J (2014): Long-term results of paediatric radiofrequency catheter ablation: a population-based study. *Europace* 16, 1808-1813
- Kuck KH, Reddy VY, Schmidt B, Natale A, Neuzil P, Saoudi N, Kautzner J, Herrera C, Hindricks G, Jaïs P et al. (2012): A novel radiofrequency ablation catheter using contact force sensing: Toccata study. *Heart Rhythm* 9, 18-23
- Kugler JD, Danford DA, Houston KA, Felix G and the other participating members of the pediatric radiofrequency ablation registry of the pediatric electrophysiology society

- (2002): Pediatric radiofrequency catheter ablation registry success, fluoroscopy time, and complication rate for supraventricular tachycardia: Comparison of early and recent eras. *J Cardiovasc Electrophysiol* 13, 336-341
- Lang, G: Histotechnik. Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik. 2. Auflage; Springer-Verlag, Wien 2013
- Leitlinie Tachykardie Herzrhythmusstörungen im Kindes-, Jugend- und jungen Erwachsenenalter (EMAH-Patienten): siehe DGPK 2018
- Lelovas PP, Kostomitsopoulos NG, Xanthos TT (2014): A comparative anatomic and physiologic overview of the porcine heart. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 53, 432-438
- Leo M, de Maria GL, Betts TR, Banning AP (2014): Management and optical coherence tomography imaging of an acute coronary artery injury induced by radiofrequency catheter ablation. *Int J Cardiol* 174, e44-e46
- Makimoto H, Zhang Q, Tilz RR, Wissner E, Cuneo A, Kuck KH, Ouyang F (2013): Aborted sudden cardiac death due to radiofrequency ablation within the coronary sinus and subsequent total occlusion of the circumflex artery. *J Cardiovasc Electrophysiol* 24, 929-932
- Mao J, Moriarty JM, Mandapati R, Boyle NG, Shivkumar K, Vaseghi M (2015): Catheter ablation of accessory pathways near the coronary sinus: Value of defining coronary arterial anatomy. *Heart Rhythm* 12, 508-514
- Matsumoto N, Kishi R, Kasugai H, Sakurai T, Osada K, Ryu S, Arai M, Miyazu O, Watanabe Y, Kimura M et al. (2003): Experimental study on the effectiveness and safety of radiofrequency catheter ablation with the cooled ablation system. *Circ J* 67, 154-158
- Nakagawa H, Yamanashi WS, Pitha JV, Arruda M, Wang X, Ohtomo K, Beckman KJ, McClelland JH, Lazzara R, Jackman WM (1995): Comparison of in vivo tissue temperature profile and lesion geometry for radiofrequency ablation with a saline-irrigated electrode versus temperature control in a canine thigh muscle preparation. *Circulation* 91, 2264-2273
- Neuzil P, Reddy VY, Kautzner J, Petru J, Wichterle D, Shah D, Lambert H, Yulzari A, Wissner E, Kuck KH (2013): Electrical reconnection after pulmonary vein isolation is contingent on contact force during initial treatment: results from the EFFICAS I study. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 6, 327-333

- Noll S, Schaub-Kuhnen S: Praxis der Immunhistochemie. 1. Auflage; Urban und Fischer Verlag, München 2000
- Okumura Y, Johnson SB, Bunch TJ, Henz BD, O'Brien CJ, Packer DL (2008): A systematic analysis of in vivo contact forces on virtual catheter tip/tissue surface contact during cardiac mapping and intervention. *J Cardiovasc Electrophysiol* 19, 632-640
- Paul T: Elektrophysiologische Untersuchung und interventionelle Behandlung von Herzrhythmusstörungen. In: Apitz C, Apitz J, Baden W, Barth H, von Bernuth G, Breuer J, Borth-Bruhns T, Döttling-Ulrich J, Enders H, Gass M et al. (Hrsg.): Pädiatrische Kardiologie. Erkrankungen des Herzens bei Neugeborenen, Säuglingen, Kindern und Heranwachsenden. 2. Auflage; Steinkopff-Verlag, Darmstadt 2002, 173-196
- Paul T, Bökenkamp R, Mahnert B, Trappe HJ (1997): Coronary artery involvement early and late after radiofrequency current application in young pigs. *Am Heart J* 133, 436-440
- Paul T, Kakavand B, Blaufox AD, Saul JP (2003): Complete occlusion of the left circumflex coronary artery after radiofrequency catheter ablation in an infant. *J Cardiovasc Electrophysiol* 14, 1004-1006
- Pons M, Beck L, Leclerc F, Ferriere M, Albat B, Davy JM (1997): Chronic left main coronary artery occlusion: A complication of radiofrequency ablation of idiopathic left ventricular tachycardia. *Pacing Clin Electrophysiol* 20, 1874-1876
- Pothineni NV, Kancharla K, Katoor AJ, Shanta G, Paydak H, Kapa S, Deshmukh A (2019): Coronary artery injury related to catheter ablation of cardiac arrhythmias: A systematic review. *J Cardiovasc Electrophysiol* 30, 92-101
- Reddy VY, Shah D, Kautzner J, Schmidt B, Saoudi N, Herrera C, Jaïs P, Hindricks G, Peichl P, Yulzari A et al. (2012): The relationship between contact force and clinical outcome during radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation in the TOC-CATA study. *Heart Rhythm* 9, 1789-1795
- Reddy VY, Dukkipati SR, Neuzil P, Natale A, Albenque JP, Kautzner J, Shah D, Michaud G, Wharton M, Harari D et al. (2015): Randomized, controlled trial of the safety and effectiveness of a contact force-sensing irrigated catheter for ablation of paroxysmal atrial fibrillation: Results of the TactiCath contact force ablation catheter study for atrial fibrillation (TOCCASTAR) Study. *Circulation* 132, 907-915

- Sakamoto S, Kataoka T, Kanai M, Tamura K, Iguchi T, Tatsumi H, Doi A, Yoshiyama M (2018): Multiple coronary artery spasms triggering life-threatening ventricular arrhythmia associated with the radiofrequency ablation of ganglionated plexuses of the left atrium. *J Cardiol Cases* 17, 133-136
- Saul JP, Hulse JE, Papagiannis J, van Praagh R, Walsh EP (1994): Late enlargement of radiofrequency lesions in infant lambs: Implications for ablation procedures in small children. *Circulation* 90, 492-499
- Saul JP, Kanter RJ, Abrams D, Asirvatham S, Bar-Cohen Y, Blafox AD, Cannon B, Clark J, Dick M, Freter A et al. (2016): PACES/HRS expert consensus statement on the use of catheter ablation in children and patients with congenital heart disease. *Heart Rhythm* 13, e251-e289
- Schneider HE, Kriebel T, Gravenhorst VD, Paul T (2009): Incidence of coronary artery injury immediately after catheter ablation for supraventricular tachycardias in infants and children. *Heart Rhythm* 6, 461-467
- Schneider HE, Stahl M, Kriebel T, Schillinger W, Schill M, Jakobi J, Paul T (2013): Double cryoenergy application (freeze-thaw-freeze) at growing myocardium: Lesion volume and effects on coronary arteries early after energy application. Implications for efficacy and safety in pediatric patients. *J Cardiovasc Electrophysiol* 24, 701-707
- Schneider HE, Stahl M, Schillinger W, Müller M, Backhoff D, Schill M, Groene N, Krause U, Sigler M, Paul T (2019): Double cryoenergy application (freeze-thaw-freeze) at growing myocardium: Lesion volume and effects on coronary arteries late after energy application. Implications for efficacy and safety in pediatric patients. *J Cardiovasc Electrophysiol* 30, 1127-1134
- Seiler J, Roberts-Thomson KC, Raymond JM, Vest J, Delacretaz E, Stevenson WG (2008): Steam pops during irrigated radiofrequency ablation: Feasibility of impedance monitoring for prevention. *Heart Rhythm* 5, 1411-1416
- Seizer P, Bucher V, Frische C, Heinzmann D, Gramlich M, Müller I, Henning A, Hofbeck M, Kerst G, Gawaz M et al. (2016): Efficacy and safety of zero-fluoroscopy ablation for supraventricular tachycardias. *Herz* 41, 241-245
- Shah DC, Lambert H, Nakagawa H, Langenkamp A, Aeby N, Leo G (2010): Area under the real-time contact force curve (force-time integral) predicts radiofrequency lesion size in an in vitro contractile model. *J Cardiovasc Electrophysiol* 21, 1038-1043

- Spar DS, Silver ES, Hordof AJ, Torres A, Liberman L (2010): Coronary artery spasm during radiofrequency ablation of a left lateral accessory pathway. *Pediatr Cardiol* 31, 724-727
- Stavrakis S, Jackman WM, Nakagawa H, Sun Y, Xu Q, Beckman KJ, Lockwood D, Scherlag BJ, Lazzara R, Po SS (2014): Risk of coronary artery injury with radiofrequency ablation and cryoablation of epicardial posteroseptal accessory pathways within the coronary venous system. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 7, 113-119
- Squara F, Latcu DG, Massaad Y, Mahjoub M, Bun SS, Saoudi N (2014): Contact force and force-time integral in atrial radiofrequency ablation predict transmuralty of lesions. *Europace* 16, 660-667
- Theis C, Rostock T, Mollnau H, Sonnenschein S, Himmrich E, Kämpfner D, Ocete BQ, Bock K, Münzel T, Konrad T (2015): The incidence of audible steam pops is increased and unpredictable with the ThermoCool® surround flow catheter during left atrial catheter ablation: A prospective observational study. *J Cardiovasc Electrophysiol* 26, 956-962
- Thomas PE, Macicek SL (2016): Catheter ablation to treat supraventricular arrhythmia in children and adults with congenital heart disease: what we know and where we are going. *Ochsner J* 16, 290-296
- van Hare GF, Javitz H, Carmelli D, Saul JP, Tanel RE, Fischbach PS, Kanter RJ, Schaffer M, Dunnigan A, Colan S, Serwer G et al. (2004): Prospective assessment after pediatric cardiac ablation: demographics, medical profiles, and initial outcomes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 15, 759-770
- Whitaker J, Fish J, Harrison J, Chubb H, Williams SE, Fastl T, Corrado C, van Zaen J, Gibbs J, O'Neill L et al. (2018): Lesion index-guided ablation facilitates continuous, transmural, and durable lesions in a porcine recovery model. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 11, e005892
- Wong KCK, Sadarmin PP, Prendergast BD, Betts TR (2010): Acute occlusion of left circumflex artery following radiofrequency catheter ablation at the mitral isthmus. *Europace* 12, 743-745
- Wong MCG, Edwards G, Spence SJ, Kalman JM, Kumar S, Joseph SA, Morton JB (2013): Characterization of catheter-tissue contact force during epicardial radiofrequency ablation in an ovine model. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 6, 1222-1228

- Yokoyama K, Nakagawa H, Shah DC, Lambert H, Leo G, Aeby N, Ikeda A, Pitha JV, Sharma T, Lazzara R et al. (2008): Novel contact force sensor incorporated in irrigated radiofrequency ablation catheter predicts lesion size and incidence of steam pop and thrombus. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 1, 354-362
- Zheng X, Walcott GP, Hall JA, Rollins DL, Smith WM, Kay GN, Ideker RE (2000): Electrode impedance: An indicator of electrode-tissue contact and lesion dimensions during linear ablation. *J Interv Card Electrophysiol* 4, 645-654

Danksagung

Mein herzlichster Dank geht an meinen Doktorvater, Herrn PD Dr. med. D. Backhoff, für die hervorragende Betreuung, die äußerst geduldige und umfassende Beantwortung all meiner Fragen, sowie die Vermittlung vieler klinischer Aspekte, von denen ich sehr profitiert habe. Ich habe während der Zeit unserer Zusammenarbeit sehr viel gelernt und fühlte mich in meinem Arbeiten stets unterstützt, gefördert und motiviert. Auf diese Weise wurde es mir durch die Mitarbeit an diesem spannenden und relevanten Thema ermöglicht, Fertigkeiten des wissenschaftlichen Arbeitens zu erlangen. Ich möchte mich darüber hinaus für das mir entgegengebrachte Vertrauen im Rahmen meiner Tätigkeit bedanken.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. M. Sigler, sowie Herrn PD Dr. med. D. Backhoff für die Förderung aus Drittmitteln während meiner Zeit als wissenschaftliche Hilfskraft, die es mir ermöglichte, mich intensiver mit diesem tollen Projekt zu beschäftigen.

Einen ganz besonderen Dank möchte ich den Mitarbeiterinnen des Forschungslabors der Abteilung für Pädiatrische Kardiologie der Universitätsmedizin Göttingen aussprechen, insbesondere Frau A. Poppe, Frau K. Bär und Frau Dr. K. Eildermann, mit deren unermüdlicher Hilfe und intensiver Einarbeitung die histopathologische Aufbereitung und Auswertung der Proben dieses Versuches überhaupt erst möglich wurden. Ich habe mich in eurem Team von Anfang an willkommen und äußerst wohl gefühlt, konnte sehr viel von euch lernen und habe die gemeinsame Arbeitszeit unwahrscheinlich genossen.