

**Oiva Arvola**

LT, erikoistuva lääkäri
HUS, Lohjan sairaala
oiva.arvola[at]fimnet.fi

ESIALTISTAVA RAAJAISKEMIA SYDÄN- JA AORTTAKIRURGIASSA PORSASMALLILLA – OKSIDATIIVISEN STRESSIN ASEMA

Oiva Arvola

10.2.2017 Oulun Yliopisto

Vastaväittäjä

Professori Jouko Jalonen, Turun yliopisto

Esitarkastajat

Dosentti Timo Rinne, Tampereen yliopisto

Dosentti Pertti Suominen, Helsingin yliopisto

Väitöskirja ja osatyöt

Remote ischemic precondition before hypothermic circulatory arrest in a porcine model: a special reference to oxidative stress. <http://jultika.oulu.fi/Record/isbn978-952-62-1483-2>.

- I. Yannopoulos FS, Arvola O, Haapanen H, Herajärvi J, Miinalainen I, Jensen H, Kiviluoma K, Juvonen T. Leg ischaemia before circulatory arrest alters brain leucocyte count and respiratory chain redox state. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2014; 18, 272–277.
- II. Arvola O, Haapanen H, Herajärvi J, Anttila T, Puustola U, Karihtala P, Tuominen H, Anttila V, Juvonen T. Remote ischemic preconditioning reduces cerebral oxidative stress following hypothermic circulatory arrest in a porcine model. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2016; 28, 92–102.
- III. Arvola O, Haapanen H, Herajärvi J, Anttila T, Puustola U, Karihtala P, Anttila V, Juvonen. Remote ischemic preconditioning attenuates oxidative stress during cardiopulmonary bypass. *Heart Surg Forum* 2016; 19: E192–7.

► Sydän- ja aorttakirurgiaan liittyvä keskushermoston suojauksen tutkiminen on noussut merkittäväksi tutkimusalueeksi, koska neurologisiin komplikaatioihin on alettu kiinnittää lisääntyvästi huomiota, potilaiden keski-ikä on noussut ja kirurgisesti hoidetaan yhä haastavampia tapauksia. Vaikka perioperatiiviset suojaukset ovat kehittyneet merkittävästi viimeisten vuosien aikana, neurologisia komplikaatioita syntyy jopa 15 prosentille potilaista vaativan sydämen ja aortan kaaren kirurgian yhteydessä (1, 2). Neurologiset komplikaatiot heikentävät merkittävästi potilaiden ja heidän omaistensa elämänlaatua, sekä aiheuttavat runsaasti välillisiä kustannuksia yhteiskunnalle.

Verenkierron pysäytystä vaativan kirurgisen toimenpiteen

aikana aivovauriota vähennetään operaation aikaisen hypotermian avulla. Viilennettäessä potilasta merkittävästi, vähenee hermosolujen metabolia, ja siten hapen ja ravintoaineiden tarve (3). Ainoa globaalinen aivoiskemian tehokas kliininen hoito on lievä hypotermia, mistä on viimeaikoina julkaistu myös kiistanalaisia tutkimuksia (4, 5). Keskushermoston suojaamiseksi sydänkirurgian aikana on tutkittu viimeisen kahden, kolmen vuosikymmenen aikana aivojen eri perfuusiotekniikoita, useita lääkkeitä, kantasoluterapiaa, esialtistavaa raajaiskemiaa ja tällä vuosikymmenellä myös geeniterapiaa.

Sydänkirurgiassa, operoitaessa aortan kaaren sairauksia tai synnynnäisiä sydänvikoja, voidaan leikkausalueetta korjatessa joutua



Väittäjä Oiva Arvola väitöstilaisuudessa.

pysäyttämään elimistön verenkierto ja hengitys, mistä aiheutuu kudoksiin globaalia iskemiaa. Väitöskirjassa käsiteltiin globaalia iskemia sydänkirurgian aikana, jolloin iskemia-aika on tarkalleen tiedossa ja siihen voidaan ennakoita varautua. Tutkimuksen kohteena oli esialtistavan raajaiskemian vaikutukset hypotermisen verenkierron pysäytyksen aiheuttamaan globaaliin iskemia-reperfuusiovaurioon, ja tarkemmin oksidatiivisen stressin asema sen synnyssä. Väitöskirjan osatutkimukset on tehty suurella koe-eläinmallilla, eikä siinä ole ihmispotilaista kerättyä aineistoa.

Esialtistavalla raajaiskemialla tarkoitetaan interventiota, missä ohimenevällä, yhden kudoksen pysyvää vauriota aiheuttamattomalla lyhyellä iskemiällä voidaan suojata toista

kudosta tätä seuraavalta pitkäkestoiselta iskeemiseltä vauriolta.

Tutkimuskysymysten valinta, tavoitteet ja metodit

Väitöskirjani koostui kolmesta osatyöstä. Kaikissa osatyöissä koe-eläi-

Esialtistava raajaiskemian vähentää keskushermostossa oksidatiivista stressiä

met kanyloitiin sydän-keuhkokonetta varten torakotomiasta ja viilennettiin 18 asteeseen hypotermista verenkierron pysäytystä (DHCA) varten. Protokollassa DHCA pidennettiin yli

turvallisena pidetyn rajan aina 60 minuuttiin asti ennen reperfuusiota, lämmitystä ja dekanylaatiota, jotta globaalin iskemian aiheuttamat vauriot syntyisivät. Perfuusiostrategiaksi valittiin pH-staattinen perfuusiostrategia, minkä avulla aivojen autoregulaatio voidaan irtikytkeä tasaisemman keskushermoston viilennyksen aikaansaamiseksi (6).

Ensimmäisessä osatyössä tutkittiin esialtistavan raajaiskemian vaikutuksia keskushermoston pinta-verisuonissa sekä vaikutuksia tulehdussolujen käyttäytymiseen ja tarttumiseen aivojen verisuonien pintaan. Lisäksi tutkittiin esialtistavan raajaiskemian vaikutuksia solujen sisällä toimivien mitokondrioiden elektroinsiirtoketjun toimintaa mittaavien hapetus-pelkistymisentsyymien

>>

profiliini. Tutkimuskysymyksiä kysyttiin, onko esialtistavan raajaiskemian mahdolliset suojaavat vaikutukset selitettävissä aivojen pintaverisuonten autoregulaation paranemisella. Vaikuttaako esialtistava raajaiskemian tulehdussolujen aktivoitumiseen tai mitokondrioiden toimintaan? Toinen osatyö liittyy ensimmäisen tutkimuksen löydöksiin hapetus-pelkistymisreaktioista. Tutkimuskysymyksenä kysyttiin, onko esialtistavan raajaiskemian vaikutukset nähtävissä oksidatiivisen stressin määrässä ja hapetus-pelkistysreaktioita säätelevien entsyymien markkereissa kroonisella koe-eläinmallilla. Kolmannessa osatyössä haettiin suuremmalla aineistolla vastausta siihen, näkyykö esialtistavan raajaiskemian suojaava vaikutus myös koko veren oksidatiivisen stressin määrässä ja sydänentsyymeissä. Osatyöt suoritettiin käyttäen intravitaalikroskooppi ja elektronimikroskooppi, tutkimalla tuorenäytteitä immunohistokemiallisin värjäyksin ja histopatologisesti, mittaamalla verinäytteistä oksidatiivisen stressin markkereita ja sydänentsyymejä sekä määrittämällä täydellinen verenkuva. Lisäksi tehtiin myös hemodynaamisia mittauksia.

Tulokset

Esialtistavan raajaiskemian todettiin interventiona ennen pidentynyttä hypotermista verenkierron pysäytystä vähentävän aivojen pintaverisuoniin tarttuneiden aktiivisten leukosyyttien määrää, mikä oli nähtävissä *in vivo* intravitaalikroskoopilla tutkien. Sen suojaava vaikutus ei ole löydösten mukaan selitettävissä aivojen pintaverisuonten koon muutoksilla, sillä ryhmien välillä ei ollut eroja pintaverisuonien koon muutoksissa. Mitokondrioiden elektroninsiirtoketjun toimintaa peilaava NAD⁺/NADH-suhde oli suotuisampi interventio-ryhmällä reperfuusion jälkeen. Läpäisyelektronimikroskoopilla tutkien oli nähtävissä, että myös solunsisäinen endoplasmakalvosto säilyi keskushermostonäytteissä paremmin kontrolliryhmään verrattuna.

Toisessa osatyössä todettiin viitteitä siitä, että esialtistava

raajaiskemian vähentää keskushermostossa oksidatiivista stressiä ja voi vaikuttaa hapetus-pelkistymisreaktioita säätelevien entsyymien toimintaan. Osatyössä myös todettiin tilastollisesti merkitsevä eroavaisuus ryhmien välillä immunohistokemiallisissa sydämen HIF-1-alpha värjäyksissä seitsemän vuorokauden seurannan jälkeen. Histopatologisesti sydänten välillä ei näkynyt eroja.

Kolmannessa osatyössä todettiin suuremmalla otoskoolla, että esialtistavan raajaiskemian aiheuttama oksidatiivisen stressin väheneminen on nähtävissä jo sydän-keuhkokooneen käytön aikana. Sen sijaan toisen osatyön HIF-1-alpha -löydökselle

Esialtistava raajaiskemian interventiona hyvin siedetty ja turvallinen.

ei löytynyt lisätukea, sillä ryhmien välillä ei näkynyt eroja seerumin TnT ja ck-MBm määrässä eikä cardiac indexissä.

Pohdintaa

Esialtistava raajaiskemian interventio on helposti vietävissä leikkaussaliin, sillä se ei vaadi uutta kallista teknologiaa tai tilaa vieviä laitteita. Se on hyvin siedetty ja turvallinen (7), eikä siihen liity invasiivisiin ja farmakologisiin hoitoin liittyviä pieniäkään riskejä. Keskeisenä löydöksenä väitöskirjassa on intervention valkosolujen aktivoitumista ja keskushermoston pintaverisuoniin tarttumista vähentävä vaikutus sekä endoplasmakalvostoa suojaava vaikutus. Väitöskirjatutkimukseni löydökset tukevat solunsisäisten vauriomekanismien patofysiologian ymmärtämistä, mutta eivät ole sellaisenaan siirrettävissä kliiniseen toimintaan. Kliinistä merkittävyyttä rajoittaa myös koeasetelma. Aortan kaaren sairauksia esiintyy tyypillisimmin yli 50-vuotiailla ihmisillä, joilla on merkittävä ateroskleroosin ja diabeteksen tuoma komorbiditeetti,

joka jo sinällään vaikuttaa mm. systeemiseen inflammaatioon. Väitöskirjatutkimuksissani koe-eläinten ikä oli noin 10 viikkoa, vastaten noin 3–4 vuotiasta tervettä ihmislasta.

Sydän- ja aorttakirurgiassa selkeä intervention kohde on keskushermoston suojaaminen iskemia-reperfuusioauriolta. Operaatiot ovat usein elektiivisiä, mikä mahdollistaa tarkan intervention ajoittamisen leikkaussalissa. Stanford A-tyyppin aortan dissekaation kaltaisessa hätäoperaatiossa tosin ei ole aikaa seurantaan, eikä hemodynaamikan stabiliteettikään ole preoperatiivisesti taattu. Kolmannen osatyön löydökset intervention vaikutuksesta oksidatiiviseen stressiin jo reperfuusion aikana, ennen varsinaista iskeemistä vauriota, viittaavat siihen, että esialtistavan raajaiskemian vaikutukset ovat välittömiä. Siten väitöskirjatutkimukseni mukaan jopa hätäleikatut nousevan aortan dissekaatiopotilaatkin voisivat hyötyä anestesiainduktion aikana tehtävästä esialtistavan raajaiskemian vaikutuksista. ■

Viitteet

1. Leshnower BG, Kilgo PD, Chen EP. Total arch replacement using moderate hypothermic circulatory arrest and unilateral selective antegrade cerebral perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2014; 147: 1488-92.
2. Shrestha M, Fleissner F, lus F, ym. Total aortic arch replacement with frozen elephant trunk in acute type A aortic dissections: are we pushing the limits too far? *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 47: 361-6 ja 366.
3. McCullough JN, Zhang N, Reich DL, ym. Cerebral metabolic suppression during hypothermic circulatory arrest in humans. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 1895-9 ja 1919-21.
4. Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2002; 346: 549-56.
5. Nolan JP, Soar J, Zideman DA, ym. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2010 Section 1. Executive summary. *Resuscitation* 2010; 81: 1219-76.
6. Duebener LF, Hagino I, Sakamoto T, ym. Effects of pH management during deep hypothermic bypass on cerebral microcirculation: alpha-stat versus pH-stat. *Circulation* 2002; 106: 103-8.
7. Bilgin-Freiert A, Dusick JR, Stein NR, ym. Muscle microdialysis to confirm sublethal ischemia in the induction of remote ischemic preconditioning. *Transl Stroke Res* 2012; 3: 266-72.