

# Kokeellinen ja kliininen tutkimus keuhkojen tulehdusvasteesta sevofluraanianestesian jälkeen

Experimental and Clinical Studies on the Pulmonary Inflammatory Mediators after Sevoflurane Anaesthesia

Riikka Takala

Turun Yliopisto 1.11.2008

Vastaväittäjä professori Leena Lindgren, Tampereen yliopisto

Vaikka kirurgia ja anestesiologia ovat kehittyneet huomattavasti, leikkauksen jälkeiset keuhko-ongelmat, kuten pneumonia ja atelektaasit, ovat edelleen suhteellisen yleisiä. Viimeisten 40 vuoden aikana ei-sydänkirurgisten leikkausten jälkeisten keuhkokomplikaatioiden esiintyvyys on ollut 4–6 %<sup>1-4</sup>. Anestesia-aineiden jäännösvaikutukset ja kirurgia itsessään voivat aiheuttaa hengityselinten koordinaation puutosta, mikä saattaa altistaa potilaan postoperatiivisille keuhkokomplikaatioille<sup>5</sup>. Lisäksi anesteeteilla on puolustusmekanismeihin kohdistuvia vaikutuksia<sup>6</sup> ja ne saattavat häiritä keuhkojen homeostaasia<sup>7</sup>.

Laaja kirurgia synnyttää tulehdusreaktion, joka voidaan havaita kohonneina interleukiini-6 (IL-6) ja interleukiini-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) -pitoisuuksina<sup>8-10</sup>. Inhalaatioanesteetit saattavat voimistaa kirurgian synnyttämää IL-6-vastetta ja heikentää keuhkojen puolustusmekanismeja<sup>11</sup>. Leikkauksen jälkeisen sairastuvuuden lisääntyminen on yhdistetty tilanteisiin, joissa sekä systeeminen että alveolaarinen IL-6-pitoisuus on kohonnut<sup>8,12</sup>.

Leikkauksen aikaiseen keuhkojen inflammaatioon voidaan törmätä tilanteissa, joissa potilas sairastaa akuuttia keuhkovauriota tai kroonista keuhkosairautta. Teoriassa inhalaatioanesteetit saattavat pahentaa inflammatorista keuhkovauriota tai sairausta, sillä aspiraation jälkeinen keuhkovaurio<sup>13</sup> ja oksidatiivinen keuhkovaurio<sup>14</sup> pahenevat inhalaatioanesteeteille altistumisen jälkeen.

Anestesiaa voidaan ylläpitää joko suonensisäisillä tai inhaloitavilla anesteeteilla. Sevofluraani on yksi ”uusimmista” lyhytvaikutteisista anesteeteista, joka on tullut kliiniseen käyttöön 1990-luvulla<sup>15</sup>. Uusin aluevaltaus on sevofluraanin käyttö tehosedätiössä erityisen laitteiston (AnaConDa™)

kautta<sup>16</sup>. Sevofluraanin farmakologia ja sen vaikutukset sydämeen, maksaan ja munuaisiin ovat hyvin tunnettuja. Sen sijaan vähemmän tunnettuja ovat sen lyhyt- ja pitkäaikaiset vaikutukset inflammaatioon. Sevofluraanin mahdollisia vaikutuksia tulehdusvasteeseen keuhkoissa ei ole aiemmin tutkittu systemaattisesti.

Sekä höyrystyvien anestesiakaasujen että kirurgian tiedetään vaikuttavan elimistön tulehdusvasteeseen. Inflammatiolla on oleellinen merkitys toipumisessa, mutta häiriintynyt tai poikkeava tulehdusvaste voi lisätä alttiutta leikkauksen jälkeisille komplikaatioille. In vitro -tutkimukset 1980-luvulta ovat osoittaneet, että ihalaatioanesteeteilla on keuhkojen proteiinisynteesiä hidastavia<sup>17,18</sup> sekä keuhkojen makrofagien puolustuskykyä heikentäviä<sup>19-22</sup> vaikutuksia. Myöhemmin tehdyt kliiniset tutkimukset ovat antaneet samantapaisia viitteitä alveolaaristen makrofagien heikentyneestä toiminnasta<sup>11,23</sup>. Lisäksi inhalaatioanesteetien on osoitettu lisäävän alveolaaristen makrofagien proinflammatoristen välittäjäaineiden IL-8, TNF- $\alpha$  ja MIP-2 (vastaa ihmisten IL-8) geeniekspressiota<sup>24,25</sup>.

Tupakan savulle ja halotaanille altistetuilla eläimillä on todettu alveolaaristen makrofagien määrän lisääntyneen<sup>26</sup>. Kuitenkin näiden tupakan savulle altistuneiden alveolaaristen makrofagien puolustuskyky on heikentynyt ja enemmän halotaani- ja isofluraanianestesian aikana kontrolleihin verrattuna. Lisäksi makrofagien aggregaatio lisääntyy ja proinflammatoriset sytokiinin geeniekspressio pienentyy tupakansavulle altistuneissa makrofageissa anestesian jälkeen<sup>27</sup>. Vastaavasti tupakoivilla potilailla alveolaaristen makrofagien proinflammatorinen sekä antimikrobinen reaktio on heikentynyt propofolianestesian aika-

na<sup>28,29</sup>. Tupakoinnin lopettamisenkin jälkeen alveolaaristen makrofagien proinflammatoriset vaikutukset pysyivät heikentyneinä jopa kuuden kuukauden ajan<sup>29</sup>.

Tämän väitöskirjan kokeellisissa osatöissä tutkittiin sevofluraanin vaikutusta itse keuhkokudoksen rakenteeseen sekä keuhkoista mitattaviin tulehdusvälittäjäaineisiin. Kokeelliset työt loivat pohjan kliiniselle työlle, jossa verrattiin sevofluraanin aiheuttamaa tulehdusvastetta tupakoivien ja ei-tupakoivien potilaiden välillä. Tutkimuksen hypoteeseina oli, että kokeellisessa työssä sevofluraanin inflammatoriset vaikutukset eroaisivat tiopentaalin aiheuttamasta tulehdusvasteesta, ja että kliinisessä työssä sevofluraani aiheuttaisi vähemmän tulehdusvasteen tupakoivilla kuin ei-tupakoivilla potilailla.

## Osatyöt

Osatöiden tarkoituksena oli:

- Verrata elektronimikroskopian avulla alveolien rakennetta sevofluraani- ja tiopentaalianestesian jälkeen<sup>I</sup>,
- Verrata kokeellisessa mallissa sevofluraani- ja tiopentaalianestesian eroja bronkoalveolaariseen (BAL) tulehdusvälittäjäaineiden pitoisuuksissa [prostaglandiini E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), tromboksaani B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>), leukotrieni B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), leukotrieni C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>), nitraatti (NO<sub>3</sub>) ja nitriitti (NO<sub>2</sub>)]<sup>II</sup> ja keuhkokudoksen tulehdusvälittäjäaineiden geeniekspressiota [IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, tuumorinekroositekijä-alfa (TNF-α)]<sup>III</sup>.
- Verrata osatöiden II ja III perusteella tulehdusvastetta (IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, LTC<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub> and NO<sub>2</sub>) BAL-nesteestä tupakoivien ja ei-tupakoivien potilaiden sevofluraanianestesian jälkeen<sup>IV</sup>.

Osatöitä I–III varten 16 sika satunnaistettiin nukutettavaksi joko tiopentaalilla (n=8) tai sevofluraanilla (n=8) kuuden tunnin ajaksi. Yksi sika sevofluraaniryhmästä jouduttiin sulkemaan pois tilastollisesta käsittelystä, koska sika sai verenvuodon trakeaan trakeostomian teon yhteydessä. Näin ollen sevofluraaniryhmään jäi seitsemän sika. Näiden lisäksi kaksi sika toimi puhtaana kontrolliryhmänä (siat lopetettiin heti anestesiainduktion jälkeen).

Osatöitä IV varten oli tarkoitus kerätä 20 tupakoivaa ja 20 ei-tupakoivaa miestä, joille tehtiin prostatektomia eturauhassyövän vuoksi. Tämän ikäluokan miehissä tupakointi on kuitenkin vä-

hentynyt huomattavasti, ja siksi vaadittavia 20 tupakoivaa potilasta ei saatu kokoon. Tupakoivien lukumäärä jäi yhdeksään. Osatyön tarkoituksena oli verrata mahdollista inflammatorista vastetta tupakoivilla ja ei-tupakoivilla sevofluraanianestesian jälkeen.

## Tulokset

*Osatyö I.* Histopatologisissa näytteissä alveolien epiteeli ja endoteeli näyttivät normaaleilta, eikä alveoleissa nähty neutrofiilejä tai lymfosyyttejä. Elektronimikroskopiassa sekä sevofluraani- että tiopentaalianestesian jälkeen alveolien epiteelissä oli nähtävissä lievää paikallista turvotusta. Kapillaarien endoteeli oli normaali sevofluraani- ja tiopentaalianestesian jälkeen. Kahdella kontrollisialla ei ollut minkäänlaisia muutoksia alveolien epiteelissä eikä endoteelissa.

*Osatyö II.* Sevofluraanianestesian jälkeen BAL-nesteen LTC<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, and NO<sub>3</sub> -pitoisuudet olivat korkeammat kuin tiopentaalianestesian jälkeen. Sevofluraanianestesian jälkeen BAL-nesteen TxB<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>, and NO<sub>3</sub> -pitoisuudet olivat korkeammat kuin kontrolleilla. Tiopentaalianestesian jälkeen BAL-nesteen TxB<sub>2</sub> ja LTB<sub>4</sub> -pitoisuudet olivat suurempia kuin kontrolleilla. Osatyössä II havaittiin myös, että veren valkosolujen lukumäärä laski merkitsevästi kuuden tunnin sevofluraanianestesian jälkeen, kun taas tiopentaalianestesian jälkeen valkosolujen lukumäärä oli lähellä lähtötilannetta. Sevofluraanianestesian jälkeen valkosolujen lasku selittyi neutrofiilien ja lymfosyyttien vähenemisellä.

*Osatyö III.* Sevofluraanianestesian jälkeen TNF-α ja IL-1β geeniekspressio oli merkitsevästi pienempi kuin tiopentaalianestesian jälkeen. Kontrollieläinten IL-6 geeniekspressio oli suurempi ja IL-10 geeniekspressio pienempi kuin anestesioiduilla eläimillä.

*Osatyö IV.* Suurimmalla osalla sekä tupakoivista että ei-tupakoivista potilaista BAL-nesteen IL-1β, TNF-α, IL-10 ja NO<sub>2</sub> -pitoisuudet olivat mitaamattoman matalia. BAL-nesteen IL-6 ja IL-8 -pitoisuuksissa ei ollut ryhmien välillä eroja ennen eikä jälkeen leikkauksen. Suurimmalla osalla tupakoivista sekä BAL-nesteen IL-6 että IL-8 -pitoisuudet nousivat ja ei-tupakoivilla BAL IL-6 ja IL-8 -pitoisuudet laskivat. Nämä muutokset eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä. Ryhmien

sisällä ei ollut eroja ennen leikkausta eikä leikkauksen jälkeen mitatuissa BAL-nesteen LTC<sub>4</sub>-pitoisuuksissa. Sen sijaan ei-tupakoivilla oli merkittävästi suuremmat LTC<sub>4</sub>-pitoisuudet leikkauksen jälkeen kuin tupakoivilla. Tupakoivien ja ei-tupakoivien välillä ei ollut eroja leikkausta edeltävissä tai leikkauksen jälkeisissä NO<sub>3</sub>-pitoisuuksissa. Vaikka suurimmalla osalla tupakoivista NO<sub>3</sub>-pitoisuudet laskivat, ja suurimmalla osalla ei-tupakoivista NO<sub>3</sub>-pitoisuudet nousivat leikkauksen aikana, tämä ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

## Johtopäätökset

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää kokeellisen mallin avulla sevofluraanianestesian mahdollisia tulehdusvasteita keuhkoissa. Sioilla alveolien eheys säilyi sevofluraanialtistuksen jälkeen<sup>I</sup>. Mekaaninen ventilaatio aiheutti todennäköisesti elektronimikroskopiassa todetun alveolaarisen turvotuksen, sillä turvotusta esiintyi sekä sevofluraanilla että tiopentaalilla nukutetuilla eläimillä.

Sioilla sevofluraani aiheuttaa proinflammatorisen vasteen lisäämällä LTC<sub>4</sub>-tuotantoa sekä typpioksidin metaboliitteja<sup>II</sup>. Lisääntyneen LTC<sub>4</sub>:n lähdettä ei tämän koe-eläin mallin avulla pystytty selvittämään. Sekä aktivoituneiden eosinofiilien, alveolaaristen makrofagien että keuhkojen mastosolujen tiedetään erittävän LTC<sub>4</sub><sup>30</sup>. Suurentuneiden LTC<sub>4</sub>-pitoisuuksien taustalla saattaa olla sevofluraanianestesian vaikutus arakidonihapon metaboliitteihin. Mitatut TxB<sub>2</sub>-pitoisuudet liittynevät puolestaan mekaaniseen ventilaatioon<sup>31</sup>. Suurentuneet NO<sub>2</sub>- ja NO<sub>3</sub>-pitoisuudet kuvaavat vain lisääntyntä typpioksidin tuotantoa, mutta mitään johtopäätöksiä typpioksidin mahdollisesta hapetumisesta, pelkistymisestä tai kompleksimuodostumisesta ei voida tehdä.

Geenien transkription tasolla sevofluraanilla on puolestaan anti-inflammatorisia vaikutuksia, jotka todettiin vähentyneenä TNF-α ja IL-1β geeniekspressiona. Sevofluraani pienensi myös IL-6 ja lisäsi IL-10 geeniekspressiota<sup>III</sup>. Aiemmin vain yhdessä julkaisussa on tutkittu sevofluraanin vaikutusta geeniekspressioniin. Tässä työssä sevofluraani lisäsi sekä IL-1β että MIP-2 (vastaa ihmisen IL-8) -pitoisuuksia, mutta ei vaikuttanut TNF-α eikä IL-6 -pitoisuuksiin<sup>25</sup>. Erilainen koeasetelma saattaa olla yksi selittävä tekijä ristiriitaisille tuloksille.

Kliinisessä osatyössä sevofluraanianestesia aiheutti vaimean tulehdusvasteen, joka erosi vain vähäisesti tupakoivien ja ei-tupakoivien potilaiden

välillä<sup>IV</sup>. Tupakoivien lukumäärä jäi pienemmäksi kuin voima-analyysi olisi edellyttänyt. Tulokset olisivat olleet todennäköisesti kuitenkin samansuuntaiset, koska inflammatoriset muutokset olivat niin vähäiset, että tilastollisia eroja ei olisi tuskin syntynyt, vaikka tarvittavat 20 potilasta olisivatkin saatu mukaan tutkimukseen.

Yhteenvedon voitaneen todeta, että sevofluraanilla on vaikutuksia keuhkojen tulehdusvasteeseen. Terveessä keuhkossa näillä vasteilla on todennäköisesti vain vähäistä kliinistä merkitystä. □

### Osatyöt

- I Takala RSK, Soukka HR, Kirvelä OA, Kujari HP, Pelliniemi LJ, Kääpä PO, Aantaa RE. Alveolar integrity and ultrastructure in pigs remain undamaged after exposure to sevoflurane. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2002; 46: 1137–1143.
- II Takala RSK, Soukka HR, Salo MS, Kirvelä OA, Kääpä PO, Rajamäki AA, Riutta A, Aantaa RE. Inflammatory mediators after sevoflurane and thiopentone anaesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2004; 48: 40–45.
- III Takala RSK, Soukka H, Salo MS, Kirvelä O, Kääpä P, Aantaa R. Gene expression of pulmonary cytokines after sevoflurane or thiopentone anaesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2006; 50: 163–167.
- IV Takala RSK, Karjalainen V-M, Salo MS, Kirvelä O, Kääpä P, Riutta A, Aantaa R. Pulmonary inflammatory mediators after sevoflurane anaesthesia in tobacco smoking and non-smoking patients. *The Open Inflammation Journal* 2009; 2: 1–8.

### Kirjallisuusuutteet

1. Pedersen T, Eliassen K, Henriksen E. A prospective study of risk factors and cardiopulmonary complications associated with anaesthesia and surgery: risk indicators of cardiopulmonary morbidity. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990; 34: 144–155.
2. Pedersen T, Viby-Mogensen J, Ringsted C. Anaesthetic practise and postoperative pulmonary complications. *Acta Anaesth Scand* 1992; 36: 812–818.
3. Schwilk B, Bothner U, Schraag S, Georgieff M. Perioperative respiratory events in smokers and nonsmokers undergoing general anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 348–355.
4. Wightman JA. A prospective survey of the incidence of postoperative pulmonary complications. *Br J Surg* 1968; 55: 85–91.
5. Warner DO. Preventing postoperative pulmonary complications. The role of the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2000; 92: 1467–1472.
6. McBride WT, Armstrong MA, McBride SJ. Immunomodulation: an important concept in modern anaesthesia. *Anaesthesia* 1996; 51: 465–473.
7. Wiener-Kronish JP, Gropper MA. Halogenated anaesthetics and the injured lung: clouds on the horizon? *Anesthesiology* 1998; 88: 1435–1436.
8. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992; 79: 757–760.
9. Crozier TA, Muller JE, Quittkat D, ym. Effect of anaesthesia on the cytokine responses to abdominal surgery. *Br J Anaesth* 1994; 72: 280–285.
10. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)* 1990; 79: 161–165.
11. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, ym. Intraoperative modulation of alveolar macrophage function during isoflurane and propofol anaesthesia. *Anesthesiology* 1998; 89: 1125–1132.
12. Hauser GJ, Ben-Ari J, Colvin MP, ym. Interleukin-6 levels in serum

- and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med* 1998; 24: 481–486.
13. Nader-Djalal N, Knight PR, Bacon MF, ym. Alterations in the course of acid-induced lung injury in rats after general anesthesia: volatile anesthetics versus ketamine. *Anesth Analg* 1998; 86: 141–146.
  14. Nielsen VG, Baird MS, McAdams ML, Freeman BA. Desflurane increases pulmonary alveolar-capillary membrane permeability after aortic occlusion-reperfusion in rabbits: evidence of oxidant-mediated lung injury. *Anesthesiology* 1998; 88: 1524–1534.
  15. Brown B Jr. Sevoflurane: introduction and overview. *Anesth Analg* 1995; 81: S1–3.
  16. Meiser A, Laubenthal H. Inhalational anaesthetics in the ICU: theory and practice of inhalational sedation in the ICU, economics, risk-benefit. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2005; 19: 523–538.
  17. Rannels DE, Christopherson R, Watkins CA. Reversible inhibition of protein synthesis in lung by halothane. *Biochem J* 1983; 210: 379–387.
  18. Wartell SA, Christopherson R, Watkins CA, Rannels DE. Inhibition of synthesis of lung proteins by halothane. *Mol Pharmacol* 1981; 19: 520–524.
  19. Hammer JA 3rd, Rannels DE. Effects of halothane on protein synthesis and degradation in rabbit pulmonary macrophages. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124: 50–55.
  20. Welch WD. Halothane inhibits the microbicidal oxidative activity of pulmonary alveolar macrophages. *Anesthesiology* 1983; 58: 456–459.
  21. Welch WD. Enflurane and isoflurane inhibit the oxidative activity of pulmonary alveolar macrophages. *Respiration* 1985; 47: 24–29.
  22. Voisin C, Scherpereel PA, Aerts C, Lepot D. In vitro toxicity of halogenated anaesthetics on guineapig alveolar macrophages, surviving in gas phase. *Br J Anaesth* 1984; 56: 415–420.
  23. Kotani N, Lin CY, Wang JS, ym. Loss of alveolar macrophages during anesthesia and operation in humans. *Anesth Analg* 1995; 81: 1255–1262.
  24. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, ym. Expression of genes for proinflammatory cytokines in alveolar macrophages during propofol and isoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 1999; 89: 1250–1256.
  25. Kotani N, Takahashi S, Sessler DI, ym. Volatile anesthetics augment expression of proinflammatory cytokines in rat alveolar macrophages during mechanical ventilation. *Anesthesiology* 1999; 91: 187–197.
  26. Hegab ES, Matulionis DH. Pulmonary macrophage mobilization in cigarette smoke-exposed mice after halothane anesthesia. *Anesth Analg* 1986; 65: 37–45.
  27. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, ym. Exposure to cigarette smoke impairs alveolar macrophage functions during halothane and isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 1999; 91: 1823–1833.
  28. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, ym. Smoking decreases alveolar macrophage function during anesthesia and surgery. *Anesthesiology* 2000; 92: 1268–1277.
  29. Kotani N, Kushikata T, Hashimoto H, ym. Recovery of intraoperative microbicidal and inflammatory functions of alveolar immune cells after a tobacco smoke-free period. *Anesthesiology* 2001; 94: 999–1006.
  30. Henderson WR Jr. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Intern Med* 1994; 121: 684–697.
  31. Kaukinen S, Seppala E, Kaukinen L, Ojanen R, Vapaatalo H. Effects of halothane and enflurane on prostanoid concentrations in operation patients. *Prostaglandins Leukot Med* 1987; 29: 85–94.

*LT Riikka Takala*  
Erikoislääkäri  
TYKS, ATEK-klinikka  
riikka.takala[at]tyks.fi

