

**TUTKIMUSRAPORTTI: ST-NOUSUINFARKTIPOTILAAN SEPEL-
VALTIMOTROMBIN LUOKITTELU VALOKERROSKUVAUK-
SELLA VÄLITTÖMÄN PALLOLAAJENNUKSEN AIKANA**

Timo Kaivosoja
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Tays Sydänsairaala
Tammikuu 2017

TIIVISTELMÄ

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Tays Sydänsairaala

KAIVOSOJA TIMO: TUTKIMUSRAPORTTI: ST-NOUSUINFARKTIPOTILAAN SEPELVALTIMO-TROMBIN LUOKITTELU VALOKERROSKUVAUKSELLA VÄLITTÖMÄN PALLOLAAJENNUKSEN AIKANA

Syventävien opintojen opinnäytetyö, 41 sivua
Ohjaaja: Olli Kajander, LT, kardiologian dosentti

Tammikuu 2017

Avainsanat: sydäninfarkti, sepelvaltimotukos, optinen koherenssikerroskuvaus, sepelvaltimon pallolaajennus

Sydäninfarktipotilailla todettavat sepelvaltimotrombit on tähän asti luokiteltu optisella koherenssitomografialla (optical coherence tomography, OCT) subjektiiviselta pohjalta punaisiin, valkoisiin ja sekamuotoisiin. Trombityyppi voi olla yhteydessä potilaiden hoitotulokseen ja jopa ennusteeseen. Objekttiivinen ja toistettava luokittelumenetelmä puuttuu tällä hetkellä.

TOTAL-tutkimuksessa verrattiin ST-nousuinfarktipotilaiden rutiininomaista trombektomiaa pelkkään välittömään pallolaajennushoittoon. Nykyisessä tutkimuksessa TOTAL-OCT-alatutkimuksen 30:n potilaan trombektomian jälkeisistä OCT-kuvista analysoitiin trombien aiheuttamaa valon attenuaatiota ja takaisinsirontaa sekä silmämääräisesti että kahdella eri tietokoneavusteisella mittaustelmällä.

Valikoiduista kohdista tehdyt säteittäiset mittaukset (ImageJ –menetelmä) korreloivat melko hyvin silmämääräiseen trombiluokitteluun, mutta vaihtelu yksittäisessä OCT-kuvassa oli suurta. QCU-CMS[®]-ohjelmalla trombin pinta-alasta mitatut attenuaatio- ja takaisinsirontamuuttujat olivat toistettavia ja ne korreloivat hyvin kaksiluokkaiseen silmämääräisesti arvioituun trombityyppiin (AUC >0,90).

Trombien tietokoneavusteinen analyysi osoitettiin hyvin toistettavaksi ja sen avulla tehty jaottelu valkoisiin ja punaisiin trombeihin korreloi hyvin kokeneiden havainnoitsijoiden arvion kanssa. Tutkimuksessa kehitettyä menetelmää voidaan jatkossa soveltaa tieteellisiin ja kliinisiin tarkoituksiin.

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	KIRJALLISUUSKATSAUS.....	3
	2.1 Trombektomia ST-nousuinfarktin välittömän	3
	pallolaajennuksen yhteydessä.....	3
	2.2 Sepelvaltimotromboosi	3
	2.3 Valokerroskuvaus (OCT)	5
3	METODIT	7
	3.1 Tutkimusaineisto.....	7
	3.2 Analyysi valokerroskuvauksella	8
	3.2.1 Trombien silmämääräinen luokittelu.....	8
	3.2.2 Trombin attenuaation mittaamisen matemaattinen malli	9
	3.2.3 Mittaukset ImageJ- ja MagicPlot Student -ohjelmilla	10
	3.2.4 Mittaukset QCU-CMS®-ohjelmalla.....	11
	3.2.5 Tulosten tilastollinen analysointi.....	13
4	TULOKSET	14
	4.1 Trombien silmämääräinen luokittelu	15
	4.2 ImageJ-pohjaiset analyysit	16
	4.3 QCU-CMS®-ohjelmalla tehdyt analyysit	18
5	POHDINTA	37
	LÄHTEET	40

1 JOHDANTO

Verenkiertoelinten sairaudet ovat yleisin yli 65-vuotiaiden kuolinsyy Suomessa. Vuonna 2015 kirjattiin 10 209 sydänsairaudesta johtuvaa kuolemaa peruskuolinsyyksi, joka on noin viidesosa kaikista kuolemista. (1) Vuosittain noin 43 000 suomalaista saa sepelvaltimotautikohtauksen, joista noin puolet ovat sydäninfarkteja. Valtaosa iskeemisestä sydänsairauksista johtuu ateroskleroosista, jolle epikardiaaliset sepelvaltimot ovat erityisen herkkiä. Ateroskleroosin patofysiologiassa keskeisin tapahtuma on LDL-kolesterolin kertyminen valtimon sisäkerrokseen, intimaan, jossa LDL-hiukkaset muuntuvat ja hapettuvat proteinaasi- ja lipaasientsyymien vaikutuksesta. Makrofagit tunnistavat ja fagosytoivat muuntuneet LDL-hiukkaset niiden jätereseptoreiden avulla, jonka seurauksena makrofageihin kertyy kolesterolia ja ne muuttuvat vaahtosoluiksi. Sepelvaltimon intiman rasvajuoste muuttuu ateroomaksi, kun makrofagivaahtosolut kuolevat ja niiden rasvapisarat joutuvat solunulkoiseen tilaan. Ateroskleroottisen plakin kasvaessa sen päälle muodostuu sileiden lihassolujen muodostama sidekudoskatto solujen kollageenisynteesin seurauksena. Plakin hapettuneet rasvat ylläpitävät paikallista tulehdusreaktiota, jonka seurauksena tulehdussolujen erittämät sytokiinit ja kollageenia hajottavat entsyymit ohentavat sidekudoksista kattoa. Ateroskleroottisen plakin ohentunut kollageenikatto on altis eroosioille ja repeämille veren virtauksen aiheuttamassa rasituksessa. Plakin erodoituessa tai revetessä suonon seinämän trombogeeniset rakenteet paljastuvat, veren hyytymisjärjestelmä aktivoituu ja sepelvaltimoon syntyy hyytymä eli trombi. Sepelvaltimon täydellinen tukkeutuma aiheuttaa äkillisen transmuraalisen sydänlihaskemian ja sydämen sähköisen toiminnan häiriön, joka voidaan havaita sydänsähkökäyrässä (EKG) ST-nousuna. Kyseessä on henkeä uhkaava tila, ja hoidon tavoitteena on palauttaa sepelvaltimon verenvirtaus mahdollisimman nopeasti. (2)

ST-nousuinfarktin (STEMI) ensisijainen hoito, primaari PCI (primary percutaneous coronary intervention, pPCI) eli välitön pallolaajennus, suoritetaan väärttinävaltimon tai nivusvaltimon kautta. Toimenpiteessä sepelvaltimot kuvataan ensin varjoaineella, jolloin infarktin aiheuttaja-ahtauma voidaan identifioida. Sepelvaltimon suulle asetettavan ohjainkatettrin kautta viedään ohjainvaijeri sepelvaltimoon ahtauman ohitse, jonka jälkeen vaijeria pitkin viedään tarvittavat toimenpidevälineet paikoilleen. Joskus jo ohjainvaijerin vieminen ahtauman ohitse avaa suonon osittain. (2)

Pallolaajennushoidon ja verkkoputken asettamisen, eli stenttauksen, tarkoituksena on mahdollisimman nopea normaalin verenvirtauksen palauttaminen infarktin aiheuttajasuonessa sekä hyvä pitkäaikainen aukipysyvyys. Toimenpiteessä voidaan käyttää apuna sepelvaltimon sisäistä valokerroskuvausta (optical coherence tomography, OCT), jolla saadaan tarkka kuva sepelvaltimon sisäseinämän ateroskleroottisista plakeista, stentistä, sekä erilaisista sepelvaltimotrombeista. OCT-ku-

vauksen käyttö pallolaajennustoimenpiteiden yhteydessä on vielä vakiintumatonta, ja aiheesta tarvitaan lisää tutkimustietoa. Akuutin sydäninfarktin yhteydessä tehdyn OCT-kuvauksen on osoitettu parantavan toimenpiteen laatua sijaismuuttujiin pohjautuen, ja mikäli jatkossa saadaan lisätietoa hyödyistä, on oletettavaa, että kuvausmenetelmä tulee yleistymään tulevaisuudessa. (3,4)

Jos pPCI:ssä suoni pysyy tukossa tai havaitaan trombia, voidaan sitä yrittää poistaa erityistä trombi-imukatetria käyttäen. (5) Trombi-imulla kerättyjen trombien histologisissa- ja pyyhkäisyelektronimikroskopiatutkimuksissa on osoitettu, että nämä trombit koostuvat lähinnä fibriinistä, verihiutaleista, punasoluista, sekä osin ateroskleroottisesta materiaalista. Näiden komponenttien suhteellisen osuuden on havaittu vaihtelevan, jonka vuoksi trombeja on luokiteltu valkoisiin, sekamuotoisiin ja punaisiin trombeihin. (6,7) OCT-kuvauksessa näkyvät trombit on luokiteltu ainoastaan kuvailevin, subjektiivisin määrein, mutta objektiivista menetelmää trombien luokitteluun ei ole olemassa (8). Punaisten trombien on havaittu liittyvän sydämen heikentyneeseen pPCI:n jälkeiseen verenkiertoon ja jopa suurempaan kuolleisuuteen (9,10). Tutkimalla infarktipotilaiden trombityyppejä voidaan saada lisää tietoa sepelvaltimotromboosin syntymekanismeista. Lisäksi tavoitteena on kyetä tunnistamaan potilasalaryhmiä, joiden hoitoa voitaisiin räätälöidä vaikuttamalla nimenomaan tiettyyn tromboosin osatekijään. Tarkoituksemme on kehittää OCT-kuvaukseen perustuva, tutkimustarkoituksiin ja kliiniseen käyttöön soveltuva systemaattinen trombien luokittelumenetelmä, jolla edellä mainittujen havaintojen perusteella saattaa olla myös ennusteellista merkitystä.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Trombektomia ST-nousuinfarktin välittömän pallolaajennuksen yhteydessä

Mekaanisesta hyytymätukkeuman poistamisesta tarkoitukseen kehitettyjen onttojen muoviletkujen eli imukatetrien avulla on tullut nopeasti laajalti hyväksyty hoitomenetelmä välittömän pallolaajennushoidon yhteydessä ST-nousuinfarktipotilailla. Trombektomian tavoitteena on poistaa sepelvaltimotrombi ja estää pallolaajennushoidon epätoivottuja komplikaatioita, kuten distaalista embolisatiota, tai trombin jäämistä suonen seinämän ja stentin väliin, josta voi seurata myöhäinen hankinnainen stentin virheasento, malappositio. ST-nousuinfarktipotilaiden sepelvaltimoiden varjoaineku- vauksessa todettu suuri trombikuorma liittyy suurentuneeseen kuolemanriskiin, uusintainfarktien määrään ja infarktiin liittyviin stenttitrombooseihin (11).

Alustavissa tutkimusraporteissa trombektomian osoitettiin olevan hyödyllinen STEMI-potilaille parantamalla toimenpiteen jälkeistä virtausta sepelvaltimoissa sekä ST-tason palautumista (12). Äskettäin on julkaistu kaksi suurta satunnaistettua potilastutkimusta trombi-imun rutiininomaisesta käytöstä pPCI:n yhteydessä. Sekä kansainvälisessä monikeskustutkimus TOTAL:ssa (13) että Ruotsin SCAAR –toimenpiderekisteriin pohjautuvassa TASTE-tutkimuksessa (14,15) osoitettiin, että trombi-imu ei vähennä kliinisiä päätetapahtumia verrattuna pelkän pallolaajennuksen tekemiseen. Näistä kolmesta tutkimuksesta on tehty myös potilastason meta-analyysi (n = 18306), joka varmisti negatiivisen perustuloksen ja antoi lisäksi viitteitä siitä, että korkean trombikuorman alaryhmän potilailla trombi-imu voi vähentää kardiovaskulaarikuolleisuutta, mutta toisaalta lisätä aivohalvauksen riskiä (16).

2.2 Sepelvaltimotromboosi

Trombin muodostuminen sepelvaltimeen on melko huonosti tunnettu prosessi. Useimmiten taustalla on heikon ohutkattoisen fibroaterooman repeämä, mutta myös plakin pinnallinen eroosio voi käynnistää tromboottisen prosessin (17,18). Varhaisemmissa sepelvaltimoiden angioskopiatutkimuksissa sepelvaltimotrombit on luokiteltu punaisiksi, sekamuotoisiksi ja valkoisiksi niiden värin perusteella (19-21). Eräässä sepelvaltimoiden tähystystutkimuksessa, jossa trombit (n = 42) luokiteltiin värin perusteella edellä mainitusti, punaisten trombien havaittiin sijaitsevan yleensä kauempana suonen haarautumiskohdasta kuin muunlaiset trombit. Havaintojen perusteella tutkimuksessa esitettiin, että virtaava veri huuhtelee punasoluja irti trombin pinnasta. (21) Teoriaa tukee pyyh-

käisyelektronimikroskopialla tehty tutkimus, jossa STEMI-potilaiden trombiaspiraattien (n = 80) pintaosassa oli lähes kaksinkertainen määrä fibriniä ja verihiutaleita, verrattuna trombin ytimeen. Vastaavasti trombin ytimessä oli lähes kolminkertainen määrä punasoluja verrattuna pintaosaan. (22)

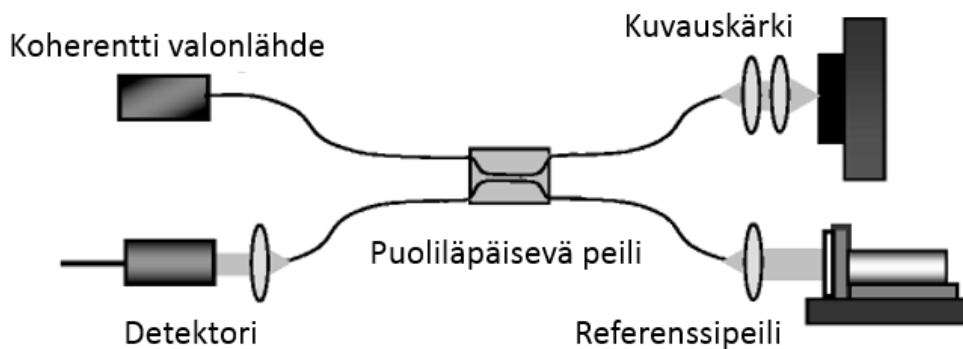
Tutkimuksissa iskeemisen ajan (aika rintakivun alusta pPCI-toimenpiteeseen) on osoitettu vaikuttavan trombin koostumukseen, mutta tulokset ovat osittain ristiriitaisia. ST-nousuinfarktipotilaiden trombiaspiraattien pyyhkäisyelektronimikroskopiattutkimuksessa (288 potilasta, 45 trombia) fibrinipitoisuuden havaittiin kasvavan keskimäärin jopa 67 %:iin iskeemisen ajan ollessa yli kuusi tuntia (7). Eräessä pienessä angioskopiattutkimuksessa (66 potilasta, 42 trombia) valkoisiin trombeihin liittyvä iskeeminen aika oli muita trombityyppejä pidempi, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Lisäksi todettiin punaisten trombien liittyvän varjoainekuvauksessa havaittuun täyttödefektiin ja totaalitukokseen muita trombeja useammin. (21) Toisaalta suuremmassa ST-nousuinfarktipotilaiden trombiaspiraattien histologisessa tutkimuksessa (562 potilasta, 113 trombia) on havaittu valkoisten fibrinipitoisten trombien olevan punaisia trombeja pienempiä, ja liittyvän lyhyempään iskeemiseen aikaan ja alhaisempaan 30 päivän kuolleisuuteen (9). Samansuuntainen tulos on havaittu STEMI-potilaiden trombiaspiraattien immunohistokemiallisessa tutkimuksessa (298 potilasta, 178 trombia), jossa punasolupitoiset trombit olivat suurempia, sisälsivät enemmän neutrofiilisia tulehdussoluja, johtivat heikompaan sydänlihaksen verenvirtauksen palautumiseen, sekä epätäydelliseen (< 70 %) ST-tason palautumiseen. (10) ST-nousuinfarktipotilaiden suuri trombikuorma tai punasolupitoiseksi luokiteltu sepelvaltimotrombi liittyy valkoista trombia useammin distaaliseen embolisaatioon, joka heikentää reperfuusiohoidon tehoa sekä lisää sydänlihaskvauriota (10,23,24). Laajassa STEMI-potilaiden trombiaspiraattitutkimuksessa (1315 potilasta, 989 trombia) havaittiin vanhaa lyyttistä tai organisoitunutta trombia jopa 40 %:lla tutkituista. Lisäksi vanhoihin trombeihin liittyi neljän vuoden seurannassa korkeampi kuolleisuus (16,0 %) verrattuna tuoreisiin trombeihin (7,4 %). (25)

Trombiaspiraattien histopatologiset ja sepelvaltimoiden angioskooppiset tutkimukset ovat tarjonneet tärkeitä havaintoja trombien kehityksestä, koostumuksesta ja ennustekijöistä. Nämä eivät välttämättä edusta kaikkea sepelvaltimon sisäistä trombia STEMI-potilailla. Osa trombi-imulla kerätystä tromboottisesta materiaalista jää kiinni sepelvaltimon seinämään, joka saattaa erota aspiroidusta trombista. Pienessä kadavereilla *ex vivo* tehdyssä tutkimuksessa sepelvaltimon OCT-kuvauksessa erottuvassa trombissa (n = 35) valon intensiteetin vaimentuminen etäisyyden funktiona (attenuaatio) havaittiin korreloivan hyvin histologisesti havaittuun punasolupitoisuuteen. Tutkimuksessa havaittiin, että trombin signaalin intensiteetin puoliintumismatkalle määritetty raja-arvo (250 µm) erottelee herkästi (90 %) ja tarkasti (88 %) valkoisen trombin punaisesta trombista. (4) Tätä menetelmää käyttäen ei kuitenkaan ole julkaistu muita potilassarjoja ja menetelmän laajempi sovellettavuus on jäänyt epäselväksi. OCT-kuvauksen periaatteellinen tekninen tarkkuus trombien

luokittelussa on ositettu myös *in vitro* -tutkimuksessa. Koeputkessa trombiinilla muodostetun verihyytymän punasolukonsentraatio voidaan luotettavasti määrittää OCT-kuvasta valon vaimenemisella ja takaisinsironnalla punasolukonsentraation ollessa 1-9 %. (26) Tutkimustietoa OCT:n sovellettavuudesta *in vivo* trombien luokitteluun ei ole käytettävissä.

2.3 Valokerroskuvaus (OCT)

Valokerroskuvaus (optical coherence tomography, OCT) on ultraäänikuvausta vastaava kuvantamismenetelmä, jossa äänen sijaan käytetään valoa. OCT-kuvaus perustuu Michelsonin interferometriin (kuva 1). OCT-laitteistossa koherentti valonsäde jaetaan kahtia. Puolet valonsäteestä johdetaan referenssipeilille, josta se heijastuu takaisin lähtösuuntaansa. Toinen puoli valonsäteestä johdetaan kuvattavaan kohteeseen. Epähomogeenisessa kuvauskohteessa eri osat heijastavat valonsädettä eri tavoin. Osa sironneesta valonsäteestä palaa takaisin OCT-laitteistoon, jossa se jälleen yhdistyy referenssisäteeseen. Yhdistyneet valonsäteet johdetaan detektorille, jossa syntyy interferenssikuvio. Referenssipeili on liikkuva, joten referenssisäteiden kulkema matka riippuu peilin sijainnista. Jokaista referenssisäteiden kulkemaa matkaa vastaa tietty kuvaussäteiden kulkema matka, joten peilin sijainnin perusteella voidaan määrittää kuvauskohteessa valoa heijastavan rakenteen säteen suuntainen sijainti. Useita vierekkäisiä mittauksia tekemällä saadaan muodostettua kuva kuvattavasta kohteesta. (27)



Kuva 1. Michelsonin interferometriin perustuva OCT-järjestelmä. (mukaillen Popescu ym. 2011)

OCT-kuvaus voidaan tehdä valokuitukatetrilla, joten se soveltuu myös sepelvaltimon sisäiseen kuvantamiseen sepelvaltimoiden varjoainekuvauksen ja pallolaajennushoidon yhteydessä. Kuvauskatetrin sisällä on pyörivä kärki, joka lähettää ja vastaanottaa signaalia säteittäin eri suuntiin. Poikittaisleikekuvat muodostetaan mittaamalla valon heijastumaan kuluva viivettä, heijastuman intensiteettiä ja valon takaisinsirontaa interferometrisillä menetelmillä, joista voidaan muodostaa useita vierekkäisiä poikittaisleikekuvia. (28)

Moderni taajuusperusteinen valokerroskuvaus (frequency domain optical coherence tomography, FD-OCT) mahdollistaa nopeamman kuvauksen sekä kohinattomamman kuvan kuin vanhempi aikaperusteinen (time domain optical coherence tomography, TD-OCT) menetelmä. Taajuusperusteisessa valokerroskuvauksessa käytetään useita eri lähi-infrapunataajuusalueen valonsäteitä. Kuvauksen kudoksenläpäisykyky on 0,5-2,5 mm ja resoluutio 15-40 µm. Täten OCT soveltuu erinomaisesti sepelvaltimon sisäisten rakenteiden, kuten tromboosin tai stentin, ja sepelvaltimon seinämän pinnallisten rakenteiden, kuten ateroomaplakin sidekudoskaton ja pinnallisen osan, tutkimiseen. Korkea erotuskyky vastaa tarkkuudeltaan lähes histologista leikettä. Kuvaussäde vaimee voimakkaasti veressä, joten sepelvaltimossa virtaava veri syrjäytetään kirkkaalla nestehuuhtelulla kuvauksen aikana. Tähän käytetään tavanomaisesti samaa röntgenvarjoainetta kuin varjoainekuvauksessa joko käsin ruiskutettuna tai automaattisen ruiskupumpun kautta. (28,29)

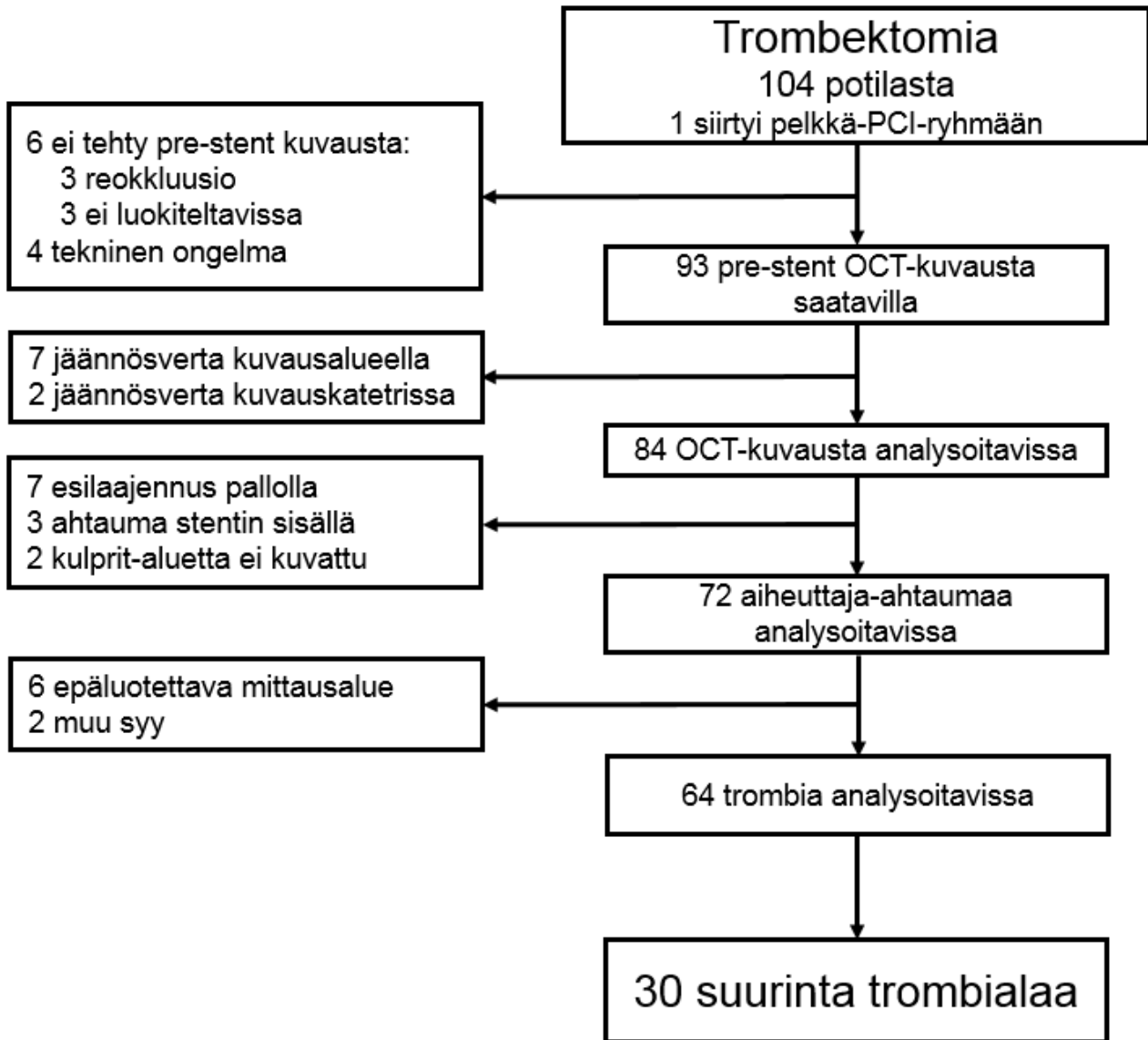
OCT-kuvauksen on osoitettu parantavan PCI-hoidon laatua. Ei-ST-nousuinfarktipotilailla tehdyssä tutkimuksessa OCT-kuvauksen on osoitettu muuttavan hoitostrategiaa joka toisella potilaalla, verrattuna pelkästään angiografiaohjattuun toimenpiteeseen. OCT-kuvausohjattu toimenpide oli yhteydessä parempaan toimenpiteen jälkeiseen painereserviin (fractional flow reserve, FFR). Lisäksi toimenpiteen jälkeinen OCT-kuvaus osoitti yli kolmanneksella potilaista asetettujen stenttien olevan alilaajennettuja, malappositiassa, tai aiheuttaneen kohdesuonen reunadisektion. Lisäksi viidenneksellä potilaista stentti ei peittänyt koko kohdehauman ateroskleroottista plakkia. (3) STEMI-potilailla (n = 214) OCT-ohjatun pPCI:n jälkeen pienin stentin sisäinen suonen poikittaispinta-ala oli suurempi, kuin pelkän angiografiaohjatun toimenpiteen jälkeen. Samassa tutkimuksessa havaittiin, että vuoden seurannassa OCT-ohjattuun pPCI:hin liittyi trendinomaisesti pienempi kuolleisuus, uusintainfarkti, stenttitromboosi tai saman suonen revaskularisaation tarve (7,5 %) kuin angiografiaohjattuun ryhmään (9,8 %), mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. (30)

3 METODIT

3.1 Tutkimusaineisto

TOTAL-tutkimus (TOTAL, ThrOmbecTomy versus PCI ALone) on kansainvälinen monikeskustutkimus, jossa verrattiin satunnaistetusti rutiininomaista trombektomiaa pelkkään PCI-hoitoon ST-nousinfarktipotilailla (n = 10732), jotka hoidettiin välittömällä pallolaajennuksella (13). TOTAL-tutkimukseen sisältyi prospektiivinen OCT-aratutkimus, johon valittiin 214 STEMI-potilasta yhdeksässä eri tutkimussairaalassa. Tutkimukseen otettiin ST-nousufarktipotilaita, joiden oireiden alusta oli kulunut vähintään 30 min, ja joille tehtiin välitön pallolaajennushoito 12 tunnin kuluessa oireiden alusta. OCT-aratutkimuksen potilaat satunnaistuivat 1:1 trombektomiaryhmään (n = 104) ja pelkkä-PCI -ryhmään (n = 110). Manuaalinen trombektomia eli trombi-imu tehtiin käyttäen Export-katetria (Medtronic Cardiovascular, Santa Rosa, CA, USA) ja OCT-kuvaus käyttäen Ilumien™ OCT-järjestelmää ja C7 Dragonfly™ -katetria (St Jude Medical, St Paul, MN, USA). Kuvaus tehtiin nopeudella 20 mm/s ja kuvataajuudella 100 kuvaa/s. OCT-kuvaukset tehtiin molemmissa ryhmissä heti, kun TIMI 2-3 (normaali tai lähes normaali) virtaus saatiin palautettua trombektomian tai pallolaajennuksen avulla. OCT-kuvaus toistettiin stentin asettamisen jälkeen. Sisäänottokriteerinä OCT-aratutkimukseen oli TIMI 2–3 virtaus sepelvaltimossa ensimmäisen välineen viemisen jälkeen (pre-stent kuvaus) tai stentin asettamisen jälkeen (post-stent kuvaus). Poissulkukriteereinä olivat kardiogeeninen sokki ja aikaisemmin tiedossa ollut munuaisten vajaatoiminta. Kaikilta tutkimukseen osallistuneilta potilailta saatiin tietoon perustuva suostumus. Potilaiden kliininen seuranta TOTAL-tutkimuksen puitteissa jatkui yhden vuoden ajan. (31,32)

Kuvassa 1 on esitetty, miten nykyisen tutkimuksen potilaat valittiin TOTAL-OCT -tutkimuksen potilaiden joukosta. Aikaisemman trombikuormatutkimuksen (31) kautta käytössämme oli data potilaiden trombiin pinta-aloista OCT-kuvaleikkeissä, jonka perusteella valitsimme analyysiin potilasta edustaviksi kuviksi kolme eniten trombia sisältänyttä OCT-kuvaleikettä (kuva 2).



Kuva 2. Potilasvalinta sepelvaltimotrombin morfologian tarkempiin tutkimuksiin.

3.2 Analyysi valokerroskuvauksella

3.2.1 Trombien silmämääräinen luokittelu

OCT-kuvista punainen trombi on tunnettu voimakkaasti OCT-signaalia attenuoivasta rakenteestaan, joka peittää näkyvyyden sen takana oleviin rakenteisiin. Vähemmän attenuoivia, voimakkaasti takaisinsiroavia trombeja on pidetty valkoisina. (8) Kehitimme kuusiportaisen asteikon, jolla kaksi asiaan perehtynyttä tutkijaa arvioivat trombin attenuaatiota subjektiivisesti. Trombia pidettiin vähän attenuoivana (asteet 1–2), kun trombin takaisinsironta oli voimakasta ja sen takana oleva suonon seinämä näkyi selkeästi. Punaiseksi luokiteltiin voimakkaasti attenuoivat trombit (asteet 5–6), joiden takareuna ja trombintakaiset rakenteet eivät visualisoituneet. Sekamuotoiset trombit luokiteltiin asteisiin 3–4. Mikäli saman kuvaleikkeen eri trombit erosivat ominaisuuksiltaan, arvioitiin

trombin attenuaation aste suuremman trombin mukaan. Kahden saman kuvaleikkeen samansuuruisen trombin attenuaation aste määräytyi voimakkaammin attenuoivan trombin mukaan. Kaksi eri tutkijaa luokittelivat trombit kertaalleen itsenäisesti. Toinen tutkijoista luokitteli trombit uudelleen vähintään neljän viikon kuluttua ensimmäisestä luokittelusta. Tämän jälkeen tutkijat luokittelivat trombit kolmannen kerran yhteistyössä, jolloin niistä, joiden kohdalla tutkijoiden arviot erosivat, määriteltiin konsensus.

3.2.2 Trombin attenuaation mittaamisen matemaattinen malli

Sähkömagneettisen säteilyn absorboituminen riippuu eksponentiaalisesti absorboivan aineen määrästä. Riippuvuus tunnetaan Beerin ja Lambertin lakina.

$$I = I_0 e^{\alpha \ell}$$

Riippuvuuden avulla voidaan selvittää väriaineiden pitoisuuksia liuoksessa. (33) Aikaisemmin kadavereilla tehdyssä tutkimuksessa on OCT-kuvasta mitattu kuvaussäteen suuntaisesti signaalin intensiteetin muutosta matkan funktiona Beerin ja Lambertin lakia muistuttavan kaavan $y = Ae^{-0.693x/Dh}$ mukaisesti, jossa A = huippuintensiteetti, Dh = intensiteetin puoliintumismatka ja y = intensiteetti paikassa x (4). Päätimme soveltaa Beerin ja Lambertin lain mukaista riippuvuutta signaalin intensiteetin vaimenemiseen OCT-kuvan trombissa. Matemaattisen mallin yksinkertaistamiseksi oletimme, että trombit ovat koostumukseltaan homogeenisia. Ottamalla yllä olevasta yhtälöstä luonnollinen logaritmi puolittain, ja määrittelemällä $y(x) \equiv \ln I(\ell)$ saadaan suoran yhtälö: OCT-signaalin intensiteetti I matkan ℓ funktiona.

$$\ln I = \ln I_0 + \alpha \ell \rightarrow y(x) = \alpha \ell + \ln I_0$$

Suoran kulmakerroin α määritetään sovittamalla havaintopisteisiin pienimmän neliösumman suora.

Yhtälöstä voidaan määrittää intensiteetin puoliintumismatka $d_{1/2}$:

$$I = I_0 e^{\alpha \ell} \leftrightarrow \frac{I}{I_0} = e^{\alpha \ell} \leftrightarrow \ln \frac{I_0}{I} = -\alpha \ell \quad \parallel \text{ jos } I = \frac{1}{2} I_0,$$

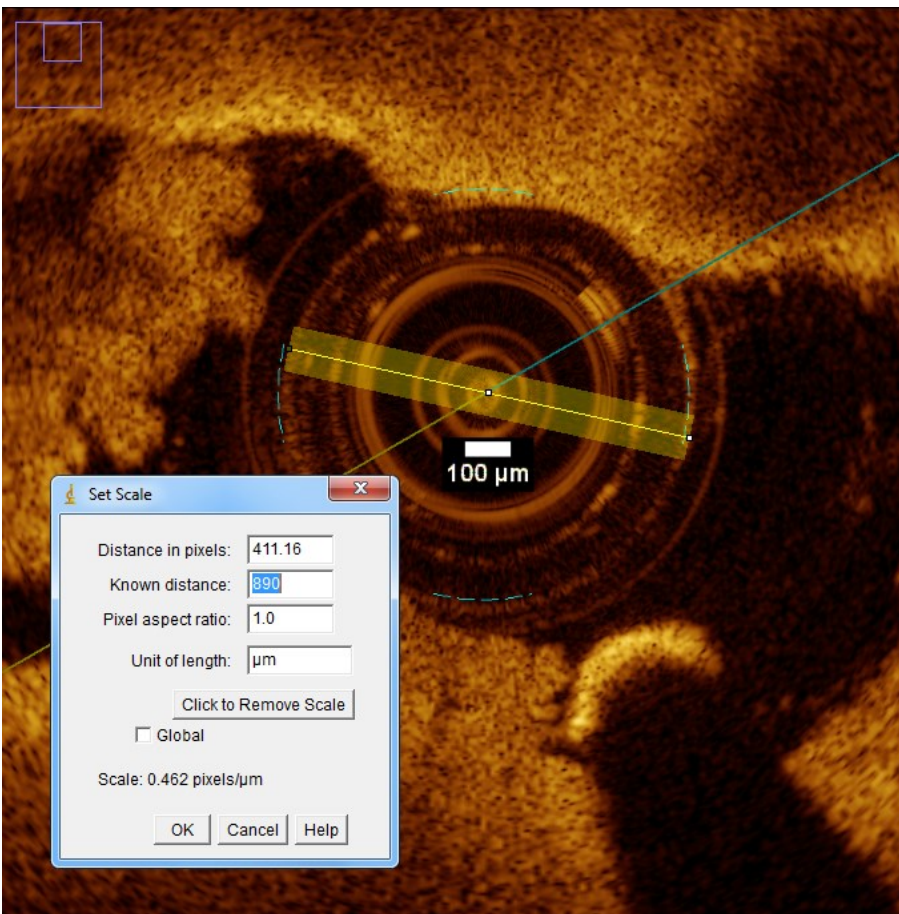
$$\leftrightarrow \ln 2 = -\alpha \ell$$

$$\leftrightarrow \ell = \frac{\ln 2}{-\alpha} = d_{1/2}$$

3.2.3 Mittaukset ImageJ- ja MagicPlot Student -ohjelmilla

OCT-kuvat tallennettiin Ilumien™-työasemalta (St Jude Medical) 2048 x 2048 pikselin bittikarttaku-
vana, ja kuvat analysoitiin ImageJ 1.48v -ohjelmalla (Wayne Rasband, National Institutes of
Health, USA, <http://imagej.nih.gov/ij>).

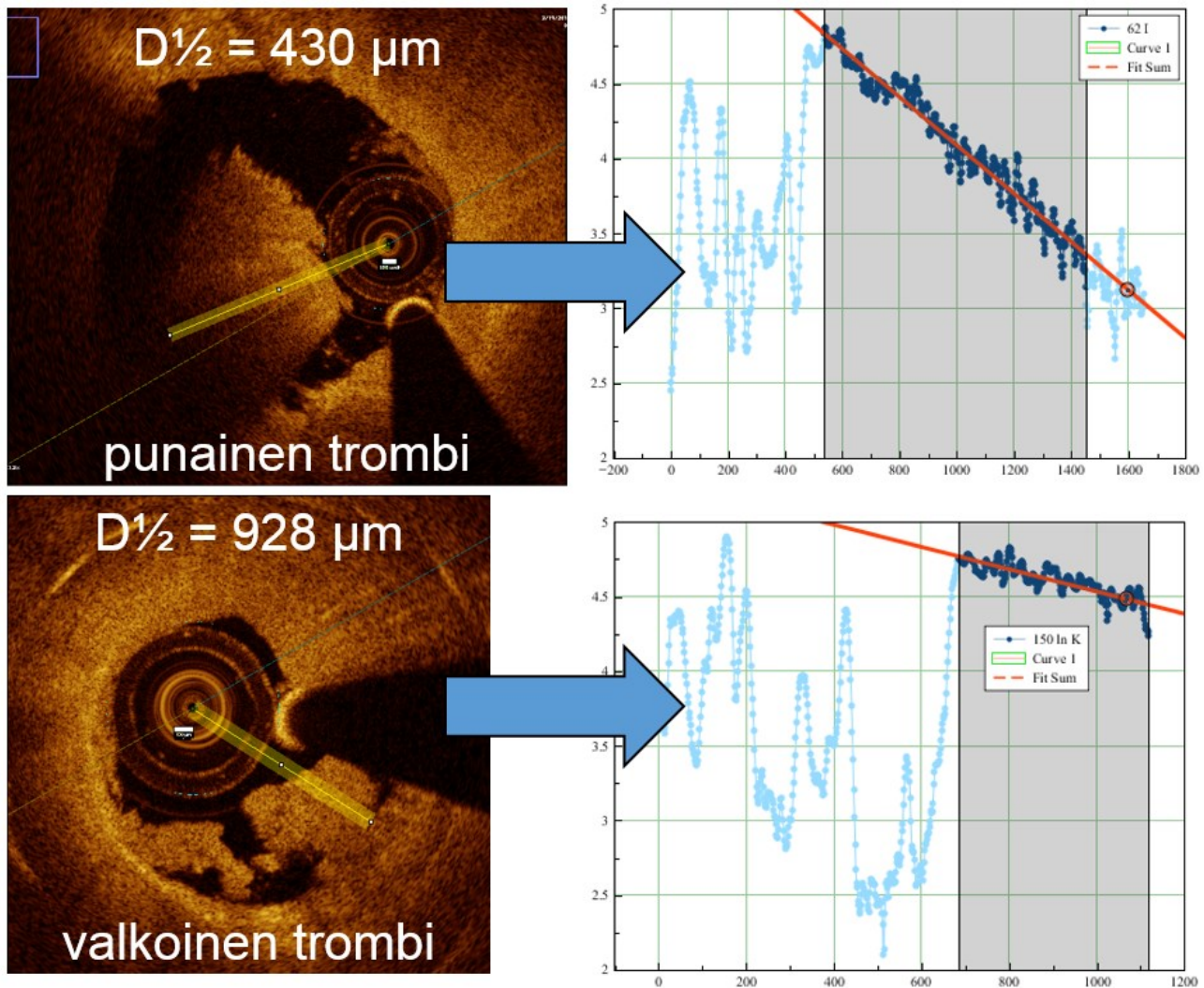
Analysoimme OCT-kuvauksista kaksi eniten trombia sisältänyttä kuvaleikettä 15 tutkimussarjan po-
tilaalta. Jokaisen kuvaleikkeen trombia sisältäneestä neljänneksestä tehtiin viisi mittausta. Jos vali-
tuissa kuvaleikkeissä trombi vaikutti erityisen epätasalaatuiselta tai repaleiselta, valittiin analyysiin
viereinen, luotettavammin analysoitava kuvaleike. Kuvat kalibroitiin katetrin avulla (kuva 2), ja in-
tensiteettimittaukset tehtiin kuvauskatetrin keskikohdasta säteittäin 100 µm leveällä janalla.



Kuva 3. Kuvan kalibrointi käyttäen kuvauskatetrin halkaisijaa (890 µm).

Trombin intensiteettimittaukset tehtiin säteittäin katetrin keskipisteestä. Kukin kuvaneljännes mitat-
tiin viiteen eri suuntaan silmämääräisesti arvioituna mahdollisimman homogeenisistä kohdista,
jossa trombin paksuus oli vähintään 250 µm. Intensiteettimittaukset siirrettiin MagicPlot Student (©
2013, Magicplot Systems, LLC) -ohjelmaan, jolla havaintopisteiden intensiteettiarvoista otettiin e-
kantainen logaritmi ja havaintopisteisiin sovitettiin pienimmän neliösumman suora. (kuva 4) Kuvaa-
jan luotettavuutta arvioitiin suoran sovittamisen yhteydessä, ja epäluotettavat mittaukset jätettiin

pois tuloksista. Suoran kulmakerroin siirrettiin Microsoft® Excel® 2016 -ohjelmaan, jolla laskettiin puoliintumismatka edellä esitetyn kaavan mukaisesti.

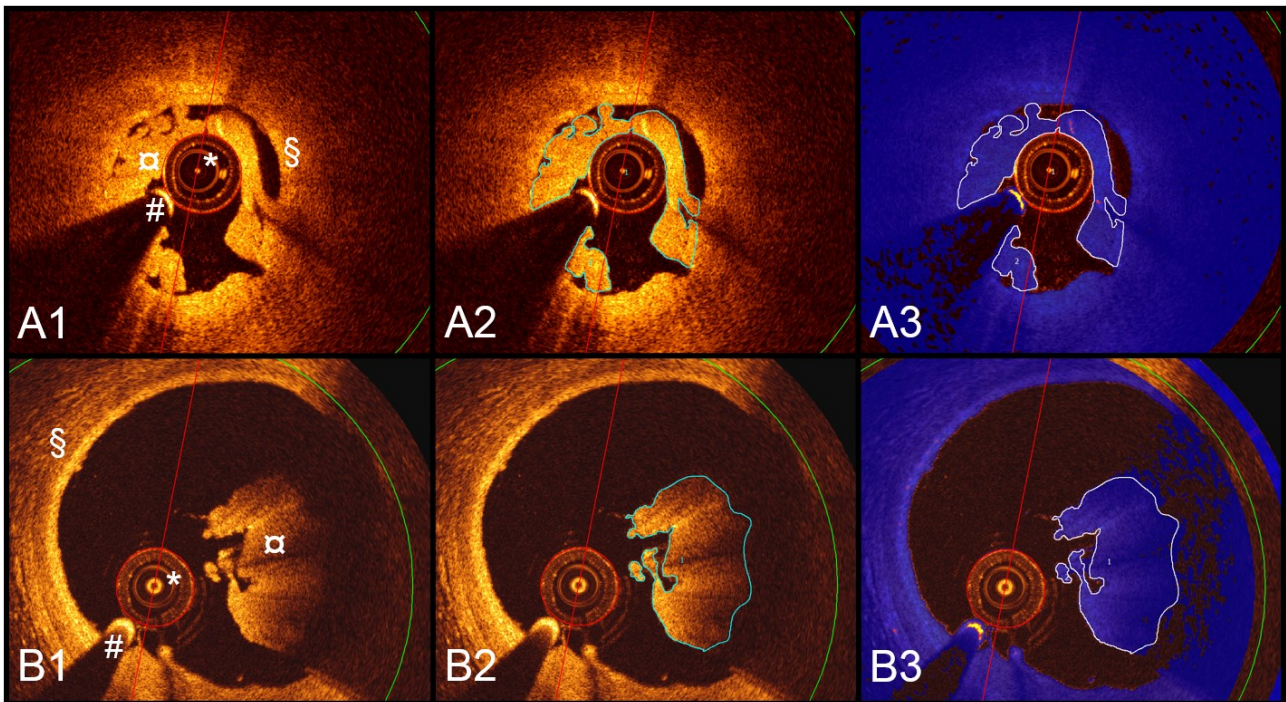


Kuva 4. Signaalin intensiteetti vaimenee punaisessa trombissa voimakkaammin kuin valkoisessa trombissa. ImageJ:llä mitattujen intensiteettiarvojen logaritmi etäisyyden funktiona MagicPlot Student -ohjelmassa. Havaintopisteisiin on sovitettu pienimmän neliösumman suora, josta on laskettu signaalin intensiteetin puoliintumismatka $D_{1/2}$.

3.2.4 Mittaukset QCU-CMS®-ohjelmalla

Tutkimusryhmämme sai akateemisen kollaboraation kautta käyttöön QCU-CMS® IVUS and OCT analytical software version 4.69 -ohjelmiston (Leiden University Medical Center, LKEB, Division of Image Processing in cooperation with MEDIS medical imaging systems bv, Leiden), jossa on trombin attenuaatiota, takaisinsirontaa ja harmaaväriskaalaa mittaava työkalu. Tämän ohjelmatyökalun toiminnallisuutta kehitettiin tutkimuksen kuluessa yhteistyössä prof. Jouke Dijkstran (Leiden University Medical Center, LKEB, Division of Image Processing) johtaman tutkimusryhmän kanssa.

OCT-raakadata syötettiin QCU-CMS[®]-ohjelmistoon, ja trombianalyysit tehtiin jokaisen potilaan kolmesta OCT-kuvaleikkeestä. QCU-CMS[®]-ohjelman tekniset mittaukset koostuvat useista alkeismitauksista, ja se ilmoittaa trombien attenuaation, takaisinsironnan ja harmaaväriskaalan keskiarvon, mediaanin, keskihajonnan, mittausarvojen jakauman huipukkuuden (kurtosis), vinouden (skewness), 5.-, 10.-, 90.-, sekä 95. persenttiin. Myös QCU-CMS[®]-ohjelman mittauksissa repaleisten tai epätasalaatuisten trombileikkeiden tilalle valittiin tarvittaessa viereinen, luotettavammin analysoitava kuvaleike. OCT-kuvauksen Z-akseli kalibroitiin katetrin halkaisijan avulla, jonka jälkeen kolmen valitun kuvaleikkeen trombit rajattiin käsin (kuva 5). Ohjelman kudosanalyysityökalulla käytettiin attenuaation minimikynnysarvoa 0,15. Havainnoijasta riippuvaa vaihtelua mitattiin toistomittauksin kymmenellä potilaalla satunnaisesti valitulla potilaalla. Kaksi havainnoitsijaa mittasivat samat poikkileikkeet toisistaan riippumatta, ja toinen havainnoitsija mittasi poikkileikkeet kahteen kertaan siten, että havaintojen välillä kului aikaa vähintään neljä viikkoa.



Kuva 5. Valkoinen (A1-A3) ja punainen (B1-B3) trombi on rajattu QCU-CMS[®]-ohjelmalla manuaalisesti (A2 ja B2). Ohjelman kudosanalyysityökalu rajaa minimikynnysarvon perusteella laskelmiin käytettävät kudosalueet, jotka on kuvissa A3 ja B3 värjätty sinisiksi (A3 ja B3). Ohjelma analysoi attenuaation, harmaaväriskaalan ja takaisinsironnan rajatuilta sinisiltä alueilta. *OCT-kuvauskatetri, #ohjainvaijeri, □trombi, §sepelvaltimon seinämä.

3.2.5 Tulosten tilastollinen analysointi

ImageJ-ohjelmalla mitattujen trombien intensiteettien puoliintumismatkoista laskettiin potilaskohtaiset keskiarvot. QCU-CMS[®]-ohjelman muuttujista laskettiin potilaskohtaiset mitattujen trombien pinta-aloilla painotetut keskiarvot, joita käytettiin analyyseissä. Silmämääräisessä luokittelussa havainnoijasta riippuvaa vaihtelua ja mittausten toistettavuutta mitattiin kappa-kertoimella (κ). Jatkuvien QCU-CMS[®]-ohjelman muuttujien mittaamisen toistettavuutta tutkittiin Bland-Altman -analyyseihin ja -piirrosten (34) sekä korrelaatiodiagrammien kautta. Toistettavuusanalyyseihin valittiin 10 potilasta käyttäen satunnaislukugeneraattorin välille 1–30 antamia arvoja. QCU-CMS[®]-ohjelman muuttujia verrattiin kaksiportaiseen silmämääräiseen luokitteluun toimintaominaiskäyräanalyysein (receiver operating characteristic, ROC) ja näille laskettiin AUC-arvot. QCU-CMS[®]-ohjelman muuttujille laskettiin raja-arvot Youdenin indeksin (J) korkeimman arvon avulla. Statistiset analyysit ja kuvaajat tehtiin käyttäen SPSS 22.0-ohjelmistoa (IBM SPSS Statistics for Windows, IBM Corp., Armonk, N.Y., USA), STATA 13.0 -ohjelmistoa (StataCorp, College Station, TX, USA) sekä Microsoft[®] Excel[®] 2016 -ohjelmaa.

4 TULOKSET

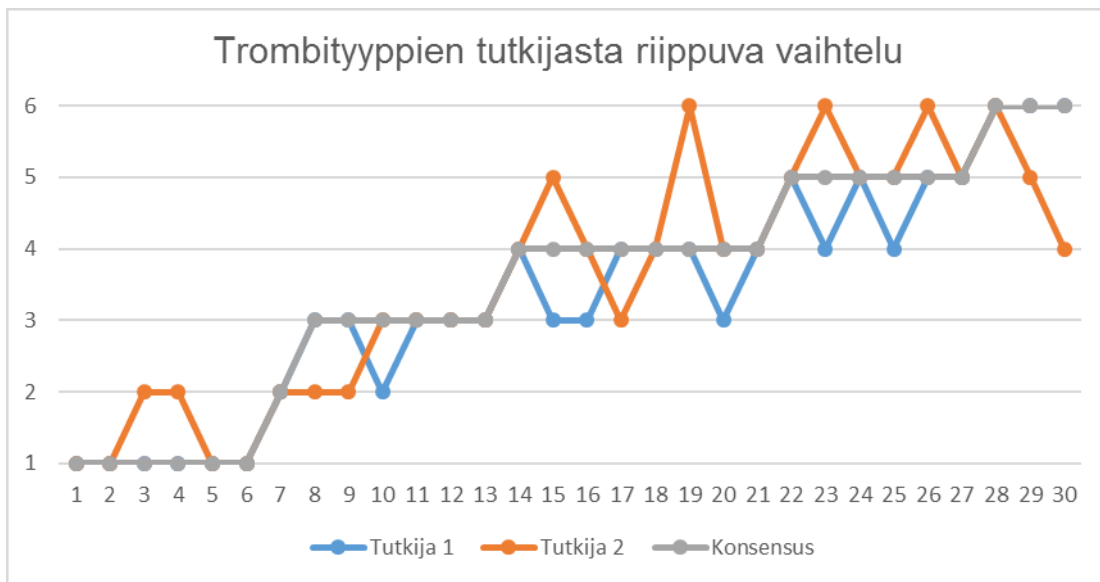
Arvioimme infarktisuonen sisäistä trombia trombektomiaryhmän potilaiden OCT-kuvauksista, jotka tehtiin heti trombektomian jälkeen. Pelkkä-PCI-ryhmän OCT-kuvaukset, jotka tehtiin infarktisuonen tukkeuman esilääjennyksen jälkeen, suljettiin pois tästä analyysistä. Havaitsimme, että merkittävässä osassa OCT-kuvaleikkeitä trombiala on melko pieni. Lisäksi alustavissa mittauskokeiluissa ImageJ-ohjelmalla havaitsimme, että trombien intensiteettimittauksissa ilmeni paljon kuvaleikkeiden sisäistä vaihtelua, mikäli mitattu matka oli < 300 µm. Valitsimme mukaan analyysiin ImageJ-ohjelmalla 15 suurimman trombialan potilasta, ja analyysiin QCU-CMS[®]-ohjelmalla 30 suurimman trombialan potilasta (kuva 1). Potilaiden kliiniset tiedot tutkimuksen lähtötilanteessa on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Potilaiden kliiniset tiedot tutkimuksen lähtötilanteessa. Taulukossa on kuvattu keskiarvo (vaihteluväli) tai lukumäärä (%-osuus).

	n = 30
Ikä	57 v. (36–74)
Miessukupuoli (%-osuus)	22 (73,3 %)
Riskitekijäprofiili (%-osuus)	
Verenpainetauti	14 (46,6 %)
Diabetes	4 (13,3 %)
Tupakointi (edelleen tai aiemmin)	18 (60,0 %)
Obesiteetti (BMI ≥ 30)	14 (46,7 %)
Aikaisempi sydäninfarkti	2 (6,7 %)
Aikaisempi PCI	1 (3,3 %)
Sydämen vajaatoiminta	1 (3,3 %)
Infarktisuoni	
RCA	16 (53,3 %)
LAD	12 (40 %)
LCx	2 (6,7 %)
TIMI-virtausluokka ennen pPCI:tä	
0	15 (50,0 %)
1	4 (13,3 %)
2	3 (10,0 %)
3	8 (26,7 %)
TIMI-trombiluokitus	
< 3	4 (13,3%)
≥ 3	26 (86,7 %)

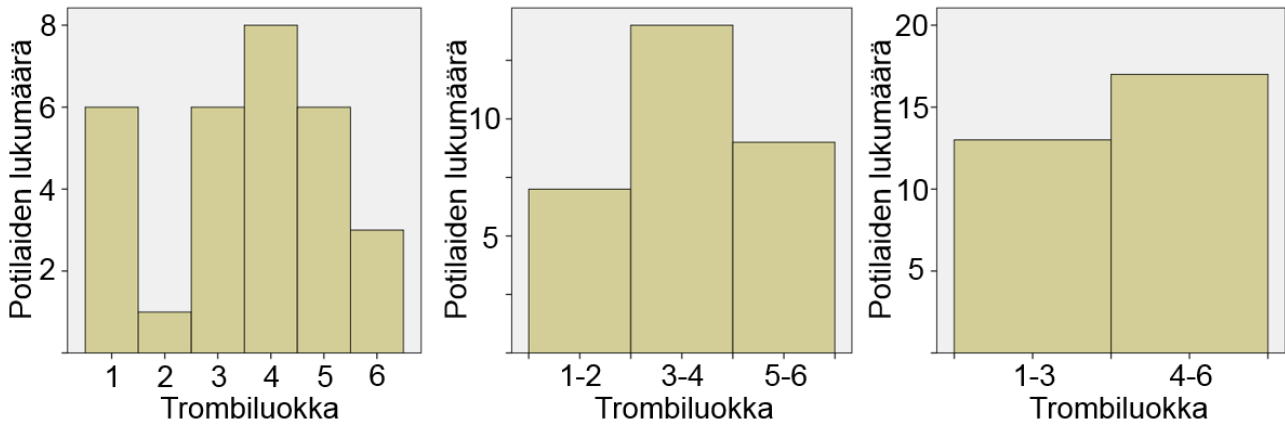
4.1 Trombien silmämääräinen luokittelu

Luokittelun toistettavuus oli kohtalaisen hyvä. Yhden tutkijan toistoluokittelussa kolmiluokkainen kappa-kerroin $\kappa = 0,62$ ja kaksiluokkainen $\kappa = 0,53$. Kahden havainnoijan välillä kolmiluokkainen $\kappa = 0,60$ ja kaksiluokkainen $\kappa = 0,74$. Vain neljässä tapauksessa 30:stä tutkijoiden näkemykset poikkesivat toisistaan yli yhden luokan verran (kuva 6).



Kuva 6. Tutkittavien (vaaka-akseli) jakauma eri trombityyppeihin (pystyakseli) kahden eri tutkijan arvioimana.

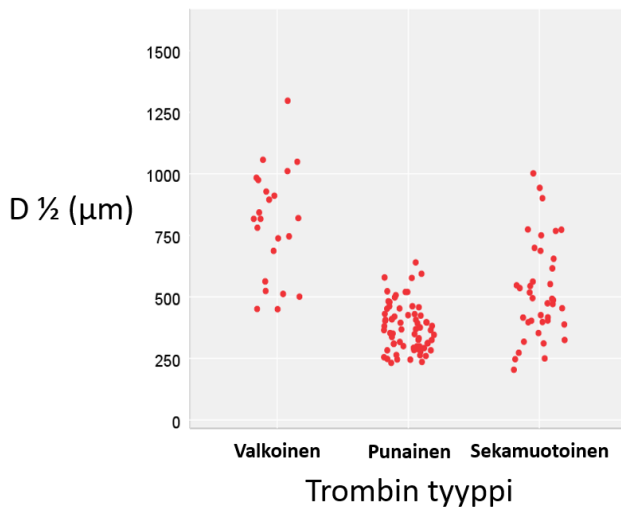
Muodostetussa konsensusluokittelussa trombityypit jakautuivat kokonaisuutena melko tasaisesti. Poikkeuksena oli luokka kaksi, johon luokitui vain yksi potilas (kuva 6). Kuusiportaisesta luokittelusta muodostettiin kolme- ja kaksiluokkaiset muuttujat, jotka jakautuivat odotetusti. Kaksiluokkaisessa jaottelussa luokkia 1–3 nimitetään valkoisiksi trombeiksi ja luokkia 4–6 punaisiksi trombeiksi. Kaksiluokkaisessa jaottelussa aineistossamme oli punaista trombia 57 %:lla ($n = 17$) ja valkoista trombia 43 %:lla ($n = 13$) potilaista.



Kuva 7. Konsensusmäärittelyn mukaiset trombityyppien lukumäärät.

4.2 ImageJ-pohjaiset analyysit

Mitattujen trombien intensiteettien puoliintumismatkojen ($D_{1/2}$) ja silmämääräisesti arvioitujen trombityyppien välillä havaittiin korrelaatio (kuva 8). Punaisen ja valkoisen trombityyppien keskiarvot ja hajonnat on esitetty taulukossa 2.

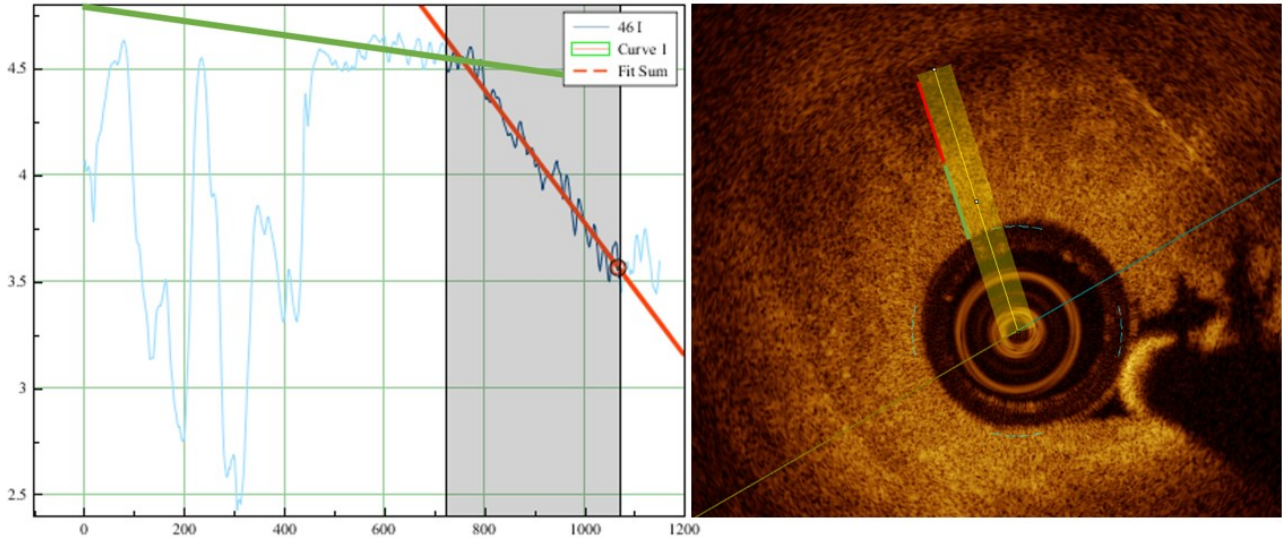


Kuva 8. Trombien silmämääräisen luokittelun ja mittausten välillä on selkeä korrelaatio, mutta ryhmät ovat osittain päällekkäisiä. ($D_{1/2}$ = intensiteetin puoliintumismatka trombissa)

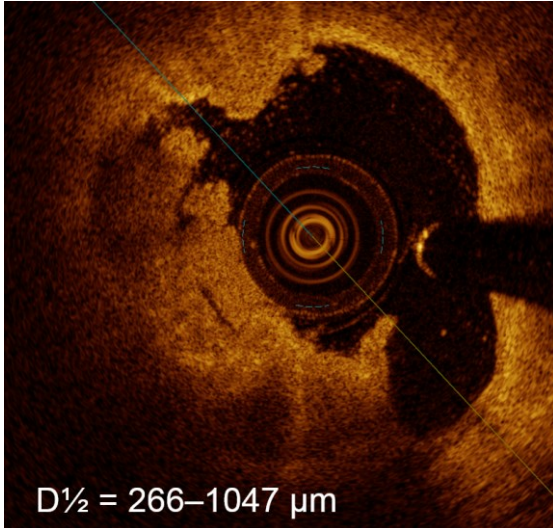
Taulukko 2. Silmämääräisesti arvioitujen trombityyppien ImageJ:llä mitatut keskiarvot eroavat toisistaan, mutta hajonta on kohtalaista.

Trombityyppi	Mittausten lukumäärä	Keskiarvo $D_{1/2}$ (μm)	$D_{1/2}$ keskiarvon 95 %:n luottamusväli (μm)
Valkoinen	23	798	702–895
Punainen	70	375	353–398
Sekamuotoinen	39	519	455–582

Joidenkin trombien pintaosassa oli havaittavissa vähemmän attenuoiva pintakerros (kuva 9). Osassa aineistoa säteittäiset mittaukset epätasalaatuudessa trombissa poikkesivat toisistaan huomattavasti, joka aiheutti merkittävää hajontaa (kuva 10). Havaitsimme, että suoran sovittaminen mittauspisteisiin oli epätarkkaa, kun trombin paksuus säteen suunnassa oli $< 300 \mu\text{m}$.



Kuva 9. Trombin pintaosa on vähemmän attenuoiva (vihreä jana) kuin sen ydinosa (punainen jana). Mittauksissa trombin pinnan vähemmän attenuoiva jätettiin huomiotta.

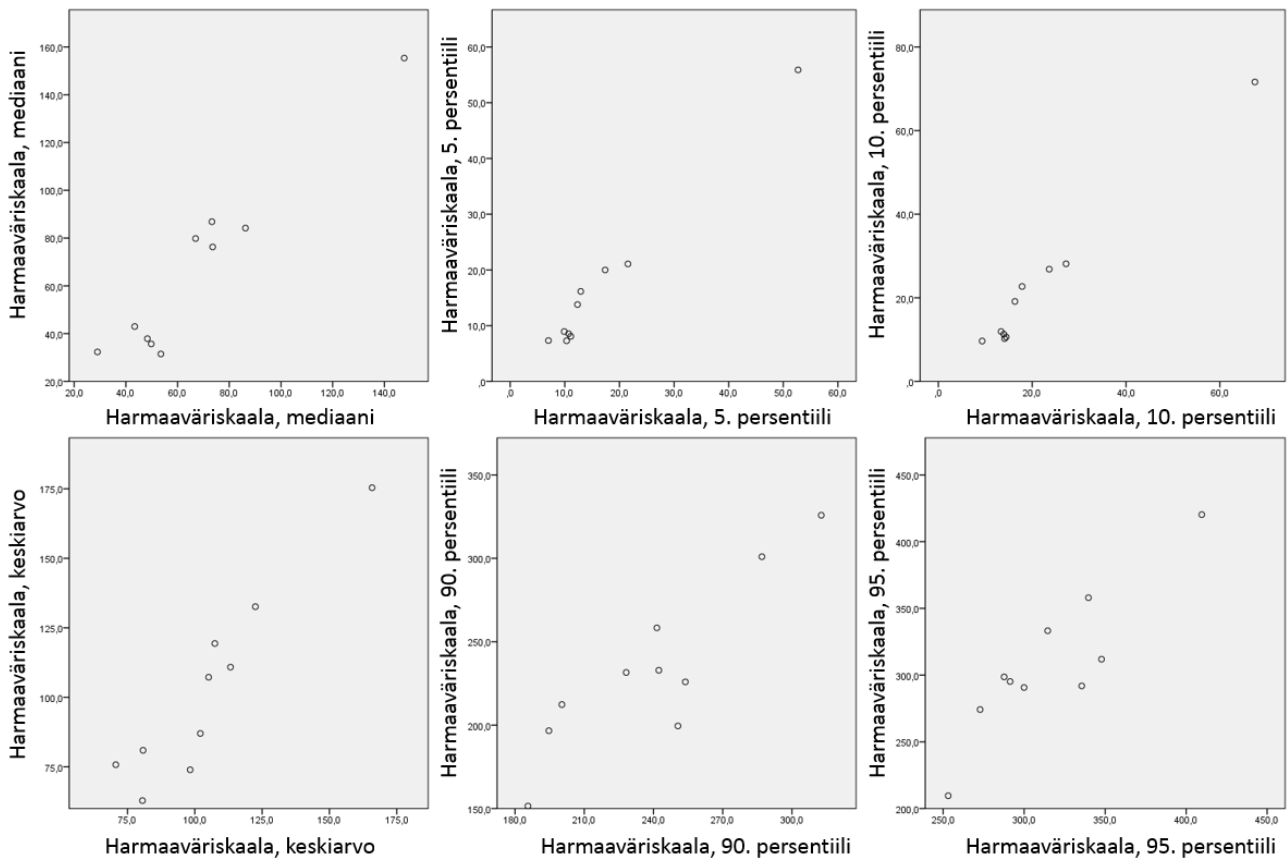


Kuva 10. Epätasalaatuinen trombi, jonka eri osista mitattavassa signaalin intensiteetin puoliintu-
mismatkassa ($D_{1/2}$) on huomattavaa vaihtelua.

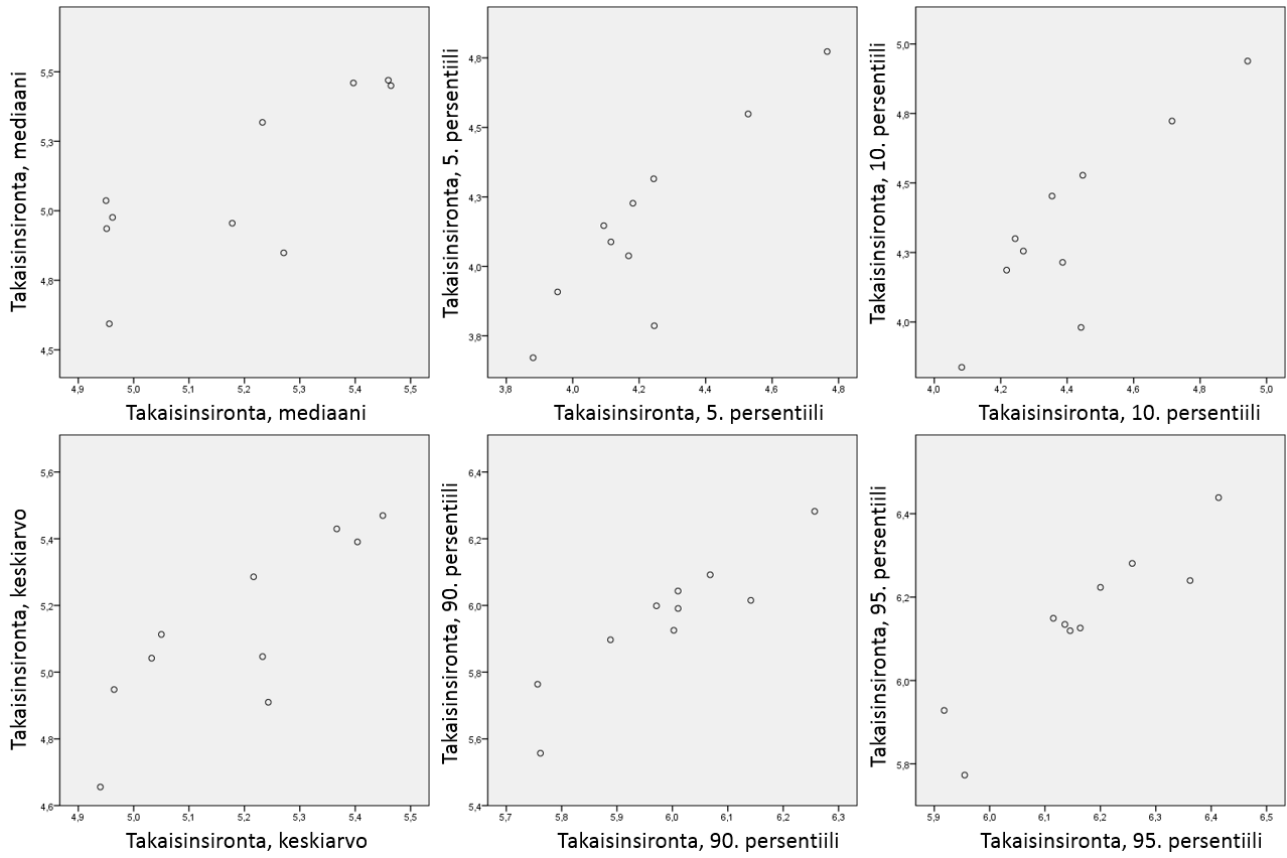
4.3 QCU-CMS[®]-ohjelmalla tehdyt analyysit

Tutkijasta riippuva vaihtelu yhden tutkijan toistomittauksissa sekä kahden eri tutkijan mittauksissa 10:llä satunnaisesti valitulla aineiston potilaalla riippui muuttujasta. Mittausten toistettavuutta arvioitiin pistekaavioilla (kuvat 11–13) sekä Bland-Altman-piirroksilla (kuvat 14–19). Pistekaavioissa kahden tutkijan mittausten välinen vaihtelu (dataa ei esitetty) oli lähes samansuuruista kuin yhden tutkijan eri mittausten välinen vaihtelu. Kahden eri havainnoitsijan mittausten keskiarvot ja niiden erot on esitetty taulukossa 3. Attenuaation, takaisinsironnan ja harmaaväriskaalan huipukkuus ja vinous eivät olleet mittauksissa toistettavia suureita. Sen sijaan näiden keskiarvo, mediaani sekä ylä- ja alapersentiilit olivat kohtalaisen hyvin toistettavia.

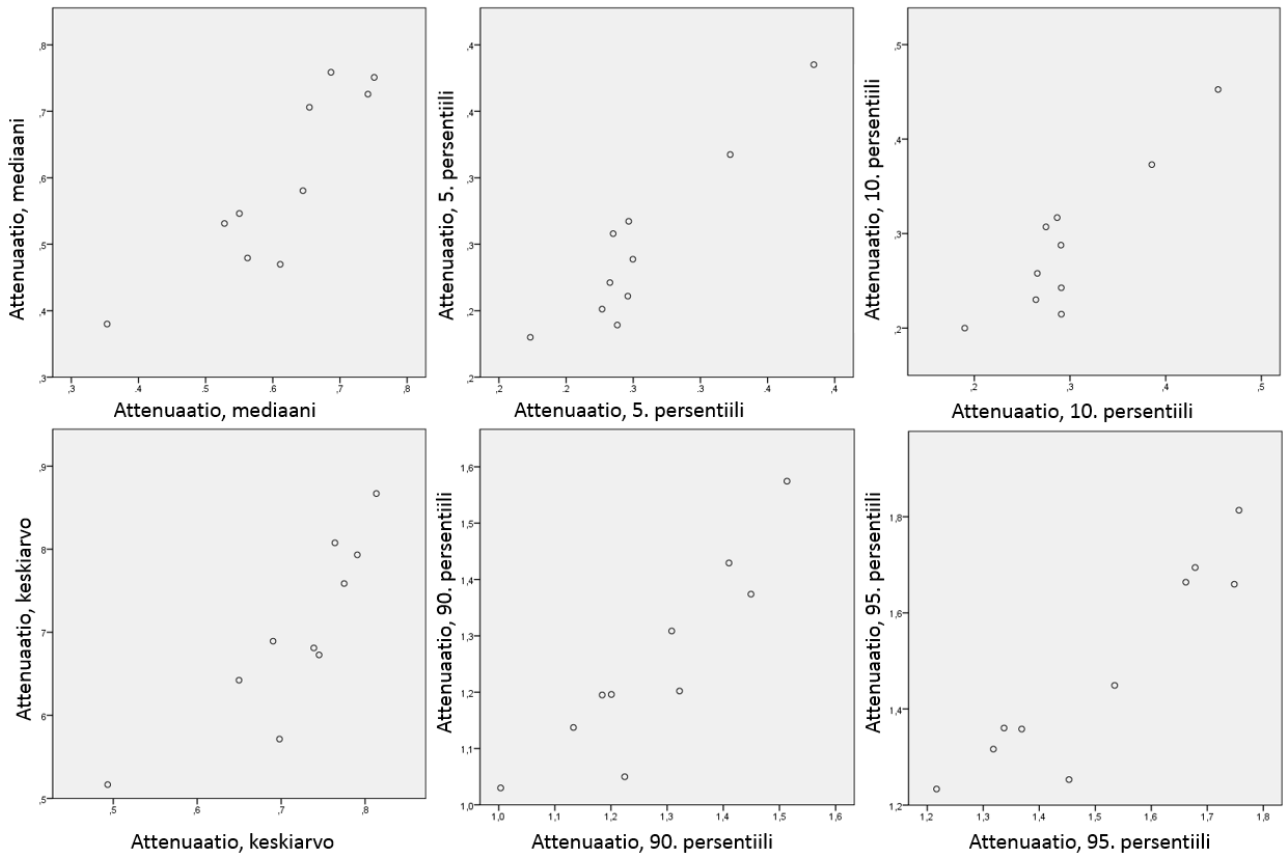
Osassa QCU-CMS[®]-ohjelmiston muuttujien ja silmämääräisesti kuuteen luokkaan luokiteltujen trombien välillä havaittiin korrelaatio (kuvat 20–22). Muuttujista osa erotteli hyvin silmämääräisesti kahteen luokkaan luokitellut trombit (kuvat 23–25), mutta mittauserot eri ryhmissä ovat ainakin osittain päällekkäisiä. Takaisinsironnan keskiarvo (raja-arvolla 5,35 sensitiivisyys 92% ja spesifisyys 94%) ja mediaani (raja-arvolla 5,33 sensitiivisyys 92% ja spesifisyys 88%) erottelivat parhaiten punaisen ja valkoisen trombin toisistaan. Lisäksi attenuaation mediaani (raja-arvolla 0,57 mm⁻¹ sensitiivisyys 100% ja spesifisyys 71%) ja keskiarvo (raja-arvolla 0,75 mm⁻¹ sensitiivisyys 85% ja spesifisyys 82%) sekä harmaaväriskaalan 90. persentiili (raja-arvolla 261,6 sensitiivisyys 92% ja spesifisyys 94%) erottelivat hyvin punaisen ja valkoisen trombin. Eri muuttujien toimintaominaiskäyrät (ROC) on esitetty kuvassa 26, ja niiden tunnusluvut on esitetty taulukossa 4.



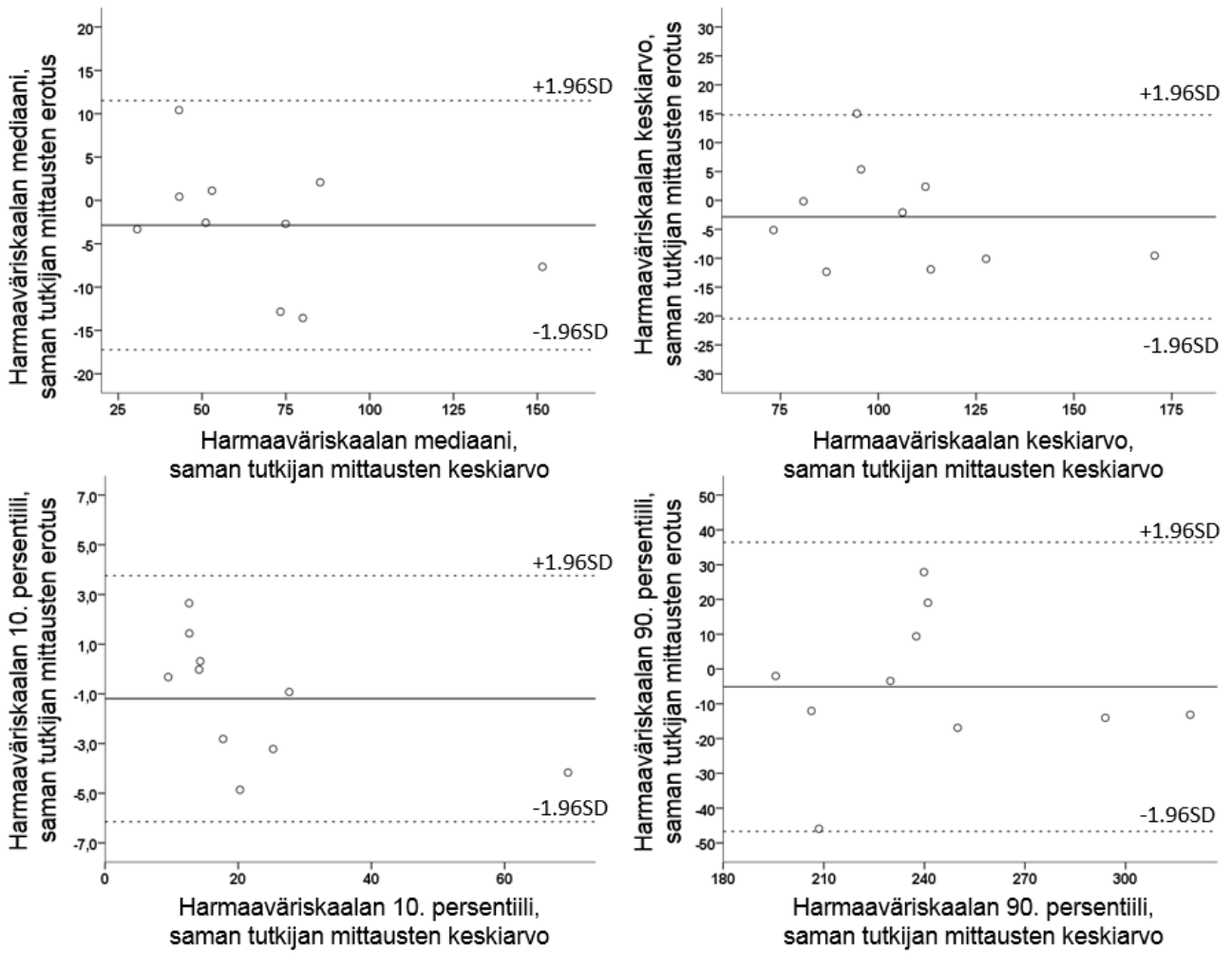
Kuva 11. Harmaaväriskaalan yhden tutkijan toistomittaukset. Vaaka-akselilla 1. mittaus, pystyakselilla 2. mittaus.



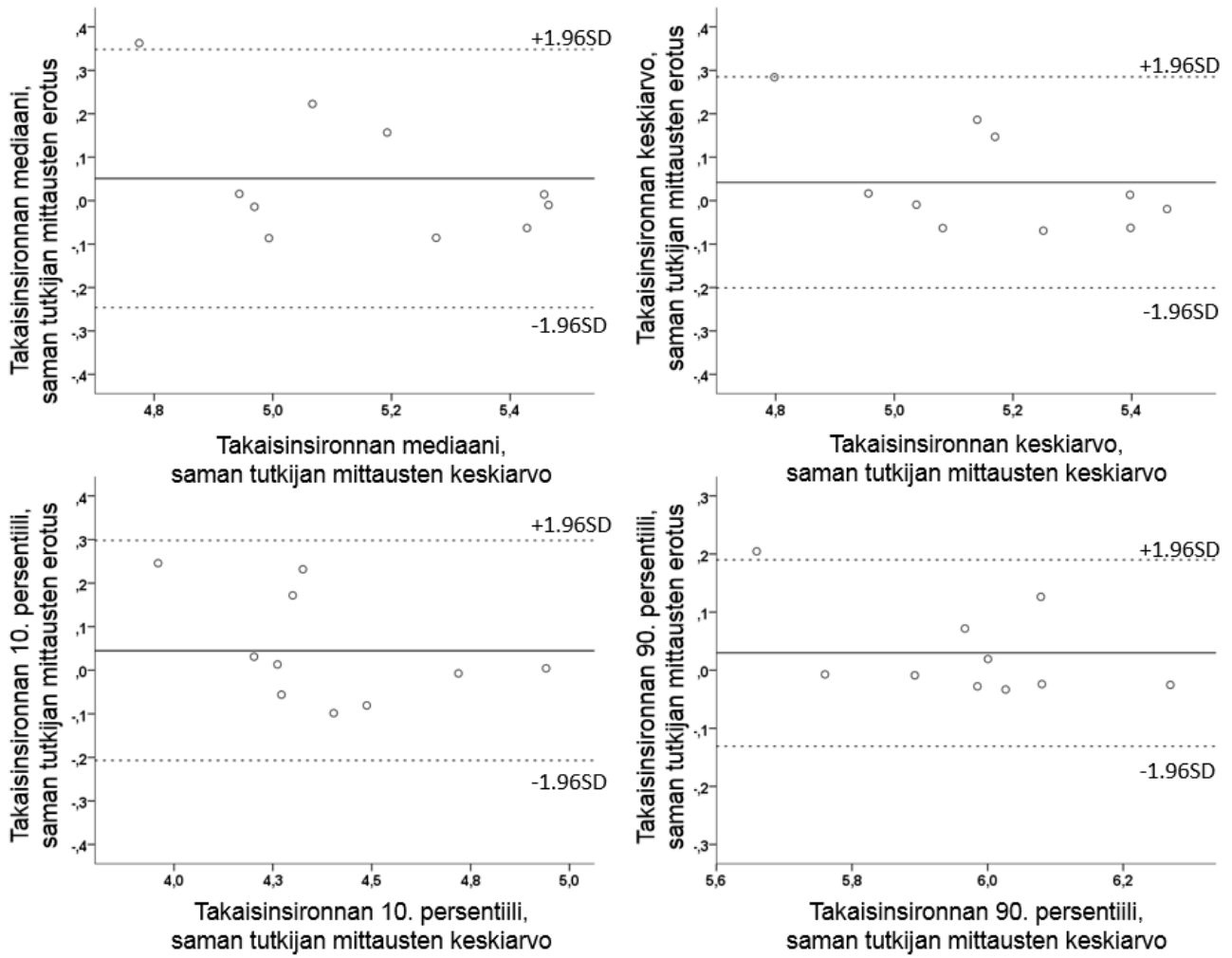
Kuva 12. Takaisinsironnan yhden tutkijan toistomittaukset. Vaaka-akselilla 1. mittaus, pystyakselilla 2. mittaus.



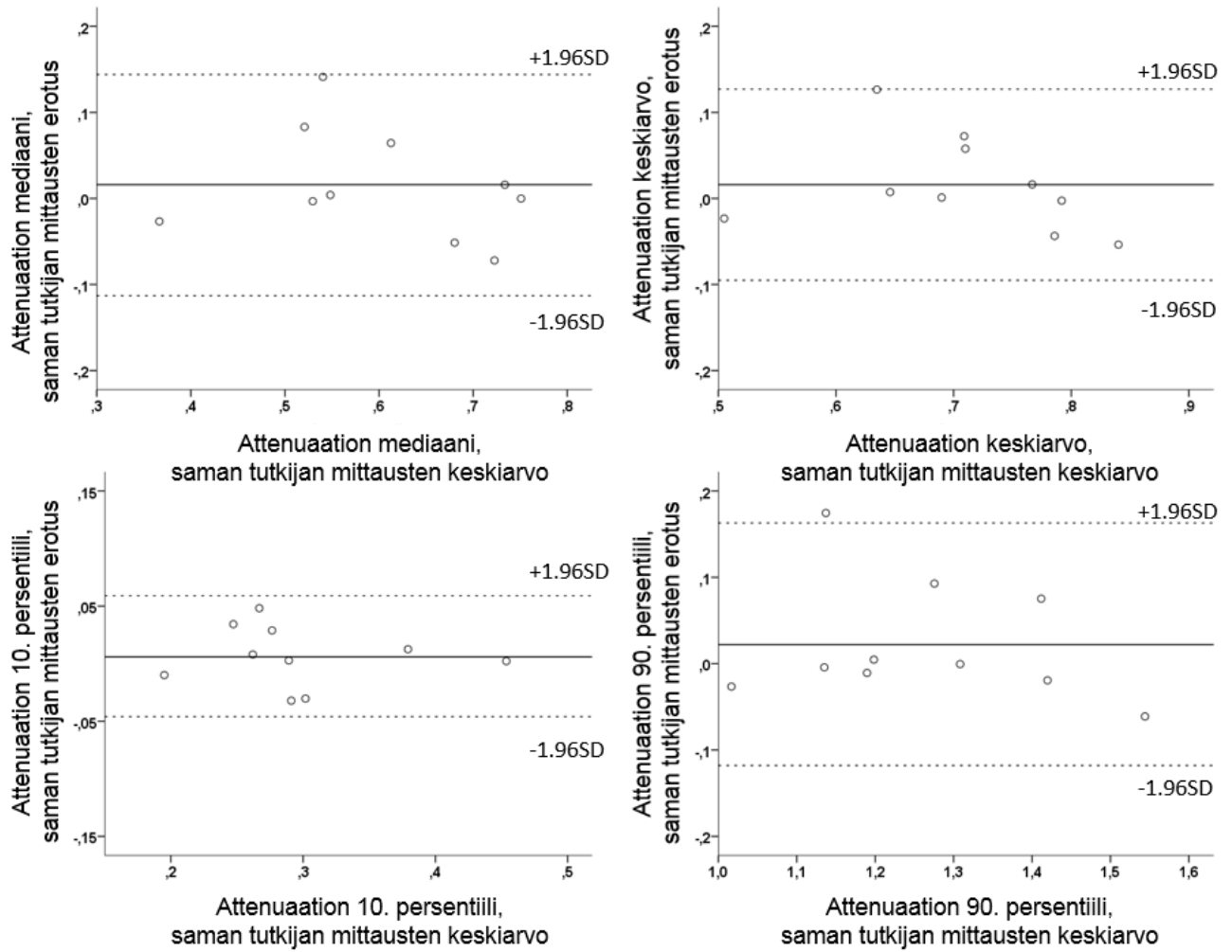
Kuva 13. Attenuaation yhden tutkijan toistomittaukset. Vaaka-akselilla 1. mittaus, pystyakselilla 2. mittaus.



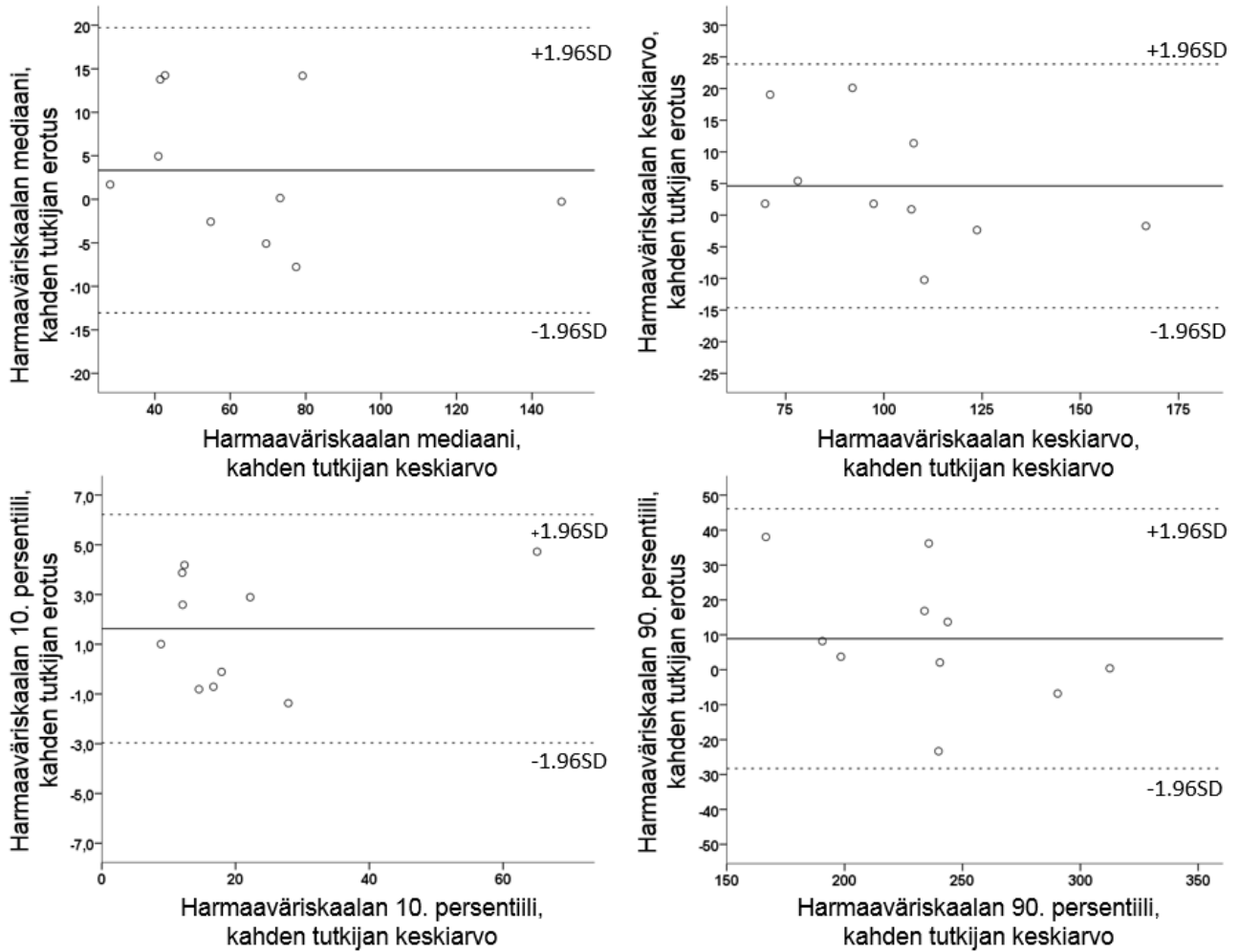
Kuva 14. Harmaaväriskaalan mittauksen toistettavuus saman tutkijan kahdella eri mittauskerralla.



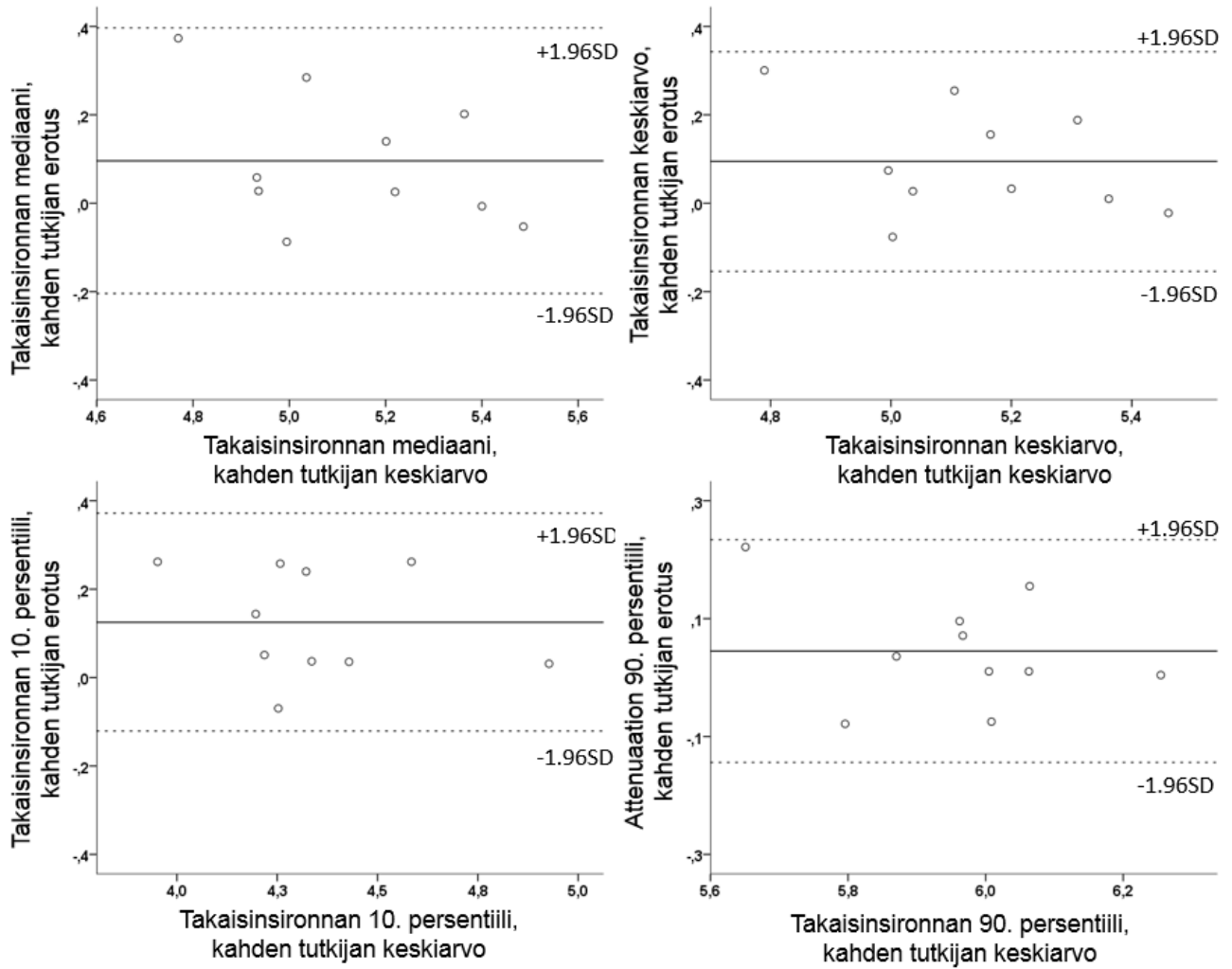
Kuva 15. Takaisinsironnan mittauksen toistettavuus saman tutkijan kahdella eri mittauskerralla.



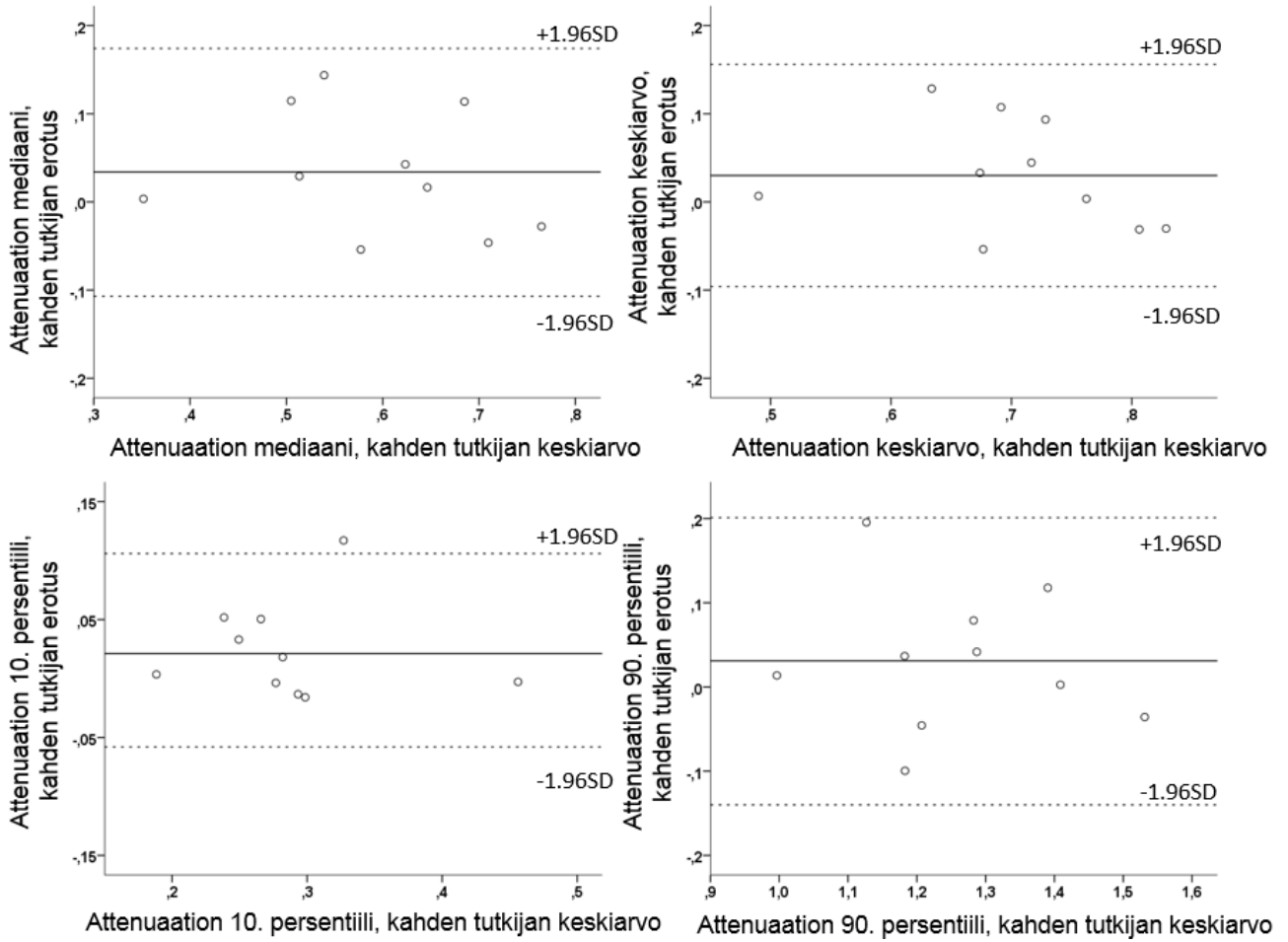
Kuva 16. Attenuaation mittauksen toistettavuus saman tutkijan kahdella eri mittauksekerralla.



Kuva 17. Harmaaväriskaalan mittauksen toistettavuus kahden eri tutkijan välillä.



Kuva 18. Takaisinsironnan mittauksen toistettavuus kahden eri tutkijan välillä.

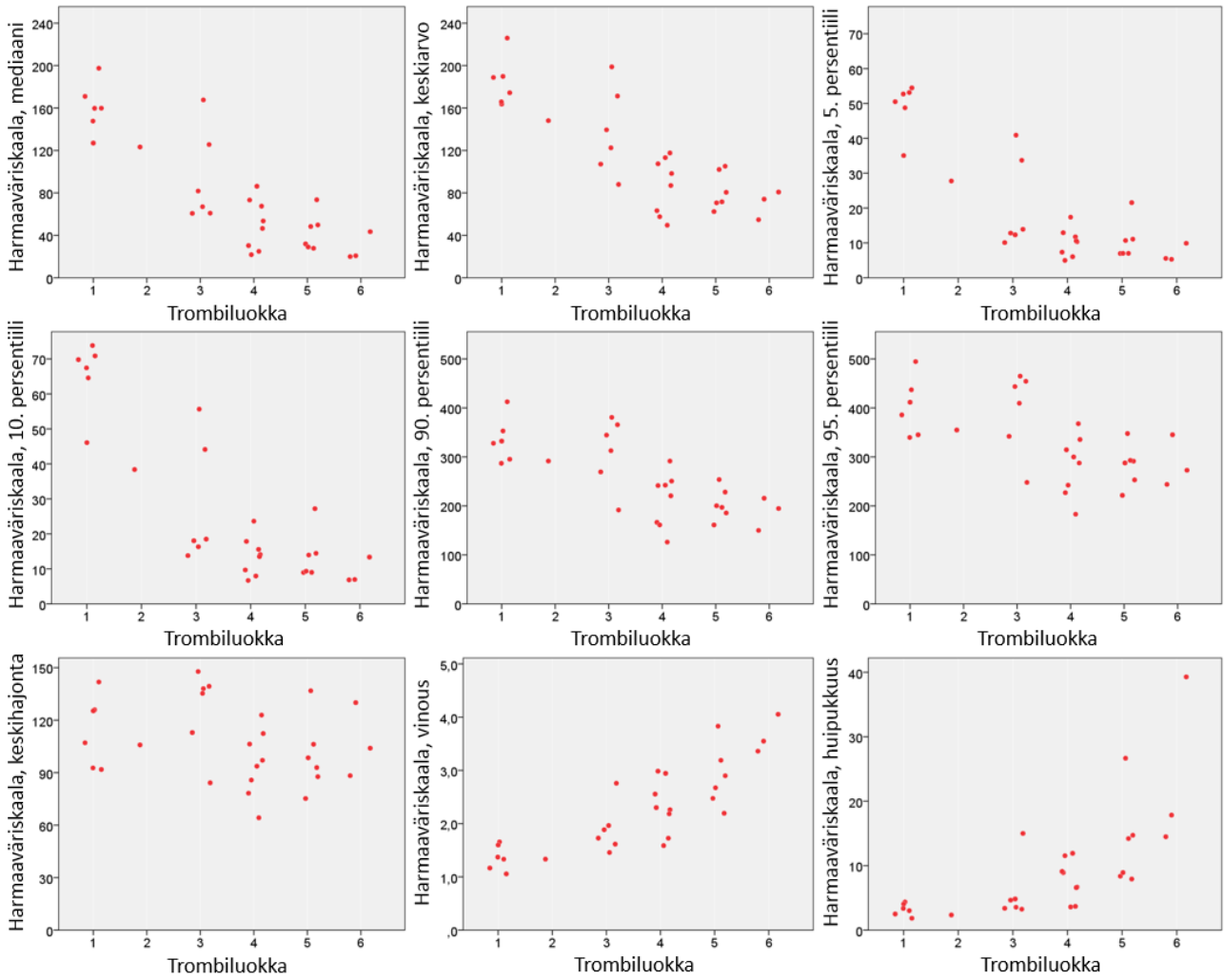


Kuva 19. Attenuaation mittauksen toistettavuus kahden eri tutkijan välillä.

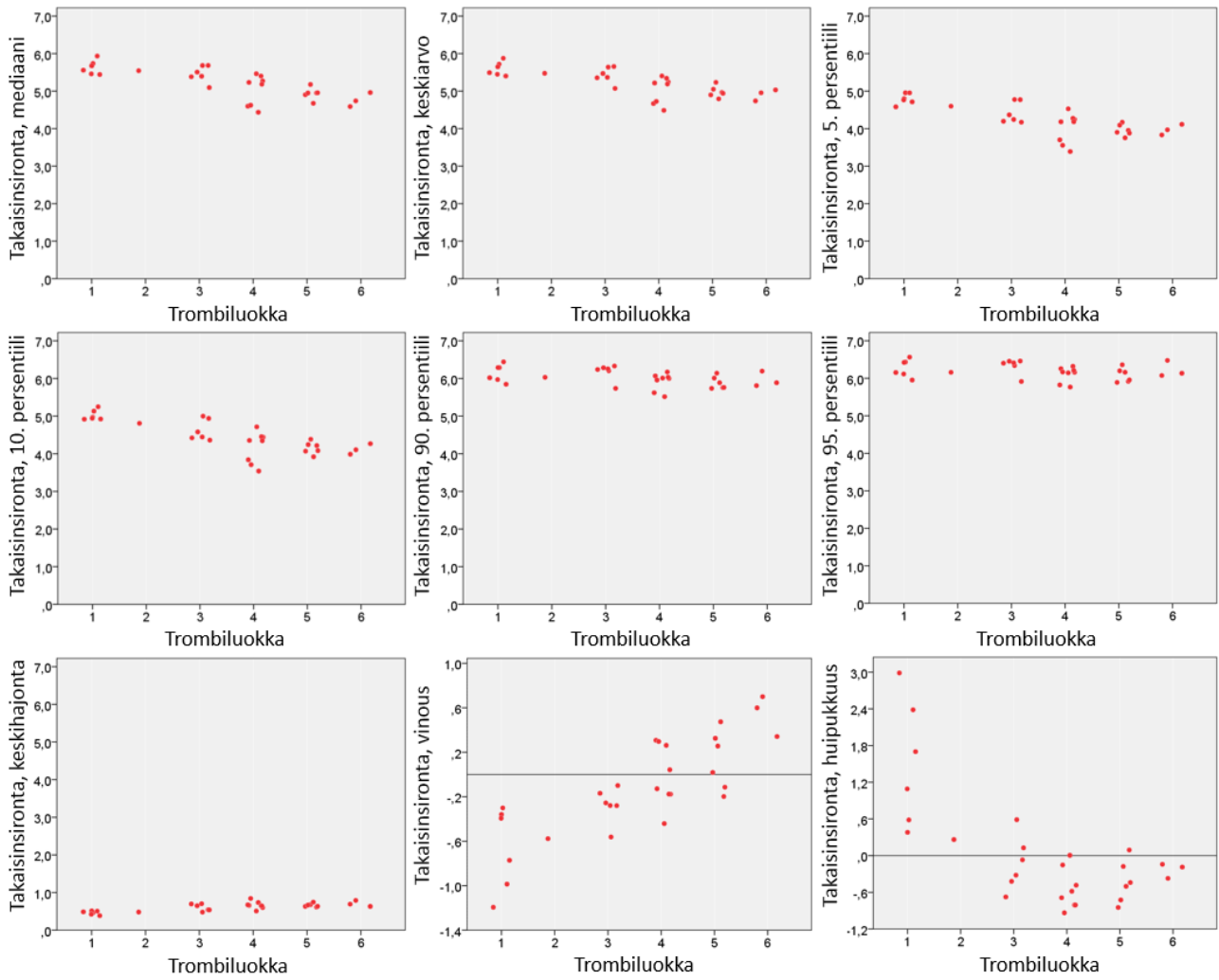
Taulukko 3. Kahden eri havainnoitsijan välinen vaihtelu QCU-CMS®-mittauksissa 10 potilaan sarjassa. 95 % CI = 95 %:n luottamusväli, SD = keskihajonta.

Muuttujat	Tutkija 1 Keskiarvo (SD)	Tutkija 2 Keskiarvo (SD)	Vaihteluväli	Keskimääräinen absoluuttinen ero (95 % CI)	Keskimääräinen suhteellinen ero (%)	Yhtäpitävyysrajat
Attenuaatio						
Mediaani	0,61 (0,12)	0,57 (0,13)	0,35–0,77	0,03 (–0,02–0,08)	5,8	–0,11–0,17
Keskiarvo	0,72 (0,09)	0,69 (0,11)	0,49–0,83	0,03 (–0,02–0,08)	4,3	–0,10–0,16
Keskihajonta	0,42 (0,09)	0,42 (0,07)	0,32–0,54	0,001 (–0,02–0,02)	0,2	–0,07–0,07
Vinous	1,36 (0,50)	1,46 (0,40)	0,89–2,18	–0,10 (–0,26–0,06)	–7,2	0,55–0,19
Huipukkuus	3,01 (2,42)	3,72 (2,45)	0,55–7,21	–0,72 (–2,21–0,78)	–21,4	–4,90–3,47
5. persentiili	0,26 (0,06)	0,23 (0,06)	0,17–0,38	0,02 (–0,01–0,04)	8,6	–0,04–0,08
10. persentiili	0,30 (0,07)	0,28 (0,07)	0,19–0,46	0,02 (–0,01–0,05)	8,3	–0,06–0,11
90. persentiili	1,27 (0,16)	1,24 (0,17)	1,00–1,53	0,03 (–0,03–0,09)	2,3	–0,14–0,20
95. persentiili	1,51 (0,20)	1,48 (0,19)	1,21–1,77	0,03 (–0,04–0,10)	1,9	–0,17–0,23

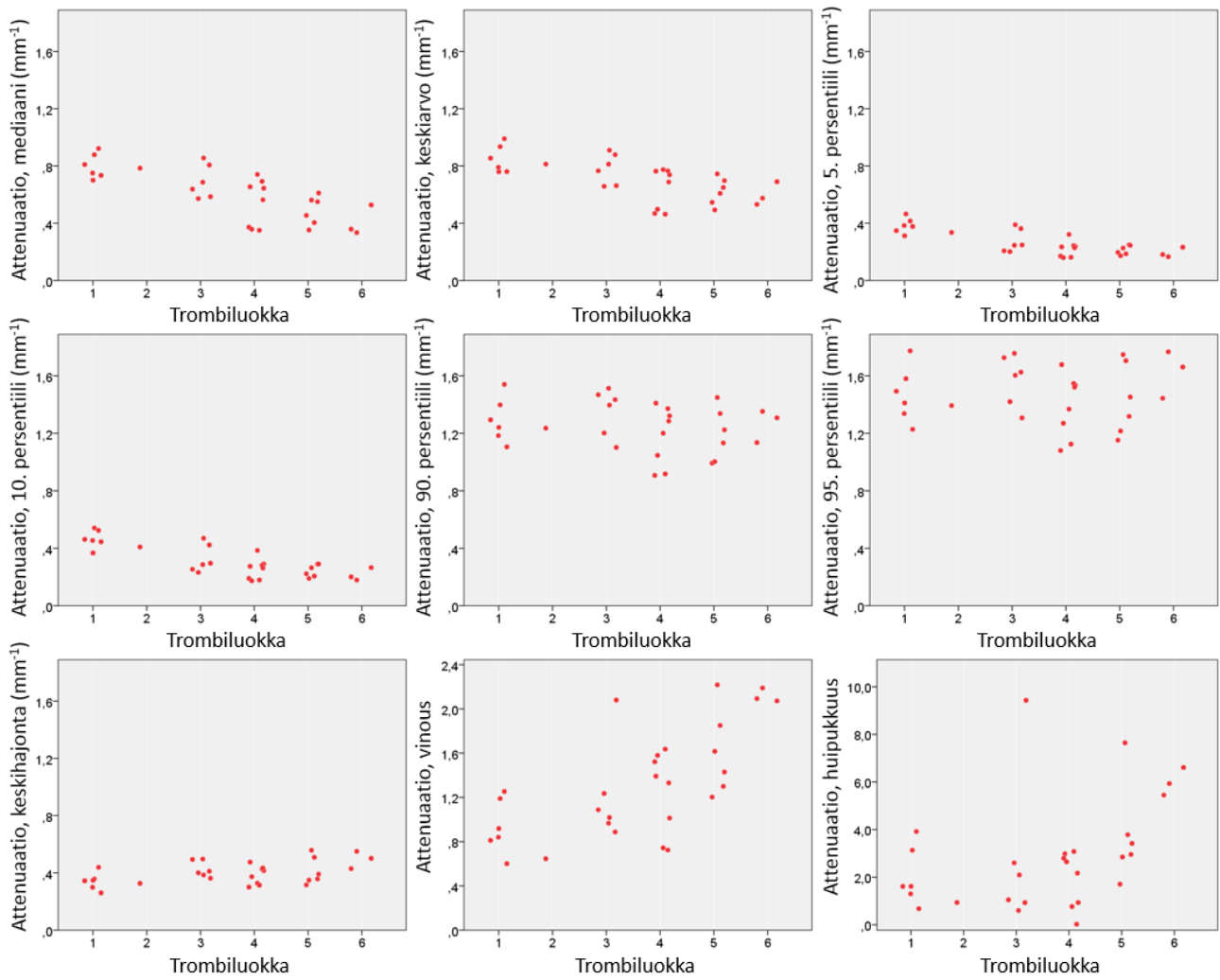
Takaisinsironta						
Mediaani	5,18 (0,22)	5,09 (0,28)	4,77–5,49	0,10 (-0,01–0,20)	1,9	-0,20–0,40
Keskiarvo	5,19 (0,18)	5,10 (0,23)	4,79–5,46	0,10 (0,01–0,18)	1,8	-0,15–0,34
Keskihajonta	0,61 (0,09)	0,66 (0,07)	0,47–0,72	-0,04 (-0,07; -0,02)	-6,9	-0,10–0,01
Vinous	-0,08 (0,29)	-0,22 (0,44)	-0,74–0,31	0,15 (-0,05–0,34)	96,7	-0,39–0,68
Huipukkuus	-0,13 (0,49)	0,44 (1,24)	-0,70–2,37	-0,57 (-1,16–0,02)	-183	-2,22–1,08
5. persentiili	4,22 (0,26)	4,07 (0,26)	3,77–4,70	0,15 (0,05–0,24)	3,5	-0,11–0,41
10. persentiili	4,41 (0,25)	4,28 (0,28)	3,95–4,93	0,13 (0,04–0,21)	2,9	-0,12–0,37
90. persentiili	5,99 (0,16)	5,94 (0,18)	5,65–6,26	0,05 (-0,02–0,11)	0,8	-0,14–0,23
95. persentiili	6,17 (0,16)	6,13 (0,17)	5,85–6,41	0,04 (-0,02–0,10)	0,7	-0,14–0,21
Harmaaväriskaala						
Mediaani	67,19 (32,99)	63,86 (35,43)	28,16–147,83	3,32 (-2,53–9,19)	5,1	-13,05–19,71
Keskiarvo	104,65 (26,87)	100,04 (31,37)	69,76–166,69	4,61 (-2,28–11,49)	4,5	-14,64–23,85
Keskihajonta	106,03 (17,46)	103,02 (15,95)	80,03–134,78	3,02 (-3,78–9,81)	2,9	-15,98–22,01
Vinous	2,51 (0,88)	2,65 (0,72)	1,72–3,99	-0,14 (-0,41–0,14)	-5,3	-0,91–0,63
Huipukkuus	12,49 (11,67)	14,62 (10,83)	4,31–38,17	-2,13 (-6,88; -2,62)	-15,7	-15,40–11,14
5. persentiili	16,59 (13,34)	14,74 (11,59)	6,66–48,92	1,85 (0,08–3,61)	11,8	-3,10–6,79
10. persentiili	21,77 (16,88)	20,14 (16,17)	8,83–65,09	1,63 (-0,02–3,27)	7,8	-2,97–6,22
90. persentiili	239,64 (40,18)	230,74 (48,77)	166,58–312,48	8,90 (-4,40–22,20)	3,8	-28,28–46,09
95. persentiili	315,19 (44,98)	305,05 (53,64)	228,63–408,65	10,15 (-6,64– 26,94)	3,3	-36,78–57,08



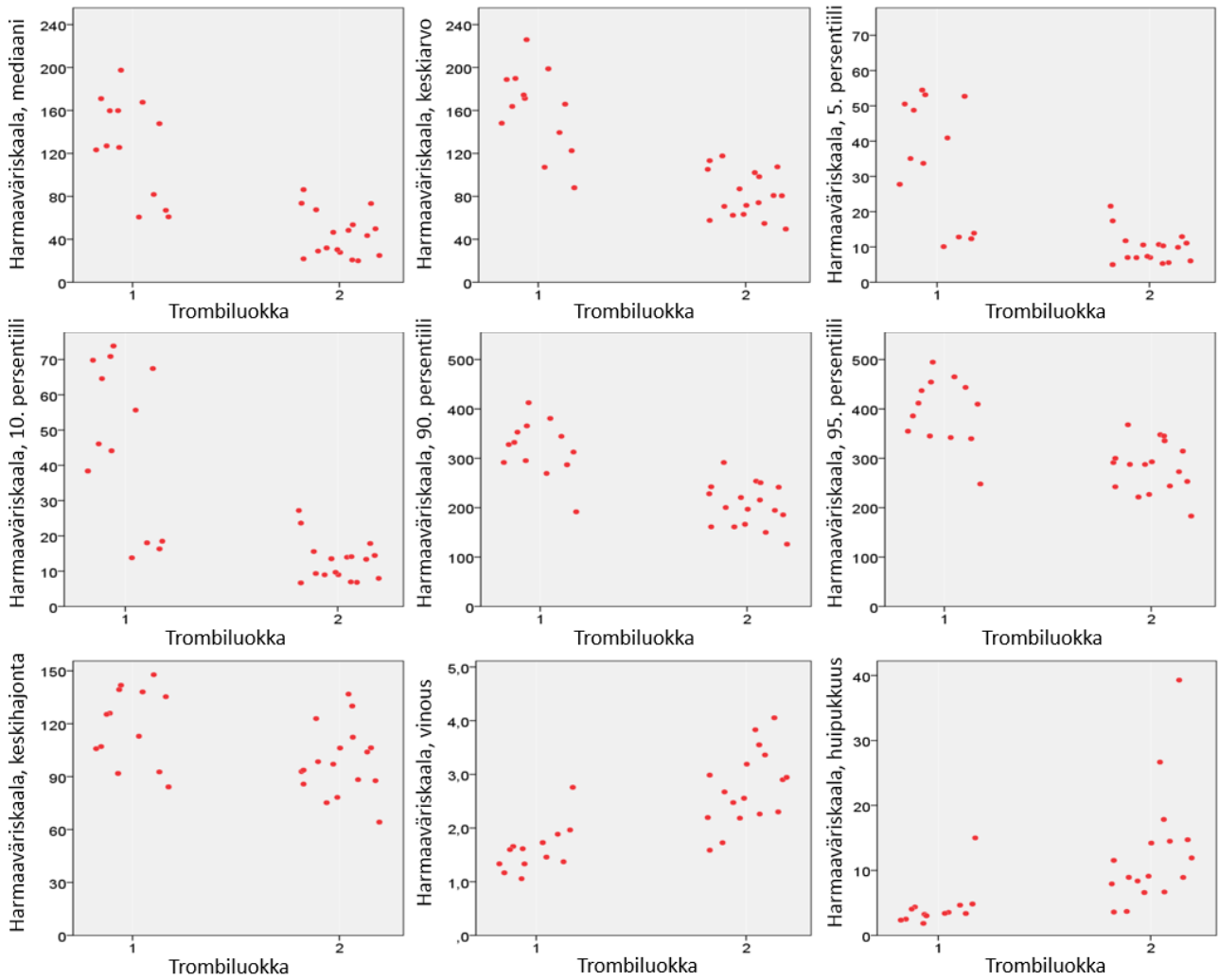
Kuva 20. QCU-CMS®-ohjelmiston eri harmaaväriskaalamuuttujien ja kuusiportaisen trombiluokan välinen riippuvuus.



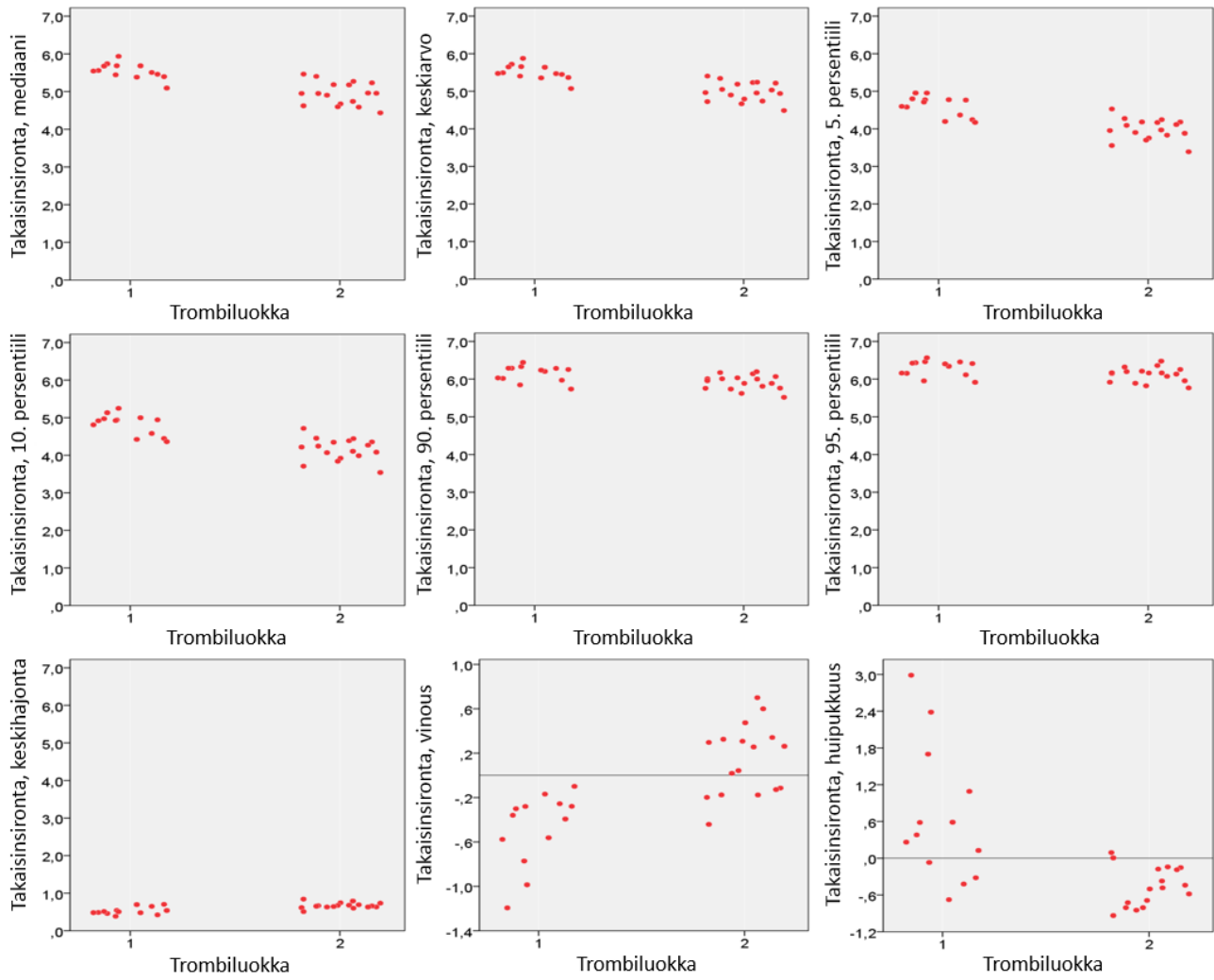
Kuva 21. QCU-CMS®-ohjelmiston eri takaisinsirontamuuttujien ja kuusiportaisen trombiluokan välinen riippuvuus.



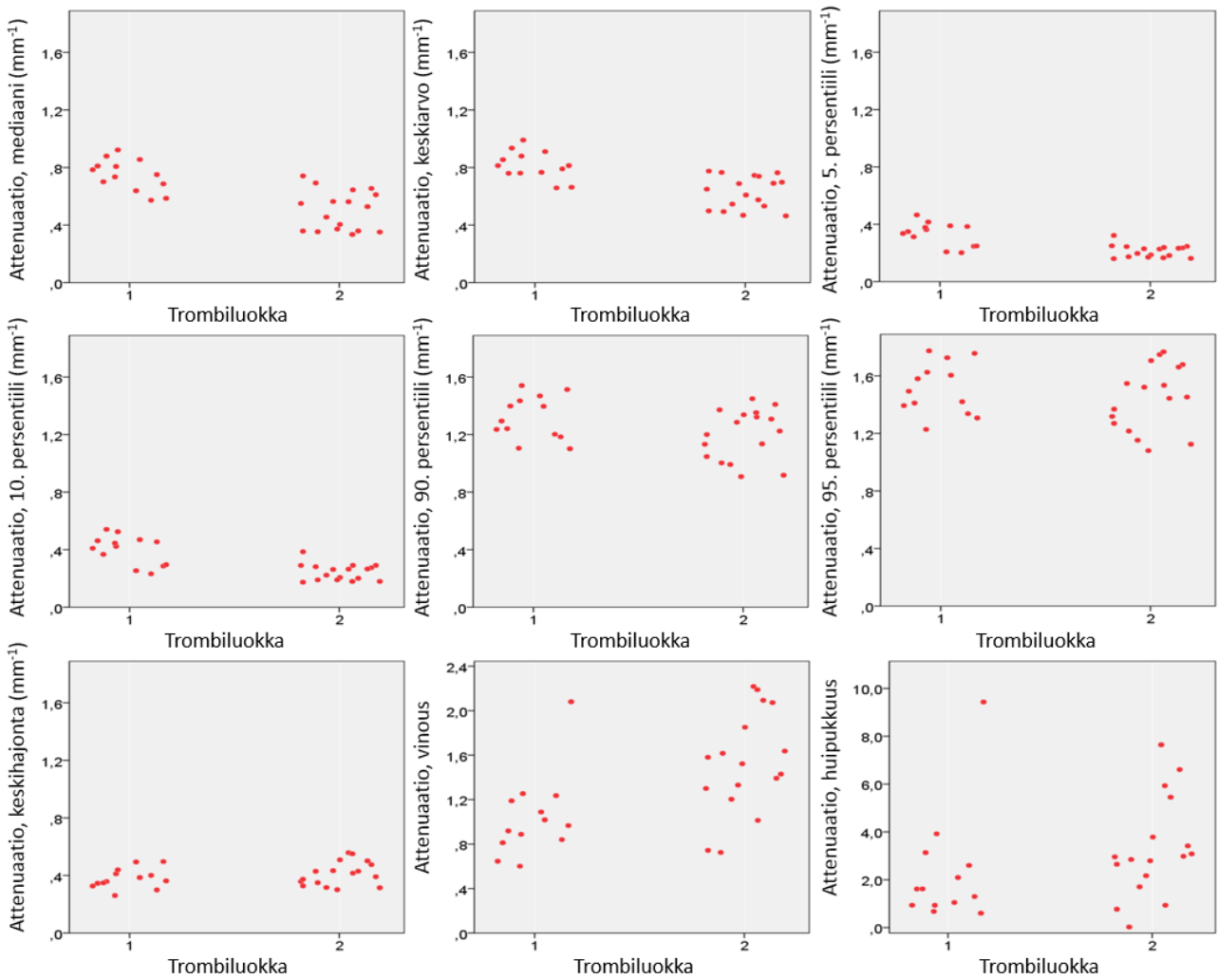
Kuva 22. QCU-CMS[®]-ohjelmiston eri attenuaatiomuuttujien ja kuusiportaisen trombiluokan välinen riippuvuus.



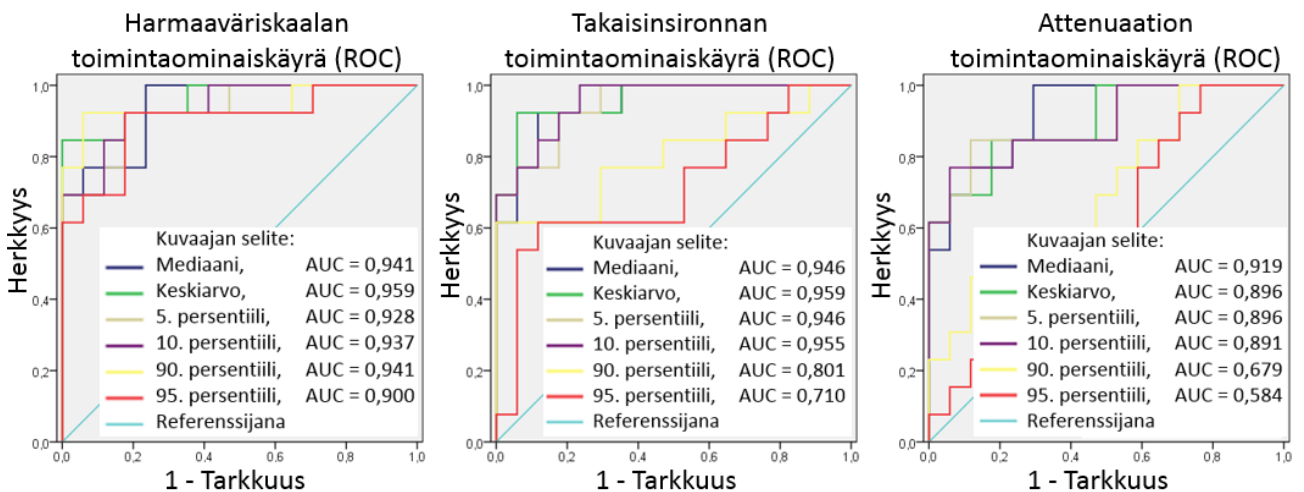
Kuva 23. QCU-CMS[®]-ohjelmiston eri harmaaväriskaalamuuttujien ja kaksipuolisen trombiluokan välinen riippuvuus.



Kuva 24. QCU-CMS[®]-ohjelmiston eri takaisinsirontamuuttujien ja kaksiportaisen trombiluokan välinen riippuvuus.



Kuva 25. QCU-CMS[®]-ohjelmiston eri attenuaatiomuuttujien ja kaksiportaisen trombiluokan välinen riippuvuus.



Kuva 26. QCU-CMS[®]-ohjelmiston eri muuttujien voima luokitella trombi punaisiin ja valkoisiin trombeihin.

Taulukko 4. Trombin kaksiluokkaisen luokittelun (punainen tai valkoinen) ja QCU-CMS®-ohjelman muuttujien toimintaominaiskäyrien (ROC) tulokset. AUC = toimintaominaiskäyrän alle jäävä pinta-ala, area under curve, 95 % CI = 95 %:n luottamusväli, Raja-arvo = Youdenin indeksin suurimman arvon määrittämä raja-arvo.

Muuttuja	AUC	95% CI	Herkkyyys (%)	Tarkkuus (%)	Raja-arvo
Attenuaatio (mm⁻¹)					
Mediaani	0,919	0,83–1,00	100	71	0,57
Keskiarvo	0,896	0,78–1,00	85	82	0,75
5. persentiili	0,896	0,78–1,00	85	88	0,25
10. persentiili	0,891	0,77–1,00	77	94	0,29
90. persentiili	0,679	0,48–0,87	46	88	1,38
95. persentiili	0,584	0,38–0,79	100	24	1,22
Keskihajonta	0,624	0,42–0,83	85	18	0,32
Vinous	0,186	0,02–0,35	85	12	0,78
Huipukkuus	0,312	0,11–0,52	85	12	0,85
Takaisinsironta					
Mediaani	0,946	0,87–1,00	92	88	5,33
Keskiarvo	0,959	0,89–1,00	92	94	5,35
5. persentiili	0,946	0,87–1,00	92	82	4,19
10. persentiili	0,955	0,89–1,00	100	77	4,36
90. persentiili	0,801	0,63–0,97	62	100	6,20
95. persentiili	0,710	0,51–0,91	62	88	6,33
Keskihajonta	0,837	0,67–1,00	15	77	0,69
Vinous	0,072	0,00–0,17	62	6	–0,42
Huipukkuus	0,882	0,76–1,00	69	100	0,11
Harmaaväriskaala					
Mediaani	0,941	0,86–1,00	100	77	57,11
Keskiarvo	0,959	0,89–1,00	85	100	120,1
5. persentiili	0,928	0,84–1,00	92	82	12,03
10. persentiili	0,937	0,85–1,00	92	82	15,95
90. persentiili	0,941	0,84–1,00	92	94	261,6
95. persentiili	0,900	0,78–1,00	92	82	337,6
Keskihajonta	0,756	0,58–0,94	69	77	106,7
Vinous	0,081	0,00–0,18	8	53	2,72
Huipukkuus	0,100	0,00–0,23	8	82	14,86

5 POHDINTA

Arvioimme ST-nousuinfarktipotilaiden infarktin aiheuttajasuonen sisäistä trombia OCT-kuvauksista, jotka oli tehty heti trombi-imun eli trombektomian jälkeen ennen pallokatetrilla tehtävää esilaajennusta tai stentin asennusta. Sepelvaltimon esilaajennuksen aiheuttaman trauman ajateltiin aiheuttavan ongelmia kuvien tulkinnessa, joten nämä potilaat suljettiin pois nykyisestä tutkimuksesta. Aikaisemman tiedon perusteella aterooman sisältö, revennyt suonen intima ja trombit ovat OCT-kuvissa joskus vaikeasti erotettavissa toisistaan (8). Nykyisen tutkimuksemme tarkoituksena oli kehittää suonensisäisen trombin luokitteluun toistettava tietokoneavusteinen menetelmä, jota voitaisiin jatkossa käyttää sekä tutkimustarkoituksiin että kliinisten potilaiden tutkimiseen.

Sepelvaltimotrombien luokitteluun OCT-kuvista ei ole olemassa objektiivista menetelmää, vaan luokittelu on pohjautunut kokemukseräiseen silmämääräiseen arvioon. Uuden objektiivisemmän menetelmän kehittämisen on tehnyt haastavaksi se, että kliinisillä potilailla ei ole käytettävissä ns. kultaista standardimenetelmää trombin todellisen tyyppin varmistamiseksi. Aiempi tutkimustieto OCT:n kyvystä erottaa eri trombityyppejä toisistaan on saatu tutkimalla ruumiinavausnäytteitä, joista on ollut mahdollista tehdä validaatiovertailu trombin histologiseen rakenteeseen (4).

Tässä tutkimuksessa käytimme kahden tutkijan trombin tyyppistä tekemää konsensusarviota kultaisena standardina, johon uusia menetelmiä verrattiin. Tutkimustamme varten kehitimme kuusipor-taisen subjektiivisen silmämääräisen luokituksen olemassa olevien OCT:n tulkinnan konsensusstandardien pohjalta (8). Tutkimuksessamme silmämääräinen trombityyppin arvio oli menetelmänä kohtalaisen toistettava ($\kappa = 0,53-0,74$).

Aineistossamme 57 %:lla havaittiin silmämääräisesti punaisia trombeja, joka on samaa suuruusluokkaa verrattuna aikaisempiin tutkimuksiin. Eräissä aikaisemmassa trombiaspiraattitutkimuksissa punaisten trombien osuus oli korkeampi, 69–78 % (9,35). Aiemmissa angioskopiatutkimuksissa, jossa trombit jaoteltiin kahteen ryhmään, punaisten trombien ($n = 4$) osuus oli 33 % ja toisessa tutkimuksessa kolmeen ryhmään jaoteltuna punaisten trombien ($n = 16$) osuus oli 38 % (19,21). Toisaalta koko aineistossamme merkittävällä osalla potilaista oli trombektomian jälkeen havaittavissa vain vähän trombia (31), mikä aiheuttaa valikoitumista ja vaikeuttaa eri trombityyppien jakauman arviointia kaikkien STEMI-potilaiden joukossa. Jatkossa tarkoituksenamme on laajentaa trombien tietokoneavusteista analyysia aineiston potilaisiin, joilla residuaalitrombin määrä oli pienempi.

ImageJ-ohjelmalla tehdyt mittaukset osoittivat, että OCT-signaalin intensiteetin vaimenemisen mittaaminen trombeista on mahdollista ja menetelmä korreloi hyvin silmämääräisesti arvioituun trom-

bityyppiin. Mittauksen tulokseen vaikuttaa kuitenkin voimakkaasti silmämääräisesti valittavat säteittäiset mittauskohdat, joten menetelmällä on paljolti samat rajoitukset ja virhelähteet kuin silmämääräisellä arvioinnilla. Mikäli mittauskohdat yritettiin valita objektiivisemmin, satunnaisista kohdista trombia, ongelmaksi nousi liian suuri saman poikkileikkeen sisäinen vaihtelu. Lisäksi mittauksen välinen vaihtelu näytti lisääntyvän voimakkaasti, kun valon kulkusuunnassa mitattava trombin pakkaus oli alle 300 μm . Testasimme myös tulostemme korrelaatiota ainoaan aiheesta aikaisemmin julkaistuun aineistoon, jossa oli käytetty nimenomaan ImageJ-pohjaista signaali-intensiteetin mittausta. (4) ImageJ-ohjelmalla mitattu OCT-signaalin intensiteetin puoliintumismatka oli aineistomme punaisissa trombeissa 375 μm , sekamuotoisissa 519 μm valkoisissa trombeissa 798 μm . Tutkimuksemme viittaa siihen, että punaisen ja valkoisen trombityypin erotteleva raja-arvo on korkeampi, kuin aikaisemmassa kadavertutkimuksessa esitetty 250 μm :n raja-arvo (kuva 9) (4). Suoraa selitystä eroaville tutkimustuloksille ei ole. Monet tekijät, kuten trombin post-mortem-muutokset, erot OCT-kuvausolosuhteissa tai potilaspopulaatiossa voivat selittää eroja. Alkuperäisessä julkaisussa menetelmän yksityiskohdat kuvattiin vain lyhyesti, eikä esim. edellä kuvatusta ongelmallisesta mittauskohtien valinnasta ole esitetty tarkempaa tietoa. (4) Kokeilemamme menetelmä ImageJ:lla ei siis sovellu kaikkien trombien intensiteetin puoliintumismatkan mittaamiseen. Intensiteetin puoliintumismatkan mittaustarkkuus heikkenee huomattavasti, jos mittauksen pituus on $<300 \mu\text{m}$. Tästä johtuen valitsimme metodologisiin analyysihimme suuremmasta potilasjoukosta 30 suurimman trombimäärän potilasta, joiden maksimaalinen trombiala OCT-kuvaleikkeessä vähintään 1,1 mm^2 , mikä voi rajoittaa menetelmän sovellettavuutta pienen trombikuorman potilailla. Intensiteetin puoliintumismatkan luotettava mittaus edellyttää tasalaatuista trombia. Tekemämme oletus trombien homogeenisuudesta ei ollut ideaalinen, sillä osassa tapauksista trombien epätasalaaisuus oli merkittävää ja aiheutti runsaasti hajontaa ja satunnaisvirhettä mittaustuloksiin. Intensiteetin puoliintumismatkan määrittäminen osoittautui vaikeasti määritettäväksi, sillä osassa trombeista oli havaittavissa syvempiä osia vähemmän attenuoiva pintakerros (kuva 7). Ilmiö saattaa olla kuvaustekninen, mutta voi liittyä myös aikaisemmassa tutkimuksessa havaittuun trombien pintaosien pienempään punasolupitoisuuteen (22). Mittaukset ImageJ-ohjelmalla ovat teknisesti työläitä, joten suurten aineistojen mittaamiseen menetelmä ei sovellu.

QCU-CMS[®]-ohjelma mittaa trombin kolmea eri suuretta: attenuaatiota, takaisinsirontaa ja harmaaväriskaalaa. Harmaaväriskaalan muuttujista erityisesti mediaani, keskiarvo ja yläpersentiilit olivat hyvin toistettavia (kuvat 9, 12 ja 15) ja kykenivät erottelamaan (AUC-arvot $>0,90$) punaiset trombit valkoisista. Takaisinsironnan muuttujista keskiarvo ja mediaani korreloivat hyvin silmämääräiseen arvioon, mutta niiden toistettavuus ei ollut optimaalinen (kuvat 10, 13 ja 16). Sen sijaan takaisinsironnan yläpersentiilit olivat toistettavia, mutta niiden AUC-arvot ovat alhaisempia. Attenuaation mittauksista (kuvat 11, 14 ja 17) hyvin toistettavia olivat mediaani ja keskiarvo, ja ne erottelivat punaiset trombit valkoisista. Attenuaation yläpersentiilien trombinerotellukyvyt olivat heikkoja. Tutkimuksen perusteella näyttää siltä, että näillä suureilla voidaan erotella eri trombityyppejä. Mittaukset

QCU-CMS[®]-ohjelmistolla ovat nopeampia ja vaivattomampia kuin mittaukset ImageJ-ohjelmalla. Se on toistettava ja silmämääräiseen arvioon hyvin korreloiva menetelmä.

Tutkimuksessamme oli havaittavissa useita puutteita. Vakavimpana puutteena uutta mittausmenetelmää kehitettäessä nähtiin ns. kultaisen standardin puuttuminen. Koska TOTAL-tutkimuksessa ei kerätty trombektomiakatetrilla saaliiksi saatuja trombeja talteen tarkempia analyysieja varten, ei nykyisille OCT-löydöksille voida saada histologista varmennusta. Toisaalta siinäkin tapauksessa, että samasta potilaasta olisi käytettävissä trombiaspiraatin histologinen tutkimus ja OCT-kuvaus, ei voitaisi olla varmoja siitä, onko suonon sisällä *in vivo* kuvannettava trombi laadultaan samanlaista kuin trombektomiakatetriin irronnut materiaali. Trombiaspiraattien histologisista tutkimuksista tiedetään, että hyytymän lisäksi aspiiraatit sisältävät usein merkittävässä määrin ateroskleroottisen plakin rakenneosia (36). Toisena puutteena voidaan nähdä se, että analysoimme vain kolme poikkileikkettä kustakin potilaasta, vaikka residuaalitromboosi oli usein jakautunut jopa kymmenien poikkileikkeiden alueelle. Kolmanneksi, saadaksemme mahdollisimman hyvälaatuiset ja kookkaat tromboosit analysoitavaksi, jouduimme rajaamaan analyysien ulkopuolelle potilaita, yleisimmin kuvauksen huonon laadun tai trombin vähäisen määrän vuoksi. Lisäksi vain potilaat, jotka olivat satunnaisesti trombektomiaryhmään, valittiin mukaan analyysiin, koska halusimme vähentää pallolaajennuksen sekottavaa vaikutusta trombin rakenteen suhteen. Kahden viimeksi mainitun seikan vuoksi tarvitaan jatkossa lisätutkimuksia, jotta voidaan osoittaa menetelmän käyttökelpoisuus potilaan koko trombitilavuuden tutkimisessa ja pienen trombikuorman potilailla.

Tämän opinnäytetyön aiheena oli metodologinen tutkimus trombityyppin objektiiviseksi määrittämiseksi suonensisäisellä optisella valokerroskuvauksella ST-nousuinfarktipotilaiden aineistossa. Kehittämämme uusi tietokoneavusteinen mittausmenetelmä oli hyvin toistettava ja erotteli tarkasti ja herkästi silmämääräisesti punaiseksi ja valkoiseksi luokitellut trombit. Tutkimustulokset on lähetetty julkaistavaksi toimenpidekardiologian kansainväliseen kokoukseen ja tuloksista on valmisteilla artikkelikäsikirjoitus. Jatkossa tarvitaan menetelmän testausta laajentamalla analyysi trombiin koko infarktin aiheuttajasuonen alueella. Lisäksi laajemmalla potilasjoukolla on tarkoituksena jatkossa tutkia trombityyppin yhteyttä trombin määrään, välittömän pallolaajennuksen lopputulokseen angiografisia ja EKG-pohjaisia sijaismuuttujia käyttäen sekä klinisiin tapahtumiin potilaiden jatkoseurannan aikana.

LÄHTEET

1. Suomen virallinen tilasto (SVT). Kuolemansyyt [verkkojulkaisu]. ISSN=1799-5051. 2015, Liitetaulukko 1a. Kuolleet peruskuolemansyyn ja iän mukaan 2015, molemmat sukupuolet . Helsinki: Tilastokeskus [päivitetty 30.12.2016]. http://www.stat.fi/til/ksyyt/2015/ksyyt_2015_2016-12-30_tau_001_fi.html
2. Kirjassa: Airaksinen J, Aalto-Setälä K, Hartikainen J, ym. toim. *Kardiologia*. 3., uudistettu painos. Helsinki: Duodecim 2016.
3. Meneveau N, Souteyrand G, Motreff P, ym. Optical Coherence Tomography to Optimize Results of Percutaneous Coronary Intervention in Patients with Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome: Results of the Multicenter, Randomized DOCTORS Study (Does Optical Coherence Tomography Optimize Results of Stenting). *Circulation* 2016;134:906-17.
4. Kume T, Akasaka T, Kawamoto T, ym. Assessment of coronary arterial thrombus by optical coherence tomography. *Am J Cardiol* 2006;97:1713-7.
5. Tierala I. Primaari PCI. *Sydänääni* 2013;24:3-8.
6. Nagata Y, Usuda K, Uchiyama A, ym. Characteristics of the pathological images of coronary artery thrombi according to the infarct-related coronary artery in acute myocardial infarction. *Circ J* 2004;68:308-14.
7. Silvain J, Collet JP, Nagaswami C, ym. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1359-67.
8. Tearney GJ, Regar E, Akasaka T, ym. Consensus standards for acquisition, measurement, and reporting of intravascular optical coherence tomography studies: a report from the International Working Group for Intravascular Optical Coherence Tomography Standardization and Validation. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:1058-72.
9. Quadros AS, Cambuzzi E, Sebben J, ym. Red versus white thrombi in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: clinical and angiographic outcomes. *Am Heart J* 2012;164:553-60.
10. Yunoki K, Naruko T, Sugioka K, ym. Erythrocyte-rich thrombus aspirated from patients with ST-elevation myocardial infarction: association with oxidative stress and its impact on myocardial reperfusion. *Eur Heart J* 2012;33:1480-90.
11. Sianos G, Papafaklis MI, Daemen J, ym. Angiographic stent thrombosis after routine use of drug-eluting stents in ST-segment elevation myocardial infarction: the importance of thrombus burden. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:573-83.
12. Svilaas T, Vlaar PJ, van der Horst, I C, ym. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med* 2008;358:557-67.
13. Jolly SS, Cairns JA, Yusuf S, ym. Randomized trial of primary PCI with or without routine manual thrombectomy. *N Engl J Med* 2015;372:1389-98.
14. Frobert O, Lagerqvist B, Olivecrona GK, ym. Thrombus aspiration during ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med* 2013;369:1587-97.
15. Lagerqvist B, Frobert O, Olivecrona GK, ym. Outcomes 1 year after thrombus aspiration for myocardial infarction. *N Engl J Med* 2014;371:1111-20.
16. Jolly SS, James S, Dzavik V, ym. Thrombus Aspiration in ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: An Individual Patient Meta-Analysis: Thrombectomy Trialists Collaboration. *Circulation* 2017;135:143-52.
17. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* 2000;83:361-6.
18. Yahagi K, Kolodgie FD, Otsuka F, ym. Pathophysiology of native coronary, vein graft, and in-stent atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2016;13:79-98.
19. Abela GS, Eisenberg JD, Mittleman MA, ym. Detecting and differentiating white from red coronary thrombus by angiography in angina pectoris and in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1999;83:7, A8.
20. Mizuno K, Satomura K, Miyamoto A, ym. Angioscopic evaluation of coronary-artery thrombi in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:287-91.
21. Morio H, Fujimori Y, Terasawa K, ym. Angioscopic evaluation of thrombi in the culprit coronary lesions in patients with acute myocardial infarction. *Diagn Ther Endosc* 2000;7:1-5.

22. Zalewski J, Bogaert J, Sadowski M, ym. Plasma fibrin clot phenotype independently affects intracoronary thrombus ultrastructure in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2015;113:1258-69.
23. Yunoki K, Naruko T, Sugioka K, ym. Thrombus aspiration therapy and coronary thrombus components in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. *J Atheroscler Thromb* 2013;20:524-37.
24. Napodano M, Ramondo A, Tarantini G, ym. Predictors and time-related impact of distal embolization during primary angioplasty. *Eur Heart J* 2009;30:305-13.
25. Kramer MC, van der Wal, A C, Koch KT, ym. Presence of older thrombus is an independent predictor of long-term mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2008;118:1810-6.
26. Yang G, Zhang X, Meng Q, ym. Evaluation of the characterization of thrombi in vitro by optical coherence tomography. *Int J Cardiol* 2016;220:116-21.
27. Popescu DP, Choo-Smith L, Flueraru C, ym. Optical coherence tomography: fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications. *Biophys Rev*, published in www Sep.
28. Prati F, Regar E, Mintz GS, ym. Expert review document on methodology, terminology, and clinical applications of optical coherence tomography: physical principles, methodology of image acquisition, and clinical application for assessment of coronary arteries and atherosclerosis. *Eur Heart J* 2010;31:401-15.
29. Goode B. OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY/CARDIOLOGY: Totally tubular: Cardiovascular OCT goes prime time 2010. *BioOptics World*, julkaistu verkossa 7.1.2010
30. Sheth TN, Kajander OA, Lavi S, ym. Optical Coherence Tomography-Guided Percutaneous Coronary Intervention in ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: A Prospective Propensity-Matched Cohort of the Thrombectomy Versus Percutaneous Coronary Intervention Alone Trial. *Circ Cardiovasc Interv* 2016;9:e003414.
31. Bhindi R, Kajander OA, Jolly SS, ym. Culprit lesion thrombus burden after manual thrombectomy or percutaneous coronary intervention-alone in ST-segment elevation myocardial infarction: the optical coherence tomography sub-study of the TOTAL (ThrOmbecTomy versus PCI ALone) trial. *Eur Heart J* 2015;36:1892-900.
32. Jolly SS, Cairns J, Yusuf S, ym. Design and rationale of the TOTAL trial: a randomized trial of routine aspiration ThrOmbecTomy with percutaneous coronary intervention (PCI) versus PCI ALone in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary PCI. *Am Heart J* 2014;167:321.e1.
33. Rennie R toim. *A Dictionary of Chemistry*. 7. painos. Oxford University Press 2016. DOI: 10.1093/acref/9780198722823.001.0001
34. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1:307-10.
35. Yang Y, Li J, Xu W, ym. Thrombus aspirated from patients with ST-elevation myocardial infarction: Clinical and angiographic outcomes. *J Int Med Res* 2016.
36. Kramer MC, van der Wal, A C, Koch KT, ym. Histopathological features of aspirated thrombi after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction. *PLoS One* 2009;4:e5817.