

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum

Maciej Lis

**Pulmonary valve morphology in light of modern  
catheter ablation methodology**

**Morfologia zastawki pnia płucnego w świetle nowoczesnych  
technik ablacji przezcewnikowych**

*Praca doktorska*

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Mateusz K. Hołda

Pracę wykonano w Katedrze Anatomii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kierownik jednostki: Prof. dr hab. n. med. Jerzy A. Walocha

Kraków, 2022

*Mojemu Promotorowi – Panu prof. dr. hab. n. med. Mateuszowi K. Holdzie dziękuję za życzliwość, wyrozumiałość i za wieloletnie ogromne wsparcie w moim rozwoju naukowym.*

*Gorące podziękowania składam Panu prof. dr. hab. n. med. Jerzemu A. Walosze za umożliwienie realizacji mojej pracy.*

*Pragnę podziękować wszystkim członkom zespołu HEART, jak również koleżankom i kolegom ze Studenckiego Koła Histologicznego, dzięki którym możliwe było zebranie i opracowanie tak obszernego materiału badawczego.*

*Dziękuję również lek. Krzysztofowi Batko za koleżeńską pomoc i konsultacje w kwestiach analiz statystycznych.*

*Pracę dedykuję swojej rodzinie, której nieocenione wsparcie umożliwiło mi szybką realizację własnych celów. Dziękuję w szczególności Rodzicom za wytyczenie ścieżki, którą warto podążać, mojej żonie Katarzynie za wyrozumiałość, cierpliwość i nieustanne wsparcie, oraz Bratu za radę i koleżeńską pomoc.*

## SPIS TREŚCI

1.	Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską	4
2.	Omówienie pracy w języku polskim	5
	Wstęp i uzasadnienie podjętej tematyki	
	Cele pracy	
	Materiały i metody	
	Podsumowanie wyników i wnioski	
	Piśmiennictwo	
3.	Artykuł nr 1	17
	Pulmonary valve morphometry revisited: clinical implications for valvular and supra-valvular interventions. Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel Mateusz K. Hołda. <i>Clinical Anatomy</i> , 2022, doi: 10.1002/ca.23959.	
4.	Artykuł nr 2	38
	Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology. Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J. Lis, Mateusz K. Hołda. <i>Journal of Cardiovascular Electrophysiology</i> , 2021, doi: 10.1111/jce.15125.	
5.	Streszczenie w języku polskim	56
6.	Streszczenie w języku angielskim	57
7.	Oświadczenia współautorów	58

## 1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

Niniejsza rozprawa doktorska pt.: „*Pulmonary valve morphology in light of modern catheter ablation methodology*”, powstała w oparciu o dwa powiązane ze sobą artykuły oryginalne opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie PubMed oraz znajdujących się na liście Journal Citation Reports (Thomson Reuters).

Na pracę doktorską składają się następujące artykuły:

1. Pulmonary valve morphometry revisited: clinical implications for valvular and supra-valvular interventions

Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K. Hołda

Clinical Anatomy, 2022, doi: 10.1002/ca.23959. IF=2,409

2. Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology

Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J. Lis, Mateusz K. Hołda

Journal of Cardiovascular Electrophysiology, 2021, doi: 10.1111/jce.15125. IF=2,942

Dla wymienionych publikacji łączna wartość „Impact factor” według Thomson Reuters Journal Citation Reports na rok publikacji wynosi 5,351 oraz 240 punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki na rok 2021.

Teksty artykułów wraz z tabelami i rycinami zamieszczone są w niniejszej rozprawie w wersjach autorskich, będących w pełni zgodnymi z wersjami ostatecznymi, które ukazały się drukiem w czasopismach.

## 2. Omówienie pracy w języku polskim

### Wstęp i uzasadnienie podjętej tematyki

Wiedza na temat morfometrii struktur zastawki pnia płucnego uznawana była przez dziesięciolecia za mało przydatną klinicznie, szczególnie w kontraście do zastawki aortalnej, ze względu na znacznie większą częstość występowania patologii tej ostatniej (1). Dlatego próżno szukać w literaturze dobrze udokumentowanych informacji na temat charakterystyki morfometrycznej poszczególnych struktur budujących zastawkę pnia płucnego oraz danych dotyczących ich wzajemnych relacji topograficznych. Co więcej, wśród istniejących źródeł naukowych pojawia się wiele sprzecznych informacji prowadzących do błędnych interpretacji podstaw anatomicznych patologii zastawki tętnicy płucnej. Jednym z przykładów takiej sytuacji jest współwystępowanie w literaturze różnych, często wykluczających się definicji dla struktur co do których odnoszone są pomiary w poszczególnych publikacjach. Dotyczy to między innymi pojęć *sinotubular junction* i *ventriculoarterial junction* (2–5).

Postęp jaki dokonał się w ostatnich latach w zakresie postępowania w arytmiami komorowych wywodzących się z drogi odpływu prawej komory u pacjentów z wykluczoną chorobą strukturalną serca znacząco podniósł kliniczną użyteczność opisów anatomicznych regionu zastawki pnia płucnego. Jest to spowodowane najnowszymi wynikami badań sugerującymi większą niż poprzednio przypuszczano częstość występowania źródeł takich arytmii w lokalizacjach ponadzastawkowych, w szczególności w tzw. rękawach mięśniowych zastawki (wypustkach miokardium w strukturę zastawki), co przyniosło za sobą zmianę w metodologii mapowania ognisk arytmii oraz ich ablacji (6–9). Konsekwencją zmiany tego podejścia jest m.in. konieczność precyzyjnego manewrowania „U” kształtnie (ang. *reversed „U” curve*) zakrzywionym cewnikiem naczyniowym w obrębie zatok Valsalvy pnia płucnego. Co istotne, dotychczas opisywane parametry morfometryczne regionu zastawki pnia płucnego nie są użytecznym punktem odniesienia w stosunku do tego typu zabiegów. Większość

doniesień skupiała się bowiem na pomiarze tzw. pierścienia podstawnego (ang. *basal ring*), który jest zwyczajowo stosowanym parametrem opisującym rozmiar zastawki (4,10–12). W swej istocie jest to jednak wymiar podzastawkowy, charakteryzujący możliwie najbardziej proksymalny przekrój pnia płucnego. Należy jednak podkreślić, że wymiary pnia płucnego różnią się znacząco w zależności od wysokości wykonanego przekroju (pomiar bardziej proksymalny - bliżej drogi odpływu vs. pomiar dystalny - bliżej miejsca podziału pnia płucnego).

Znajomość dokładnej anatomii topograficznej regionu zastawki, w tym wzajemnych relacji struktur zastawki oraz samej zastawki do pozostałych elementów układu sercowo-naczyniowego jest szczególnie istotna w aspekcie bezpieczeństwa wykonywanych w tym rejonie zabiegów. Co więcej, zarówno na poziomie makroskopowym, jak i mikroskopowym brakuje wciąż charakterystyki i opisów morfometrycznych tkanek stanowiących substrat arytmii (rękawy mięśniowe) wywodzących się z tego obszaru. Niniejsza praca doktorska ma na celu uzupełnienie tych fundamentalnych i klinicznie istotnych informacji.

## **Cele pracy**

Niniejsza praca doktorska ma na celu:

1. Precyzyjny opis anatomiczny regionu zastawki pnia płucnego, adekwatny w kontekście zabiegów ponadzastawkowych ablacji przezcewnikowych.
2. Ocenę zmienności parametrów morfometrycznych zastawki pnia płucnego wraz z oceną ich zależności od charakterystyki antropometrycznej.
3. Ustalenie częstości występowania i analizę mikroskopową architektury rękawów mięśniowych zastawki pnia płucnego.
4. Weryfikację poprzednich doniesień oraz ustanowienie aktualnych podstaw anatomicznych dla zabiegów przezcewnikowych ablacji w rejonie zastawki pnia płucnego.



## **Materiały i metody**

Badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego numer 10.72.6120.28.2017, 1072.6120.31.2019 oraz 1072.6120.216.201 i zostały przeprowadzone zgodnie z wytycznymi Deklaracji Helsińskiej wraz z jej późniejszymi zmianami.

### ***Materiał badawczy***

Do części makroskopowej badania włączono 182 pni płucnych wraz z zastawkami płucnymi, które wyizolowano z serc ludzkich zabezpieczonych w 10% wodnym roztworze formaldehydu. Następnie materiał autopsyjny został poddany preparatyce i ocenie morfometrycznej. Analizie mikroskopowej poddany został osobny materiał 65 zastawek pni płucnych pobranych z serc ludzkich. Pobrane tkanki zostały poddane wstępnej preparatyce i utrwalone w 10% buforowanej formalinie i z wykorzystaniem rutynowych procedur zatopione w parafinie. W kolejnym kroku preparaty zostały pocięte na seryjne skrawki, które następnie barwiono Trichromem wg. Massona.

Podstawowym kryterium włączenia do badania był wiek donatorów powyżej 18 lat. Dla materiału autopsyjnego czynniki wykluczające z badania obejmowały: ciężkie wady anatomiczne układu sercowo-naczyniowego, operacje w obrębie serca lub przeszczepy serca, uraz serca i makroskopowe oznaki rozkładu zwłok.

### ***Zastosowane narzędzia badawcze***

Makroskopowo struktury anatomiczne zostały opomiarowane przy użyciu elektronicznych suwmiarek z precyzją pomiaru wynoszącą 0.03mm. Dodatkowo, parametry wyrażone w stopniach kątowych zostały zmierzone za pomocą kątomierza (zakres 360 stopni). Wszystkie pomiary były wykonywane dwukrotnie przez różnych badaczy w celu redukcji błędów

pomiarowego. Pomiary mikroskopowe wykonane zostały na skanach całych preparatów wykonanych z wykorzystaniem mikroskopu Olympus IX83 wyposażonego w cyfrową kamerę DP-73 (Olympus, Japonia) współpracującego z oprogramowaniem CellSens Dimension (Olympus, Japonia).

W materiale poddanym analizie makroskopowej oceniono w szczególności:

- średnice pnia płucnego zmierzone w płaszczyźnie łączącej szczyty zatok Valsalvy
- odległości pomiędzy spoidłami zastawki,
- głębokości zatok Valsalvy,
- kąty pomiędzy spoidłami płatków zastawki,
- wysokości płatków zastawki,
- wysokości zatok Valsalvy,
- obecność guzków Arancjusza na poszczególnych płatkach zastawki,
- obecność fenestracji w poszczególnych płatkach zastawki.

W obrazach mikroskopowych określono w szczególności:

- obecność wypustek miokardium prawej komory w strukturę pnia płucnego i jego zastawki,
- wysokości rękawów mięśniowych oraz zbitej tkanki łącznej pokrywającej zatoki Valsalvy,
- grubości tkanki mięśniowej rękawów oraz zbitej tkanki łącznej w różnych punktach zastawki,
- morfologię tkanki mięśniowej oraz tkanki łącznej występujących w zatokach Valsalvy zastawki płucnej oraz zakres występowania tych tkanek w stosunku do wysokości zatok.

### ***Opracowanie statystyczne wyników***

Wszystkie dane zebrane w trakcie oceny materiału autopsyjnego i danych obrazowych zostały wprowadzone do arkusza kalkulacyjnego Microsoft Office Excel (Redmond, WA, USA), a następnie opracowane przy użyciu programu StatSoft Statistica (Tulsa, OK, USA).

Dokładny opis zastosowanych metod badawczych znajduje się w odpowiednich sekcjach poszczególnych artykułów zamieszczonych poniżej (str. 19, str. 40).

## Podsumowanie wyników i wnioski

### *Artykuł nr 1 - Pulmonary valve morphometry revisited: clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*

Pierwsza publikacja przedstawia kompleksową analizę morfologiczną i morfometryczną zastawki pnia płucnego. Największa powierzchnia przekroju zastawki płucnej obserwowana była w płaszczyźnie centrum koaptacji zastawki (płaszczyzna wyznaczona przez najniższe punkty spoidel zastawki) i wynosiła średnio  $626,7 \pm 191,7 \text{ mm}^2$ . Dla płaszczyzny pierścienia podstawnego (*ang. basal ring*) średnia powierzchnia wynosiła  $433,9 \pm 133,6 \text{ mm}^2$ , a dla płaszczyzny łączącej szczyty zatok  $290,0 \pm 110,1 \text{ mm}^2$  ( $p < 0,001$ ). Istotnym aspektem pracy jest uzupełnienie wiedzy anatomicznej na temat przestrzeni ponadzastawkowej tzn. od pierścienia podstawnego do końca dystalnego zastawki pnia płucnego ustanowionej przez *sinotubular junction*. Podkreślić należy, że wartości pola powierzchni przekroju zastawki podane w niniejszej publikacji uwzględniają odmienną geometrię pnia płucnego na poziomie samych zatok Valsalvy. Było to możliwe dzięki wprowadzeniu autorskiego skryptu komputerowego, który na podstawie wprowadzonych wartości pomiarów dopasowywał model geometryczny odwzorowujący rzeczywistą strukturę.

Fenestracje płatków obserwowano w 12,5% analizowanych zastawek. Częstość ich występowania nie różniła się istotnie w zależności od lokalizacji płatka. Tylko w 31,3% przypadków centralny punkt koaptacji płatków zastawki płucnej zlokalizowany był w bezpośrednim pobliżu środka geometrycznego figury opisującej przekrój zastawki w płaszczyźnie centrum koaptacji. Zatoki podobnej wielkości w obrębie pojedynczej zastawki zaobserwowano jedynie w 35,7% analizowanych pni płucnych. W pozostałych przypadkach poszczególne zatoki Valsalvy istotnie różniły się wielkością pomiędzy sobą. Średnia głębokość zatoki wynosiła:  $15,59 \pm 2,91 \text{ mm}$  dla zatoki przedniej lewej,  $16,04 \pm 2,82 \text{ mm}$  dla zatoki tylnej

i  $16,21 \pm 2,81$  mm dla zatoki przedniej prawej. Natomiast średnie wysokości zatok prezentowały się następująco: przednia lewa:  $15,24 \pm 3,10$  mm, tylna:  $19,12 \pm 3,79$  mm, przednia prawa:  $18,59 \pm 4,03$  mm.

Pnie płucne mężczyzn były istotnie większe w każdym wymiarze w porównaniu do tych pochodzących od kobiet. Na potrzeby publikacji wykonano modelowanie statystyczne w oparciu o regresję krokową postępującą, które wykazało, iż parametry antropometryczne mogą być przydatne w próbach szacowania wielkości pnia płucnego w populacji. Najlepiej dopasowany model uzyskano z danych dotyczących geometrii płaszczyzny centrum koaptacji, który na podstawie płci, wieku i masy analizowanego serca wyjaśnia 33,8% zmienności w zakresie pola powierzchni tego przekroju ( $R^2 = 33,8\%$ ). Dla płaszczyzny łączącej szczyty zatok najlepiej dopasowany model zawierał płeć, wiek oraz BSA (ang. *body surface area*) ( $R^2 = 20,5\%$ ), natomiast dla płaszczyzny pierścienia podstawnego znaczenie miała wyłącznie masa serca i płeć ( $R^2 = 17,1\%$ ).

Podsumowując, praca ta wprowadza do piśmiennictwa wiele nowych parametrów morfometrycznych opisujących zastawkę płucną w zakresie obszarów istotnych z punktu widzenia nowoczesnych procedur medycznych, a w szczególności ablacji przezcewnikowych. Praca stanowi pierwsze w literaturze doniesienie, zawierające pomiary przestrzenne poszczególnych zatok zastawki płucnej oraz pomiary pola powierzchni przekroju zastawki uwzględniające różne płaszczyzny przekroju. Badanie pokazało, iż pole powierzchni przekroju zastawki różni się znacząco na przebiegu pnia płucnego, w związku z czym dotychczasowa interpretacja wielkości zastawki wyłącznie w oparciu o jeden wymiar, tzn. pierścień podstawny wydaje się niewystarczająca. Istotny wydaje się również fakt, iż zatoki które w zastawkach półksiężycowatych są często interpretowane jako struktury równych wymiarów w obrębie jednej zastawki, w praktyce często znacząco różnią się swoimi wymiarami. Publikacja

weryfikuje także zasadność szacowania rozmiaru zastawki na podstawie danych antropometrycznych. W szczególności, warto tu zwrócić uwagę na fakt, iż poza płcią to wiek, a nie jak przyjmowano dotychczas BSA, w największym stopniu tłumaczy zmienność w rozmiarach zastawki pomiędzy osobami.

Wyniki uzupełnią istniejące luki informacyjne w literaturze i stanowią nowy punkt odniesienia dla badań z zakresu nauk klinicznych, oraz dla badań symulacyjnych z użyciem syntetycznych, bądź zdigitalizowanych modeli zastawek.

***Artykuł nr 2 - Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology***

W drugiej części badania skupiono się na mikroskopowej analizie zastawki płucnej, a w szczególności tkanek wchodzących w skład ścian zatok Valsalvy. Celem badania była analiza tzw. rękawów mięśniowych (ang. *myocardial extensions*), stanowiących wypustki miokardium prawej komory w pierścień zastawki, czyli ponad linie przyczepów płatków do ścian zatok. Obecność rękawów mięśniowych we wszystkich zatokach zastawki płucnej została zaobserwowana w 69,2% analizowanych preparatów. W 26% przypadków jedna z zatok pozbawiona była miokardium, a w 4,6% dwie z zatok były wolne od wypustek. W każdym badanym preparacie przynajmniej jedna z trzech zatok posiadała więc rękaw mięśniowy.

Samo położenie zatoki nie było powiązane z obecnością w niej rękawa mięśniowego ( $p=0,699$ ). Rękawy były obecne w 86,2% zatok przednich lewych, 89,2% zatok przednich prawych i 90,7% zatok tylnych. Średnia wysokość rękawa wynosiła  $4,12 \pm 1,7$  mm dla zatoki przedniej lewej,  $3,69 \pm 1,47$  mm dla zatoki przedniej prawej i  $4,28 \pm 1,73$  mm dla zatoki tylnej ( $p=0,137$ ). Rękawy mięśniowe zajmowały średnio około  $28,9 \pm 10,4\%$  wysokości zatoki przedniej lewej,  $26,7 \pm 11,2\%$  wysokości zatoki przedniej prawej i  $31,9 \pm 11,3\%$  wysokości zatoki tylnej. Względna długość rękawa mięśniowego w zatoce tylnej była istotnie dłuższa w stosunku do pozostałych zatok ( $p=0,044$ ).

W celu uszczegółowienia opisu struktury mikroskopowej pnia płucnego w publikacji wprowadzone zostało pojęcie przejścia włóknisto-tętniczego (ang. *fibroarterial transition zone*). Charakteryzuje ono obszar, w którym zbita włóknista tkanka łączna wyściełająca zatoki w części proksymalnej przechodzi w typowej budowy naczyniową warstwę środkową (ang. *tunica media*) pnia płucnego. W analizowanym materiale w 33,8% serc rękawy mięśniowe wykraczały poza przejście włóknisto-tętnicze w przynajmniej jednej z zatok, w konsekwencji

znajdując się pomiędzy warstwą środkową a przydanką (ang. *adventitia*) ściany pnia płucnego. Wydłużone rękawy przekraczające przejście włóknisto-tętnicze najczęściej obserwowane były w zatoce tylnej (w 21,5% analizowanych serc,  $p=0,021$ ). W zatokach przednich lewej i prawej wydłużoną mięśniówkę opisano w 10 przypadkach analizowanych serc, po 5 na poszczególną zatokę (7,7%). W artykule zawarto również dokładne pomiary grubości tkanek mięśniowej i włóknistej na przebiegu rękawa mięśniowego.

Podsumowując, publikacja zawiera analizę częstości występowania oraz zmienności parametrów morfometrycznych rękawów mięśniowych w populacji osób bez choroby strukturalnej serca, ustanawiając aktualne podstawy anatomiczne dla zabiegów ponadzastawkowych ablacji przezcewnikowych. Pomimo, iż bezwzględna długość rękawów nie różni się pomiędzy zatokami, względny zakres zajęcia zatoki przez tkankę mięśniową jest największy w zatoce tylnej. Długie rękawy mięśniowe, wykraczające poza przejście włóknisto-mięśniowe obecne są w około 1/3 serc. Należy o tym pamiętać szczególnie w kontekście zabiegów ablacji przezcewnikowych, ponieważ powyżej tego przejścia zmienia się znacząco charakterystyka oraz grubość tkanki znajdującej się ponad mięśniówką. Wyniki zaprezentowanego badania pozwalają lepiej zrozumieć mikroskopową topografię zastawki płucnej, a w szczególności uzupełniają wiedzę na temat budowy ścian i otoczenia zatok Valsalvy.



## Piśmiennictwo

1. Bateman MG, Hill AJ, Quill JL, Iaizzo PA. The clinical anatomy and pathology of the human arterial valves: implications for repair or replacement. *J Cardiovasc Transl Res.* 2013;6(2):166–75.
2. Misfeld M, Sievers HH. Heart valve macro- and microstructure. Vol. 362, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* Royal Society; 2007;1421–36.
3. Anderson RH, Razavi R, Taylor AM. Cardiac anatomy revisited. *J. Anat.* 2004;205(3):159-77.
4. Gami AS, Noheria A, Lachman N, Edwards WD, Friedman PA, Talreja D, et al. Anatomical correlates relevant to ablation above the semilunar valves for the cardiac electrophysiologist: A study of 603 hearts. *J Interv Card Electrophysiol.* 2011;30(1):5–15.
5. Hasdemir C, Aktas S, Govsa F, Aktas EO, Kocak A, Bozkaya YT, et al. Demonstration of Ventricular Myocardial Extensions into the Pulmonary Artery and Aorta Beyond the Ventriculo-Arterial Junction. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2007;30(4):534-9.
6. Tada H, Tadokoro K, Miyaji K, Ito S, Kurosaki K, Kaseno K, et al. Idiopathic ventricular arrhythmias arising from the pulmonary artery: Prevalence, characteristics, and topography of the arrhythmia origin. *Hear Rhythm.* 2008; 5(3):419-26.
7. Sekiguchi Y, Aonuma K, Takahashi A, Yamauchi Y, Hachiya H, Yokoyama Y, et al. Electrocardiographic and electrophysiologic characteristics of ventricular tachycardia originating within the pulmonary artery. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(6):887-95.
8. Liu CF, Cheung JW, Thomas G, Ip JE, Markowitz SM, Lerman BB. Ubiquitous myocardial extensions into the pulmonary artery demonstrated by integrated intracardiac echocardiography and electroanatomic mapping changing the paradigm of idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2014;7(4):691–700.
9. Zhang J, Tang C, Zhang Y, Su X. Pulmonary sinus cusp mapping and ablation: A new concept and approach for idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Hear Rhythm.* 2018;15(1):38–45.
10. Westaby S, Karp RB, Blackstone EH, Bishop SP. Adult Human Valve Dimensions and Their Surgical Significance. *Am J Cardiol.* 1984;53(4):552-6.
11. Capps SB, Elkins RC, Fronk DM. Body surface area as a predictor of aortic and pulmonary valve diameter. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119(5):975–82.
12. Kitzman DW, Scholz DG, Hagen PT, Ilstrup DM, Edwards WD. Age-related changes in normal human hearts during the first 10 decades of life. Part ii (maturity): a quantitative anatomic study of 765 specimens from subjects 20 to 99 Years Old. *Mayo Clin Proc.* 1988;63(2):137–46.

### **3. Artykuł nr 1**

**Pulmonary valve morphometry revisited: clinical implications for  
valvular and supra-valvular interventions**

**Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak,  
Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała,  
Rafał Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K. Hołda**

**Clinical Anatomy**

**2022**

## **Introduction**

The human heart is an organ that has been studied by multiple generations, with first reports dating to as early as 3500 B.C. Even in the modern era, structural and functional understanding of the cardiac muscle is still incomplete (Loukas et al., 2016; Roberts et al., 2019). Over the past decades, creating a thorough assessment of the pulmonary valve's (PV's) geometry and morphology received little interest compared to similar efforts in the aortic valve (Bateman et al., 2013). This is largely due to how acquired PV diseases are much less frequent, with a significantly lower impact on the population's health (Iung and Vahanian, 2011). Most PV disorders requiring surgical interventions are derived from congenital anomalies or develop as sequelae of the surgical corrections for them (Fitzgerald and Lim, 2011). Consequently, there are few morphological studies with detailed geometrical descriptions of the pulmonary root. Existing knowledge is based on historical studies, with a focus on limited morphometric parameters relevant to valve replacement surgeries (Westaby et al., 1984; Kitzman et al., 1988; Capps et al., 2000).

However, the PV has been gaining increased attention from clinicians (cardiac surgeons and invasive cardiologists). New treatment methods for ventricular arrhythmias from the right ventricular outflow tract (RVOT) are being developed, which involve supra-avalvular microscopic and macroscopic levels, allowing for better understanding of PV pathology as well as more accurate treatment and interventions. Recently Anderson et al. addressed misunderstandings growing in past years around the subject of the anatomy of the arterial roots, highlighting how their intricate spatial complexity can be confusing to clinicians (Anderson et al., 2019). This prompted us to revisit the topic of PV morphology, with a complete anatomical description of this region for clinicians who perform procedures. In this cadaver-based study, we present a novel approach to valvular anatomy, morphometry, and geometry to offer comprehensive information on PV anatomy. We quantitatively explored untouched topics, such

as the possible existence of size heterogeneity in PV sinuses and the degree of uniformity in age-related size increase.

## **Materials and methods**

### ***Study population***

A total of 182 autopsied human hearts from Caucasian individuals were explored (24.2% females, age:  $47.4 \pm 18.2$  years old, body mass index (BMI):  $26.7 \pm 4.6$  kg/m<sup>2</sup>). Specimens were collected during routine forensic medical autopsies in the Department of Forensic Medicine, Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland. All samples were retrieved with the approval of the Bioethical Committee of the Jagiellonian University in Cracow, Poland (Nos. 10.72.6120.28.2017, 1072.6120.31.2019, and 1072.6120.216.2019) according to the Declaration of Helsinki guidelines.

### ***Dissections and measurements***

Following heart excisions, gross inspections were done to eliminate specimens with visible cardiovascular pathology, past cardiac surgery, previous heart trauma, and macroscopic signs of cadaver decomposition. Hearts were washed and weighed afterwards. Pieces of gauze were placed inside pulmonary trunk and each sinus to keep physiological shape of the pulmonary root to ensure fixation with a closed valve configuration (diastolic). For fixation of samples, a 10% paraformaldehyde solution was used for the maximum time, involving two months preceding measurements.

The structure of PV components was carefully examined by cutting the pulmonary trunk 2-4 mm above the sinotubular junction (STJ) and below the lowest positioned nadir. The nomenclature referring to the anatomical position of PV leaflets was used: the right anterior, the left anterior, and the posterior leaflet. The following definitions were also implemented:

- Pulmonary root: part of the RVOT supporting the PV, limited proximally by the most inferior points of the leaflet attachment line (hinge line) and distally by the STJ;
- Sinotubular junction: visible line where PV sinuses end and tubular configuration of the pulmonary trunk is observed (Figure 1); It is worth noting that the STJ is not a planar structure, it spreads over short vertical distance, limited proximally by the most inferiorly positioned commissure and distally by the most superiorly positioned sinus margin. This anatomical feature is often underappreciated, while it has a direct implication on the estimation of its size.
- Coaptation center – the most superior lying point of coaptation of all three PV leaflets, seen in an intact closed valve (Figure 1, point A);
- Geometric center – point localized on a planar valvular model, found by calculating arithmetic mean position of all points in the figure;
- Coaptation center plane – virtual plane introduced for the comparability of measurements. It is created by most inferiorly lying points within commissures and the coaptation center.
- Leaflet nadir – basal attachment of the leaflet.
- Basal ring – virtual plane transecting every leaflet nadir.
- Tubular plane – a virtual plane introduced for the comparability of measurements. It is transecting the most superiorly positioned points within the sinuses, thus constituting the smallest possible area measured within space enclosed by the STJ.

After leaflet identification, measurements were collected from the specimens:

- Pulmonary root diameter (long and short axis), measured within the tubular plane,
- Sinus depth – the distance between the free margin of the leaflet to the sinus wall, measured in an intact valve in a closed state from the coaptation center, to the center of the sinus wall within the coaptation center plane (Figure 1, line B);

- Intercommissural distance – the shortest distance between two valvular commissures, as seen in an intact valve, measured within the coaptation center plane (Figure 1, line C);
- Intercommissural angle – there is a vertex in the coaptation center, where the sides are segments ending at two adjacent commissures, measured within the coaptation center plane (Figure 1, D);
- Sinus height – distance measured from the leaflet nadir, perpendicular to the tubular plane (Figure 1, line E);
- Geometric height – distance measured from the leaflet nadir, perpendicular to the central part of its free margin (Figure 1, line F);
- Basal ring perimeter – a sum of distances measured between each leaflet nadir, obtained on a flat laid valve (Figure 1, line G);

To collect geometric and sinus heights, as well as the basal ring perimeter, an incision was made perpendicular to the pulmonary root at the level of the commissure between the left anterior and right anterior sinuses. In this step, the presence of leaflet fenestrations and nodules of Arantius were also noted for each individual sinus.

All linear measurements were used 0.03 mm precision YATO electronic calipers (YT-7201), while angles were measured with a 360-degree protractor aligned setup in the PV coaptation center. Measurements were performed by two independent researchers to reduce potential bias. If measurement differences between them exceeded 10%, each was repeated. The mean of the two values was approximated to a tenth of a decimal place.

### ***Geometric model and calculations***

Area and perimeter of the pulmonary root's cross-section at the tubular plane are calculated by approximating the PV planar shape to an ellipse. Basal ring diameter and area are derived from the measured circumference value, with basal ring dimensions as circularized – similar to the established valve measurement approach. Total area and perimeter of the valve were calculated using specifically designed python script. The script considers valve to be planar at the coaptation center plane (Figure 2) and reconstructs valve geometry from the measured parameters (intercommissural distances, intercommissural angles, and sinus depths) in following steps. First, coordinates of the commissures (points L, M, and N) are calculated from known intercommissural distances (LM, LN, and MN). Second, a coaptation center (point A) is found using known intercommissural angles ( $\angle LAN$ ,  $\angle LAM$ , and  $\angle MAN$ ). Point A is linearly scanned in two dimensions of the valve plane with 0.1 mm precision and angles  $\angle LAN$ ,  $\angle LAM$ , and  $\angle MAN$  are calculated in every scanned point. Then, point in which these calculated angles best match measured intercommissural angles is selected as the coaptation center. Third, points P, R, and Q are placed on the perpendicular bisectors of segments LM, LN, and MN, respectively, using the known sinus depth dimensions (AP, AQ, and AR). Finally, three arcs, representing sinus walls, are built on points L, P, M, points M, Q, N, and points L, R, N. The resulting reconstructed valve geometry was then used for the statistical analysis: (i) total perimeter of the valve at the coaptation center was calculated as the sum of arcs (sinus walls) lengths; (ii) total area of the valve at the coaptation center was calculated as the sum of sinus areas (red, green, and blue areas on Figure 2).

### ***Statistical analysis***

The variables were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) or median with lower-upper quartile range, depending on type and normality of distribution. The statistical analysis

included the Student t-test or Mann-Whitney U test with repeated measures of ANOVA or the Kruskal-Wallis test followed by Tukey's or Dunn's post hoc analysis. Correlations between variables were analyzed by either Pearson or Spearman, depending on type and normality of distribution, with  $r > 0.25$  considered significant. To further explore the relationship between valvular size and anthropometric characteristics, we adopted a multiple forward stepwise regression model. Prior to this, some variables were log-transformed due to right-skewed distributions (as appropriate). All available anthropometric variables were adopted for the model-building process. In the case where multiple variables were part of a single class [e.g., parameters describing body size, BMI, and body surface area (BSA)], the variable with the highest  $r$  correlation statistic was chosen. Model assumptions of multicollinearity were assessed. Statistical analyses used Statgraphics Centurion 19 (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA). All tests were two-tailed, with  $p < 0.05$  was statistically significant.

## **Results**

### ***PV morphometry and geometry***

All examined hearts show a three leaflet PV configuration. We demonstrate that pulmonary root size was established at three levels: the tubular plane, the coaptation center plane, and the basal ring. The largest root perimeter was seen for coaptation center plane ( $97.9 \pm 16.2$  mm), followed by basal ring ( $73.6 \pm 10.9$  mm), and tubular plane ( $59.8 \pm 11.5$  mm) ( $p < 0.001$ ). This trend was observed for the cross-section area size of the pulmonary root (coaptation center plane:  $626.7 \pm 191.7$  mm<sup>2</sup> vs. basal ring:  $433.9 \pm 133.6$  mm<sup>2</sup> vs. tubular plane:  $290.0 \pm 110.1$  mm<sup>2</sup>,  $p < 0.001$ ).

All acquired parameters for each sinus and leaflet are presented in Table 1. A significant difference was revealed between some sinuses and their perimeters (Table 1,  $p < 0.001$ ), but not in area (Table 1,  $p = 0.092$ ). Among other parameters, the intercommissural angle shows



significant heterogeneity, as it is significantly smaller in the posterior sinus than in both anterior sinuses (Table 1,  $p < 0.001$ ). Similar heterogeneity was shown in the presence of nodules of Arantius in certain leaflets (occurring less frequently in the posterior leaflet, Table 1,  $p = 0.002$ ). In all leaflets, fenestrations are noted, and occur in 12.5% of examined PVs (Figure 3).

The geometrical model was examined to establish the relation between localization of the PV geometric and coaptation center. Only in 31.3% of PVs, the coaptation center is located in a close vicinity (up to 3 mm radius) of the PV geometric center. The relationships between respective sinus areas in a single valve were explored, with similar-sized sinuses found in 35.7% of hearts. In 22.5% of cases, one sinus was clearly dominant in terms of area ( $> 50\%$  larger area than the other two sinuses), while in 23.1% of PVs, one sinus was significantly smaller ( $> 50\%$  smaller area size) vs. the other two. In both groups, two remaining sinuses were similar in size, without any significant indication about which of the three (left anterior, right anterior, or posterior) was dominant. In 18.7% of cases, significant heterogeneity was seen in every sinus differing from others by  $> 30\%$  in area size.

#### ***PV size in relation to anthropometric data***

Significant sex-related differences may be found in PV morphometry. For males, the mean pulmonary root perimeters and areas were significantly larger than those for females for all levels of measurement (basal ring area:  $456.2 \pm 125.1$  vs.  $377.7 \pm 122.0$  mm<sup>2</sup>,  $p = 0.004$ ; coaptation center plane area:  $656.6 \pm 194.8$  vs.  $532.8 \pm 148.2$  mm<sup>2</sup>,  $p = 0.004$ ; and the tubular plane area:  $304.9 \pm 114.3$  vs.  $246.8 \pm 86.61$  mm<sup>2</sup>,  $p = 0.003$ ). Among the measured sinuses/leaflets parameters, sinus depth and height was significantly larger in males ( $16.4 \pm 2.4$  vs.  $14.7 \pm 2.7$  mm,  $p < 0.001$  and  $19.4 \pm 3.3$  vs.  $17.6 \pm 2.7$  mm,  $p < 0.001$ , respectively). Age was positively correlated with perimeters and areas for the coaptation center plane and the tubular plane (area:  $r = 0.41$ ,  $p < 0.001$  and  $r = 0.33$ ,  $p < 0.001$ , respectively), but not for the basal ring level (area:  $r = 0.14$ ,  $p = 0.107$ ). Positive correlations with all pulmonary root

dimensions were noted for heart weight (basal ring level area:  $r = 0.43$ ,  $p < 0.001$ ; coaptation center plane area:  $r = 0.37$ ,  $p < 0.001$ ; and tubular plane area:  $r = 0.34$ ,  $p < 0.001$ ). Dimensions at the basal ring level were positively correlated with the BSA ( $r = 0.22$ ,  $p = 0.013$ ). No significant differences or correlations were found between donor anthropometric features (sex, age, body weight, height, BMI, and BSA) and PV parameters (dimensions, fenestrations, and nodules of Arantius).

We adopted a multiple forward stepwise regression model to describe the extent of variability in valve sizes with simple anthropometric parameters. The cross-section areas measured at each pulmonary root level were chosen as explanatory variables for models due to their high correlation coefficients with anthropometric variables and their universal potential as representations of valve size. Anthropometric variables turned out to be most useful in predicting the coaptation center plane area (sex, age, and heart weight;  $R^2 = 33.8\%$ ). Best model fit for area at the tubular plane included sex, age, and BSA ( $R^2 = 20.5\%$ ), while for the basal ring level, only heart weight and sex were included ( $R^2 = 17.1\%$ ) (Table 2).

## **Discussion**

The PV in the vast majority of cases consists of three semilunar leaflets fixed to the walls of the pulmonary root through a crown-shaped fibrous annulus; however, PVs with only two, or more than three leaflets, may also exist (Solewski et al., 2020). The pulmonary annulus is not a well-defined structure for macroscopic identification (Misfeld and Sievers, 2007; Wang et al., 2019). Thin layers of tight collagenous tissue, constituting the leaflet insertion line (hinge line), can be discerned in a microscopic examination (Lis et al., 2021). The geometry of the valve is largely defined by spatial arrangement of its fibrous annulus. Researchers and clinicians use one planar parameter to describe semilunar valve size – the diameter (Kouchoukos et al., 2013). The parametrization of other PV dimensions and its shape is not used in clinical practice.

From this view, it is universally accepted that PV diameter refers to the size of the “virtual” pulmonary annulus, also named the basal ring (Westaby et al., 1984; Curran et al., 2020). Similar to the aortic valve, the basal ring is a structure that can be artificially visualized through heart imaging modalities (i.e., echocardiography, magnetic resonance imaging, and computed tomography (CT)) (Pignatelli et al., 2017). It is critical to understand the difference between the “true” fibrous annulus, which is a complex spatial structure running along the leaflet hinge line, and the “virtual” annulus (basal ring), which is a planar representation of the most inferior portion of the valvular orifice (Figure 4A). Within the native PV, the “virtual” annulus may be identified by creating a subvalvular cross-section of RVOT that transects basal attachments of the leaflets (Anderson et al., 2004).

Despite this, the “virtual” annulus has a major clinical application, as it is feasible to predict the required artificial valve prosthesis diameter before PV replacement surgery, based on basal ring size (Curran et al., 2020). As such, almost all existing reports focus on the basal ring dimension analysis (Westaby et al., 1984; Kitzman et al., 1988). It is vital to realize that one-parameter analysis does not provide a realistic geometric valve description for more complex procedures (supralvalvular transcatheter interventions and ablations) or those requiring knowledge of individual sinus/leaflet morphology. Our study delivers two novel parameters for PV quantification: tubular plane and coaptation center plane areas. Both planes may be identified through means of medical imaging, e.g., by cardiac computed tomography. These measurements were not previously introduced in the literature. To enhance clinical applicability of the study we attempted to project them onto computed tomography angiography images (Figure 4). Our study shows the structural complexity of the pulmonary root at different levels, which undermines the legitimacy of using only one parameter to define PV size. To our knowledge, this is the first study to provide PV dimensions at the coaptation center level. Described parameters constitute a necessary point of reference for clinicians performing

ablations in the pulmonary valve, with the “reversed U curve” technique, as its implementation requires insertion of the catheter through the RVOT above the coaptation center, for the tip to move between sinuses (Liao et al., 2015).

The current study provides unique and complex geometric analyses of individual PV sinuses (Table 1). We show that uniformly sized sinuses are rare (35.7%). This is important, as PV sinuses are perceived to be uniform in size. One could become deceived trying to interpret in which sinus the catheter tip is located, looking at fluoroscopic views, which are not well-suited for identification of PV anatomic landmarks (Liu et al., 2014; Zhang et al., 2018). This observation is significant for valve function simulations, as only models with uniformly sized leaflets and sinuses are appraised (Shen et al., 2018; Hussein et al., 2020).

The possibility of valve size prediction based on patients’ morphometric data was investigated in other studies (Westaby et al., 1984; Kitzman et al., 1988; Capps et al., 2000). Radically different conclusions can be drawn from these papers. Capps et al. stated that the BSA is the most important factor affecting valve size, and that up to 84% of size variability is explained by the patient’s size (Capps et al., 2000). To the contrary, Westaby et al. found a weak correlation of valve size with the BSA. Yet, in that paper, age was seen as a fundamental parameter for 25% of variability from patient to patient. Since all previous studies analyzed only the basal ring diameter, these results encouraged the investigation of similar relationships for different PV levels. Anthropometric factors affecting dimensions of the PV depend on the analyzed cross-sectional area (Table 2). Sex (male) is the strongest predictor of larger size of the pulmonary root at all levels. On the other hand, we show that dimensions at the level of the basal ring, in contrast to other levels, are not positively correlated with the donor’s age. It is interesting that among all analyzed levels, the basal ring area size is the least predictable based on anthropometric factors, which moves this indicator away from the preferred one.

Fenestrations in PV leaflets had rarely been investigated in the literature, as they are thought to be clinically irrelevant, apart from the fact that they make the valve unsuitable for the Ross procedure (Misfeld and Sievers, 2007). In the context of new procedures targeted to the PV, one can imagine the possibility of tearing the fenestrated leaflet during transcatheter interventions, or primarily ablations. Thus, clinicians performing such procedures should be aware of their prevalence (12.5%) and location of these structures (leaflet-free margin in the commissural region).

The main limitation of this study is that it was performed on autopsied material preserved in paraformaldehyde solution. However, our previous studies demonstrate that using paraformaldehyde fixation did not cause major changes in cardiac dimensions (Hołda et al., 2016, 2018). Additionally, as the autopsied material was analyzed, we were unable to evaluate the behavior and dimensional changes of PV components in the cardiac cycle. Only hearts from healthy donors were investigated, so current results may be invalid to patients with PV disease. Despite this, we believe we can provide more insight into the morphometrical analysis of the PV.

## **Conclusion**

The PV has a complex morphology that should be analyzed in a multiplanar way. The largest pulmonary root area is observed at the coaptation center plane, followed by the basal ring level and the tubular plane. The PV geometric center usually does not overlap the valve coaptation center. Significant heterogeneity is observed in sinus and leaflet sizes within and between valves. Anthropometric variables may be used to predict pulmonary root dimensions. The degree of PV size variability is possible to predict, based on these variables, depending on the location of the plane used as the size reference: that is, it is highest for the coaptation center plane and lowest for the basal ring.

## References

- Anderson RH, Mohun TJ, Sánchez-Quintana D, Mori S, Spicer DE, Cheung JW, Lerman BB. 2019. The anatomic substrates for outflow tract arrhythmias. *Hear Rhythm* 16:290–297.
- Anderson RH, Razavi R, Taylor AM. 2004. Cardiac anatomy revisited. *J Anat* 205:159-77.
- Bateman MG, Hill AJ, Quill JL, Iaizzo PA. 2013. The clinical anatomy and pathology of the human arterial valves: Implications for repair or replacement. *J Cardiovasc Transl Res* 6:166–175.
- Capps SB, Elkins RC, Fronk DM. 2000. Body surface area as a predictor of aortic and pulmonary valve diameter. *J Thorac Cardiovasc Surg* 119:975–982.
- Curran L, Agrawal H, Kallianos K, Kheiwa A, Lin S, Ordovas K, Mahadevan VS. 2020a. Computed tomography guided sizing for transcatheter pulmonary valve replacement. *Int J Cardiol Hear Vasc* 29.
- Fitzgerald KP, Lim MJ. 2011. The Pulmonary Valve. *Cardiol Clin* 29:223–227.
- Hołda MK, Hołda J, Koziej M, Tyrak K, Klimek-Piotrowska W. 2018. The influence of fixation on the cardiac tissue in a 1-year observation of swine hearts. *J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol* 47:501–509.
- Hołda MK, Klimek-Piotrowska W, Koziej M, Piątek K, Hołda J. 2016. Influence of different fixation protocols on the preservation and dimensions of cardiac tissue. *J Anat* 229:334–340.
- Hussein N, Voyer-Nguyen P, Portnoy S, Peel B, Schrauben E, Macgowan C, Yoo S-J. 2020. Simulation of semilunar valve function: computer-aided design, 3D printing and flow assessment with MR. *3D Print Med* 6.
- Iung B, Vahanian A. 2011. Epidemiology of valvular heart disease in the adult. *Nat Rev Cardiol* 8:162–172.
- Kitzman DW, Scholz DG, Hagen PT, Ilstrup DM, Edwards WD. 1988. Age-Related Changes in Normal Human Hearts During the First 10 Decades of Life. Part II (Maturity): A Quantitative Anatomic Study of 765 Specimens From Subjects 20 to 99 Years Old. *Mayo Clin Proc* 63:137–146.
- Liao Z, Zhan X, Wu S, Xue Y, Fang X, Liao H, Deng H, Liang Y, Wei W, Liu Y, Ouyang F.

2015. Idiopathic Ventricular Arrhythmias Originating from the Pulmonary Sinus Cusp Prevalence, Electrocardiographic/Electrophysiological Characteristics, and Catheter Ablation. *J Am Coll Cardiol* 66:2633–2644.

Lis M, Solewski B, Chrzanowski J, Dudkiewicz D, Strona M, Jasińska KA, Wiater J, Wartalski K, Lis GJ, Hołda MK. 2021. Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology. *J Cardiovasc Electrophysiol* 32:2269–2274.

Liu CF, Cheung JW, Thomas G, Ip JE, Markowitz SM, Lerman BB. 2014. Ubiquitous myocardial extensions into the pulmonary artery demonstrated by integrated intracardiac echocardiography and electroanatomic mapping changing the paradigm of idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Circ Arrhythmia Electrophysiol* 7:691–700.

Loukas M, Youssef P, Gielecki J, Walocha J, Natsis K, Tubbs RS. 2016. History of cardiac anatomy: a comprehensive review from the Egyptians to today. *Clin Anat* 29:270–284.

Misfeld M, Sievers HH. 2007. Heart valve macro- and microstructure. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 362:1421–1436.

Kirklin J, Blackstone E; Anatomy, dimensions, and terminology. In: Kouchoukos N. T, Blackstone E. H, Hanley F. L, MD Kirklin J.K. *Cardiac Surgery*, 4th Edition.; New York, Saunders 2013 p. 3-60.

Pignatelli RH, Noel C, Reddy SCB. 2017. Imaging of the pulmonary valve in the adults. *Curr Opin Cardiol* 32:529–540.

Roberts W, Salandy S, Mandal G, Holda MK, Tomaszewski KA, Gielecki J, Tubbs RS, Loukas M. 2019. Across the centuries: Piecing together the anatomy of the heart. *Transl Res Anat* 17:100051.

Shen X, Bai L, Cai L, Cao X. 2018. A geometric model for the human pulmonary valve in its fully open case. *PLoS One* 13.

Solewski B, Lis M, Chrzanowski J, Wolska J, Jasińska M, Bolechała F, Hołda MK, Lis GJ. 2020. Quadricuspid pulmonary valve: macroscopic and microscopic morphometric examination. *Surg Radiol Anat* 42:385–389.

Wang JMH, Rai R, Carrasco M, Sam-Odusina T, Salandy S, Gielecki J, Zurada A, Loukas M.

2019. An anatomical review of the right ventricle. *Transl Res Anat* 17:100049.

Westaby S, Karp RB, Blackstone EH, Bishop SP. 1984. Adult human valve dimensions and their surgical significance. *The American journal of cardiology*.

Zhang J, Tang C, Zhang Y, Su X. 2018. Pulmonary sinus cusp mapping and ablation: A new concept and approach for idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Hear Rhythm* 15:38–45.



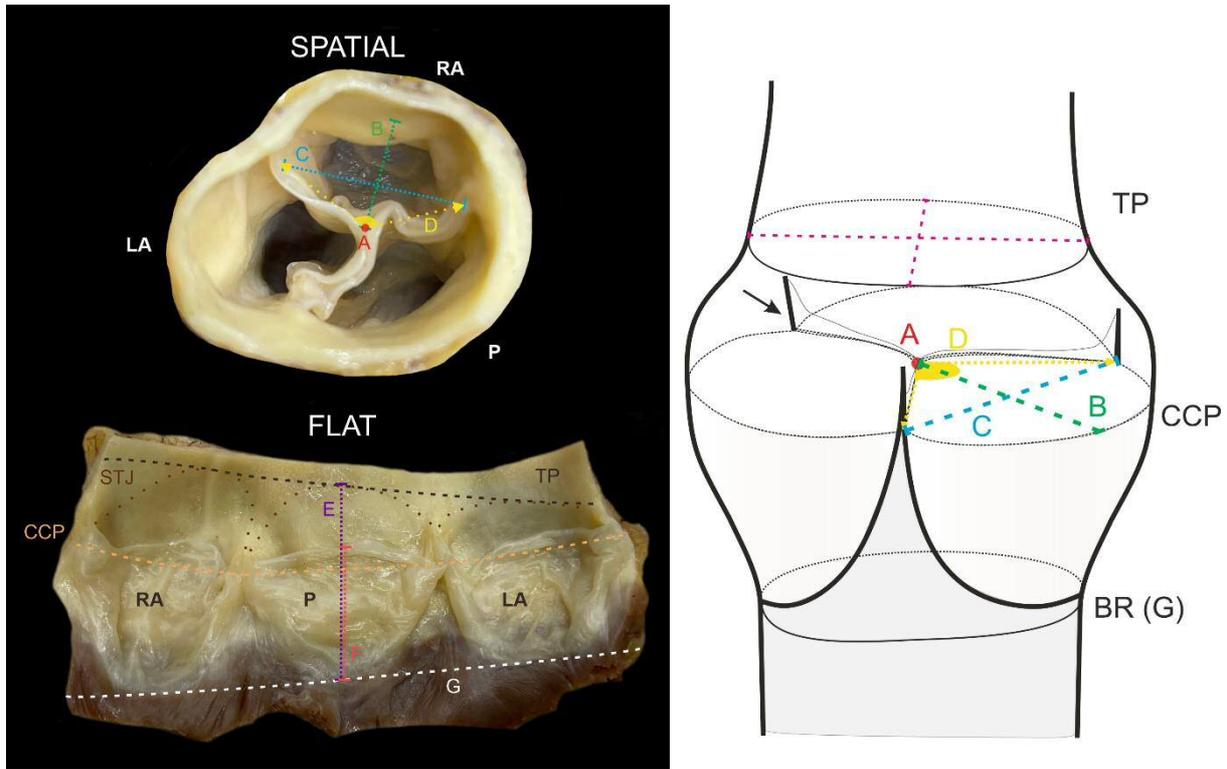


Figure 1. Left side – Views of the pulmonary valves with indicated measurement sites. Right side – Schematic drawing of the pulmonary root presenting three planes along which measurements were made. A – coaptation center, B – sinus depth, C – intercommissural distance, D – intercommissural angle, E – sinus height, F – geometric height. G – basal ring length LA – left anterior, P – posterior, RA – right anterior, STJ- sinotubular junction, TP – tubular plane, CCP – coaptation center plane, BR – basal ring. Black arrow is pointing on the part of the commissure which extends above the coaptation center plane.

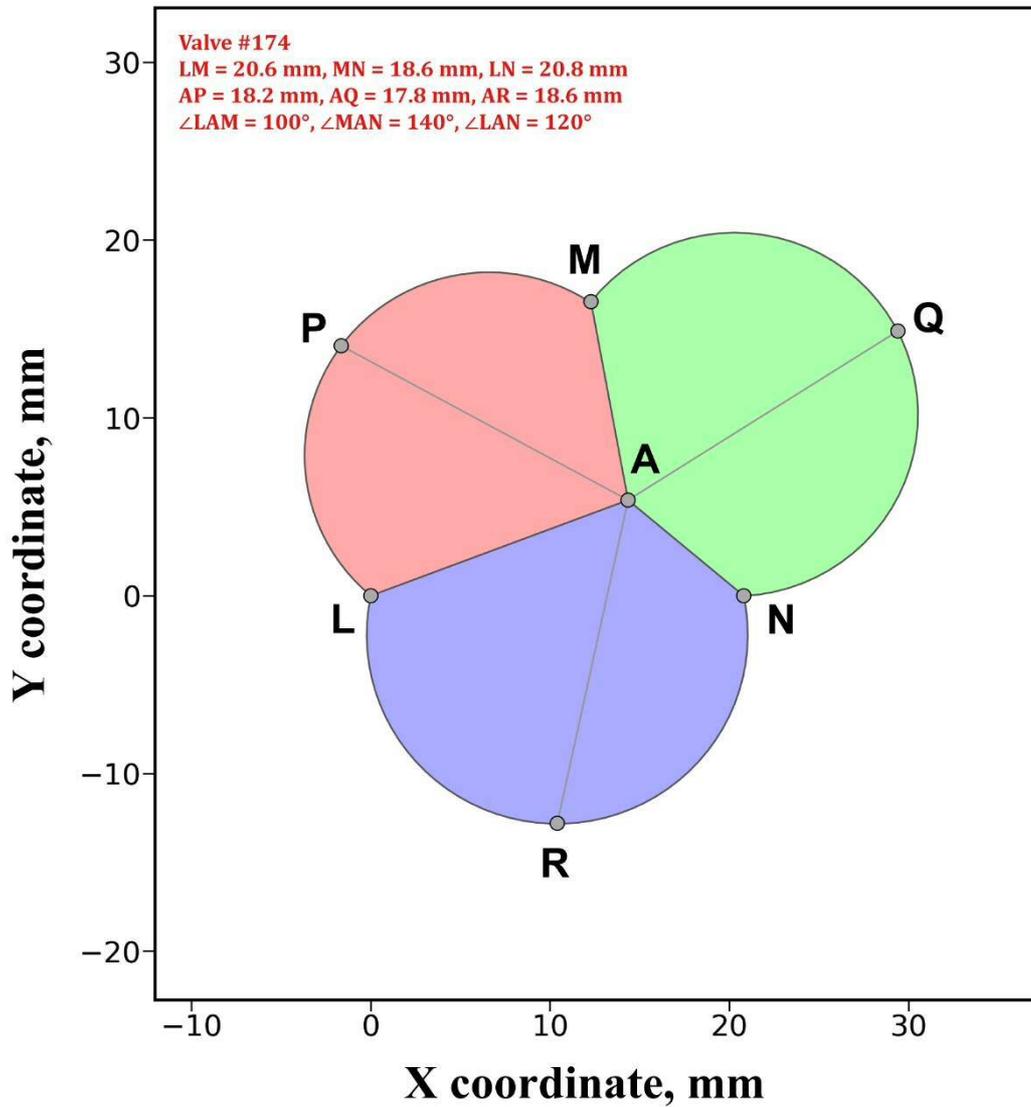


Figure 2. Example of pulmonary valve geometry calculations (modeled from measured parameters). Red, green, and blue areas represent calculated sinus areas. LA – left anterior, P – posterior, RA – right anterior.

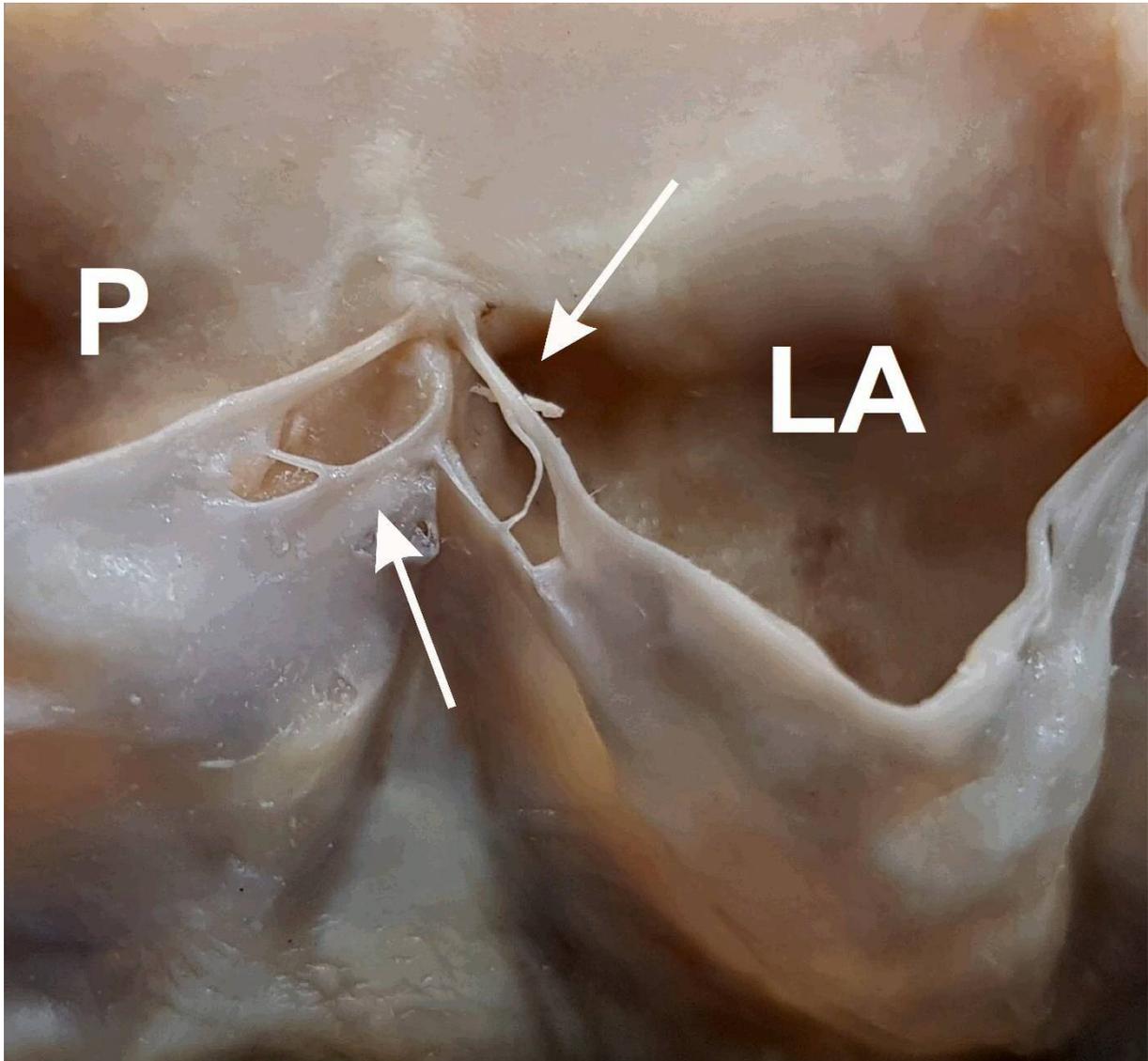


Figure 3. Photograph of cadaveric heart specimen as an example of pulmonary valve leaflet fenestrations (arrows). LA – left anterior, P – posterior.

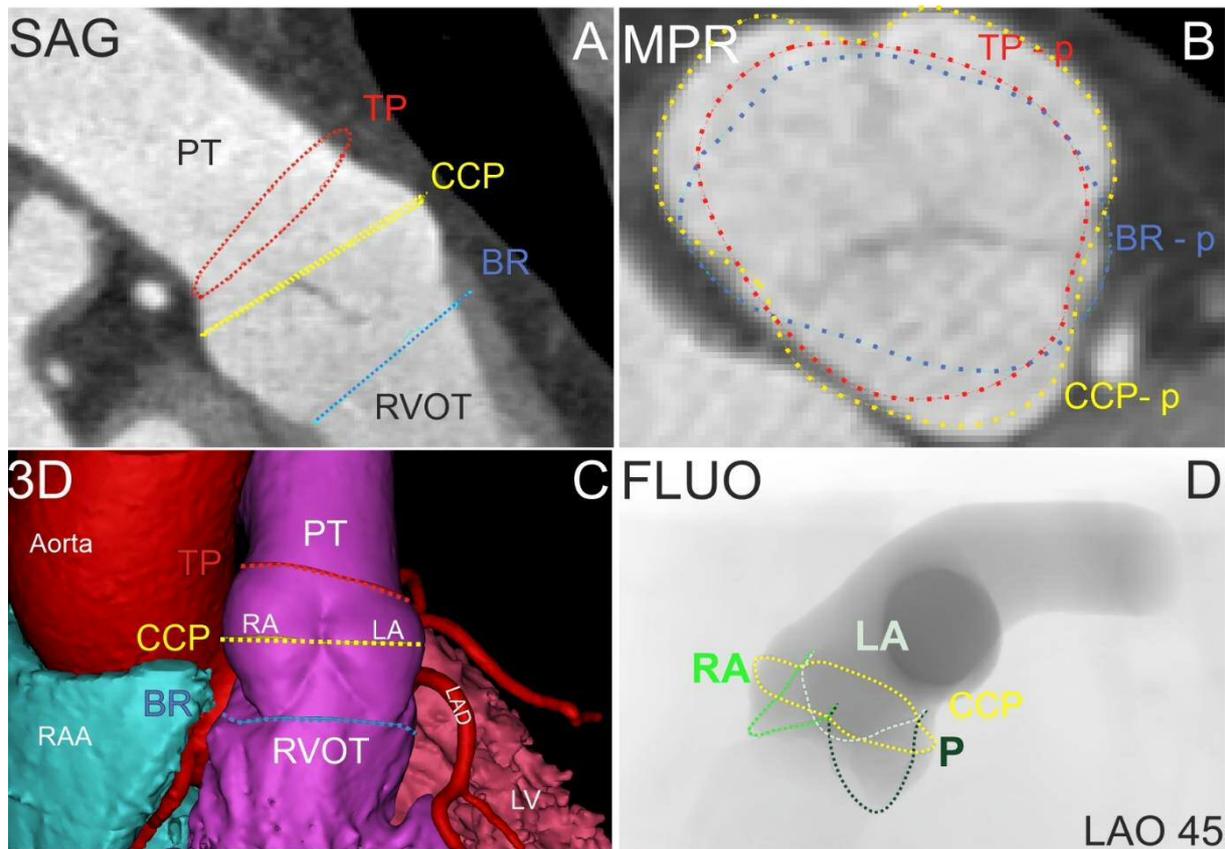


Figure 4. Pulmonary root dimensions projected on computed tomography angiography images (end-diastolic phase). (A) sagittal view of the right ventricular outflow track (RVOT), the pulmonary root and pulmonary trunk (PT) with marked pulmonary root dimensions at the level of the basal ring (BR), coaptation center plane (CCP), and the tubular plane (TP). (B) multiplanar reconstruction of the pulmonary root tailored to the position of the basal ring, with a section of one slice proximally to the location of the coaptation center. Dotted lines represent linear projections (marked as “- p”) of proximally and distally localized planes: TP, BR and CCP. (C) 3D blood pool reconstruction of the investigated region. RA – right anterior, LA – left anterior. RAA – right atrial appendage, LAD – left anterior descending artery. (D) fluoroscopic view reconstructed from the 3D model, supravascular injection of contrast agent is simulated (left anterior oblique 45° and cranial 0° angle view). Planar projection of the true annulus and corresponding pulmonary valve area of the coaptation center plane.

Mimics Innovation Suite 22; Materialise, Plymouth, MI, USA.

Table 1. Results of measurements and observations performed for all pulmonary valve leaflets/sinuses (mean  $\pm$  SD [min-max range]). Medians (Q1- Q3) are additionally provided for parameters with non-gaussian distribution.

Parameter	left anterior leaflet/sinus	posterior leaflet/sinus	right anterior leaflet/sinus	p-value
Sinus area at coaptation center level (mm <sup>2</sup> )	202.6 $\pm$ 73.99 [52.48 - 445.1] 191.0 (143.1 - 244.5)	203.3 $\pm$ 77.17 [74.59 - 477.9] 186.0 (146.4 - 245.3)	220.8 $\pm$ 87.73 [85.39 - 583.6] 202.9 (163.0-259.3)	0.092
Perimeter at coaptation center level (mm)	32.29 $\pm$ 8.63 [16.63 - 58.39]	30.92 $\pm$ 8.64 [14.17 - 57.11]	34.67 $\pm$ 8.92 [15.46 - 66.36]	< 0.001
Sinus depth (mm)	15.59 $\pm$ 2.91 [7.00 - 24.60]	16.04 $\pm$ 2.82 [10.40 - 23.00]	16.21 $\pm$ 2.81 [9.70 - 26.50]	0.074
Intercommissural distance (mm)	17.36 $\pm$ 4.25 [8.80 - 32.60] 17.10 (14.25 - 19.50)	17.62 $\pm$ 3.61 [10.40 - 29.90] 17.15 (15.00 - 19.60)	17.21 $\pm$ 4.37 [6.70 - 32.10] 16.60 (14.30 - 19.23)	0.348
Intercommissural angle (°)	124.5 $\pm$ 36.22 [20.00 - 220.0]	110.5 $\pm$ 28.52 [30.00 - 210.0]	125.1 $\pm$ 32.60 [50.00 - 220.0]	< 0.001
Geometric height (mm)	15.24 $\pm$ 3.10 [8.10 - 24.30]	15.69 $\pm$ 3.38 [8.10 - 24.40]	15.49 $\pm$ 2.79 [8.80 - 21.70]	0.375
Sinus height (mm)	19.20 $\pm$ 3.59 [10.20 - 29.70]	19.12 $\pm$ 3.79 [10.50 - 28.10]	18.59 $\pm$ 4.03 [9.10 - 32.00]	0.298
Presence of Arantii nodules (%)	85.16% (155/182)	72.53% (132/182)	85.16% (155/182)	0.002
Presence of fenestrations (%)	13.74% (25/182)	14.29% (26/182)	9.34% (17/182)	0.293

p-values calculated for comparisons between sinuses.

Table 2. Multiple forward stepwise selection models describing relationship between anthropometric features and area size of pulmonary root cross-sections at three analyzed levels.

Dependent variable – log (coaptation center plane area)				
R <sup>2</sup> = 33.77%				
Model variables:	Coefficient	Standard error	T statistic	p
Constant	5.65	0.09	61.83	< 0.001
Sex	0.21	0.05	4.53	< 0.001
Age	6.98 x 10 <sup>-3</sup>	1.09 x 10 <sup>-3</sup>	6.43	< 0.001
Heart weight	5.94 x 10 <sup>-4</sup>	2.2 x 10 <sup>-4</sup>	2.7	0.008
Dependent variable – sqrt (tubular plane area)				
R <sup>2</sup> = 20.49%				
Model variables:	Coefficient	Standard error	T statistic	p
Constant	6.73	2.25	2.99	0.003
Sex	1.42	0.57	2.51	0.013
Age	0.07	0.01	5.88	< 0.001
BSA	3.09	1.22	2.53	0.012
Dependent variable – basal ring area				
R <sup>2</sup> = 17.07%				
Model variables:	Coefficient	Standard error	T statistic	p
Constant	220.33	48.46	4.55	< 0.001
Heart weight	0.42	0.12	3.56	< 0.001
Sex	53.68	25.24	2.13	0.036

#### **4. Artykuł nr 2**

**Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve  
in light of modern catheter ablation methodology**

**Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz,  
Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski,  
Grzegorz J. Lis, Mateusz K. Holda**

**Journal of Cardiovascular Electrophysiology**

**2021**

## Introduction

In patients with structurally normal hearts, idiopathic ventricular arrhythmias (VAs) arise predominantly from the muscular tissue of the right ventricular outflow tract (RVOT)<sup>1</sup>. Such arrhythmias usually have a benign course and can be effectively managed with catheter ablation due to their focal origin. Previously, it was suggested that such arrhythmias rarely had a supralvalvular origin, and that the prevalence of such instances was anywhere between 4.0 and 24.2%<sup>2-4</sup>. However, recent studies have challenged these results. In a study conducted by Liu et al., 46% of patients with idiopathic ventricular arrhythmias of RVOT origin were successfully treated by ablating areas beyond the pulmonary valve, as visualized by intracardiac echocardiography<sup>5</sup>. Later, Zhang et al. showed that 90% of patients with VAs of RVOT origin were successfully treated with ablations performed within the region of the pulmonary valve sinuses<sup>6</sup>. Moreover, the authors suggested that more challenging mapping and ablation techniques (such as the “reversed U curve” technique) within the pulmonary trunk should be the preferred approach to treating idiopathic RVOT arrhythmias.

The high success rate of treating idiopathic RVOT arrhythmias with supralvalvular ablations will lead to their increased use. In turn, clinicians will have to have a better understanding of the regional anatomy and of the potential locations that can trigger arrhythmias. Most often, the substrates responsible for the arrhythmias are the muscular sleeves (also known as myocardial extensions) derived from the myocardium of the right ventricle infundibulum<sup>5</sup>. To date, only a few studies have been published about the myocardial extensions of the pulmonary valve<sup>5,7,8</sup>. Therefore, the correlative anatomy of the pulmonary root has not been investigated adequately. Many unknowns surround the myocardial extensions – there is even a lack of consensus about their definition and prevalence<sup>7,8</sup>. Therefore, this microanatomical cadaveric study was performed to examine the myocardial extensions of the



pulmonary valve and to provide morphometric descriptions of the individual parts of the pulmonary root and myocardial extensions.

## **Materials and methods**

### ***Study population***

Pulmonary valve specimens were obtained from routine forensic medical autopsies. We analyzed 65 donors of which 24.6% were female. The mean age of all the donors was  $45.9 \pm 15.8$  years. All studied samples were retrieved with the approval of the Jagiellonian University Bioethical Committee (No 1072.6120.31.2019 and 1072.6120.216.2019) and according to the Declaration of Helsinki guidelines. Following the heart excisions, gross inspections were done to eliminate specimens with visible cardiovascular pathologies. Afterwards, the selected samples were washed with saline solution. Cylindrical-shaped specimens were excised from each heart – these were composed of the right ventricle infundibulum, the pulmonary root, and part of the pulmonary trunk. These specimens were subsequently cut into three parts along the commissures separating the cusps. For each sinus, additional longitudinal sections were obtained (see Figure 1). Care was taken to ensure that the location of the cut was at the most inferior part of the cusp attachment.

### ***Tissue processing***

All tissue samples were fixed by immersion for 24 h in 10% neutral buffered formalin. After preservation, samples were dehydrated in a series of alcohols, cleared in xylene, and embedded in paraffin blocks. Samples were cut into 6- $\mu$ m serial sections (using Microtome Biocut 2035; Leica Instruments GmbH, Germany) and mounted on polylysine-coated slides (using Menzel-Glaser; Thermo Scientific, Germany). The sections were deparaffinized, rehydrated, and stained with Masson's Trichrome.

### ***Microscopic examination***

The specimens were examined under a light microscope (Microscope Olympus IX83 Equipped with DP-73 digital CCD camera, Olympus, Japan). High-resolution full specimen scans (under a 10x objective lens) were used as source images. Measurements were taken using CellSens Dimension software (Olympus Japan). For the purpose of this study, we implemented clear operating definitions of various morphometric elements. Below are their descriptions:

- Pulmonary root: part of the RVOT supporting the pulmonary valve, limited proximally by the most inferior points of cusp insertions' and distally by the sino-tubular junction;

- Sinus walls: parts of the pulmonary root bounded proximally by the attachments of the semilunar cusps and distally by the sino-tubular junction;

- Fibro-arterial transition zone: part of the pulmonary root in which the dense fibrous tissue located on the arterial aspect of the sinus wall converts to a three-layered organization (comprised of an intima, media, and adventitia layer);

- Height of the sinus wall: the distance between the cusp insertion and the end of the fibro-arterial transition zone;

- Cusp length: the length from the cusp insertion to its free edge;

- Myocardial extension height: the length from the cusp insertion to the most distant part of the myocardial tissue;

- Myocardial tissue thickness: measured at 3 distinct locations below the fibro-arterial transition zone at the base, middle and apex (see Figure 2).

- Fibrous tissue thickness: measured at 3 distinct locations below the fibro-arterial transition zone at the base, middle and apex (see Figure 2).

All images were assessed by two independent researchers. To avoid bias, the mean from the two measurements was calculated and reported as the final value.

### ***Statistical analysis***

The variables were expressed as a mean  $\pm$  standard deviation (SD). Statistical analyses included the t-Student test, the Mann-Whitney U test, ANOVA test and the Newman-Keuls post hoc analysis. The Pearson test analyzed correlations between continuous variables. Statistical analyses were performed with Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies INC, Warrenton, USA) software. All tests were two-tailed and a p-value of  $< 0.05$  was considered statistically significant.

### **Results**

In 69.2% of examined hearts, the myocardium extended above the cusp insertion in all pulmonary root parts. In 26% of specimens, one of the sinuses lacked extensions, whereas in 4.6% of cases, two sinuses had no myocardium extending above the valve annulus (see Figure 3). Myocardial extensions had a similar prevalence in each of the individual sinuses (left anterior: 86.2% vs. right anterior: 89.2% vs. posterior 90.7%;  $p = 0.699$ ). The height of the extensions was also similar between sinuses ( $4.12 \pm 1.76$  vs.  $3.69 \pm 1.47$  vs.  $4.28 \pm 1.73$  mm, respectively;  $p = 0.137$ , Table 1). When present, myocardial extensions covered  $28.9 \pm 10.4\%$  of the left anterior sinus,  $26.7 \pm 11.2\%$  of the right anterior sinus and  $31.9 \pm 11.3\%$  of the posterior sinus ( $p = 0.044$ , Table 1). Sleeves that extended beyond the fibro-arterial transition zone were present at least in one sinus in 33.8% of hearts (in 7.7% (5/65) of the both left and right anterior sinuses, and 21.5% (14/65) of the posterior sinuses;  $p = 0.055$ ). Only in 13.8% of hearts, the muscular part exceeding the fibro-arterial transition zone constituted more than 10% of total sleeve length. The sinus wall height was comparable among all sinuses (left anterior:  $5.39 \pm 1.98$  vs. right anterior:  $4.96 \pm 1.51$  vs. posterior:  $5.18 \pm 1.57$  mm,  $p = 0.354$ ). The longest

cusps were the right anterior cusp ( $13.8 \pm 2.4$  mm). The second-longest was the left anterior cusp ( $13.7 \pm 2.6$  mm) and the shortest was the posterior cusp ( $13.5 \pm 2.4$  mm). The difference between cusp lengths was insignificant. There was a strong correlation between the cusp length and the height of the myocardial extension in the left anterior cusp and in the posterior cusp ( $r = 0.52$ ,  $p < 0.001$  and  $r = 0.51$ ,  $p < 0.001$ , respectively), although this correlation was not observed in the right anterior cusp ( $r = 0.08$ ,  $p = 0.52$ ).

The examined muscular tissue was continuous with the main myocardium (see Figure 2 and 3A, Table 2,  $p < 0.001$ ). It had a wide base and a narrow apex. Myocardial tissue thicknesses did not differ between different sinuses at the same levels (Table 2,  $p > 0.05$ ). The myocardial tissue layer was significantly thicker than the overlying fibrous tissue (Table 2,  $p < 0.001$ ). More variability was observed below the fibro-arterial transition zone. The fibrous tissue in the left anterior sinus and in the posterior sinus was significantly thinner in the middle sector than at the ends of the cross-sections. This finding was not observed for the right anterior sinus, whose fibrous layer was thinnest at the base (Table 2). Although fibrous tissue thicknesses measured at the bases and at the apexes of each sinus did not differ from one another, the middle sector was variable. It was thickest in the right anterior sinus, second thickest in the left anterior sinus and thinnest in the posterior sinus (Table 2). The classic three-layered arterial structure became noticeable caudally to the transition zone. In 33.8% of all studied hearts, in at least one of the sinuses, the “islands” of muscular tissue separated from the main myocardial extension by a substantial portion of adipose tissue were observed. Their greatest prevalence was in the right anterior sinus (14/65), followed by left anterior (5/65) and posterior (5/65) (Figure 4). All studied anatomical features of the myocardial extensions were not affected by the age ( $p > 0.05$ ), sex ( $p > 0.05$ ), or BMI of the donor ( $p > 0.05$ ).

## Discussion

The current knowledge about ventricular myocardial extensions of the pulmonary valve is limited. Therefore, it is difficult to estimate their exact prevalence within the population or to thoroughly describe their morphometric features. This is especially due to the major discrepancies between the few existing studies that discuss the myocardial extensions<sup>7,8</sup>. The biggest disparity in the reported myocardial extensions prevalence could be observed between current study and the research conducted by Hasdemir et al. (myocardial extensions present in 100% vs. 17% of hearts)<sup>7</sup>. That variance is most likely caused by a significant difference in the adopted myocardial extension definition. In aforementioned microscopic study only the extensions that surpassed the ventriculo-arterial junction were reported. This junction is defined as the macroscopic limit of muscular tissue within the sinuses, as observed within the luminal side of the pulmonary root<sup>9</sup>. In the current study, the reported prevalence refers to myocardium that extends above the lowest point of valve cusp insertion line. Myocardial extensions above that level are naturally much more common because it lies about 4 mm inferiorly to the ventriculo-arterial junction<sup>8</sup>. Additionally, the reference to the cusp insertion line is much more clinically relevant, considering that this structure constitutes a landmark which could be easily identified during transcatheter procedures. This was demonstrated in the electrophysiological study by Liu et al., where cusp attachment line (visualized by intracardiac echocardiography) was denoted as a reference point for measurements<sup>5</sup>. On the other hand, the macro-anatomical study by Gami et al. relies on the same myocardial extensions definition to our study but reports a prevalence of 62%<sup>8</sup>. Nevertheless, in the case of Gami's research, heart specimens were fixed in 10% formaldehyde solution and analyzed 3 to 45 days postmortem, which would likely have caused tissue discoloration, subsequently hindering the process of myocardial extensions identification<sup>10</sup>. A microscope-based study seems to be better suited for precise myocardial extensions analysis, especially because it allows to utilize tissue stains, which are much more

reliable in the matter of myocardium identification. In addition, our results are consistent with recent clinical data, that shows great effectiveness of supra-avalvular ablations<sup>6</sup>. Furthermore, the current study is the first to report precise height and thickness measurements of the tissues comprising sinus walls of the pulmonary root. Our reported myocardial extensions measurements are comparable to previous macroscopic cadaveric study which reported that the mean height varied from 3.7 to 4.0 mm among sinuses<sup>8</sup>. However, in present study the reported maximal height is significantly smaller than this reported by Gami et al. (9.05 vs 19.0 mm)<sup>8</sup>. This is possibly due to the differences in measurements acquisition methodology, where in current research all measurements were made along the sinus midline, whereas in Gami et al. study the maximum extension height was measured with no fixed axis of measurement.

The ventricular myocardium is more extensive in the pulmonary valve than in the aortic root. In the pulmonary valve, it forms a cylindrical sleeve over its entire circumference<sup>9</sup>. Although the myocardium surpasses the cusp attachment line, it is not directly supporting them. Microscopic examination reveals that there is an intricate collagenous structure that connects the cusps to the ventricular myocardium and looks like a natural extension of the cusp's fibrosa layer (see Figure 3). It elongates distally towards the root and constitutes the inner layer of the sinus wall. At its superior end the fibrous layer gradually gets thinner until, at some point, it becomes distinguishable as adventitia of the pulmonary trunk. At the same level, smooth muscle cells appear, constituting the media layer and giving rise to the three-layered structure present within the pulmonary artery. This transition area constitutes an identifiable landmark within the sinus, which we have designated as the fibro-arterial transition zone. This study has shown that in some cases, ventricular myocardial extensions exceeded the fibro-arterial transition area, despite it being defined as the macroscopic boundary<sup>11</sup>. Moreover, in some sections, the upper segments of the myocardial extensions appeared to form "islands" of muscular tissue separated from the main myocardium by a substantial portion of adipose tissue (Figure 4). Muscular tissue

within these “islands” had horizontal course parallel to the line of cusp attachment. Such appearance might be caused by the asymmetric superior penetration of apical muscular strands, which at some point become horizontally oriented leaving space underneath for adipose tissue infiltration. This could be clinically relevant, although further multimodality studies are required to explain the nature and potential significance of this phenomenon. Such distinct muscular “islands” within the structure of the pulmonary valve root may cause significant anisotropy that could play role in the arrhythmogenesis.

In light of these recent scientific reports, ventricular myocardial extensions in the pulmonary valve appear much more important than previously thought. In a single-center, Zhang et al. successfully treated 90% of patients with RVOT-type origin ventricular arrhythmias by only performing ablations above the pulmonary valve. This had favorable mid-term effectiveness. Since the pulmonary valve sinuses were identified as the origin of the arrhythmia, there are grounds to assume that the myocardial extensions may be the true anatomic substrates<sup>6</sup>. Moreover, Liu et al. have shown that in patients with RVOT arrhythmias, successful ablation sites were in areas where the myocardial signal ended, regardless of a supra or infra valvular localization<sup>5</sup>. Also, they reported a higher-than-expected prevalence (46%) of arrhythmias originating above the pulmonary valve. The authors hypothesized that the previously low reported prevalence could be due to the routine anterograde method of mapping the RVOT, making it unfeasible to identify the pulmonary valve in fluoroscopic views. During supra-avalvular ablations, the targeted myocardial tissue is hidden behind the fibroelastic parts of the sinus walls, which have variable thicknesses throughout. Their uncertain thickness may presumably influence the required time/power to achieve a successful ablation lesion<sup>12</sup>. Therefore, their presence must be remembered to prevent adverse outcomes such as valvular insufficiency/stenosis<sup>13</sup> or coronary artery damage<sup>14</sup>. Although incidents of left coronary artery damage during radiofrequency catheter ablation are rare, special precautions should be taken

when ablating the region of the posterior sinus, due to the proximity of the main stem of the left coronary artery<sup>14</sup>

There are some limitations to this study. The main one is that this was a microanatomical study based on preserved and histologically processed autopsied material. Consequently, changes to tissue shape and size may have occurred due to fixation, dehydration, and staining. Additionally, since post-mortem material was analyzed, we were not able to assess the behavior and dimensional changes of the pulmonary valve components within the cardiac cycle. Moreover, only healthy donor hearts (those without any known history of arrhythmias) were investigated and therefore our results should be interpreted with caution. Despite these limitations, we believe that they did not meaningfully disturb our morphological analyses of the myocardial extensions of the pulmonary valve.

## **Conclusion**

The myocardial extensions of the pulmonary valve are common anatomical entities present in all individual parts of the pulmonary root. While the length of the myocardial sleeves was similar in all pulmonary valve sinuses, the relative extent of myocardial coverage was greatest in the posterior sinus. Long sleeves that spread beyond the fibro-arterial transition zone were observed in one-third of hearts, predominantly in the posterior sinus. Thicknesses of the myocardial tissue and fibrous layer tissue varied considerably. Results of this study contribute to the knowledge about morphological substrates for RVOT arrhythmias. We hope they will help enhance the safety and effectiveness of ablation procedures.



## References

1. Badhwar N, Scheinman MM. Idiopathic Ventricular Tachycardia: Diagnosis and Management. *Curr Probl Cardiol.* 2007;32(1).
2. Tada H, Tadokoro K, Miyaji K, Ito S, Kurosaki K, Kaseno K, Naito S, Nogami A, Oshima S, Taniguchi K. Idiopathic ventricular arrhythmias arising from the pulmonary artery: Prevalence, characteristics, and topography of the arrhythmia origin. *Heart Rhythm.* 2008;5(3).
3. Sekiguchi Y, Aonuma K, Takahashi A, Yamauchi Y, Hachiya H, Yokoyama Y, Iesaka Y, Isobe M. Electrocardiographic and electrophysiologic characteristics of ventricular tachycardia originating within the pulmonary artery. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(6).
4. Yamashina Y, Yagi T, Namekawa A, Ishida A, Sato H, Nakagawa T, Sakuramoto M, Sato E, Yambe T. Clinical and Electrophysiological Difference Between Idiopathic Right Ventricular Outflow Tract Arrhythmias and Pulmonary Artery Arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2010;21(2).
5. Liu CF, Cheung JW, Thomas G, Ip JE, Markowitz SM, Lerman BB. Ubiquitous myocardial extensions into the pulmonary artery demonstrated by integrated intracardiac echocardiography and electroanatomic mapping changing the paradigm of idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2014;7(4):691-700.
6. Zhang J, Tang C, Zhang Y, Su X. Pulmonary sinus cusp mapping and ablation: A new concept and approach for idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias. *Heart Rhythm.* 2018;15(1):38-45.
7. Hasdemir C, Aktas S, Govsa F, Aktas E, Kocak A, Bozkaya Y, Demirbas M, Ulucan C,

- Ozdogan O, Kayikcioglu M, Can L, Payzin S. Demonstration of Ventricular Myocardial Extensions into the Pulmonary Artery and Aorta Beyond the Ventriculo-Arterial Junction. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2007;30(4).
8. Gami AS, Noheria A, Lachman N, Edwards W, Friedman P, Talreja D, Hammill S, Munger T, Packer D, Asirvatham S. Anatomical correlates relevant to ablation above the semilunar valves for the cardiac electrophysiologist: A study of 603 hearts. *J Interv Card Electrophysiol.* 2011;30(1):5-15.
  9. Stamm C, Anderson RH, Yen SH, Yen Ho S. Clinical Anatomy of the Normal Pulmonary Root Compared With That in Isolated Pulmonary Valvular Stenosis. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31(6):1420-1425.
  10. Hołda MK, Klimek-Piotrowska W, Koziej M, Tyrak K, Hołda J, Hołda M. Penetration of formaldehyde based fixatives into heart. *Folia Med Cracov.* 2017;4:63-70.
  11. Misfeld M, Sievers HH. Heart valve macro- and microstructure. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2007;362(1484):1421-1436.
  12. Dillon-Murphy D, Nordsletten D, Soor N, et al. Evaluation of radiofrequency catheter ablation settings for variable atrial tissue depth and flow conditions. *Comput Cardiol.* 2017;44(1):1-4.
  13. Ren J-F, Callans DJ, Marchlinski FE. Cautionary Pulmonary Insufficiency in Ablation of Ventricular Arrhythmias From Pulmonary Sinus Cusps. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(21).
  14. Scholz E, Hartlage C, Bernhardt F, et al. Spatial relationship between the pulmonary trunk and the left coronaries: Systematic risk assessment based on automated three-dimensional distance measurements. *Heart Rhythm O2.* 2020;1(1)

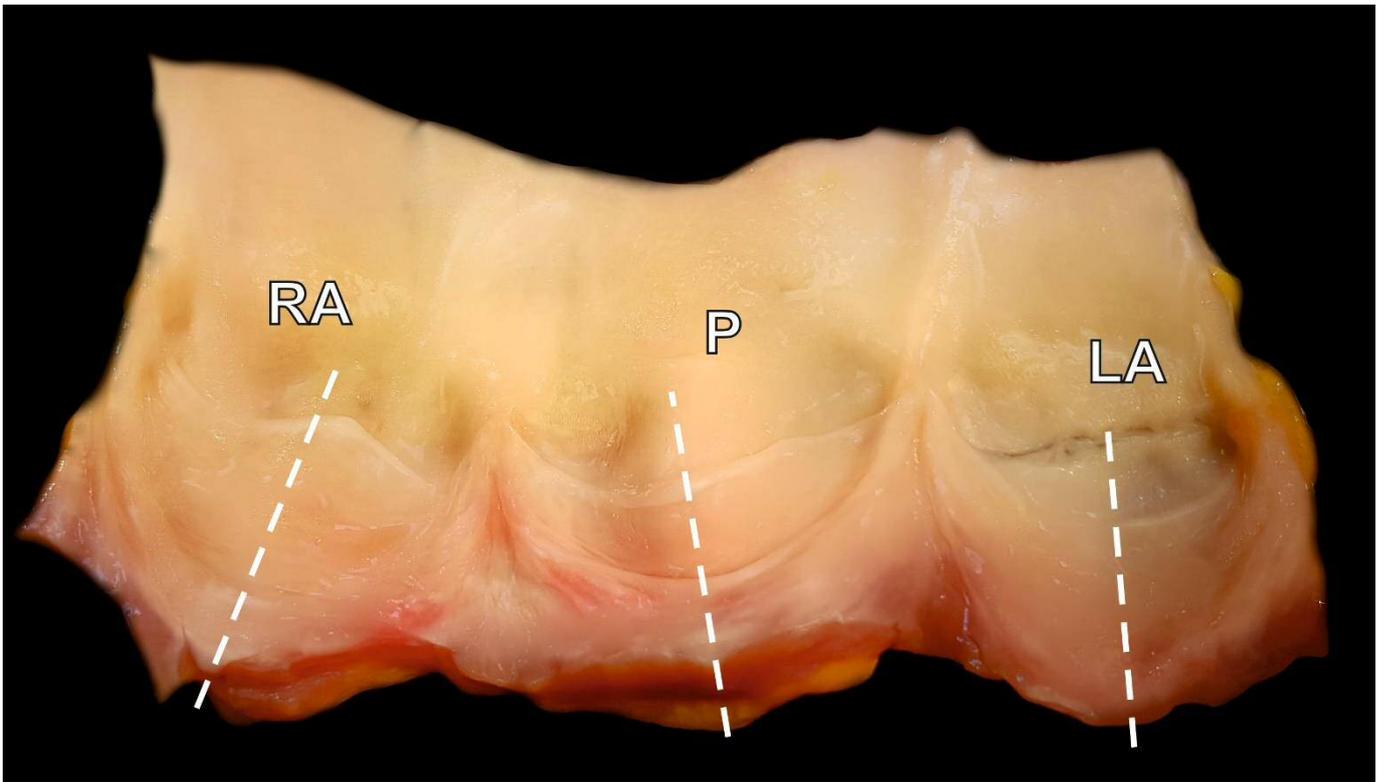


Figure 1. Photograph of a cadaveric heart specimen showing the pulmonary valve with marked section lines. LA – left anterior sinus, P – posterior sinus, RA – right anterior sinus.

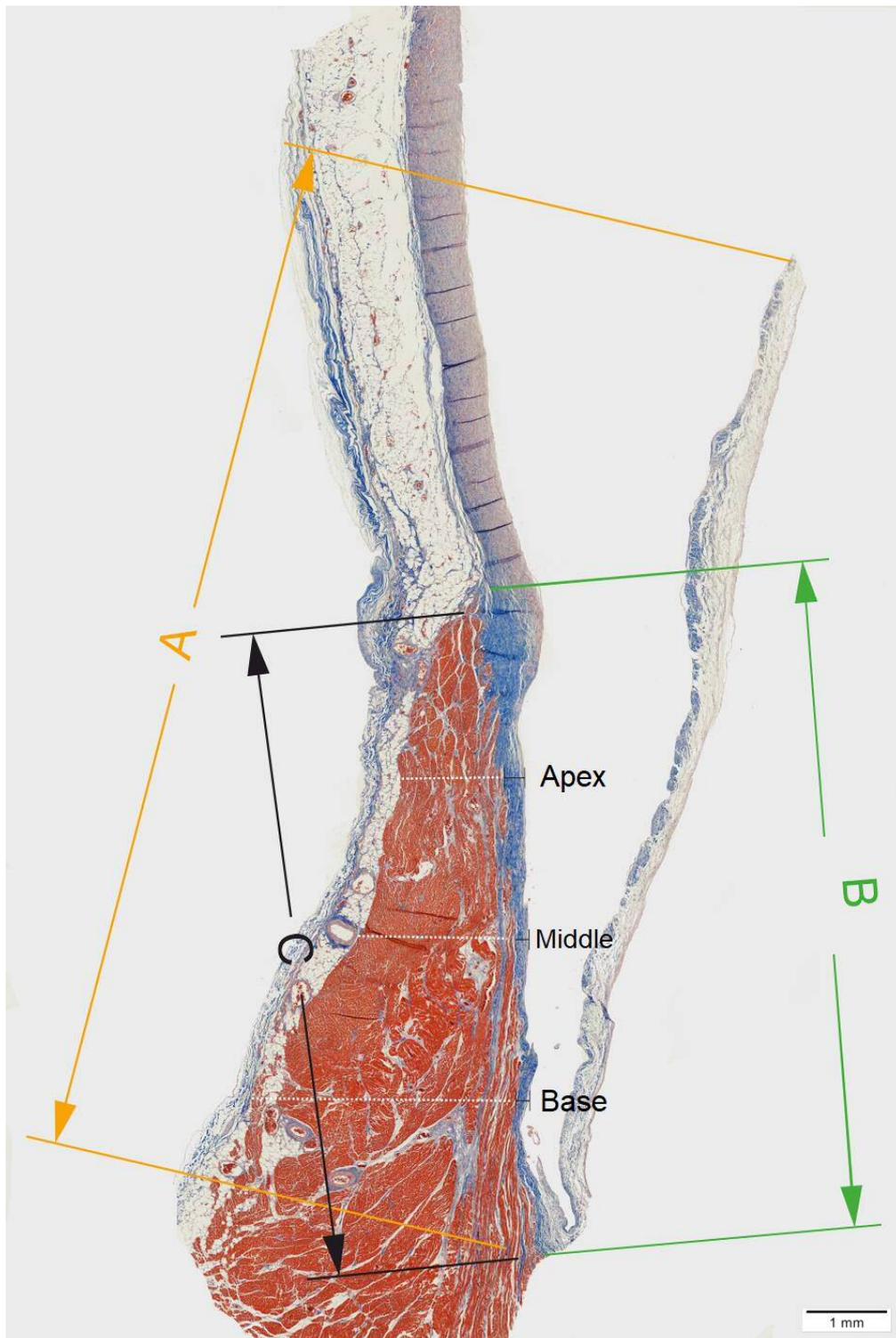


Figure 2. Micrograph presenting the right anterior pulmonary valve sinus with marked measurements (Masson's Trichrome). A - cusp length, B - sinus wall height, C - myocardial tissue height.

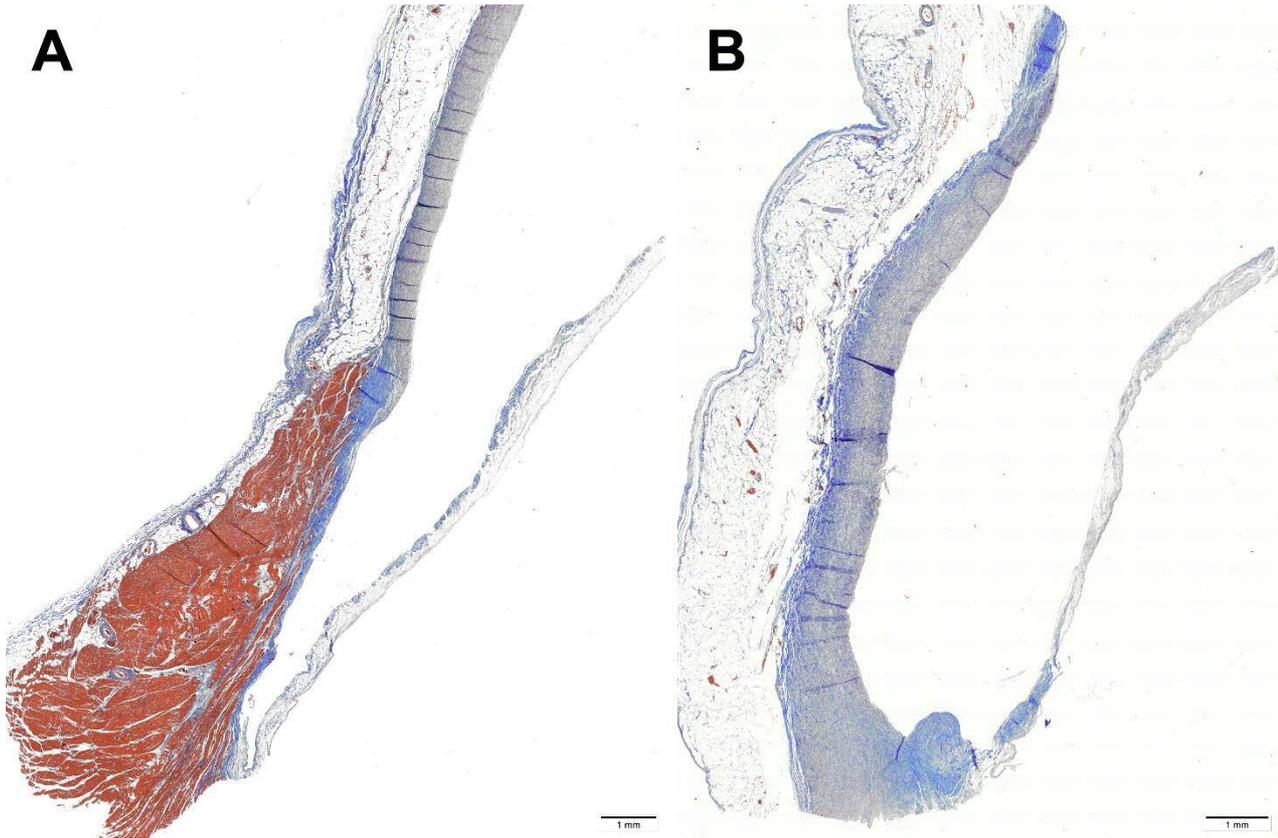


Figure 3. Micrograph presenting the posterior pulmonary valve sinuses with (A) and without (B) pulmonary valve myocardial extensions (Masson's Trichrome).

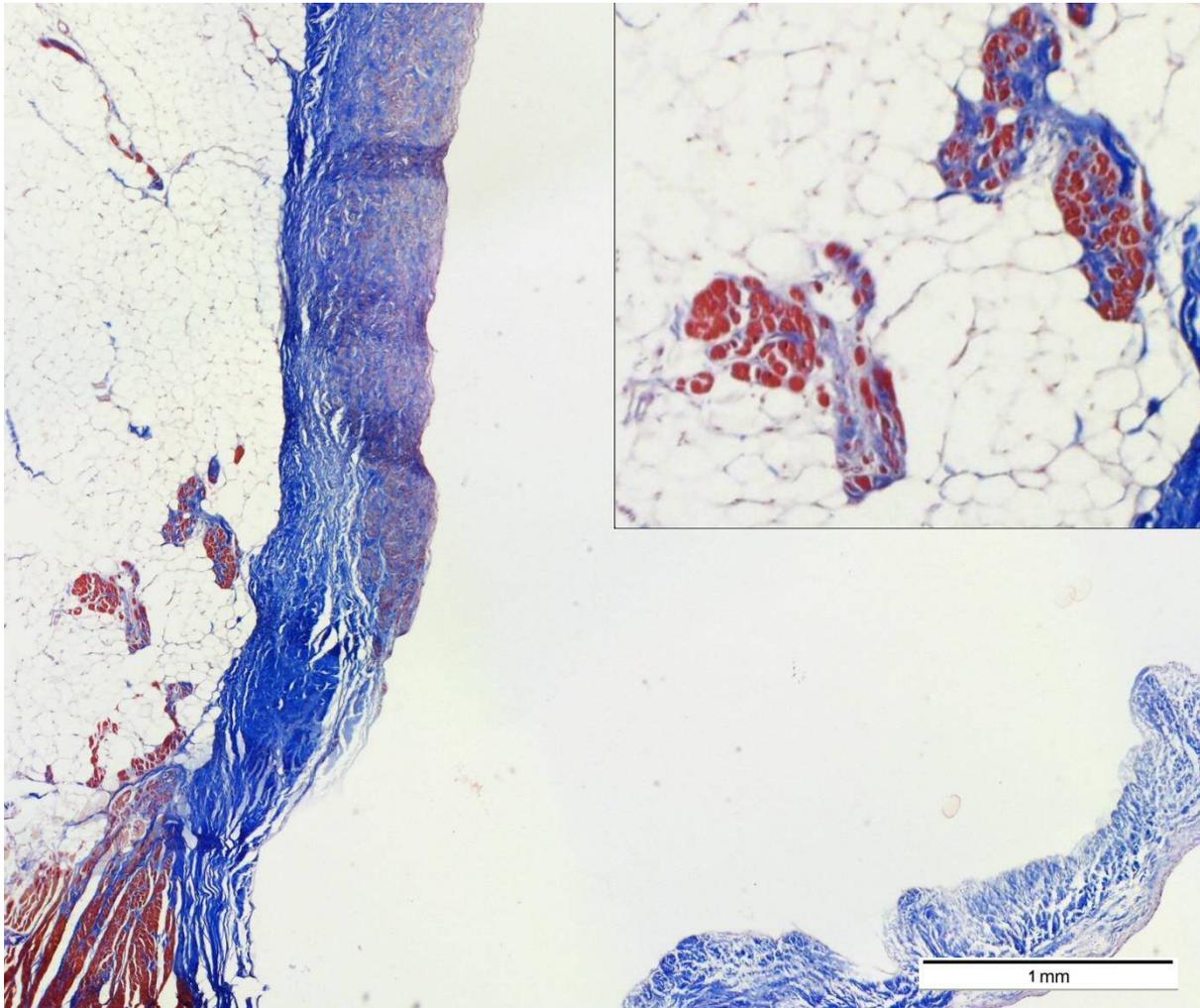


Figure 4. Micrograph presenting muscular tissue “islands” in the vicinity of fibro-arterial transition zone. Insert shows that the course of separated strands is perpendicular to cross-section axis.

Table 1. Recorded myocardial tissue heights and sinus coverages (mean  $\pm$  standard deviation with corresponding range [min. – max.]).

	Left anterior sinus	Right anterior sinus	Posterior sinus	p-value ANOVA (sinuses comparison)
Myocardial extension height (mm)	4.12 $\pm$ 1.76 [0.99 - 9.05]	3.69 $\pm$ 1.47 [0.83 - 8.59]	4.28 $\pm$ 1.73 [1.12 - 8.96]	$\rho = 0.137$
Percentage of sinus height covered by extension	28.9 $\pm$ 10.4 [8.01 - 48.67]	26.7 $\pm$ 11.2 [6.71 - 57.79]	31.9 $\pm$ 11.3 [9.91 - 53.84]	$\rho = 0.044$

Table 2. Recorded thicknesses of the myocardial and fibrous tissue layers (mean  $\pm$  standard deviation with corresponding range [min. – max.]).

	Myocardial tissue thickness (mm)				Fibrous tissue thickness (mm)			
	Left anterior sinus	Right anterior sinus	Posterior sinus	p-value ANOVA (sinuses comparison)	Left anterior sinus	Right anterior sinus	Posterior sinus	p-value ANOVA (sinuses comparison)
Base (25% of length)	1.89 $\pm$ 0.80 [0.81 - 3.53]	1.94 $\pm$ 1.03 [0.55 - 5.59]	2.08 $\pm$ 0.77 [0.57 - 4.27]	p = 0.495	0.43 $\pm$ 0.21 [0.10 - 1.03]	0.36 $\pm$ 0.16 [0.18 - 0.87]	0.45 $\pm$ 0.22 [0.12 - 1.29]	p = 0.592
Middle (50% of length)	1.72 $\pm$ 0.74 [0.86 - 3.79]	1.60 $\pm$ 0.94 [0.11 - 5.58]	1.68 $\pm$ 0.73 [0.20 - 3.95]	p = 0.749	0.36 $\pm$ 0.21 [0.10 - 1.12]	0.47 $\pm$ 0.22 [0.17 - 1.22]	0.32 $\pm$ 0.20 [0.11 - 1.27]	p < 0.001
Apex (75% of length)	0.89 $\pm$ 0.61 [0.20 - 2.90]	0.96 $\pm$ 0.83 [0.10 - 5.45]	1.04 $\pm$ 0.55 [0.12 - 2.46]	p = 0.711	0.44 $\pm$ 0.20 [0.13 - 1.12]	0.42 $\pm$ 0.18 [0.13 - 0.92]	0.42 $\pm$ 0.27 [0.14 - 1.35]	p = 0.053
p-value ANOVA (levels comparison)	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	-	p = 0.04	p = 0.007	p = 0.006	-



## 5. Streszczenie w języku polskim

Wiedza na temat morfometrii struktur zastawki pnia płucnego uznawana była przez dziesięciolecia za mało przydatną klinicznie. Postęp medycyny zwrócił jednak uwagę klinicystów w kierunku zastawki płucnej. Stało to się między innymi za sprawą opisanego nowych, inwazyjnych technik leczenia idiopatycznych arytmii wywodzących się z drogi odpływu prawej komory. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej był kompleksowy opis makro- i mikroskopowy struktury zastawki pnia płucnego w kontekście zastawkowych i nadzastawkowych zabiegów interwencyjnych.

Analizie makroskopowej poddano 182 zastawki pni płucnych uzyskane z ludzkiego materiału autopsyjnego, natomiast mikroskopowej analizie kolejne 65 preparatów. W niniejszej rozprawie zbadano w szczególności zmienność morfologiczną i morfometryczną zastawki płucnej na trzech różnych poziomach przekroju, wprowadzając do literatury nowe parametry opisujące zastawkę płucną. Opisane wartości i zależności mogą stanowić istotny kontekst dla badań z zakresu nauk klinicznych, jak i również projektów inżynierskich, których celem jest stworzenie sztucznych modeli zastawki płucnej.

Ponadto praca skupiła się również na precyzyjnej analizie mikroskopowej rękawów mięśniowych zastawki tętnicy płucnej. Podejrzewa się, iż to właśnie te struktury mogą być punktem wyjścia dla idiopatycznych arytmii komorowych, leczonych interwencyjnie za pomocą przezcewnikowych ablacji. W niniejszej rozprawie udowodniono, iż rękawy mięśniowe są powszechnie występującymi strukturami anatomicznymi. W pracy podano także szczegółową charakterystykę morfometryczną i topograficzną rękawów mięśniowych. Uzyskane dane mogą mieć wpływ na lepsze zrozumienie patogenezy arytmii oraz na przebieg przeprowadzanych w tym rejonie zabiegów ablacji.

## 6. Streszczenie w języku angielskim

Over the past decades, creating a thorough assessment of the pulmonary valve's (PV's) geometry and morphology received little interest compared to similar efforts in the aortic valve. However, the PV has been gaining increased attention from clinicians (cardiac surgeons and invasive cardiologists), since new treatment methods for ventricular arrhythmias from the right ventricular outflow tract (RVOT) have been developed lately. Thus, the purpose of this doctoral dissertation was to provide a comprehensive macro and microscopic description of PV anatomy and morphometric variability in the context of valvular and supra-valvular interventions.

To achieve this goal, 182 pulmonary trunks obtained from autopsied human hearts were investigated macroscopically, while additional 65 pulmonary trunks obtained in the same manner were investigated microscopically. This study analyses the morphometric and morphologic variability of the PV on three distinct sectional levels, consequently introducing novel dimensions which weren't previously described in the literature. These parameters constitute important context for clinical studies as well as engineering projects aimed to create synthetic valve models.

Furthermore this study focused on microscopic analysis of myocardial sleeves extending into the sinus walls of the PV. These structures are suspected to be the anatomical origin of idiopathic ventricular arrhythmias, thus being targeted in ablation procedures. This study verifies that myocardial extensions are in fact common anatomical entities. Moreover, it provides detailed morphometric and topographic characteristic of myocardial sleeves. Results of this dissertation will enhance our understating of RVOT origin arrhythmias, contributing to safety and efficacy of catheter ablation procedures performed within this region.

## **7. Oświadczenia współautorów**

Kraków, dnia 27.10.2022 r.

**lek. Maciej Lis**

Katedra Anatomii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Pulmonary valve morphometry revisited: Clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*”, Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel Mateusz K Hołda, Clin Anat. 2022 Oct 4. doi: 10.1002/ca.23959.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi **65%** i polegał na:

- opracowaniu koncepcji i celów badania,
- opracowaniu metodologii badania,
- wykonywaniu pomiarów morfometrycznych,
- analizie uzyskanych danych,
- analizie statystycznej danych
- opracowaniu manuskryptu oraz rycin.

.....Maciej Lis.....  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**Dr n. med. Agata Krawczyk-Ożóg**

Katedra Anatomii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Pulmonary valve morphometry revisited: Clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*”, Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K Hołda, Clin Anat. 2022 Oct 4. doi: 10.1002/ca.23959.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- współdziałanie w wykonywaniu pomiarów,
- współdziałanie w opracowywaniu wyników i przygotowywaniu analiz statystycznych

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

*Agata Krawczyk-Ożóg*  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**dr. Jakub Holda**

Katedra Anatomii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Pulmonary valve morphometry revisited: Clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*”. Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ozóg, Jakub Holda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechala, Rafal Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K Holda, Clin Anat. 2022 Oct 4. doi: 10.1002/ca.23959.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- współudziałe w pobieraniu i opracowywaniu materiału badawczego.
- współudziałe w wykonywaniu pomiarów.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

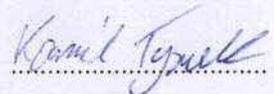
lek. Kamil Tyrak

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Pulmonary valve morphometry revisited: Clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*”, Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K Hołda, Clin Anat. 2022 Oct 4. doi: 10.1002/ca.23959.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- współdziałanie w pobieraniu i opracowywaniu materiału badawczego,
- współdziałanie w wykonywaniu pomiarów.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**Prof. dr. hab. n. med. Mateusz K. Hołda**

Katedra Anatomii

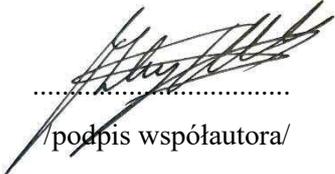
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Pulmonary valve morphometry revisited: Clinical implications for valvular and supra-valvular interventions*”, Maciej Lis, Agata Krawczyk-Ożóg, Jakub Hołda, Kamil Tyrak, Damian Dudkiewicz, Artem Yakovliev, Marcin Strona, Filip Bolechała, Rafał Jakiel, Marcin Jakiel, Mateusz K Hołda, Clin Anat. 2022 Oct 4. doi: 10.1002/ca.23959.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi **5%** i polegał na:

- współdziałanie w opracowaniu koncepcji i metodologii badania,
- współdziałanie w wykonaniu rycin i tabel,
- krytycznej ocenie manuskryptu,
- nadzorowaniu prac zespołu.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
.....  
/podpis współautora/



Kraków, dnia 27.10.2022 r.

**lek. Maciej Lis**

Katedra Anatomii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology*”, Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J Lis, Mateusz K Hołda, J Cardiovasc Electrophysiol. 2021 Aug;32(8):2269-2274. doi: 10.1111/jce.15125.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi **70%** i polegał na:

- opracowaniu koncepcji i celów badania,
- opracowaniu metodologii badania,
- przygotowywaniu i opracowywaniu materiału badawczego
- wykonywaniu pomiarów mikroskopowych,
- analizie uzyskanych danych,
- analizie statystycznej danych,
- opracowaniu manuskryptu oraz rycin.

.....Maciej Lis.....  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**lek. Bernard Solewski**

Katedra Anatomii

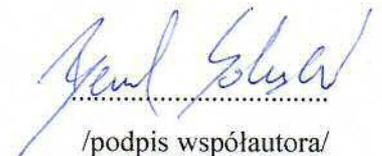
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology*”, Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J Lis, Mateusz K Hołda, J Cardiovasc Electrophysiol. 2021 Aug;32(8):2269-2274. doi: 10.1111/jce.15125.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- zbieraniu materiału badawczego,
- opisywaniu wyników badań.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**lek. Jan Chrzanowski**

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology*”, Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J Lis, Mateusz K Hołda, J Cardiovasc Electrophysiol. 2021 Aug;32(8):2269-2274. doi: 10.1111/jce.15125.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- zbieraniu materiału badawczego,
- opisywaniu wyników badań,
- pomocy w przygotowywaniu analiz statystycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

*Chrzanowski Jan*

/podpis współautora/

Kraków, dnia 22.10.2022 r.

**Dr inż. Jerzy Wiater**

Katedra Histologii

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology*”. Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona, Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J Lis, Mateusz K Holda, J Cardiovasc Electrophysiol. 2021 Aug;32(8):2269-2274. doi: 10.1111/jce.15125.; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:

- udziale w wykonaniu barwień histologicznych,
- udziale w ocenie histologicznej sporządzonych preparatów,
- nadzorze nad sporządzaniem skanów preparatów mikroskopowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
.....  
/podpis współautora/

Kraków, dnia 24.10.2022

Prof. dr hab. n. med. Mateusz K. Hołda  
Katedra Anatomii  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

## OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. *Microanatomy of the myocardial extensions of the pulmonary valve in light of modern catheter ablation methodology*

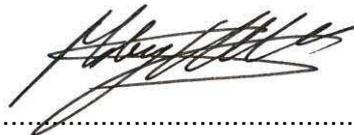
Maciej Lis, Bernard Solewski, Jan Chrzanowski, Damian Dudkiewicz, Marcin Strona,  
Katarzyna A Jasińska, Jerzy Wiater, Kamil Wartalski, Grzegorz J Lis, Mateusz K Hołda  
J Cardiovasc Electrophysiol. 2021 Aug;32(8):2269-2274. doi: 10.1111/jce.15125.

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to:

- współudziale w opracowaniu koncepcji i metodologii badania,
- współudziale w wykonaniu rycin i tabel,
- krytycznej ocenie manuskryptu,
- nadzorowaniu prac zespołu.

Swój procentowy udział w jego powstanie określám na 5%.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Macieja Lisa przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



.....  
/podpis współautora/