

AORTAN SEINÄMÄN UUDISSUONET JA DISSEKAATIORISKI

Ville Pynnönen

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Tampereen yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Joulukuu 2016

Tampereen yliopisto

Lääketieteen koulutusohjelma

Ville Pynnönen

Aortan seinämän uudissuonet ja dissekaatoriski

Syventävien opintojen näytetyö, 11 sivua

Joulukuu 2016-11-30

Ohjaajat: dos Ari Mennander ja prof Timo Paavonen

Avainsanat: CD31, nousevan aortan laajentuma, dissekaatio, neovaskularisaatio

Tiivistelmä

Aortan dissekaatio tarkoittaa aortan pitkittäistä repeytymistä. Aortan dissekaation yhteydessä havaitaan usein kiihtynyttä uudissuonimuodostusta seinämän sillä alueella, johon repeämä syntyy. Tutkimme voiko uudissuonten määrittämisellä arvioida nousevan aortan seinämän repeytymis- eli dissekaatoriskiä. 35 potilaan nousevan aortan seinämänäytteistä tutkimme histopatologisesti tulehdusvastetta, sidekudosdegeneraatiota ja uudissuonia. Osa potilaista sairasti dissekaation.

Aortan kaikissa kerroksissa nähtiin lisääntynyt tulehdusvaste dissekaation yhteydessä ($P \leq 0.002$). Dissekaatioalueen, eli ulomman aortan seinämän mediakerroksen alainen uudissuonisto oli lisääntynyt ($P=0.005$). ROC-analyysissä dissekaation ja uudissuonimuutosten välillä oli yhteys (AUC 0.770; SE 0.083; $p = 0.008$; 95 % CI 0.609-0.932).

Laajentuneen aortan seinämän uudissuonten lisääntynyt lukumäärä on yhteydessä aortan seinämän lisääntyneeseen dissekaatoriskiin.

SISÄLLYS

1 Johdanto	1
2 Aineisto ja menetelmät.....	3
2.1 Aineisto	3
2.2 Analyysi.....	4
2.3 Tilastoanalyysi.....	4
3 Tulokset.....	6
3.1 Potilasmateriaali ja leikkaustekniikka	6
3.2 perioperatiiviset löydökset, histologia ja immunohistokemia	6
3.3 ROC-analyysi ja tulos	6
4 Pohdinta	7
5 Lähteet.....	9

1 JOHDANTO

Aortan dissekaatioiden esiintyvyys Suomessa on n 2-3/100 000/vuosi. Tarkastelemme tutkimuksessa tyyppin A₁-eli nousevan aortan alueella ilmeneviä dissekaatioita-(1,2). Ennuste on huono: äkkikuolemia on arviolta noin 40%:ssa tapauksista, ja hoitamattomana kuolleisuus on noin 90%. Leikkauskuolleisuus on 17-28%, mutta yli 80-vuotiailla potilailla jopa 40% (3).

Laajentunut aortta voidaan operoida elektiivisesti, kun dissekaatoriski arvioidaan riittävän suureksi (4). Yksi yleinen kriteeri kyseisen riskin arvioinnissa on aortan yli 5,5 senttimetrin läpimitta (5). Muita riskitekijöitä on toki otettava huomioon, ja jokainen leikkauspäätös tehdäänkin potilaskohtaisesti.

Leikkauksen aikana aortasta resekoidaan kliinisen evaluaation perusteella se osa, jonka arvioidaan olevan suurimmassa dissekaatoriskissä. On kuitenkin mahdollista että aortta dissekoituu leikkauksen jälkeen resekoidun osan ulkopuolelta.

Nousevan aortan seinämä jaotellaan kolmeen eri kerrokseen: adventitiaan, mediaan ja intimaan. Dissekaatiokohta seinämän suunnassa on yleensä median uloimman kolmanneksen alueelta, läheltä adventitian rajaa (6). Tällä alueella esiintyy vasa vasorum –suonia, jotka vastaavat aortan seinämän ravinteiden saannista. Vasa vasorum- suonten lisääntymisellä voi olla merkitystä aortan seinämän heikkouden ja dissekaatoriskin kanssa (7). Uudissuonimuodostusta aktivoivana tekijänä on yleisesti pidetty hypoksiaa, mutta myös tulehduksellisilla tekijöillä näyttää olevan roolinsa (8). Lisääntynyt uudissuonimuodostus saattaa osaltaan heikentää aortan seinämää dissekaatiota edeltävästi.

CD31 (cluster of differentiation 31) tai PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule) on proteiini, jota esiintyy endoteelissä sekä verihiutaleiden ja valkosolujen pintarakenteissa. CD31 toimii välittäjäaineena muun muassa valkosolujen kiinnittymisessä ja uudissuonien

muodostumisessa (9). Näyttäisikin siltä, että median uudissuonten kasvussa näillä endoteliallisilla tekijöillä on suuri merkitys (10) .

Histopatologiassa immunohistokemiallista CD31-värjäystä käytetään osoittamaan näytteen uudissuonten endoteelisolukkoa. Näin uudissuonet voidaan kvantitoida.

Pyrimme tutkimaan näytteiden seinämärakenteiden uudissuonimuodostusta arvioimalla CD31-positiivisen solukon esiintymistä median alueella. Työhypoteesimme oli, että nousevan aortan tulehdusmuutokset ovat yhteydessä aortan seinämän heikkenemiseen ja laajenemiseen lisääntyneen uudissuonimuodostuksen kautta, ja median endoteelin aktiivisuuden perusteella voitaisiin arvioida dissekaatoriskiä.

TAYS:ssa ollaan jo vuosia otettu rutiinisti koepalat nousevan aortan leikkausten yhteydessä myöhemmin analysoitavaksi. Tulevaisuudessa kirurgin ottamista koepaloista voitaisiin yksinkertaisen patologisen analyysin avulla saada jo leikkauksen aikana apua lisäresektion tarpeen arviointiin.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Eettinen lupa

Tutkimus omaa Valviran tutkimusluvan.

2.2 Aineisto

Tutkimusaineisto koostui 35:sta nousevan aortan histologisesta näytteestä, jotka valittiin sattumanvaraisesti. Näytteet on kerätty Tampereen yliopistollisen sairaalan Sydänsairaalan potilailta nousevan aortan leikkauksen yhteydessä leikkaavan kirurgin toimesta vuosina 2006-2014.

Kudosnäytteet valettiin leikkauksen jälkeen parafiiniin, joista leikattiin neljän mikrometrin paksuiset lisäleikkeet, joille tehtiin CD31-vasta-ainevärijäys.

Leikkeistä valmistettiin myös HE-värijäys, erilaisia tulehdussoluja osoittavia vasta-ainevärijäyksiä, ja sidekudostuhoa osoittavia värijäyksiä.

Värijäys	HE	Cd3	Cd20	Cd68	PAS	VVG
Selite	Hematoksyliini-eosiini	Vasta-ainevärijäys	Vasta-ainevärijäys	Vasta-ainevärijäys	Periodic acid-Schiff	Verhoeff-Van Gieson
Arvioitu	Yleinen tulehdusaste (neutrofiilien määrä)	T-lymfosyyttien määrä	B-lymfosyyttien määrä	Monosyyttien määrä	Media-degeneraatio-Aste	Elastiinisäikeiden degeneraatioaste

Taulukko 1. Näytteistä otetut värijäykset, niiden selitteet ja arvioinnin kohde

2.3 Analyysi

Näytteet analysoitiin ja taulukoitiin numeerisesti (asteikolla 0-3) semikvantitatiivisesti tulehdussoluprofiilin ja mediadegeneraatioasteen mukaan siten, että arvo 0 vastaa tervettä kudosta ja arvo 3 laajoja, pitkälle edenneitä muutoksia. Koska endoteelisolukon lisäksi myös leukosyytit ja verihiutaleet saattavat olla joskus CD31-positiivisia, analysoinnissa merkkiaineen aktiivisuus oli kyettävä yhdistämään kapillaarimaisiin rakenteisiin, jossa CD31 positiivinen solukko mukaili kapillaarin endoteeliä.

Uudissuoniston lokalisaatiota arvioidessa aortan mediakerros jaettiin kolmeen yhtä paksuun osaan, jotka saivat intimasta lukien arvon 1-3. Kapillaariverkoston esiintymistä näillä syvyyksillä arvioitiin sekä koneellisesti että silmämääräisesti.

Lisäksi uudissuonten lukumäärä arvioitiin asteikolla 1-3. Koneellisesti saatiin tarkka pinta-ala laskemalla näytteen neljästä tiheimmin uudissuonitetusta alueesta (hot spot).

2.4 Potilastiedot

Potilaiden esitiedot, leikkausmenetelmät ja leikkauksen jälkeinen toipuminen selvitettiin potilasasiakirjoista

2.5 Tilastoanalyysi

Tilastollista analyysiä varten näytteet jaettiin potilaiden päätetapahtuman mukaan dissekoituneisiin (AD+) ja laajentuneisiin (AD-) nouseviin aortoihin. Numeeriset muuttujat on käsitelty keskiarvon ja keskihajonnan, kategoriset muuttujat lukumäärän ja prosenttiosuuden mukaan. Tilastoanalyysi tehtiin SPSS 22.0 –ohjelmalla. Mann-Whitney –testillä tutkittiin jatkuvat muuttujat ja chi-square-testillä tutkittiin kategoriset muuttujat.

CD31-positiivisuuden ennustearvo aortan dissekaation suhteen arvioitiin ROC-analyysillä (Receiver operating characteristic curve).

P-arvoja <0.05 pidettiin tilastollisesti merkitsevinä.

3 TULOKSET

3.1 Potilasmateriaali ja leikkaustekniikka

18:lla oli aortan laajentuma, 17:llä potilaalla leikkauksen jälkeinen dissekaatio. Potilaiden keski-ikä oli 64 vuotta. Verenpaine- ja sepelvaltimotauti olivat tasaisesti edustettuina ryhmien välillä. Aortan dissekaatiopotilaista kolmella oli Marfanin syndrooma. Aortan keskimääräinen läpimitta potilailla oli 59 mm.

Dissekaatiopotilaat operoitiin joko pelkällä proteesilla tai Bentall-tekniikalla, jossa lisäksi asetetaan keinoläppä. Neljä dissekaatiopotilasta ja 2 laajentumapotilasta kuolivat pian leikkauksen jälkeen.

3.2 perioperatiiviset löydökset, histologia ja immunohistokemia

Adventitian ja median tulehdusaste oli suurempi dissekatio- kuin laajentumarysmapotilailla (2.2 ± 0.3 vs 1.3 ± 0.3 , $p < 0.03$ ja 1.5 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1 , $p = 0$, vastaavasti). Dissekaatiopotilailla nähtiin lisääntyntä mitoottista aktiivisuutta intimassa ja mediassa (1.5 ± 0.2 vs 0.4 ± 0.2 , $p < 0.001$ ja 1.1 ± 0.8 vs 0.5 ± 0.3 , $p < 0.002$, vastaavasti). Makrofagien ja T-solujen lukumäärä dissekoituneissa aortoissa oli suurempi (1.8 ± 0.2 vs 1.1 ± 0.2 $p < 0.027$ ja 1.3 ± 0.2 vs 0.6 ± 0.1 , $p < 0.008$, vastaavasti). Median uloimmassa kolmanneksessa (adventitian vieressä) sytoplasmisen CD31:n esiintyvyys oli dissekaatiopotilailla suurempi (5.7 ± 1.3 vs 2.4 ± 0.7 , $p < 0.016$), mikä vastasi aortan seinämän dissekaatikohtaa.

3.3 ROC-analyysi

ROC-analyysin mukaan aortan seinämän uudissuonten lukumäärä ennusti aortan dissekaatiota (AUC 0.770; SE 0.083; $p = 0.008$; 95 % CI 0.609-0.932).

4 POHDINTA

Tämä tutkimus mahdollisti syventävien opintojeni oppimäärän. Tutkimus saavutti uutta tietoa koskien nousevan aortan dissekaatoriskin arviointia suhteellisen kätevällä immunohistokemiallisella määrittelyllä. Tutkimuksen mukaan nousevan aortan dissekaatoriskiä voidaan arvioida määrittämällä CD31-positiiviset uudissuonien lukumäärä nousevan aortan seinämässä.

Uudissuonten lisääntymisellä on merkittävä rooli ateroskleroosin (12), vaskuliitin (8), aivoaneurysman (13) ja vatsa-aortan aneurysman (7) patofysiologiassa. Hypoksia ei yksinään provosoi uudissuonimuodostusta. Kohonnut verenpaine vähentää aortan seinämän verenkiertoa (12), ja vähentää sen elastisiteettiä (14), mutta dissekaation kehittyminen vaatii lisäksi immunologisen vasteen (7,8,15). Tähän viittaa myös se, että verenpainetauti oli potilasmateriaalissa tasaisesti edustettuna eikä näin ollen voi yksinään vastata riskialttiista muutoksista (16,17,18). Tulehdussolut tuovat mukanaan paikalle kasvutekijöitä, jotka lisäävät uudissuonia (9). Sama mekanismi saattaa selittää myös sepelvaltimotautiplakin repeämisen (19).

Perinteisesti dissekaatoriskiä on vaikea arvioida, ja ulkoisista riskitekijöistä huolimatta päätetapahtuma voi olla yllättävä (5). Leikkauksen aikana on kyettävä arvioimaan resekoitavan alueen kokonaisuus; miten paljon täytyy dissekaatiolle riskialtista aorttaa leikata pois, jotta varmistutaan menestyksekkäis toimenpite. Nyt resekaatin reunalta otettu koepala voitaisiin leikkauksen yhteydessä arvioida histopatologisesti, jolloin saataisiin arvokasta lisätietoa dissekaatoriskiä arvioidessa. Dissekaatio osuu usein median ja adventitian väliin (11). Mediakerroksen hypoksiset olosuhteet vetävät tälle paikalle tulehdussolukkoa, mikä lisää uudissuonten muodostumista. Prosessin on tarkoitus turvata paikallinen ravinteiden saanti, mutta samalla se saattaa lisätä kudosten repeämisen todennäköisyyttä.

Tutkimustuloksia tulkittaessa on huomioitava, että kyseessä on verrattain pienellä potilasmäärällä toteutettu pilottitutkimus. Tulehdusreaktion, uudissuonimuodostuksen ja dissekaation välinen yhteys on selvä, mutta tarkempi immunologinen mekanismi on vielä selvittämättä.

Kaiken kaikkiaan, aorttaleikkauksen aikana on hyvin vaikea arvioida kliinisesti poistettavan, dissekaatioherkän alueen laajuus (20). Mahdollisuus tutkia resekoitu nousevan aortta immunohistokemiallisesti CD31-värjäyksellä leikkauksen aikana saattaa tulevaisuudessa puoltaa kuvaamamme menetelmän sovellettavuutta kirurgin apuvälineenä.

5 LÄHTEET

1. Ihlberg L, Kantonen I. Aortan aneurysmat ja dissekoituma. Lääkäriin käsikirja 2016
2. Hughes GC. Management of acute type B aortic dissection; ADSORB trial. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 2015;149(2 Suppl):S158-62.
3. Virtanen M, Sioris T. Akuutti aorttasyndrooma, diagnoosi ja hoito. *Sydänääni* 2013;24:1A
4. Narayan P, Rogers CA, Davies I, Angelini GD, Bryan AJ. Type A aortic dissection: has surgical outcome improved with time? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136:1172-7.
5. Elefteriades JA. Thoracic aortic aneurysm: reading the enemy's playbook. *World J Surg* 2008;32:366-74.
6. Osada H, Kyogoku M, Ishidou M, Morishima M, Nakajima H. Aortic dissection in the outer third of the media: what is the role of the vasa vasorum in the triggering process? *Eur J Cardiothorac Surg* 2013;43:e82-8.
7. Thompson MM, Jones L, Nasim A, Sayers RD, Bell PR. Angiogenesis in abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996;11:464-9.
8. Kaiser M, Younge B, Björnsson J, Goronzy JJ, Weyand CM. Formation of new vasa vasorum in vasculitis. Production of angiogenic cytokines by multinucleated giant cells. *Am J Pathol* 1999;155:765-74.
9. PECAM1 platelet and endothelial adhesion molecule 1 [Homo sapiens (human)]. NCBI 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=5175>
10. Moraes F, Paye J, Mac Gabhann F, et al. Endothelial cell-dependent regulation of arteriogenesis. *Circ Res* 2013;113:1076-86.
11. Marcus ML, Heistad DD, Armstrong ML, Abboud FM. Effects of chronic hypertension on vasa vasorum in the thoracic aorta. *Cardiovasc Res* 1985;19:777-81.
12. Marcus ML, Heistad DD, Armstrong ML, Abboud FM. Effects of chronic hypertension on vasa vasorum in the thoracic aorta. *Cardiovasc Res* 1985;19:777-81.
13. Ollikainen E, Tulamo R, Frösen J, et al. Mast cells, neovascularization, and microhemorrhages are associated with saccular intracranial artery aneurysm wall remodeling. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014;73:855-64.
14. Angouras D, Sokolis DP, Dosios T, et al. Effect of impaired vasa vasorum flow on the structure and mechanics of the thoracic aorta: implications for the pathogenesis of aortic dissection. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;17:468-73.
15. He R, Guo DC, Estrera AL, et al. Characterization of the inflammatory and apoptotic cells in the aortas of patients with ascending thoracic aortic aneurysms and dissections. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:671-8.
16. Shields KJ, Stolz D, Watkins SC, Ahearn J. Complement proteins C3 and C4 bind to collagen and elastin in the vascular wall: a potential role in vascular stiffness and atherosclerosis. *Clin Trans Sci* 2011;4:146-52.
17. Wysokinski A, Zapolski T. Relationship between aortic valve calcification and aortic atherosclerosis: a transoesophageal echocardiography study. *Kardiologia Pol* 2006;64:694-701.
18. Barbetseas J, Alexopoulos N, Brili S, et al. Atherosclerosis of the aorta in patients with acute thoracic aortic dissection. *Circ J* 2008;72:1773-6.
19. Niinimäki E, Paavonen T, Valo T, Tarkka M, Mennander A. Lack of C4d deposition may reveal susceptibility for ascending aortic dissection. *Scand Cardiovasc J* 2012;46:177-82.

20. Kirsch EW, Radu NC, Gervais M, Allaire E, Loisanse DY. Heterogeneity in the remodeling of aneurysms of the ascending aorta with tricuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;132:1010-6.