



# Neurodegenerativne promjene uzrokovane inhalacijskim anestetikima

## Neurodegenerative changes caused by inhalation anesthetics

Nikola Lesar<sup>1,2✉</sup>, Dyana Odeh<sup>2</sup>, Dimitar Janev<sup>1</sup>, Iva Korečić-Zrinjšćak<sup>1</sup>, Ana Žaja<sup>1</sup>, Nada Oršolić<sup>2</sup>, Gordana Brozović<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Zavod za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, Klinika za tumore, Zagreb

<sup>2</sup>Zavod za životinjsku fiziologiju, Prirodoslovno matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>3</sup>Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo, Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera, Osijek

### Deskriptori

SEVOFLURAN; IZOFLURAN;  
NEURODEGENERATIVNE PROMJENE;  
OKSIDATIVNI STRES

### Descriptors

SEVOFLURANE; ISOFLURANE;  
NEURODEGENERATIVE CHANGES;  
OXIDATIVE STRES

**SAŽETAK.** Mozak je ciljni organ djelovanja inhalacijskih anestetika. Osjetljivost mozga na oksidacijski stres povezana je sa njegovom izraženom metaboličkom aktivnošću, proizvodnjom ROSa (engl. reactive oxygen species, ROS), velikim brojem mitohondrija i smanjenom enzimskom antioksidativnom aktivnošću. Inhalacijski anestetici, poput Isoflurana i Sevoflurana, utječu na jačanje osjetljivosti mozga na oštećenja oksidativnim stresom te na povećanje aktivnosti beta-sekretaze (BACE), enzima koji formira beta-amiloidne plakove i izaziva beta-amiloidnu ovisnu apoptozu živčanih stanica. Nadalje, beta-amiloidni plakovi, kao patološki produkt amiloidnog prekursor-skog proteina (APP), predstavljaju važnu značajku za razvoj neurodegenerativnih promjena povezanih sa nastankom Alzheimerove bolesti. Istraživanje prooksidativnih, upalnih i neurotoksičnih učinaka inhalacijskih anestetika, te praćenje razine oksidativnog stresa u moždanom tkivu i nastalih patohistoloških promjena na mozgu štakora vezanih za neurodegenerativna oštećenja i upalu možemo povezati sa dugotrajnim izlaganjem inhalacijskim anestetikima, narušavanjem oksidacijsko/antioksidacijske homeostaze i stvaranje beta-amiloidnih plakova. Razumijevanjem povezanosti izloženosti inhalacijskim anestetikima i nastanku ireverzibilnih neurodegenerativnih promjena sugeriralo bi se poštrednijim korištenjem inhalacijskih anestetika utjecati na ograničavanje neurodegenerativnih promjena vezanih za nastanak Alzheimerove bolesti.

**SUMMARY.** Main target of inhalation anesthetics is the brain. The sensitivity of the brain to oxidative stress is associated with its pronounced metabolic activity, production of ROS (reactive oxygen species), large number of mitochondria and reduced enzymatic antioxidant activity. Inhaled anesthetics, such as Isoflurane and Sevoflurane, increase the sensitivity of the brain to oxidative stress damage and increase the activity of beta-secretase (BACE), an enzyme that forms beta-amyloid plaques and causes beta-amyloid-dependent apoptosis of nerve cells. Furthermore, beta-amyloid plaques, pathological product of amyloid precursor protein (APP), represent an important feature for the development of neurodegenerative changes associated with the development of Alzheimer's disease. By investigation of prooxidative, inflammatory and neurotoxic effects of inhaled anesthetics and analyzing the parameters of oxidative stress levels in brain tissue and pathohistological changes in rat brain related to neurodegenerative damage and inflammation, connection with long-term exposure to inhaled anesthetics disruption of oxidative/antioxidant homeostasis and formation of beta-amyloid plaques can be made. By understanding the relationship between exposure to inhaled anesthetics and the occurrence of irreversible neurodegenerative changes it could be suggested to reduce using inhaled anesthetics to limit the neurodegenerative changes associated with the development of Alzheimer's disease.

Inhalacijski anestetici se svakodnevno koriste u operacijskim salama za indukciju i održavanje anestezije. U današnje vrijeme sve složenijih operativnih zahvata, izlaganje inhalacijskim anestetikima zbog izvođenja pojedinih operacija u općoj anesteziji, može biti izrazito dugotrajno<sup>1</sup>. Najčešće korišteni inhalacijski anestetici su sevofluran i izofluran koji uz besvijesno stanje imaju i analgetski učinak. Oni su pare hlapljivih tekućina, neionizirani, male molekulske mase i liposolubilni pri čemu brzo difundiraju u tkiva i uzrokuju brz uvod u anesteziju i brzo buđenje<sup>2,3</sup>. Alzheimerova bolest je najčešći oblik moždane demencije koji je karakteriziran progresivnom akumulacijom amiloidnog peptida  $\beta$  i Tau proteina koji većinom nastaju cijepa-

njem iz amiloidnog prekursor-skog proteina (engl. amyloid precursor protein, APP). Uz karakterističnu akumulaciju amiloidnog peptida  $\beta$  i Tau proteina, ostale značajke bolesti su: nekontrolirani oksidativni stres (engl. oxidative stress, OS), pojačana proupalna signalizacija, promjene u urođenom imunom signaliziranju, smanjenje sinaptičke signalizacije, atrofija moždanih stanica, progresivna promjena genske

### ✉ Adresa za dopisivanje:

Nikola Lesar, dr. med.  
Zavod za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje,  
Klinika za tumore, Ilica 197, 10000 Zagreb, Hrvatska;  
e-pošta: lesar.nikola@gmail.com

ekspresije koja je drugačija od uobičajenog mozga osobe koja stari, progresivna demencija i gubitak kognitivnih funkcija<sup>4,5</sup>. Nadalje, neki podaci ukazuju da dugotrajno izlaganje anestetikima može biti uzrok nastanka Alzheimerove bolesti<sup>6</sup>. Postoje *in vitro* dokazi da Isoflurane djeluje na povećano stvaranje A $\beta$  amiloida u stanicama izvan moždanog tkiva. Isoflurane povećava aktivnost beta-sekretaze (BACE), enzima koji formira A $\beta$  amiloid, i izaziva A $\beta$  ovisnu apoptozu živčanih stanica prekomjernom ekspresijom APPa<sup>7</sup>. Razlog izrade ovog preglednog rada jest približiti kolegama neurodegeneracijsku ulogu inhalacijskih anestetika u mozgu te pokušati spoznati da li njihovo dugotrajno korištenje dovodi do promjena vezanih uz razvoj Alzheimerove bolesti.

### Oksidativni stres i neurodegenerativne promjene

Moždano tkivo je posebno osjetljivo na oksidativni stres zbog smanjene razine antioksidansa, viših razina polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u staničnoj membrani neurona i visoke metaboličke aktivnosti. Neuropeptidni procesi uzrokovani su povećanom razinom ROS-a, koji stimulira transkripciju proupalnih gena i oslobađanje citokina poput interleukina-1 i interleukina-6, faktora tumorske nekroze- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) i kemokina<sup>8</sup>. Kronična neuropeptida dovodi do gubitka neurona i autoimune osjetljivosti. Upalna reakcija aktivira stanice mikroglije i astrocite, što dovodi do stvaranja dodatnog ROS-a i glavni je uzrok kroničnog oksidativnog stresa. Upala i oksidativni stres dovode do stvaranja A $\beta$  amiloida<sup>9</sup>. Studije na životinjama pokazuju da su upalni odgovor unutar mozga i oksidativni stres od značajne važnosti u patogenezi kognitivnih oštećenja kao što je POCD (postoperativna kognitivna disfunkcija)<sup>10</sup>.

### Uloga inhalacijskih anestetika u nastanku neurodegenerativnih promjena

Odabir načina anestezije i anestetika može utjecati na razvoj oksidativnog stresa i upale. Donedavno se pretpostavljalo da su učinci inhalacijskih anestetika reverzibilni i netoksični. U posljednje vrijeme sve veći broj laboratorijskih dokaza sugerira da inhalacijski anestetici mogu biti neurotoksični kako za mladi mozak u razvoju, tako i za stariju populaciju<sup>11</sup>. Inhalacijski anestetici izazivaju neurotoksičnost i trajna kognitivna oštećenja kod mladih i starijih životinja, ali još uvijek nisu adekvatno proučavani kod ljudi<sup>12</sup>. Sve je veći interes za potencijalni odnos između izlaganja inhalacijskom anestetiku i početka i progresije Alzheimerove bolesti (AD). Kratkotrajno oštećenje kognitivnih i psihomotoričkih sposobnosti uobičajeno je nakon opće anestezije i obično se pripisuje nepotpunom

uklanjanju lijeka<sup>13</sup>. Narušavanje sposobnosti pamćenja i proces starenja, kao jedan od izravnih čimbenika razvoja AD, posredovan je reaktivnim kisikovim vrstama (ROS)<sup>14,15</sup>. Stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta normalan je nusprodukt metabolizma. Jedna od posljedica njihove proizvodnje je povećana razina oksidacije proteina u AD i starenje organizma<sup>16</sup>. Nadalje, prisutnost upale u našem organizmu ima ulogu zaštite od nepovoljnih podražaja kao što su infekcija patogenom i mehanički stres. Međutim, trajna upala zbog poremećaja urođene imunosti ili produljene disfunkcije uzrokovane staničnim stresom može dovesti do povećanja rizika od kroničnih bolesti poput postoperativne kognitivne disfunkcije (POCD) ili AD<sup>17</sup>. Kada upala započne, na mjestu oštećenja nakupljaju se mastociti i leukociti, koji uzrokuju izraziti oksidacijski stres zbog povećanog unosa kisika, a time i pojačano oslobađanje i nakupljanje ROS-a na mjestu oštećenja<sup>18,19</sup>. Nekoliko studija pokazalo je da patogeneza kognitivnog oštećenja ima jasnu povezanost s upalnim odgovorom unutar mozga i oksidativnim stresom<sup>20</sup>. Neka istraživanja potvrđuju da upala oštećuje integritet vaskularne funkcije i pridonosi patogenezi kognitivnih oštećenja poput POCD-a<sup>21</sup>. Izofluran može utjecati na učenje i funkciju pamćenja djelujući preko receptora N-metil-D asparaginske kiseline<sup>22</sup>. Izofluran i sevofluran imaju antioksidativne i protuupalne učinke u većini stanica<sup>23</sup>, s izuzetkom stanica središnjeg živčanog sustava<sup>24</sup>. Nadalje, klinički relevantna koncentracija izoflurana inducira apoptozu, djeluje na stvaranje APP i povećava proizvodnju A $\beta$  amiloida što je ključni događaj u patogenezi Alzheimerove bolesti<sup>25</sup>. Schallner i sur. otkrili su da nakon izlaganja izofluranu, ali ne i sevofluranu ili desfluranu dolazi do jačanja neurotoksičnosti u prethodno ozlijeđenim neuronima putem aktivacije p75 neurotrofinskog receptora i NF- $\kappa$ B<sup>26</sup>. Wilder i sur. proveli su istraživanje na više od 5000 djece i otkrili da su djeca koja su bila izložena anesteziji u ranijoj dobi pod povećanim rizikom od razvoja teškoća u učenju. Nadalje, rizik za razvoj smanjene sposobnosti učenja povećava se s dužim izlaganjem inhalacijskim anestetikima<sup>27</sup>. Istraživanje Wei i sur. sugerira da izofluran aktivira membranu endoplazmatskog retikuluma (ER), uzrokujući prekomjerno oslobađanje kalcija i pokrećući apoptozu. Neuronima s pojačanom aktivnošću receptora za inozitol 1,4,5-trisfosfat (IP3), u određenim slučajevima Alzheimerove bolesti, mogu biti posebno osjetljivi na citotoksičnost izoflurana<sup>28</sup>. Istraživanje Satomoto i sur. pokazuje da je izloženost neonatalnih miševa sevofluranu značajno povećala broj apoptotičkih stanica u mozgu neposredno nakon anestezije uzrokujući trajne deficite učenja kasnije u odrasloj dobi<sup>29</sup>. Jednokratna izloženost 2,5% sevofluranu (4 sata) i ponovno izlaganje 1,5% ili 2,5% sevofluranu (2 h dnevno tijekom 5 uzastopnih dana)

značajno su utjecali na smanjenje sposobnosti učenja i pamćenja starijih štakora, što je zaključeno u istraživanju Guoa i sur.<sup>30</sup>. Postoje i drugi zaključci, iz istraživanja na štakorskom modelu, koji tvrde da predtretman sevofluranom ili njegova rana primjena pri reperfuziji osigurava neuroprotekciju putem mitoKATP-a fokalne cerebralne ishemije<sup>31</sup>. Druga studija uspoređuje učinke ponovljene izloženosti izofluranu mladih i zrelih štakora i miševa na kogniciju i neurogenezu, zaključujući da su prepoznavanje predmeta i učenje značajno narušeni kod mladih štakora i miševa liječenih izofluranom, dok starije životinje nisu bile pogođene tim promjenama. Nedostatak pamćenja povezuje se smanjenim brojem hipokampalnih neurona i smanjenom neurogenezom, te smanjenim brojem neurona dentalnog girusa štakora liječenih izofluranom. Ovi rezultati pokazuju mehanizam neurotoksičnosti sa kognitivnim deficitima koji su jasno ovisni o dobi tretirane životinje<sup>32</sup>. Jedna od rijetkih studija neljudskih primata pokazuje da je mozak novorođenčadi rezus makakija osjetljiv na apoptogeno djelovanje izoflurana i pokazuje izrazito povećanje neuroapoptoze nakon 5 h izlaganja kirurškoj razini anestezije izofluranom<sup>33</sup>. Uspoređujući neurodegenerativnu učinak sevoflurana i izoflurana, istraživanja su pokazala da pri ekvipotentnoj izloženosti izofluran, ali ne i sevofluran, značajno povećava neurodegenerativni biomarker S100beta u krvi miševa<sup>34</sup>. Osim sevoflurana i izoflurana kao najčešće korištenih inhalacijskih anestetika, desfluran kao moćni inhalacijski anestetik također se koristi tijekom opće anestezije. Prema istraživanju Kodama i sur. izloženost dezfluranu kod miševa izazvala je više neuroapoptoze nego sevofluran ili izofluran i oslabila sposobnost pamćenja, što sugerira da je desfluran neurotoksičniji od sevoflurana ili izoflurana<sup>35</sup>. Studija Isthapanousa i sur. pokazuje da su kod neonatalnih miševa ekvipotentne doze triju najčešće korištenih inhalacijskih anestetika pokazale slične neurotoksične profile, što sugerira da je razvojna neurotoksičnost zajednička značajka sva tri lijeka<sup>35</sup>. Izofluran, ali ne i desfluran, inducirao je oštećenje dugotrajnog učenja i pamćenja, smanjujući razine fosforilacije protein kinaze B i glikogen sintaze kinaze  $3\beta$  u hipokampusu povezane s oštećenjem učenja i pamćenja<sup>37,38</sup>. Posljednje tri citirane studije upućuju na još uvijek nejasnu usporedbu učinkovitosti inhalacijskih anestetika s razvojem neurodegenerativnih promjena. Na kraju, zanimljivo je primijetiti da sevofluran ne pokazuje sposobnost oštećenja DNK kod osoblja u operacijskoj sali, što Szyfter i sur. pokazali su u svojoj studiji<sup>39</sup>. S druge strane, jedna studija dokazuje da su liječnici koji su bili izloženi inhalacijskim anestetima poput isoflurana i sevoflurana, radeći u operacijskoj sali kroz 22 tjedna ispitivanja, imali povećanu razinu parametara oksidativnog stres što ukazuje na potrebu odgovarajućeg sustava za zašti-

tu liječnika od ovog štetnog učinka inhalacijskih anestetika<sup>40</sup>.

### Zaključak

Konačno, mogli bismo zaključiti da je odnos inhalacijskih anestetika i nastanka neurodegenerativnih promjena jedna od najzanimljivijih tema današnje anestezije. Koncept odabira vrste anestezije u operacijskoj sali može utjecati na nastanak neurodegenerativnih promjena povezanih s Alzheimerovom bolešću, kako kod pacijenata tako i kod medicinskog osoblja, što sugerira racionalnije korištenje inhalacijskih anestetika. Za jasnije zaključke još uvijek trebamo pričekati rezultata više istraživanja.

### LITERATURA

1. Deile M, Damm M, Heller A. Inhalative Anästhetika. *Anaesthesist*. 2013;62(6):493–504.
2. Franks NP, Zecharia AY. Sleep and general anesthesia. *Can J Anaesth*. 2011;58(2):139–48.
3. Franks NP, Lieb WR. Molecular and cellular mechanisms of general anesthesia. *Nature*. 1994;367:607–14.
4. Šimić G, Leko Babić M, Wray S, Harrington C, Delalle I, Jovanov-Milošević N i sur. Monoaminergic Neuropathology in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2017;151:101–38.
5. Hill JM, Clement C, Pogue AI, Bhattacharjee S, Zhao Y, Lukiw JW. Pathogenic microbes, the microbiome, and Alzheimer's disease (AD). *Front Aging Neurosci*. 2014;6:127.
6. Xie Z, Culley DJ, Dong Y, Zhang G, Zhang B, Moir RD i sur. The common inhalation anesthetic isoflurane induces caspase activation and increases amyloid beta-protein level in vivo. *Ann Neurol*. 2008;64(6):618–27.
7. Zhang B, Tian M, Zhen Y, Yue Y, Sherman J, Zheng H i sur. The effects of isoflurane and desflurane on cognitive function in humans. *Anesth Analg*. 2012;114(2):410–15.
8. Yuan CY, Lee YJ, Wang Hsu GS. Aluminum overload increases oxidative stress in four functional brain areas of neonatal rats. *Journal of Biomedical Science*. 2012;19:51.
9. Cheignona C, Tomasa M, Bonnefont-Rousselot D, Fallier P, Hureaux C, Collina. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*. 2018;14:450–64.
10. An LN, Yue Y, Guo WZ. et al. Surgical Trauma Induces Iron Accumulation and Oxidative Stress in a Rodent Model of Postoperative Cognitive Dysfunction. *Biol Trace Elem Res* 2013;151:277–283.
11. Tang J, Eckenhoff MF, Eckenhoff RG. Anesthesia and the old brain. *Anesth Analg* 2010;110: 421–6.
12. Culley DJ, Xie Z, Crosby G. General anesthetic-induced neurotoxicity: an emerging problem for the young and old? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2007;20(5):408–13.
13. Moller JT, Svernilid I, Johannessen NW, Jensen PF, Espersen K, Gravenstein JS i sur. Perioperative monitoring with pulse oximetry and late postoperative cognitive dysfunction. *Br J Anaesth*. 1993;71(3):340–7.
14. Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med*. 2013;60:1–4.
15. Gallagher M, Rapp PR.. Annual Review of Psychology. 1997; 48(1997):339–370.

16. Smith CD, Carney JM, Starke Reed PE, Oliver CN, Stadtman ER, Floyd RA *i sur.* Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10540–3.
17. Wu Y, Antony S, Meitzler J, Doroshov J. Molecular mechanisms underlying chronic inflammation-associated cancers. *Cancer Letters*, 2014;345(2):164–173.
18. Hussain S, Hofseth L, Harris C. Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2003;3:276–285.
19. Coussens L, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*, 2002; 420:860–7.
20. Liu C, Han JG. Advances in the mechanisms and early warning indicators of the postoperative cognitive dysfunction after the extracorporeal circulation. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2015;37:101–107.
21. Ogasawara K, Yamadate K, Kobayashi M, Endo H, Fukuda T, Yoshida K *i sur.* Effects of the free radical scavenger, edaravone, on the development of postoperative cognitive impairment in patients undergoing carotid endarterectomy. *Surg Neurol*. 2005;64:309–313; discussion 313–314.
22. Stratmann G, Sall JW, May LD, Loepke AW and Lee MT. Beyond anesthetic properties: The effects of isoflurane on brain cell death, neurogenesis and long-term neurocognitive function. *Anesth Analg*. 2010;110:431–7.
23. Bienengraeber M. *Anesthesiology*, 2005;103(5):1006–14.
24. Lee YM, Song BC, Kyung-Jin Y. *BioMed Research International*; New York 2015;2015.
25. Xie Z, Dong Y, Maeda U, Alfilie P, Culley DJ, Crosby G *i sur.* The common inhalation anesthetic isoflurane induces apoptosis and increases amyloid beta protein levels. *Anesthesiology*. 2006;104(5):988–94.
26. Schallner N, Ulbrich F, Engelstaedter H, Biermann J, Auwaert-er V, Loop T *i sur.* *Anesthesia & Analgesia*: December 2014 – Volume 119 – Issue 6 – p 1429–1441
27. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, Katusic SK, Barbaresi WJ, Mickelson C *i sur.* *Anesthesiology* 2009;110:796–804.
28. Wei H, Liang G, Yang H, Wang Q, Hawkins B, Madesh M *i sur.* The Common Inhalational Anesthetic Isoflurane Induces Apoptosis via Activation of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors. *Anesthesiology* 2008;108:251–60.
29. Satomoto M, Satoh Y, Terui K, Miyao H, Takishima K, Ito M *i sur.* *Anesthesiology* 2009;110: 628–37.
30. Guo S, Liu L, Wang C, Jiang Q, Dong Y, Tian Y. *Life Sciences* 2018;192:75–83.
31. Adamczyk S, Robin E, Simerabet M. *British Journal of Anaesthesia*. 2010;104(2):191–200.
32. Zhu C, Gao J, Karlsson N, Li Q, Zhang Y, Huang Z *i sur.* *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2010;30(5):1017–30.
33. Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, Farber NB, Smith DJ, Zhang X *i sur.* *Anesthesiology* 2010;112:834–41.
34. Liang G, Ward C, Peng J, Zhao Y, Huang B, Wei H. *Anesthesiology* 2010;112(6):1325–34.
35. Kodama M, Satoh Y, Otsubo Y, Araki Y, Yonamine R, Masui K *i sur.* Neonatal desflurane exposure induces more robust neuroapoptosis than do isoflurane and sevoflurane and impairs working memory. *Anesthesiology*. 2011;115(5):979–91.
36. Istaphanous GK, Howard J, Nan X, Hughes EA, McCann JC, McAuliffe JJ *i sur.* Comparison of the neuroapoptotic properties of equipotent anesthetic concentrations of desflurane, isoflurane, or sevoflurane in neonatal mice. *Anesthesiology*. 2011;114(3):578–87.
37. Takashima A. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2012;5 (47):2012.
38. Tao G, Xue Q, Luo Y, Li G, Xia Y, Yu B. *BioMed Research International*, vol. 2016, Article ID 7919640, 2016;10.
39. Szyfter K, Szulc R, Mikstacki A, Stachecki I, Rydzanicz M, Jandoloński P. *J Appl Genet*. 2004;45(3):369–74.
40. Regina da Costa Paes E, Braz MG, Teixeira de Lima J, Gomes da Silva MR, Bentes de Sousa L, Lima ES *i sur.* *Acta Cirurgica Brasileira*. 2014;29(4):280–6.