Plazmatické koncentrace zánětlivých markerů během mimotělního oběhu v hypotermii a normotermii

Jiří Slavík, Marie Bobková, Karel Medek, Jitka Nešporová, Blanka Píchovcová, Jan Černý, Petr Němec

Centrum kardiiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno, Česká republika

Slavík J, Bobková M, Medek K, et al. **Plazmatické koncentrace zánětlivých markerů během mimotělního oběhu v hypotermii a normotermii.** *Cor Vasa* 2010;52:353–356.

Úvod: Cílem studie je ověřit hypotézu, jestli použití normotermie v průběhu srdeční operace v mimotělním krevním oběhu snižuje intenzitu systémové zánětlivé odpovědi organismu pacienta ve srovnání s použitím mírné hypotermie 30 °C. Důležitým ukazatelem stresové reakce během mimotělního oběhu je produkce cytokinů.

Metody: Byly měřeny plazmatické koncentrace cytokinů v osmi vzorcích před srdeční operací, během ní a po ní. Byly srovnány dvě skupiny pacientů s ischemickou chorobou srdeční, kteří podstoupili revaskularizaci myokardu v mimotělním oběhu. Jedna skupina byla operována za použití normotermie (n = 23), u druhé skupiny byla použita mírná hypotermie (n = 20). Byly měřeny a srovnány koncentrace těchto cytokinů: TNF α , interleukiny IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, endotelin ET-1, ICAM-1 (intracellular adhesion molecule), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) a L-selektin.

Výsledky: Byly zjištěny signifikantně nižší koncentrace některých prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL-6 a IL-8) a signifikantně vyšší koncentrace protizánětlivého cytokinu IL-10 u skupiny pacientů operovaných v normotermii.

Závěr: Z hlediska rozvoje systémové zánětlivé odpovědi se použití normotermie jeví jako méně škodlivé ve srovnání s použitím hypotermie.

Klíčová slova: Systémová zánětlivá odpověď – Cytokiny – Mimotělní oběh – Normotermie – Hypotermie

Slavík J, Bobková M, Medek K, et al. **Plasmatic levels of inflammatory markers during cardiopulmonary bypass in hypothermia and normothermia.** *Cor Vasa* 2010;52:353–356.

Introduction: The aim of our study is to find out if normothermia during cardiopulmonary bypass (CPB) decreases the intensity of systemic inflammatory response in patients compared with mild hypothermia around 30 °C. An important marker of the stress reaction during CPB is cytokine production.

Methods: The plasmatic levels of different cytokines were measured eight times before, during, and after cardiac surgery. Two groups of patients – normothermic (n = 23) and hypothermic (n = 20) – undergoing elective coronary revascularisation were compared. We measured and compared the plasmatic levels of the following cytokines: TNF- α , interleukins IL-1- β , IL-6, IL-8, IL-10, endothelin ET-1, intracellular adhesion molecule ICAM-1, vascular cell adhesion molecule VCAM-1 and L-selectin.

Results: We found significantly decreased levels of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 and IL-8) and increased level of the antiinflammatory cytokine IL-10 in the normothermic group in comparison with the hypothermic group.

Conclusions: As for the development of a systemic inflammatory response, normothermia appears less harmful in comparison with hypothermia.

Key words: Systemic Inflammatory Response Syndrome – Cytokine production – Cardiopulmonary Bypass – Normothermia – Hypothermia

Adresa: MUDr. Jiří Slavík, CKTCH, Pekařská 53, 656 91 Brno, Česká republika, e-mail: jiri.slavik@post.cz

Úvod

Cílem studie je ověřit hypotézu, jestli použití normotermie v průběhu srdeční operace v mimotělním oběhu (MO) snižuje intenzitu systémové zánětlivé odpovědi organismu pacienta (SIRS) ve srovnání s použitím mírné hypotermie 30 °C. Hlavním ukazatelem škodlivého vlivu MO na pacien-

ta je míra stresové reakce organismu. Důležitým znakem stresové reakce během MO je rozvoj SIRS, který je vyjádřen zvýšenou produkcí zánětlivých markerů. Výsledkem tohoto procesu je zvýšení morbidita a mortality v pooperačním období. Normotermie i hypotermie je v průběhu operace v MO všeobecně používána a volba postupu je věcí operujícího chirurga. Obě metody přinášejí výhody i nevýhody

a jsou považovány za rovnocenné. Lidský organismus se však v průběhu milionů let vývoje stal homeotermním. Všechny životní pochody a biochemické reakce jsou tak vývojově optimalizovány na teplotu blízkou 37 °C. Snížení teploty vyvolává aktivaci kompenzačních a obranných mechanismů, kterými je organismus vybaven pro případ expozice nízké teplotě okolí. Z toho vyplývá, že použití hypotermie je stresujícím faktorem a má na lidský organismus nepříznivý vliv. To by se mělo projevit zvýšenou intenzitou SIRS v případě použití hypotermického mimotělního oběhu.

Pacienti a metodika

Ve studii byly srovnány dvě skupiny pacientů s ischemickou chorobou srdeční, kteří podstoupili chirurgickou revaskularizaci myokardu v MO. Jedna skupina pacientů (N) byla operována v celkové normotermii ($n = 23$) a druhá skupina (H) v celkové mírné hypotermii 30 °C ($n = 20$). Mezi oběma skupinami nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly, co se týče zastoupení pohlaví (18 mužů/5 žen vs. 16 mužů/4 ženy); věku ($62,0 \text{ roku} \pm 7,8$ [N] vs. $59,8 \pm 9,0$ [H]); doby aortální svorky ($40,5 \text{ min} \pm 9,5$ [N] vs. $39,7 \text{ min} \pm 10,2$ [H]); doby MO ($75,0 \text{ min} \pm 17,2$ [N] vs. $79,5 \text{ min} \pm 29,2$ [H]); počtu bypassů ($2,6 \pm 0,64$ [N] vs. $2,7 \pm 0,64$ [H]) a četnosti použití mamární tepny ($0,7 \pm 0,46$ [N] vs. $0,6 \pm 0,49$ [H]). Nebyly zaznamenány statisticky signifikantní rozdíly ani v hodnotách krevního průtoku během MO ($6,4 \text{ l/min}$ [N] vs. $6,3 \text{ l/min}$ [H]), středního arteriálního tlaku (73 mm Hg [N] vs. 75 mm Hg [H]); systémové vaskulární rezistence (22 W.j. [N] vs. 23 W.j. [H]) a diurézy během MO (920 ml [N] vs. 908 ml [H]) mezi oběma skupinami pacientů.

Obě skupiny byly operovány za použití shodné chirurgické techniky i techniky MO. V celkové anestezii byla provedena sternotomie, preparace mamární tepny a odběr žilních štěpů z vena saphena magna. Po podání heparinu v dávce 3 mg/kg byla provedena kanylace ascendentní aorty, horní a dolní duté žíly, připojen a spuštěn mimotělní oběh. Mimotělní oběh byl ve všech případech prováděn za použití přístroje Stöckert CAPS (Stöckert Instrumente, Mnichov, Německo) a výměníku tepla téže firmy. Vždy byl použit kapilární oxygenátor Terumo (Capiiox SX-18 R, Terumo Corporation, Tokio, Japonsko) a hadicový set s arteriálním filtrem 40 µm Terumo. Jako náplň bylo použito 500 ml Hartmannova roztoku a 800 ml 20% roztoku mannitolu. Do této náplně byl přidán heparin v dávce 1 mg/kg váhy pacienta. Mimotělní oběh byl veden technikou „alpha-stat“ managementu krevních plynů, kontinuálním průtokem v rozmezí 2,5–3,2 l/min/m² tak, aby byl udržován střední arteriální tlak mezi 60–80 mm Hg. Po spuštění MO a stabilizaci oběhu byla přiložena příčná svorka na ascendentní aortu a podána studená krystaloidní kardioplegie 1 000 ml roztoku St. Thomas II antegrádně do ascendentní aorty. Následující dávky kardioplegie byly podávány kontinuálně cestou již našitých venózních aortokoronárních bypassů. Levostranná mamární tepna byla použita ve 28 případech (65,3 %). Ascendentní aorta byla ventována pomocí jehly,

která sloužila k podání úvodní kardioplegie. Revaskularizace myokardu venózními a arteriálními bypassy byla provedena během srdeční zástavy. Po našití periferních anastomóz byla povolena aortální svorka a obnovena srdeční akce. Za akce pak byly našity centrální anastomózy všech venózních bypassů na ascendentní aortu. Antikoagulace byla řešena přidáváním heparinu podle aktuální hodnoty ACT (activated coagulation time), kterou jsme udržovali na hodnotách nad 400 s. Po dokončení chirurgického výkonu byl zastaven MO a heparin zneutralizován pomocí protaminsulfátu ve stejné dávce jako úvodní dávka heparinu.

V průběhu chirurgického výkonu a v pooperačním období byly měřeny a porovnávány plazmatické koncentrace těchto cytokinů: TNFα, interleukiny IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, endotelin ET-1, ICAM-1, VCAM-1 a L-selektin. Při stanovení koncentrací se použila metoda ELISA sendvičového typu (streptavidin/biotin) s využitím monoklonálních protilátek. K nim bylo přidáno králíčí polyklonální antisérum, značené biotinem. Dále byly použity firemní kity pro stanovení TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, ET-1, ICAM-1, VCAM-1 a L-selektinu. Vzorky byly po odebrání centrifugovány a plazma byla zmrazena na teplotu -70 °C a uchovávána na suchém ledu CO₂, aby nedošlo ke zkreslení výsledku při stanovení koncentrací poměrně termolabilních cytokinů.

Schéma odběru vzorků:

1. před začátkem operace na operačním sále,
2. deset minut po spuštění MO,
3. deset minut po povolení aortální svorky,
4. deset minut po zastavení MO,
5. na konci operace,
6. čtyři hodiny po operaci,
7. první pooperační den ráno,
8. druhý pooperační den ráno

Všechny naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány za použití Studentova T-testu. Jako signifikantní byly akceptovány hodnoty $p \leq 0,05$. Všechny výsledky jsou vyjádřeny jako průměrná hodnota $\pm$ směrodatná odchylka ve skupině normotermie (N) vs. hypotermie (H).

Výsledky

Byly nalezeny statisticky signifikantní rozdíly v plazmatických koncentracích některých cytokinů. Ve skupině pacientů operovaných v hypotermii byly zvýšené koncentrace těchto proinflammatorních cytokinů: TNFα (vzorek 3 [17,2 ng/ml vs. 33,0 ng/ml, $p = 0,027$]; vzorek 4 [16,9 ng/ml vs. 40,2 ng/ml, $p = 0,001$]; vzorek 5 [10,3 ng/ml vs. 32,4 ng/ml, $p = 0,001$]; vzorek 6 [11,2 ng/ml vs. 24,1 ng/ml, $p = 0,009$]; vzorek 7 [16,0 ng/ml vs. 27,2 ng/ml, $p = 0,011$]; vzorek 8 [14,5 ng/ml vs. 30,7 ng/ml, $p = 0,007$]), IL-6 (vzorek 8 [81,5 pg/ml vs. 143,5 pg/ml, $p = 0,042$]), IL-8 (vzorek 2 [7,9 pg/ml vs. 11,9 pg/ml, $p = 0,038$]; vzorek 3 [6,9 pg/ml vs. 10,5 pg/ml, $p = 0,049$]; vzorek 4 [6,5 pg/ml vs. 10,9 pg/ml, $p = 0,029$]). Současně byla zjištěna zvýšená hodnota antiinflammatorního cytokinu IL-10 (vzorek 8 [532 pg/ml vs. 333 pg/ml,

$p = 0,045$) ve skupině pacientů operovaných v normotermii. Nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly v plazmatických koncentracích těchto proinflammatorních cytokinů: IL-1 β , ET-1, ICAM-1, VCAM-1, L-selektin v žádném ze vzorků v obou skupinách pacientů (viz obrázky 1–4).

Diskuse

V počátcích kardiochirurgie byly všechny operace s použitím mimotělního krevního oběhu prováděny v hypotermii

Obrázek 1 Koncentrace TNF α (ng/ml)

Obrázek 2 Koncentrace IL-6 (pg/ml)

Obrázek 3 Koncentrace IL-8 (pg/ml)

Obrázek 4 Koncentrace IL-10 (pg/ml)

různého stupně. Důvodem byla vyšší tolerance tkání a orgánů k hypoperfuzi a hypoxii za podmínek hypotermie. Bylo zjištěno, že při poklesu systémové teploty o 10 °C klesnou nároky na kyslíkovou spotřebu všech tkání o 50 %. Také technika mimotělního oběhu, která se teprve vyvíjela, nebyla schopná zajistit dostačující krevní průtok, adekvátní oxygenaci, a minimalizovat tak hypoxické poškození orgánů, především mozku a míchy. Rovněž poruchovost přístrojů byla vysoká. Postupem doby byla technika MO zdokonalována a odstraňovány její nedostatky. Podařilo se vyvinout a vyrobit moderní typy čerpadel, které již byly schopny dodat dostatečný průtok, plně pokrývající nároky orgánů a tkání na perfuzi oxygenovanou krví. Zlepšila se i spolehlivost celého přístroje, takže v současnosti se již technické poruchy vyskytují velmi vzácně, v literatuře je udávána incidence cca 1 : 3 000. Současně se pozornost výzkumných týmů soustředila i na objasnění vlivu široce používané hypotermie na tkáně a orgány, na jejich metabolismus a funkci. Bylo zjištěno, že hypotermie má mnoho nepříznivých klinických dopadů na pooperační průběh u pacientů, na jejich pooperační morbiditu i mortalitu. V literatuře se objevily práce zabývající se touto problematikou.^{1–8} Vlivem těchto změn v technice mimotělního oběhu a vývoje postupů při MO i operačních postupů, anestezie a dalších odvětví klinické medicíny došlo postupně k odklonu od používání hypotermie. V současnosti již většina kardiochirurgických center u nás i ve světě preferuje používání normotermie. Použití hypotermie bylo výrazně zredukováno a zůstává vyhrazeno pro případy, kdy je tento postup pro zvolený operační postup nezbytný.

Pooperační průběh u pacientů, u nichž byl použit mimotělní oběh, bývá obvykle ovlivněn rozvojem určitého stupně SIRS.^{1,9} Klinické projevy SIRS jsou zahrnuty v pojmu postperfuzní syndrom. Důležitou roli v rozvoji SIRS hrají cytokiny.^{1,3} Po operaci s použitím MO jsou obvykle přítomny zvýšené plazmatické koncentrace různých cytokinů. Zvýšenou intenzitu projevů SIRS provází větší počet a závažnost klinických komplikací. Na rozvoj a intenzitu SIRS po srdeční operaci má vliv mnoho faktorů. Uplatňuje se vliv kontaktu krve s cizorodým povrchem materiálů, použitých v konstrukci komponent přístroje pro MO a spotřebního

materiálu, typem oxygenátoru a biokompatibilitou jeho vnitřního povrchu. Také typ biokompatibilního povrchu může ovlivnit intenzitu SIRS. V současnosti se používají povrchy potažené heparinem, fosforylcholinem nebo syntetickými polymery. Pro dosažení maximálního účinku se tento povrch aplikuje na všechny komponenty systému, které jsou v kontaktu s krví pacienta. Je to oxygenátor, hadicový set a kanyly. Bylo prokázáno, že použití systémů s biokompatibilním povrchem redukuje intenzitu SIRS.^{10,11} Nezanedbatelný je také vliv složení náplně přístroje pro MO. Dalšími důležitými faktory jsou věk pacienta, operační technika, krevní ztráty, použití normotermie nebo hypotermie,⁸ krevní průtok arteriální pumpou¹⁰ a také stupeň hemodiluze.¹² Velký vliv má také případná hypoperfuze splanchnické oblasti, kterou lze v časně fázi rozvoje identifikovat pomocí metody měření intramukózního pH žaludeční nebo duodenální sliznice.^{1,3–5,9,13,14} Následná hypoxie střevní sliznice hraje rozhodující roli v aktivaci cytokinové kaskády.^{8,9} Za podmínek hypoxie se zvyšuje permeabilita střevní sliznice a může dojít k translokaci bakteriálního endotoxinu do krevního řečiště.^{13,14} Endotoxin pak aktivuje tvorbu a uvolnění některých cytokinů. Tato situace je jedním ze spouštěcích momentů rozvoje SIRS.^{3,6} Pokud trvá závažná hypoxie střevní sliznice delší dobu, může dojít i k translokaci bakterií do krevního oběhu pacienta a rozvoji sepse. V rozvoji SIRS hrají důležitou roli také některé buněčné populace, jako jsou trombocyty, leukocyty, především neutrofily a monocyty, kardiomyocyty, endoteliální a další buňky.^{6,7,11,15–17} Všechny tyto mechanismy hrají významnou roli v procesu zotavování pacienta v období po srdeční operaci a mají významný vliv na morbiditu a mortalitu. Druhotně jsou ovlivněny i ekonomické aspekty hospitalizace, významně se zvyšují náklady na léčbu.

Závěry

Během kardiochirurgického výkonu v mimotělním oběhu vedeném v hypotermii dochází k intenzivnějšímu rozvoji systémové zánětlivé odpovědi organismu než u srovnatelného výkonu, který je prováděn za použití normotermie. U pacientů operovaných v MO v normotermii pro ischemickou chorobu srdeční, kterým byla provedena chirurgická revaskularizace myokardu, byla prokázána snížená intenzita systémové zánětlivé odpovědi organismu. Normotermie se jeví jako fyziologičtější a méně poškozující postup u operace v MO. Technologie MO je v současnosti již natolik bezpečná, že použití normotermie nepřináší zvýšené riziko. Ve studii bylo prokázáno, že použití normotermie snižuje intenzitu systémové zánětlivé odpovědi organismu pacienta, což se projevilo ve snížení aktivace proinflatorních cytokinů a jejich nižšími plazmatickými koncentracemi a vyšší koncentrací antiinflatorního cytokinu ve skupině pacientů operovaných v normotermii. Normotermie

se tedy jeví jako optimální způsob vedení MO u většiny kardiochirurgických pacientů, pokud zvolený chirurgický postup přímo nevyžaduje použití hypotermie.

Literatura:

- Andersen LW, Landow L, Baek L, et al. Association between gastric intramucosal pH and splanchnic endotoxin, antibody to endotoxin, and tumor necrosis factor- α concentrations in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med* 1993;21:210–217.
- Kunimoto F, Arai K, Sato Y, et al. Gastric intramucosal pH and hepatosplanchnic oxygen extraction ratio after open heart surgery. 7th European Congress on Intensive Care Medicine, Innsbruck, Austria, 14–17 June 1994, Abstracts:167–170.
- Ohri SK, Bowles CT, Siddiqui A, et al. The effect of cardiopulmonary bypass on gastric and colonic mucosal perfusion: a tonometric assessment. *Perfusion* 1994;9:101–108.
- Slavík J, Bobková M, Wagner R, et al. Srovnání hodnot pH_i GIT při ECC v normotermii a hypotermii. 2. výroční schůze České společnosti pro mimotělní oběh a 3. společná schůze českých a slovenských perfuzionistů, Milovy u N. Města na Mor., 3. 4. 1998 (abstrakta.)
- Slavík J, Wagner R, Němec P, et al. Naše zkušenosti s měřením pH_i GIT během srdečních operací v mimotělním oběhu. 5. dny intenzivní medicíny, Kroměříž, 19. 6. 1998 (abstrakta.)
- Speziale G, Ferroni P, Ruvoletto G, et al. Effect of normothermic versus hypothermic cardiopulmonary bypass on cytokine production and platelet function. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:819–827.
- Misawa Y, Fuse K. Does normothermic cardiopulmonary bypass influence clinical outcomes, cytokine production, and in vitro platelet function? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125:1174–1175.
- Slavík J, Bobková M, Medek K, et al. Cytokine production during hypothermic and normothermic cardiopulmonary bypass. 13th European Congress on Extracorporeal Circulation Technology, Aarhus, Denmark, 18. 6. 2009 (abstracts).
- Hollenberg SM, Parillo JE: Critical care medicine. *JAMA* 1996;175:1799–1800.
- de Vroeghe R, Rutten PM, Kalkman C, et al. Biocompatibility of three different membrane oxygenators: effect on complement, neutrophil and monocyte activation. *Perfusion* 1997;12:369–375.
- Misawa Y, Kawahito K, Konishi H, et al. Cytokine mediate endothelial activation during and after normothermic cardiopulmonary bypass: heparin-bonded versus non heparin-bonded circuits. *ASAIO J* 2000;46:740–743.
- Berger K, Sander M, Spies CD, et al. Profound haemodilution during normothermic cardiopulmonary bypass influences neither gastrointestinal permeability nor cytokine release in coronary artery bypass graft surgery. *Br J Anaesth* 2009;103:511–517.
- Landow L, Phillips DA, Heard SO, et al. Gastric tonometry and venous oximetry in cardiac surgery patients. *Crit Care Med* 1991;19:1226–1233.
- Novák I, Šrámek V, Rokyta R, et al. Gastric tonometry. *Anest Neodkl Péče* 1998;Suppl 1:2–6.
- Misawa Y, Konishi H, Kawahito K, et al. Platelet activation and aggregation during normothermic cardiopulmonary bypass. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;49:21–28.
- Gasz B, Lenard L, Benko L, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on cytokine network and myocardial cytokine production. *Clin Cardiol* 2006;29:311–315.
- Gaudino M, Zamparelli R, Andreotti F, et al. Normothermia does not improve postoperative hemostasis nor does it reduce inflammatory activation in patients undergoing primary isolated coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:1092–1100.

Došlo do redakce 22. 3. 2010

Přijato 20. 4. 2010