

Aivojen suojausmenetelmät hypotermisen verenkierron pysäytyksen aikana

– tutkimus kroonisella sikamallilla

Pekka Roms

Oulun yliopisto 24.01.2003, vastaväittäjänä dos. Kari Kuttila

Tausta ja tavoitteet

Sydän- ja aorttakirurgiaan liittyvä aivojen suojaaminen leikkauksen aikaiselta iskemialta on noussut merkittäväksi tutkimusalueeksi, koska aivokomplikaatioihin on alettu kiinnittää enemmän huomiota, potilaiden keski-ikä on noussut ja kirurgisesti on opittu hoitamaan haastavampia tapauksia. Monissa lasten synnynnäisten sydänvikojen korjauksissa sekä aikuisten nousevan aortan ja aortan kaaren dissektioiden ja aneurysmien kirurgiassa joudutaan aortan kaaresta aivoihin ja yläraajoihin lähtevien suonten verenkierto väliaikaisesti pysäyttämään. Normaali- lämpötilassa aivot eivät selviä vaurioitumatta muutamia minuuttia pidempään. Perfuusiokoneen avulla voidaan kehon lämpötilaa laskea elimistön ja aivojen suojaamiseksi. Laskemalla elimistön lämpötila 15 °C:een verenkierto on mahdollista pysäyttää turvallisesti noin 30–40 minuutiksi (hypothermic circulatory arrest, HCA).

Väitöskirjatyön tavoitteena oli etsiä menetelmiä, joilla pystyttäisiin ehkäisemään HCA:n yhteydessä esiintyviä neurologisia komplikaatioita ja samalla pidentämään potilaalle turvallista HCA-aikaa. Tutkimuksen kohteena olivat seuraavat lääkkeet/ menetelmät:

1. natriumkanavasalpaaja lamotrigiini yhdistettynä perfuusiolinjaan asennettavaan leukosyyttifiltteriin
2. HCA:n jälkeinen 14 tunnin lievä hypotermia (32 °C)
3. erytropoietiini (EPO)
4. fruktoosi-1,6-difosfaatti (FDP)

Iskeemisen aivovaurion synnyssä merkittävänä tekijänä pidetään hermovälittäjäaineiden, etenkin glutamaatin, kertymistä soluvälitilaan, jossa ne vaikuttavat neurotoksisesti aiheuttaen kalsiumin ja natriumin lisääntyneen virtauksen soluihin. Presynaptisesti vaikuttavan lamotrigiinin on todettu vähentävän glutamaatin vapautumista ja näin myös iskeemistä aivovauriota.

Myös verenkierron palauttamisen jälkeisellä ns. reperfuusiovauriolla on todettu olevan merkittävä osuus aivovaurion synnyssä. Reperfuusiovaurio välittyy aktivoituneiden leukosyyttien ja sytokiinien välityksellä. Aktivoituneiden leukosyyttien vähentäminen perfuusiokoneen linjastoon asennettavan leukosyyttifiltterin avulla on todettu koe-eläimissä vähentävän reperfuusiovauriota ja parantavan neurologista toipumista HCA:n jälkeen. Koska iskeeminen aivovaurio on monimutkaisen tapahtumaketjun tulos, on mahdollista, että käyttämällä sekä lamotrigiinia että leukosyyttifiltteriä HCA:n aikana ja sen jälkeen reperfuusiovaiheessa, aivojen suojausta voidaan tehostaa vielä lisää.

Koe-eläintutkimusten lisäksi myös kliinisissä tutkimuksissa, mm. kallovammojen, aivoinfarktin ja sydänpysähdyksen yhteydessä, on osoitettu, että aivoiskemian jälkeinen pitkittetty keinotekoinen hypotermia parantaa aivojen selviytymistä. Toisaalta pitkään hypotermiaan on todettu liittyvän myös haittavaikutuksia, kuten mm. lisääntynyttä infektiokerkyyttä. HCA:n jälkeisestä pitkitetystä lievästä hypotermiasta ei ole julkaistu tutkimuksia.

On osoitettu, että hapenpuute indusoi EPO-synteesiä hermokudoksessa. Aivokudoksessa on myös

todettu olevan spesifisiä EPO-reseptoreja. Eläinkokeissa on todettu, että verisuoneen annettu rekombinantti ihmisperäinen EPO kulkeutuu veri-aivoesteen läpi aivokudokseen ja suojaa aivoja keino-tekoisesti aiheutetun iskemian aikana. Sen on todettu vaikuttavan mm. typpioksidimetaboliaan, kalsiumin soluunvirtaukseen, apoptoosiin ja tulehdusvasteeseen.

FDP on anaerobisen glykolyysin korkeaenerginen välituote. Koe-eläintöissä sen on osoitettu suojaavan sydänlihasta ja aivoja iskemian aikana lisäämällä käytettävissä olevan ATP:n määrää joko toimimalla substraattina tai stimuloimalla glykolyysia. Sen on todettu kelatoivan kalsiumia, vähentävän glutamaatin vapautumista, inhiboivan typpioksidisyntaasia ja vähentävän happiradikaalien tuottoa.

Tutkimusprotokolla

Väitöskirja koostuu neljästä osatyöstä, joissa tutkimusprotokolla oli pääosin samanlainen. Tutkimukseen sisällytettiin 88 kpl 25–35 kg:n painoista naarasikaa. Eläimet nukutettiin medetomidini-midatsolaami- tai ketamiini-midatsolaami-kombinaatiolla ja anestesiaa ylläpidettiin isofluraanilla. Torakotomia tehtiin oikealle neljänteen kylkiluuväliin. Sydämen oikean eteiskorvakkeen kautta asetettiin laskimokanyyli ja aortan tyveen valtimokanyyli, jotka yhdistettiin perfuusiokoneeseen. Koe-eläimet jäähdytettiin 60 minuutin perfuusion avulla 18 °C:een ja sydän pysäytettiin kaliumkloridilla ja pakattiin jääsohjoon. Verenkierto pysäytettiin 75 minuutiksi (HCA), jonka jälkeen perfuusio käynnistettiin jälleen ja eläimet lämmitettiin 60 minuutin aikana 37 °C:een (osatyössä II 35 °C:een). Sydämen kanyylit poistettiin ja haava suljettiin. Koe-eläimet pidettiin respiraattorissa seuraavaan aamuun, ja herätyksen jälkeen ne siirrettiin seurantaan heräämööseen ja edelleen takaisin omaan karsinaansa.

Muuttujat ja mittaukset

Kokeen aikana verinäytteistä määritettiin verikkaus, hemoglobiini, hematokriitti, elektrolyytit, verensokeri, laktaatti, kalsium, fosfaatti, pyruvaatti ja kreatiinikinaasi-isoentsyymit. Lisäksi seurattiin peräsuoli-, ruokatorvi-, aivo- ja verilämpötiloja, valtimoverenpainetta, kiilapainetta, keskuslaskimopainetta, sydämen minuuttitilavuutta ja diureesia. Kallonsisäistä painetta ja aivokudoksen happiosapainetta monitoroitiin jatkuvasti, ja aivokudoksesta otettiin määrävälein mikrodialyysinäytteitä, joista analysoitiin glukoosi, laktaatti, glutamaatti, glyseroli ja pyruvaatti. Kokeen aikana rekisteröitiin EEG:n palautumista HCA:n jälkeen. Kokeen jälkeen koe-

eläimen neurologinen tila määritettiin päivittäin käyttäen hyväksi lajispesifistä asteikkoa. Tajunnan- taso, liikkuminen ja ruokahalu pisteytettiin asteikolla 0–3. Koe-eläimet lopetettiin seitsemäntenä leikkauksen jälkeisenä päivänä, ja perfuusiofiksaation jälkeen aivot poistettiin ja säilöttiin formaliiniin histopatologista tutkimusta varten.

Tulokset

Ensimmäisessä osatyössä testattiin lamotrigiinin ja leukosyyttifiltterin kombinaatiota. Koe-eläimet randomisoitiin kolmeen ryhmään: 1. lamotrigiini + leukosyyttifiltteri (n = 8), 2. lamotrigiini (n = 8) ja 3. placebo (n = 8). Lamotrigiini (20 mg/kg) annosteltiin sokkoutetusti 20 minuutin infuusiona 120 minuuttia ennen HCA:n alkua. Leukosyyttifiltteri asennettiin perfuusiolinjaan sekä jäähdytys- että lämmitys- vaiheessa. Lamotrigiini yksin ja lamotrigiinin ja leukosyyttifiltterin kombinaatio paransivat merkittävästi sikojen neurologista selviytymistä HCA:n jälkeen. Löydökset ilmenivät histopatologiassa, kuolleisuudessa, neurologisessa toipumisessa, EEG:ssä ja aivojen mikrodialyysiarvoissa.

Toisessa osatyössä selvitettiin HCA:n jälkeisen 14 tunnin lievän hypotermian vaikutusta reperfuusioaurion estoon ja aivojen suojautumiseen. Kontrolliryhmän eläimet lämmitettiin HCA:n jälkeen 37 °C:een (n = 10) ja hypotermiaryhmän eläimet 32 °C:een 14 tunnin ajaksi, minkä jälkeen ne lämmitettiin normotermiseksi (n = 10). Pitkittetty hypotermia huononsi sikojen eloonjäämistä, neurologista toipumista, EEG:n palautumista ja aivokudoksen happiosapainetta sekä lisäsi CK-BB-isoentsyymin määrää veressä. Toisaalta hypotermian alkuvaiheessa havaittiin myös suotuisia vaikutuksia kehon happimetaboliassa sekä myös kallonsisäisen paineen, aivokudoksen laktaatin ja veren leukosyyttitason vähäisempi nousu.

Kolmannessa osatyössä testattiin verisuoneen annetun EPO:n vaikutusta sikojen neurologiseen toipumiseen HCA:n jälkeen. Koe-eläimet randomisoitiin EPO-ryhmään (n = 10) ja kontrolliryhmään (n = 10). EPO/placebo -injektio annettiin sokkoutetusti 120 minuuttia ennen HCA:n alkua. Tutkimuksessa todettiin, että verisuoneen annettu EPO (500 IU/kg) kulkeutui aivo-selkäydinnesteeseen ja että se vähensi aivokudoksen glutamaatin ja glyserolin vapautumista sekä solujen apoptoosia iskemian jälkeen. EPO:lla havaittiin olevan myös selkeä hemodynaaminen vaikutus: se nosti perifeeristä verisuonivastusta ja verenpainetta.

Neljännän osatyön tavoitteena oli selvittää verisuoneen infuusiona annetun FDP:n aivoja ja mui-

ta kudoksia suojaavaa vaikutusta HCA:n yhteydessä. Koe-eläimet randomisoitiin kahteen ryhmään: lääkeryhmän eläimille (n = 12) annettiin FDP:tä 500 mg/kg 15 minuutin infuusiona juuri ennen HCA:ta ja sama määrä 30 minuutin infuusiona heti HCA:n jälkeen lämmitysperfuusion alussa. Kontrolliryhmän eläimet (n = 12) saivat fysiologista keitosuolaa. Tulokset osoittivat, että FDP-ryhmässä oli pienempi mortaliteetti, parempi neurologinen toipuminen ja aivojen histopatologiassa vähäisemmät iskeemiset vauriot. Aivokudoksen mikrodialyysilöydökset viittasivat glykolyysin stimuloitumiseen. FDP alensi kalsiumin ja CK-MB-isoentsyymin määrää veressä.

Johtopäätökset

1. Natriumkanavasalpaaja lamotrigiinilla on aivoja suojaavaa vaikutusta HCA:n yhteydessä. Lamotrigiinin ja leukosyyttifiltterin yhdistelmällä voidaan suojausvaikutusta vielä parantaa.
2. 14 tunnin lievä (32 °C) hypothermia HCA:n jälkeen on vahingollista. Iskemian jälkeisestä hypothermiasta voi kuitenkin olla hyötyä, jos sen kesto rajoitetaan neljään tuntiin.
3. Verisuoneen ennen HCA:ta annosteltu erythropoietiini kulkeutuu aivo-selkäydinnesteeseen ja vähentää aivokudoksen apoptoosia, mutta ei selkeästi ole aivoja suojaava tässä tutkimusmallissa tällä annostelulla.
4. Fruktoosi-1,6-difosfaatti stimuloi aivokudoksen metaboliaa ja alentaa veren kalsiumpitoisuutta. Se parantaa selviytymistä HCA:n jälkeen suojaamalla aivoja – ja myös sydänlihasta – iskemian ja reperfuusion aiheuttamilta vaurioilta. □

Osajulkaisut

Rimpiläinen J, Roms P, Pokela M, Hirvonen J, Vainionpää V, Kiviluoma K, Biancari F, Ohtonen P, Jäntti V, Anttila V & Juvonen T (2002) Lamotrigine plus leukocyte filtration as a neuroprotective strategy in experimental hypothermic circulatory arrest. *The Annals of Thoracic Surgery* 73: 163–72.

Roms P, Heikkinen J, Biancari F, Pokela M, Rimpiläinen J, Vainionpää V, Hirvonen J, Jäntti V, Kiviluoma K, Anttila V & Juvonen T (2002) Prolonged mild hypothermia after experimental hypothermic circulatory arrest in a chronic porcine model. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 123: 724–34.

Roms P, Rönkä E, Kiviluoma K, Vainionpää V, Hirvonen J, Mennander A, Pokela M, Biancari F, Rimpiläinen J & Juvonen T (2002) Potential neuroprotective benefits of erythropoietin during experimental hypothermic circulatory arrest. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 124: 714–23.

Roms P, Kaakinen T, Kiviluoma K, Vainionpää V, Hirvonen J, Pokela M, Ohtonen P, Biancari F, Nuutinen M & Juvonen T (2002) Fructose-1,6-bisphosphate for improved outcome after hypothermic circulatory arrest in pigs. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, in press.

Pekka Roms

LT, thorax- ja verisuonikirurgian erikoislääkäri

OYS, kirurgian klinikka

pekka.romsi@oulu.fi



Erkki Saarela