

Laura Liikamaa

INTERFERONI-BEETAN VAIKUTUS KESKUSHERMOSTON SUOJAUKSEEN  
KOKEELLISELLA ELÄINMALLILLA TOTEUTETUSSA HYPOTERMISESSÄ SYDÄMEN  
JA VERENKIERRON PYSÄYTYKSESSÄ

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Kevätlukukausi 2020

Laura Liikamaa

INTERFERONI-BEETAN VAIKUTUS KESKUSHERMOSTON SUOJAUKSEEN  
KOKEELLISELLA ELÄINMALLILLA TOTEUTETUSSA HYPOTERMISESSÄ SYDÄMEN  
JA VERENKIERRON PYSÄYTYKSESSÄ

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin  
OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kliininen laitos

Kevätlukukausi 2020

Vastuuhenkilö: LT Markus Malmberg

LIKAMAA, LAURA: Interferoni-beetan vaikutus keskushermoston suojaukseen kokeellisella eläinmallilla toteutetussa hypotermisessä sydämen ja verenkierron pysäytyksessä

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 10 s., 2 liites.  
Sydän- ja rintaelinkirurgia  
Huhtikuu 2020

---

Tässä tutkielmassa esitellään tutkimusprotokolla, jonka tarkoituksena on selvittää interferoni-beetan keskushermostoa suojaavia vaikutuksia hypotermisessä sydämen ja verenkierron pysäytyksessä (HCA, hypothermic circulatory arrest). Tutkimus toteutetaan kokeellisena eläinmallina porsailla. HCA tulee kyseeseen muun muassa nousevan aortan ja aortankaaren kirurgiassa aorttaproteesin distaalisen sauman tekemisen ajaksi. Aorttakirurgiassa aivotapahtumien riski on 2–7 % ja keskushermoston vaurio voi kehittyä useilla eri mekanismeilla. Yksi merkittävä altiste keskushermostovaurioille on sydänkeuhkokoneen kehonulkoisen verenkierron aktivoima elimistön yleistynyt tulehdusreaktio (SIRS, systemic inflammatory response syndrome), joka häiritsee hermosolujen ja veri-aivoesteen toimintaa altistaen postoperatiivisille komplikaatioille. Interferoni-beeta on sytokiineihin kuuluva glykoproteiini, joka aktivoi immuunipuolustusjärjestelmän soluja. Interferoni-beetaa käytetään rutiinisti MS-taudin hoitoon tulehdusta lievittävänä lääkkeenä. Eläintutkimuksissa on todettu interferoni-beetalla olevan kudoksia suojaava vaikutus äkillisessä hengitysvajausoireyhtymässä (ARDS, acute respiratory distress syndrome), aivoinfarktissa sekä suoliston kudosvauriossa, joka aiheutuu äkillisestä verenkierron palautumisesta hapenpuutteesta kärsineeseen kudokseen (iskemia-reperfuusiovaurio).

Tutkimus toteutetaan randomoidusti 20 porsaan sarjana, jossa puolelle porsaista annostellaan interferoni-beeta ennen toimenpidettä. Porsaat kytketään sydänkeuhkokoneeseen ja suoritetaan HCA 20 minuutin ajaksi 25 °C:n ydinlämpötilassa. Sydän ja verenkierto käynnistetään ja ydinlämpötila nostetaan normotermian tasolle. Lopetuksen jälkeen kerätään kudospäätteet sydäimestä, keuhkoista, munuaisesta ja aivoista. Verinäytteet kerätään toimenpiteen aikana eri aikapisteissä myöhempää analyysiä varten. Tutkimukseen on myönnetty koe-eläinlupa ja koe-eläimiä valvoo Turun yliopiston koe-eläinkeskus.

Tutkimusprotokollaa on harjoiteltu piloteilla. Pilotit ovat onnistuneet ongelmitta ja protokolla on osoitettu toimivaksi. Tutkimus toteutetaan syksyllä 2020 ja tutkimustulokset saadaan vuoden sisällä. Tavoitteena on julkaista tulokset alan kansainvälisissä julkaisuissa.

# Sisällys

1 JOHDANTO	1
1.1 Nousevan aortan ja aortankaaren kirurgia	1
1.2 Sydänkeuhkokoneen toiminta	2
1.3 Hypotermian hyöty keskushermoston suojauksessa	3
1.4 Sydänkirurgian neurologiset komplikaatiot	3
1.5 S100b-merkkiaine aivovaurion asteen arvioimisessa	5
1.6 Interferoni-beeta	5
2 TUTKIMUKSEN TARKOITUS	6
3 MENETELMÄ	6
3.1 Koe-eläimet	6
3.2 Anestesia ja lääkitys	6
3.3 Toimenpiteen toteutus	7
3.4 Näytteet	8
3.5 Analyysi	9
3.6 Aikataulu	9
4 POHDINTA	9
LÄHTEET	11

# 1 Johdanto

## 1.1 Nousevan aortan ja aortankaaren kirurgia

Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) vuonna 2017 julkaiseman tilastoraportin mukaan vuonna 2015 Suomessa suoritettiin 34 toimenpidettä, joissa tehtiin täydellinen sydämen ja keuhkojen ohitus sekä verenkierron pysäytys syvässä hypotermiassa (DHCA, deep hypothermic circulatory arrest) ilman erillistä aivoverenkierron ylläpitoa ja 35 toimenpidettä, joissa ylläpidettiin erillistä aivoverenkiertoa DHCA:n ajan. Sydämen ja keuhkojen täydellisiä ohituksia (CPB, cardiopulmonary bypass) ilman verenkierron pysäytystä tehtiin 33 toimenpiteessä syvässä hypotermiassa ja 1925 toimenpiteessä lievässä hypotermiassa tai normotermiassa.<sup>1</sup>

Kirurgista hoitoa vaativiin aortan sairauksiin lukeutuvat aortan aneurysmat eli paikalliset pullistumat, akuutti aorttaoireyhtymä, aortan synnynnäiset poikkeavuudet ja tietyt geneettiset sairaudet, kuten Marfanin oireyhtymä. Akuutti aorttaoireyhtymä on aortan hätätila, johon lukeutuu dissekaatio eli suonien sisäkalvon repeämä, intramuraalihematooma eli suonien seinämän sisäinen verenpurkauma, läpäisevä ateroskleroottinen haavauma ja aortan seinämän traumaattinen repeämä. Dissekaatio on aorttaoireyhtymän yleisin ilmentymä. Aortan sairauksien kirurginen hoito toteutetaan avoleikkauksena tai endovaskulaarisena eli suonensisäisenä toimenpiteenä. Aortan vaurion laajuus ja sijainti määrittävät vaadittavan leikkaustekniikan. Sternotomiateitse eli rintalastan avauksessa tehty hypoterminen sydämen ja verenkierron pysäytys (HCA, hypothermic circulatory arrest) on ensisijainen hoito, kun korjataan nousevan aortan ja aortankaarelle ulottuvia aneurysmia sekä dissekaatioita. Aortan aneurysma korjataan pääsääntöisesti verisuoniproteesilla. Proksimaaliseen aortankaareen yltävien aneurysmien toimenpiteissä HCA mahdollistaa proteesin distaalisen sauman tekemisen turvallisesti. Laajemmissa toimenpiteissä, kuten koko aortankaaren leikkauksissa, vaadittu aika verenkierron pysäytykselle on pidempi. Tällöin HCA:n aikana ylläpidetään erillistä aivoverenkiertoa eli selektiivistä antegradista aivoverfuusiota (SACP, selective antegrade cerebral perfusion) keskushermoston suojaamiseksi.<sup>2,3</sup>

Nousevan aortan aneurysman kiireettömän leikkauksen kriteerit täyttyvät, jos aortan läpimitta on yli 55 mm tai jos potilaalla on merkittäviä aortan repeämän riskitekijöitä ja aortan läpimitta on yli 40–50 mm. Mikäli potilas tarvitsee muuta avosydänkirurgiaa ja nousevan aortan läpimitaksi todetaan yli 45 mm, myös aortan protetisointi on perusteltua. Läpimitaltaan yli 40 mm:n aortta edellyttää säännöllistä seurantaa ja riskitekijöiden hyvää hallintaa. Optimaalinen systolinen verenpaine on 120 mmHg tai alle ja tavoite leposykkeelle on 60–70/min. Tupakoinnin lopetus on erittäin tärkeää.

Aortan nopea kasvu ennakoi akuuttia tapahtumaa, nopeaksi kasvuksi katsotaan yli 5 mm vuodessa. Yli 80 % hoitamattomista aneurysmista repeää.<sup>2</sup>

## 1.2 Sydänkeuhkokoneen toiminta

HCA toteutetaan sydänkeuhkokoneen avulla. Veri ohjataan sydänkeuhkokoneeseen sydämen oikeasta eteisestä sekä ylä- ja alaonttolaskimoista (v. cava superior ja inferior) ja palautetaan valtimolinjaan, yleensä nousevaan aorttaan. Sydänkeuhkokoneen letkujen ja hapettimen alkuliuos laimentaa verta, jolloin punasolujen osuus verivolyymista (HKR, hematokriitti) laskee 21–25 %:n tasolle. Aikuisten normaali HKR-taso on miehillä 38–50 % ja naisilla 34–46 %. Sydänkeuhkokoneen käytön ajan veren hyytyminen estetään hepariinilla ja sen vaikutusta seurataan ACT-mittauksilla (activated clotting time). Normotermiassa sydänkeuhkokoneen virtaustavoite on 2,4 l/min/m<sup>2</sup> ja hypotermiassa virtausta voidaan laskea arvoon 1,0 l/min/m<sup>2</sup>. Keskiverenpaine (MAP, mean arterial pressure) pyritään pitämään noin 60–80 mmHg:n tasolla.<sup>2</sup>

Ydinlämpötilan viilennys aloitetaan välittömästi sydänkeuhkokoneeseen kytkemisen jälkeen. Tavoitelämpötilassa luodaan ulkoinen verenkierto eristämällä sydän muusta verenkierrosta aortan pihdityksellä. Sydän suojataan ja sen sähköinen ja mekaaninen toiminta pysäytetään sepelvaltimoiden tai -laskimoiden kautta annosteltavalla kylmällä kardioplegialiuoksella. Kardioplegialiuos sisältää puskuriaineita, ja sen kaliumpitoisuus on 20–30 mmol/l. Sydämen liikkeen pysäyttämisen lisäksi kardioplegialiuos huuhtoo pois kaasun, aineenvaihduntatuotteet sekä partikkelit ja säilyttää sydämen lämpötilan toivotulla tasolla. Kardioplegia voi olla kirkasta kardioplegialiuosta, eli tasapainotettua suolaliuosta, tai verikardioplegiaa, joka sisältää potilaan omaa verta suhteessa 4:1–8:1. Kardioplegialiuoksen avulla sydän voi olla pysäytettynä jopa kaksi tuntia. Tämän ylittävät ajat nostavat sydänlihaskasvun riskiä. Verenkierto pysäytetään sammuttamalla sydänkeuhkokone, jolloin aortan manipulaatio mahdollistuu. Toimenpiteen jälkeen verenkierto ja sydän käynnistetään. Ydinlämpötila nostetaan 34,5 °C:seen. Seuraavaksi pyritään pois sydänkeuhkokoneesta. Kanyylit poistetaan ja hepariinin vaikutus kumotaan protamiinilla.<sup>2</sup>

Sopivasta lämpötilasta ja verenkierron pysäytyksen turvallisesta kestosta on paljon vaihtelevaa tutkimusnäyttöä, ja käytännöt poikkeavatkin hoitoyksiköittäin. Porsailla tehdyssä tutkimuksessa ei todettu merkittävää eroa elinten suojauksessa syvän (15 °C) ja maltillisen (25 °C) HCA:n välillä.<sup>4</sup> Aortankaareen asti yltävissä toimenpiteissä on perinteisesti laskettu ydinlämpötila 18 °C:seen, jolloin aivoverenkierto voidaan pysäyttää kokonaan 20 minuutin ajaksi.<sup>2</sup> Tutkimusten mukaan neurologisten komplikaatioiden ilmaantuvuus kasvaa yli 40 minuuttia kestävässä verenkierron

pysäytyksissä ja keskimäärin yli 50 minuutin pysäytys ennustaa huonoa lopputulosta ja ennenaikaista kuolemaa.<sup>5</sup>

Nykyään nousevan aortan ja aortankaaren aneurysma- ja dissekaatiokirurgiassa pyritään käyttämään maltillisempaa jäähdytystä pudottamalla ruumiinlämpö 22–25 °C:seen sekä käyttämään selektiivistä antegradista aivoperfuusiota (SACP, selective antegrade cerebral perfusion). SACP:n toteutuksessa kanyloidaan oikea solisvaltimo (a. subclavia), jonne sydänkeuhkokoneesta tuleva veri ajetaan. Pään ja kaulan valtimorungon (truncus brachiocephalius) tyvi pihditetään takaisinvirtauksen estämiseksi. Noin 17 %:lla ihmisistä aivojen valtimokehä (circulus Willis) on epätäydellisesti kehittynyt, minkä vuoksi aivojen verenkierron turvaamiseksi myös vasemman puolen kanylointi on suotavaa. Tällöin asetetaan pallokatetrit sekä vasempaan kaulavaltimoon (a. carotis communis) että vasempaan solisvaltimoon (a. subclavia).<sup>2</sup> Tutkimuksissa on todettu SACP:n käytön HCA:n rinnalla lisäävän leikkauksen jälkeistä elämänlaatua verrattuna pelkästään HCA:ssa tehtyihin toimenpiteisiin. SACP:n kanssa turvallinen verenkierron pysäytysaika on 30 minuuttia.<sup>6</sup> SACP:n haasteena on virtauksen säätely, josta ei ole standardoituja suosituksia. Liian nopea verenvirtaus aiheuttaa aivojen turvotusta ja hidas virtaus puolestaan altistaa aivojen hapenpuutteelle.<sup>7</sup>

### **1.3 Hypotermian hyöty keskushermoston suojauksessa**

Sydänkirurgiassa ydinlämpötilaa lasketaan tarkoituksenmukaisesti, koska hypotermialla on aivoja suojaava vaikutus hapenpuutteessa. Lämpötilan laskeminen kehossa hidastaa aivojen aineenvaihduntaa ja vähentää glukoosin ja hapen kulutusta. Aivojen hapenpuute vapauttaa hermosolujen toimintaa kiihdyttävää välittäjäainetta glutamaattia, joka aktivoi hermosolun NMDA-reseptoreita (N-metyyli-D-aspartaatti). NMDA-reseptorien aktivaatio mahdollistaa kalsiumionien virtauksen soluun, mikä vaurioittaa solurakenteita. Hypotermia vähentää glutamaatin vapautumista hermosoluista ja siten estää kalsiumin haitallista virtausta soluun. Hypotermialla on suojaava vaikutus myös solukalvojen rakenteisiin ja vaurioituneiden solujen mitokondrioihin ja energiantuotantoon. Vapaiden radikaalien ja sytokiinien vapautuminen vähenee ja iskemian aikaansaama tulehdusreaktio vaimenee.<sup>7</sup>

### **1.4 Sydänkirurgian neurologiset komplikaatiot**

Sydänkirurgisissa toimenpiteissä kokonaiskuolleisuus on 2–4 % ja komplikaatioita esiintyy leikkaustyyppistä riippuen 2–20 %:ssa leikkauksista. Sydänkirurgian tavallisimpia komplikaatioita ovat sydäntapahtumat, aivotapahtumat, munuaiskomplikaatiot sekä haavainfektiot.<sup>2</sup> Tavallisin

sydänoperaation jälkeinen komplikaatio on sydämen eteisvärinä, jota esiintyy 30–50 %:lla leikatuista potilaista. Eteisvärinä on merkittävä aivoinfarktin riskitekijä.<sup>8</sup>

Iskeeminen aivoinfarkti, hypoksis-iskeeminen aivovaurio tai aivoverenvuoto esiintyy noin 2–5 %:lla sydänleikatuista potilaista.<sup>9</sup> Aortankaarelle ulottuvien toimenpiteiden aivotapahtumien riski on 2–7 %.<sup>2</sup> Tutkimusten mukaan syvässä hypotermiasuojassa tehdyn verenkierron pysäytyksen jälkeen ilmenevä pysyvä neurologinen toiminnanhäiriö todetaan 4,8–12,5 %:lla potilaista ja 3,3–9,6 %:lla potilaista, joille on käytetty selektiivistä antegradista aivoverfuusiota.<sup>10</sup> Aivoinfarktin esiintyvyys sepelvaltimon ohitusleikkauksissa on 3,8 %, aorttaläppäleikkauksissa 4,8 %, mitraaliläppäleikkauksissa 8,8 %, kahden tai kolmen läpän leikkauksissa 9,7 % ja yhdistetyissä sepelvaltimo- ja läppäleikkauksissa 7,4 %.<sup>11</sup>

Leikkauksessa muodostuva keskushermoston vaurio voi kehittyä useilla eri mekanismeilla. Aivojen hapenpuutetta aiheuttaa veritulppa eli embolia tai aivojen verenkiertovajaus. Aivoverisuonten embolisaatio voi johtua pienistä kudokspaleista, verihyytymistä tai ilmakuplista. Valtaosa kuvantamistutkimuksissa todetuista aivoinfarkteista johtuu nousevasta aortasta lähtöisin olevasta emboluksesta, joka irtoaa yleensä aortan kanyloinnin, pihdityksen tai siirteen istutuksen seurauksena. Proksimaalinen embolia kaulavaltimoissa tai kallonsisäisissä valtimoissa häiritsee aivoverenkierron itsesäätelyä ja siten aiheuttaa aivojen hapenpuutetta. Diffuusin verenkierron aivovaurion uskotaan johtuvan mikroemboluksista, joiden aiheuttamaa aivokudoksen vauriota pahentaa sydänkeuhkokoneen aikana syntyvä sydämen rytmihäiriöstä tai pumppausvajauksesta johtuva hemodynaaminen verenkiertovajaus.<sup>2,11,12</sup>

Post-operatiivisesti sydänkeuhkokoneen käyttö kohottaa tulehdusparametrejä ja ruumiinlämpöä. Veren vierasesinekontakti sydänkeuhkokoneen letkustoihin, endotoksemia, operaation aiheuttama kudostrauma sekä vaurio, joka aiheutuu verenkierron palautuessa hapenpuutteesta kärsivään kudokseen eli iskemia-reperfuusiovaurio, yhdessä käynnistävät immuunivasteen. Tätä seuraa elimistön yleistynyt tulehdusreaktio (SIRS, systemic inflammatory response syndrome), joka häiritsee hermosolujen ja veri-aivoesteiden toimintaa. Tulehdusvaste pysyy yllä 3–5 vuorokauden ajan leikkauksen jälkeen. SIRS puolestaan altistaa post-operatiivisille komplikaatioille, kuten keskushermoston, sydämen, hengityselimistön, munuaisten ja maksan toimintahäiriöille. SIRS:n komplikaatiot voivat johtaa monielinvaurioon (MOF, multiple organ failure). Myös paino nousee sydänkeuhkokoneen käytön myötä. Sydänkeuhkokoneen alkuliuos lisää verivolyyemia ja potilasta nesteytetään runsaasti verenpaineen ja munuaisten toiminnan ylläpitämiseksi toimenpiteen aikana.

2,13,14



Neurologisten komplikaatioiden määrää on saatu laskemaan leikkaustekniikkaa ja leikkauksen jälkeistä hoitoa kehittämällä, mutta edelleen sydänleikkauksen jälkeiset neurologiset komplikaatiot ovat sydämen pumppausvajauksen jälkeen toiseksi yleisin komplikaatiomuoto. Neurologiset komplikaatiot huonontavat leikkauksen jälkeistä elämänlaatua ja lisäävät sairaalahoitopäivien määrää ja kuntoutuksen tarvetta.<sup>2</sup>

### **1.5 S100b-merkkiaine aivovaurion asteen arvioimisessa**

Aivovaurion vaikeusasteen arviointiin post-operatiivisesti on yleisesti käytössä S100b-merkkiaine, joka on gliasoluissa tuotettu proteiini. S100b-pitoisuus kohoaa seerumissa jo 30–60 minuutissa hermosoluvaurion jälkeen. Tuolloin aivovauriota ei vielä voida kuvantamisella todeta. Tietokonetomografiassa (TT) ensimmäiset aivoinfarktimuutokset näkyvät aikaisintaan 2–3 tunnin kuluttua vauriosta.<sup>2,15</sup> Toinen yleisesti käytetty merkkiaine aivovaurion arviointiin on neurospesifinen enolaasi (NSE), mutta S100b:n kinetiikka on huomattavasti nopeampaa. Etenevä aivovaurio näkyy yleensä kohoavina seerumin S100b-pitoisuuksina, viiteyläraja on 0,15 mikrog/l.<sup>16</sup> Sydänpysähdyksen jälkeen S100b ja NSE mitataan rutiinisti 24 ja 48 tunnin aikapisteissä suuremman diagnostisen arvon saavuttamiseksi.<sup>2,15</sup>

### **1.6 Interferoni-beeta**

Interferonit ovat sytokiinien ryhmään kuuluvia glykoproteiineja. Interferoni-beeta kuuluu tyyppin I interferoneihin ja niitä tuotetaan useissa eri soluissa immuunipuolustuksen ärsykkeiden kuten virusinfektioiden seurauksena.<sup>17</sup>

Interferoni-beetaa on jo pitkään käytetty MS-taudin (multippeli skleroosi) hoidossa. Sen vaikutuksen uskotaan perustuvan T-lymfosyyttien lisääntymisen estoon. Sytokiinien tuotanto siirtyy anti-inflammatoriseen vasteeseen ja tulehdussolujen siirtyminen veri-aivoesteeseen läpi vähenee.<sup>18</sup>

Interferoni-beetaa on tutkittu äkillisen hengitysvajausoireyhtymän (ARDS, acute respiratory distress syndrome) hoidossa. Tutkimuksessa todettiin interferoni-beetan lisäävän merkittävästi keuhkokudoksen endoteelisolun CD73:n (ekto-5'-nukleotidaasi) ilmentymistä. CD73:n tuottama adenosini toimii puolestaan inflammaation ehkäisijänä ja verisuonten seinämän läpäisevyyttä estävänä tekijänä.<sup>19</sup>

Hiirillä tehdyssä tutkimuksessa interferoni-beetan on todettu pienentävän aivoinfarktialuetta ja vähentävän neurologisia oireita. Interferoni-beeta rajoittaa monosyyttien, neutrofiilien ja T-solujen

infiltraatiota keskushermostossa. Lisäksi se vaimentaa aivojen endoteelisolujen adheesiomolekyylien ilmentymistä, vähentää tulehduksen mediaattorien tuottoa ja mikroglia-solujen aktivaatiota.<sup>20</sup>

Interferoni-beetan suojaavaa vaikutusta on tutkittu myös suoliston iskemia-reperfuusio-vauriossa hiirimallilla. Kyseisessä tutkimuksessa todettiin interferoni-beetalla olevan merkittävä verisuonten seinämän läpäisevyyttä alentava vaikutus.<sup>21</sup>

## **2 Tutkimuksen tarkoitus**

Tässä tutkimuksessa on tarkoitus tutkia interferoni-beetan keskushermostoa suojaavaa vaikutusta sydänkirurgiassa, jossa joudutaan pysäyttämään sydämen pumppaustoiminta ja verenkierto hypotermiasuojassa. Tutkimus toteutetaan koe-eläinmallilla, jotta saadaan standardoidut ja vertailukelpoiset olosuhteet tutkimuksen toteutukselle. Koe-eläiminä käytetään porsaita, joiden fysiologia ja anatomia ovat lähellä ihmistä. Tutkimusprotokolla on esitelty menetelmä-osiossa. Interferoni-beetan suojaavaa vaikutusta analysoidaan toimenpiteessä kirjattujen vitamiinien sekä kerättyjen verinäytteiden ja kudoksetäytteiden avulla.

## **3 Menetelmä**

### **3.1 Koe-eläimet**

Koe-eläiminä käytetään 25–30 kg porsaita, sekä uroksia että naaraita. Tutkimus toteutetaan randomoidusti 20 porsaan sarjana siten, että 10 porsaalle annostellaan suonensisäisesti interferoni-beeta 0,25 µg kahdessa erässä ja 10 porsaalle lumelääkkeenä keittosuolaa ennen HCA:n tekemistä. Porsaat pidetään vesipaastolla toimenpidettä edeltävät 12 tuntia. Tutkimukselle on myönnetty koe-eläinlupa. Tutkimus toteutetaan Turun yliopiston koe-eläinkeskuksen tiloissa ja koe-eläinten valvonnasta vastaa koe-eläinkeskus. Kaikki tutkimukseen osallistuvat ovat suorittaneet koe-eläinkurssin.

### **3.2 Anestesia ja lääkitys**

Toimenpide toteutetaan protokollan mukaisesti samalla tavalla jokaiselle porsaalle. Lääkkeiden annostelu vaihtelee vasteen mukaan.

Porsaille annetaan ensimmäiseksi rauhoittava lääkitys midatsolaami 25 mg ja ksylatsiini 100 mg injektiona niskalihakseen. Midatsolaami on lyhytvaikutteinen bentsodiatsepiineihin kuuluva sedatiivi, joka rauhoittaa ja väsyttää eläintä. Ksylatsiini on klonidiini johdannainen, joka sedatoi,

lievittää kipua ja toimii lihasrelaksanttina.<sup>22</sup> Korvaan asetetaan ääreislaskimokanyyli, jonka kautta annostellaan ensimmäinen interferoni-beeta 0,125 µg tai lumelääke ja aloitetaan anestesia propofoli-infuusiolla suonensisäisesti 15–30 mg/kg/h. Propofoliannosta säädetään vasteen mukaan. Propofolin lisäksi sedaatioon käytetään midatsolaamia 100 µg/kg suonensisäisinä kerta-annoksina noin tunnin välein tai vasteen mukaan. Lihasrelaksantiksi annostellaan suonensisäisesti rokuroni 3 mg. Porsas intuboidaan 6.0-intubaatioputkella ja kytketään respiraattoriin. Mikäli intubaatio ei onnistu, tehdään henkitorviavanne eli trakeostomia. Kivunlievityksenä käytetään fentanyyliä 1,5 µg/kg suonensisäisesti kerta-annoksina noin tunnin välein annosteltuna tai vasteen mukaan.

Oikealle puolelle kaulavaltimoon (a. carotis) asetetaan valtimokanyyli, jonka kautta suoritetaan invasiivinen verenpaineen mittaus sekä valtimoverinäytteiden otto. Oikealle sisempään kaulalaskimoon (v. jugularis interna) asetetaan keskuslaskimokanyyli, josta lääkeannostelu pääosin toteutetaan. Korvan ääreislaskimokanyylin kautta toteutetaan nesteytys Ringer-liuoksella. Koko operaation ajan seurataan systolista ja diastolista verenpainetta, MAP:ia, sykettä, veren happisaturaatiota sekä sydänpainetta. Virtsan eritystä seurataan virtsarakkopunktiolla.

Ennen aortta- ja laskimokanyylien asetusta sydänkeuhkokonetta varten, annostellaan toinen annos interferoni-beetaa 0,125 µg tai lumelääkettä. Toimenpiteen aikana ennen sydämen manipulaatiota annostellaan lidokaiini 200 mg suonensisäisesti sydämen rytmihäiriön ehkäisemiseksi. Ulkoiseen verenkiertoon siirryttäessä annostellaan hepariini, jonka vaikutusta seurataan ACT-mittauksilla (activated clotting time). Sydänkeuhkokoneen alkuliuosena käytetään Ringer-liuosta ja hematokriittiarvoa seurataan toimenpiteen ajan. Sydänkeuhkokoneen käytön tarpeen väistyessä hepariinin vaikutus kumotaan protamiinilla.

### **3.3 Toimenpiteen toteutus**

Porsaille tehdään sternotomia eli rintalastan avaus. Rintalastan keskelle tehdään sen yläreunasta miekkalisäkkeeseen asti ulottuva viilto diatermialaitteella ja ihon sekä ihonalaiskudoksen eli subcutiksen vuotavat pienet suonet poltetaan kiinni. Miekkalisäke halkaistaan keskeltä rikkomatta vatsakalvoa ja rintalasta avataan keskilinjaa pitkin saksilla ja sahaa apuna käyttäen. Rintalastan reunoihin levitetään luuvahaa vuodon ehkäisemiseksi ja rintaontelo avataan levittimellä. Sydämen yläosan päällä oleva kateenkorva eli thymus poistetaan ja sydänpussi avataan saksilla. Vasen eteiskorvake peittää aortan näkyvyyttä, joten sen ympärille asetetaan lanka, jonka avulla eteiskorvakkeen saa siirrettyä sivuun aortan manipulaation ajaksi. Aorttaa ympäröivää rasvaa poistetaan varoen, jotta aortan tyveen saadaan näkyvyys.

Tämän jälkeen porsas kytketään sydänkeuhkokoneeseen. Nousevaan aorttaan tehdään kaksi pussiommelta sisäkkäin. Molempien ompeleiden lankoihin asetetaan kiristysholkit. Pussiommelten keskelle tehdään pistopuukolla noin 5 millimetrin kokoinen viilto ja aorttakanyyli asetetaan paikalleen pystysuorassa asennossa kohti aorttankaarta. Kanyylin sisäänviejä poistetaan, pussiompeleet kiristetään holkillä ja kanyylin päähän asetetaan pihti. Kanyylin paikalla pysyminen varmistetaan sitomalla se holkkien kanssa nipuksi ja kiinnittämällä nippu stabiilisti rintalastan reunaan. Tämän jälkeen vapautetaan vasen eteiskorvake ja siirrytään laskimokanyylin laittoon. Sydäntä kallistetaan kevyesti siten, että saadaan näkymä oikeaan eteiskorvakkeeseen. Eteiskorvakkeeseen tehdään yksi pussiommel, jonka lankaan asetetaan kiristysholkki. Ompeleen keskelle tehdään viilto pistopuukolla ja laskimokanyyli viedään sisään suunnaten se kohti alaonttolaskimoa. Kanyylin sisäänviejä poistetaan ja pussiommel kiristetään holkillä. Varmistetaan sormilla tunnustellen kanyylin pään oikea sijainti alaonttolaskimossa. Täytetään kanyyli laskimoverellä ja kanyylin päähän asetetaan pihti. Laskimokanyyli ja kiristysholkki sidotaan nipuksi ja kiinnitetään rintalastan reunaan stabiiliin asentoon. Annostellaan suonensisäisesti hepariini. Yhdistetään aorttakanyyli sydänkeuhkokoneesta verta tuovaan linjaan ja laskimokanyyli sydänkeuhkokoneeseen verta vievään linjaan. Käynnistetään ulkoinen verenkierto sydänkeuhkokoneella. Aloitetaan ydinlämpötilan viilennys, lämpötilaa seurataan nenänieluun asetetulla lämpömittarilla. Tavoitelämpötila on 25 °C.

Kardioplegian antoa varten tehdään aortan tyveen pussiommel kiristysholkillä. Kun tavoitelämpötila on saavutettu, aortta pihditetään aorttakanyylin proksimaalipuolelta. Aortan tyveen injektoidaan pussiompeleen keskelle asetetun kanyylin kautta antegradista kylmää veriplegiaa 400 ml, joka pysäyttää sydämen sähköisen ja mekaanisen toiminnan. Sydänkeuhkokone sammutetaan, jolloin verenkierto pysähtyy. Sydän ja verenkierto pidetään pysäytettynä 20 minuutin ajan, minkä jälkeen plegiakanyyli poistetaan. Aorttapihti avataan ja sydänkeuhkokone käynnistetään. Odotetaan sydämen pumppaustoiminnan palautumista ja aletaan nostaa ydinlämpötilaa. Lämpötilan ollessa 36 °C poistetaan aortta- ja laskimokanyylit ja annostellaan protamiini. Operaation jälkeen porsas lopetetaan kaliumkloridilla (KCl), jonka vaikutuksesta sydän pysähtyy muutaman sekunnin kuluttua.

### **3.4 Näytteet**

Pakastettavat kudoksenäytepalat kerätään sydäimestä, aivoista, munuaisesta, ja keuhkoista. Koko sydän irrotetaan näytteeksi ja säilötään formaliiniin. Operaation aikana kerätään verinäytteet eri aikapisteissä. Verinäytteistä analysoidaan vieritestein i-STAT-laitteella hemoglobiini (Hb), natriumpitoisuus (Na), kaliumpitoisuus (K), sydänmerkkiaine troponiini T (TnT), glukoosi (Gluk)

sekä valtimoverikaasuanalyysi (a-astrup). Samoissa aikapisteissä kirjataan MAP, systolinen ja diastolinen verenpaine, syke sekä veren happisaturaatio. Verinäytteistä erotetaan sentrifugilla plasma ja punasolut, mitkä pakastetaan myöhempää analyysiä varten.

### **3.5 Analyysi**

Tilastanalytiikassa tehdään pienet otoskoot huomioiden pelkät ryhmien väliset vertailut. Jatkuvat muuttujat vertaillaan yhden suuntaisella ANOVA-menetelmällä tai riippumattomien otosten T-testillä ja kategoriset muuttujat McNemarin tai Fisherin testillä. Regressioanalyysit eivät tule kyseeseen näin pienillä otoksilla.

### **3.6 Aikataulu**

Tätä koe-eläintyötä on jo testattu ja harjoiteltu pilottitoimenpiteillä. Nämä toimenpiteet ovat onnistuneet hyvin ja tutkimusprotokolla on todettu toimivaksi. Tutkimus tullaan toteuttamaan syksyllä 2020. Tutkimuksen tulokset saadaan vuoden aikana ja ne julkaistaan alan kansainvälisissä julkaisuissa.

## **4 Pohdinta**

Sydänkirurgiassa esiintyy useita komplikaatioita, joista merkittävä määrä on neurologisia. Sydämen pumppaustoiminta ja verenkierto joudutaan pysäyttämään hypotermiassa nousevan aortan ja aortankaaren kirurgiassa proteesin distaalisen sauman tekemisen ajaksi. Verenkierron pysäytysaika riippuu toimenpiteen laajuudesta. Sydänkeuhkokoneen ulkoinen verenkierto altistaa iskemia-reperfuusioauriolla ja laukaisee systeemisen inflammatorisen reaktion kehossa, mikä häiritsee hermosolujen ja veriaivoesteen toimintaa.

Interferoni-beetan on todettu lisäävän adnosiinia tuottavan CD73:n ilmentymistä. Adnosiini ehkäisee inflammaatiota ja vähentää verisuonien seinämien läpäisevyyttä. Hiirillä tehdyssä tutkimuksessa on todettu interferoni-beetan vaikuttavan aivojen infarktialueen pienenemiseen. Äkillisen hengitysvajausoireyhtymän (ARDS, acute respiratory distress syndrom) tutkimuksissa on nähty interferoni-beetan vaikutus CD73:n ilmentymisen lisääntymiseen. MS-taudin (mullipeli skleroosi) hoitoon interferoni-beetaa on käytetty jo pitkään anti-inflammatorisena lääkkeenä.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää interferoni-beetan keskushermostoa suojaavia vaikutuksia sydänkirurgiassa, jossa toimenpide suoritetaan hypotermisessä sydämen ja verenkierron pysäytyksessä. Tutkimus tehdään porsaille.

Ennen tämän tutkimuksen toteutusta tullaan tekemään interferoni-beetan annosvastetutkimus, jossa selvitetään interferoni-beetan optimaalisin lääkeannos sekä annostelun aikapiste. Mikäli tässä tutkimuksessa interferoni-beetan suojaavasta vasteesta saadaan näyttöä, toteutetaan jatkossa krooninen malli. Kroonisessa mallissa voidaan tutkia interferoni-beetan vaikutuksia myös post-operatiivisesti kehittyvissä neurologisissa vaurioissa. Keskushermoston PET-kuvantamisen lisääminen protokollaan voisi tuoda lisäarvoa tutkimukseen. Tulevaisuudessa on tavoitteena kehittää vastaavia jatkotutkimuksia myös ihmisellä.

## Lähteet

1. THL, "THL/Tilastoraportti/10/2017 Liitetaulukko 8. Toimenpiteiden lukumäärä 2015 (vuodeosasto- ja avohoidossa tehdyt toimenpiteet yhteensä)," 2017.
2. Leppäniemi A, Kuokkanen H, Salminen P. Kirurgia. Helsinki: Duodecim 2018.
3. Sellke FW, del Nido PJ, Swanson SJ. Sabiston & Spencer Surgery of the Chest. Philadelphia: Elsevier 1990.
4. Liu Y, Wu Z, Dai L, Li H, Gong M, Lan F, Guan X, Zhang H. Deep Hypothermic Circulatory Arrest Does Not Show Better Protection for Vital Organs Compared with Moderate Hypothermic Circulatory Arrest in Pig Model. *Biomed Res Int.* 2019;2019:1420216.
5. Gupta P, Harky A, Jahangeer S, Adams B, Bashir M. Varying Evidence on Deep Hypothermic Circulatory Arrest in Thoracic Aortic Aneurysm Surgery. *Tex Heart Inst J.* 2018;45(2):70–75.
6. Immer FF, Lippeck C, Barmettler H, Berdat PA, Eckstein FS, Kipfer B, Saner H, Schmidli J, Carrel TP. Improvement of quality of life after surgery on the thoracic aorta: effect of antegrade cerebral perfusion and short duration of deep hypothermic circulatory arrest. *Circulation.* 2004;110:II-250–II-255
7. Ziganshin BA, Elefteriades JA. Deep hypothermic circulatory arrest. *Ann Cardiothorac Surg.* 2013;2(3):303–315.
8. Alqahtani AA. Atrial fibrillation post cardiac surgery trends toward management. *Heart Views.* 2010;11(2):57–63.
9. Suojaranta-Ylinen R, Salmenperä M, Vento A, Soinne L. Sydänleikkauspotilaiden neurologiset komplikaatiot. *Duodecim* 2012;128:929–36.
10. Habbertheuer A, Wiedemann D, Kocher A, Laufer G, Vallabhajosyula P. How to Perfuse: Concepts of Cerebral Protection during Arch Replacement. *Biomed Res Int.* 2015;2015:981813.
11. Bucarius J, Gummert JF, Borger MA, Walther T, Doll N, Onnasch JF, Metz S, Falk V, Mohr FW. Stroke after cardiac surgery: a risk factor analysis of 16, 184 consecutive adult patients. *Ann Thorac Surg.* 2003;75(2):472–8.
12. Hogue CW, Gottesman RF, Stearns J. Mechanisms of cerebral injury from cardiac surgery. *Crit Care Clin.* 2008;24(1):83–ix.
13. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology.* 2002;97(1):215-252.
14. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 2002;21(2):232–244.

15. Soinila S, Kaste M. Neurologia. Helsinki: Duodecim 2015.
16. HUSLAB:n ohjeistus, lab33496 (H-KL4619). Saatavilla internetissä: [www.terveysportti.fi](http://www.terveysportti.fi).
17. Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.
18. Kasper LH, Reder AT. Immunomodulatory activity of interferon-beta. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(8):622–631.
19. Bellingan G, Maksimow M, Howell DC, Stotz M, Beale R, Beatty M, Walsh T, Binning A, Davidson A, Kuper M, Shah S, Cooper J, Waris M, Yegutkin GG, Jalkanen J, Salmi M, Piippo I, Jalkanen M, Montgomery H, Jalkanen S. The effect of intravenous interferon-beta-1a (FP-1201) on lung CD73 expression and on acute respiratory distress syndrome mortality: in an open-label study. *Lancet Respir Med*. 2014;2(2):98–107.
20. Kuo PC, Scofield BA, Yu IC, Chang FL, Ganea D, Yen JH. Interferon- $\beta$  Modulates Inflammatory Response in Cerebral Ischemia. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(1):e002610.
21. Kiss J, Yegutkin GG, Koskinen K, Savunen T, Jalkanen S, Salmi M. IFN-b protects from vascular leakage via up-regulation. *Eur. J. Immunol*. 2007;37(12):3334–3338.
22. Ruskoaho H, Hakkola J, Huupponen R, Kantele A, Korpi E, Moilanen E, Piepponen P, Savontaus E, Tenhunen O, Vähäkangas K. Farmakologia ja toksikologia. Helsinki: Duodecim 2017.