

Nukutusaineiden vaikutukset aivojen gabaergiseen välittäjäainejärjestelmään

– positroniemissiotomografiatutkimuksia terveillä vapaaehtoisilla

Elina Salmi

Turun Yliopisto 16.11.2007

Vastaväittäjä professori Eero Castrén, Helsingin Yliopisto

Huolimatta nukutusaineiden yli 160 vuotta jatkuneesta käytöstä ei niiden tarkkoja vaikutusmekanismeja vieläkään tunneta. 1900-luvun vaihteessa havaittiin, että eri aineiden kyky aiheuttaa anestesia korreloi niiden rasvaliukoisuuden kanssa^{1,2}. Tämä lipiditeoriaksi kutsuttu ajatusmalli viitoitti anestesiamekanismien tutkimusta yli 80 vuoden ajan, kunnes 1980-luvulla anestesia-aineiden vaikutuskohdan todettiin olevan aivojen eri välittäjäainejärjestelmät ja ennen kaikkea niihin kuuluvat reseptorit³. Mahdollisia vaikutuskohtia aivoista on löydetty yli 30, mutta on vielä osin epäselvää, mitkä näistä ovat kliinisesti merkittävimpiä⁴. On myös oletettavaa, että nukutusaineet aiheuttavat anestesian vaikuttamalla useisiin aivojen eri välittäjäainejärjestelmiin. Lisäksi todennäköisesti eri nukutusaineilla on omat, muista eroavat vaikutusprofiilinsa.

Klassisesti anesteettien on ajateltu joko voimistavan aivojen tärkeimmän inhibitorisen välittäjäainejärjestelmän, γ -aminovoihappoa (GABA) välittäjäaineenaan käyttävän GABAergisen välittäjäainejärjestelmän toimintaa, tai estävän aivojen tärkeimmän eksitatorisen välittäjäainejärjestelmän eli glutamaattijärjestelmän toimintaa⁵. Näiden molempien välittäjäainejärjestelmien osuus anestesian synnyssä on lukuisissa tutkimuksissa todettu merkittäväksi⁶. Viime vuosina suurta mielenkiintoa ovat herättäneet neuronien kaliumkanavat, joiden fysiologisen tehtävänä on ylläpitää neuronien solukalvojen lepopotentiaalia. Näiden kaliumkanavien ajatellaan välittävän erityisesti inhaloitavien anesteettien vaikutuksia⁶. Muina mahdollisina, kliinisesti merkittävänä vaikutuskohteina pidetään mm. selkäytimen ja aivorungon glysiiniresep-

toreita, kationivirtoja välittäviä ns. HCN-kanavia, ja glutaminergisten synapsien toimintaa sääteleviä presynaptisia natriumkanavia⁶.

GABA on keskushermoston yleisin estävä välittäjäaine, ja aivoalueesta riippuen 20–50 % keskushermoston synapseista on GABAergisia^{7,8}. Poikkeavuuksia GABAergisen järjestelmän toiminnassa on todettu useissa neurologisissa sairauksissa kuten epilepsiassa, ahdistuneisuushäiriössä, erilaisissa perinnöllisissä syndroomissa, ja etanolin virotusoireissa⁹. Tärkein ja farmakologisesti merkittävin GABAergisen järjestelmän kolmesta eri reseptorista on GABA_A-reseptori, joka muodostuu viidestä eri alayksiköstä ja tämä alayksikköjärjestys vaihtelee muodostaen GABA_A-reseptorin eri alatyyppejä⁹. Eri alayksiköitä tunnetaan tällä hetkellä 19 ja tavallisin alayksikkökombinaatio keskushermostossa näyttää olevan $\alpha_1\beta_2\gamma_{26}$.

Suurimmalla osalla nukutusaineista on todettu vaikutuksia GABA_A-reseptoriin. In vitro- ja eläinkokeiden perusteella propofolin on todettu paitsi lisäävän GABAn vaikutuksia GABA_A-reseptoriin, myös vaikuttavan suoraan itse reseptoriin aktivoiden sen⁶. Todennäköisesti suurin osa eri alayksiköistä muodostuvista eri GABA_A-reseptorialaluokista on herkkiä propofolin vaikutuksille, mutta tiettyjä tärkeitä alayksiköitä ja yksittäisiä tärkeitä aminohappoja erityisesti β -alayksikössä on pystytty tunnistamaan^{10,11}. Inhaloitavien anesteettien kohdalla tilanne ei ole näin selvä, mutta tämänhetkisen tutkimustiedon valossa GABAerginen järjestelmä on merkittävä myös näiden aineiden nukutusaineiden ominaisuuksien välittäjänä¹², ja myös inhalaatioanesteettien vaikutuksille kriittisiä reseptorirakenteita sekä α - että β -ala-

yksiköissä on tunnistettu^{13,14}. Nämä kriittiset rakenteet ovat eroavat osittain suonensisäisten nukutusaineiden vaikutuksille kriittisistä rakenteista⁶. Typpioksiduuli, ketamiini ja ksenon eroavat muista anesteeteista siinä, että vaikutusten ajatellaan välittyvän pääasiassa estämällä eksitatorisen glutamaattijärjestelmän toimintaa eikä GABAergisen järjestelmän kautta⁴.

Lähes kaikki olemassa oleva tutkimustieto nukutusaineiden vaikutusmekanismeista perustuu in vitro- ja eläinkokeisiin, eikä tietoa nukutusaineiden vaikutusmekanismeista elävän ihmisen aivoissa juuri ole. Tämän väitöskirjatutkimuksen tarkoituksena oli selvittää erityyppisten nukutusaineiden vaikutuksia elävän ihmisen aivojen GABAergiseen välittäjäainejärjestelmään.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimusmenetelmänä käytettiin positroniemissiotomografiaa (PET) ja PET-merkkiaineena ¹¹C-flumatseniilia, joka sitoutuu spesifisesti GABA_A-reseptoriin. Lisääntyneen flumatseniilin sitoutumisen on todettu merkitsevän samanaikaisesti lisääntynyttä GABA:n sitoutumista reseptoriinsa¹⁵ ja näin ollen GABAergisen järjestelmän aktiivisuutta.

Tutkimusmenetelmän metodologisena validaatina tutkittiin ensin ¹¹C-flumatseniilitutkimusten toistettavuutta (osatyö I). Tässä osatyössä mitattiin saman päivän aikana kahteen kertaan kahdeksan koehenkilöllä ¹¹C-flumatseniilin sitoutuminen aivojen GABA_A-reseptoreihin. Osatyössä II selvitettiin kahdeksalla koehenkilöllä 1 EC₅₀ propofolianestesian ja kahdeksalla koehenkilöllä 1 MAC sevofluraanianestesian vaikutusta ¹¹C-flumatseniilin sitoutumiseen. Subanesteettisina annoksina annostellun ketamiinin vaikutuksia tutkittiin kymmenellä koehenkilöllä (osatyö III), ja anesteettisina annoksina annetun ksenonin vaikutuksia kahdeksalla koehenkilöllä (osatyö IV).

PET-tutkimukset analysoitiin kahdella eri menetelmällä; käyttämällä ennalta määrättyihin mielenkiintoalueisiin perustuvaa regions-of-interest-analyysia, sekä tilastollisesti merkitseviä muutoksia ¹¹C-flumatseniilin sitoutumisessa hakevaa SPM (statistical parametric mapping) -analyysia. Tarkoituksena oli näillä menetelmillä todeta mahdolliset erot ensimmäisen (hereillä) ja toisen (anestesiassa) ¹¹C-flumatseniilitutkimuksen välillä. Osatyössä I haettiin parhaiten toistettavaa analyysitapaa ja tätä arvioitiin laskemalla eri analyysitapojen intraclass correlation coefficient (ICC) ja variabiliteettiarvoja.

Tulokset

Osatyössä I todettiin, että valtimoverikäyrää hyödyntävien ¹¹C-flumatseniilitutkimuksien ICC oli korkea (0,83–0,88) ja variabiliteetti matala (5,57–6,26 %), mikä tarkoittaa niiden olevan erittäin hyvin toistettavia. Referenssialuetta hyödyntävien ¹¹C-flumatseniilitutkimuksien toistettavuus oli tätä heikompi (ICC 0,35–0,80, variabiliteetti 8,08–9,08 %).

Osatyössä II todettiin sevofluraanianestesian aiheuttavan tilastollisesti merkitsevän, noin 20 % ¹¹C-flumatseniilin sitoutumisen lisääntymisen anestesian aikana kaikilla tutkituilla aivoalueilla paitsi valkeassa aineessa ja ponsissa, joissa ei GABAA-reseptoreita ole. Suurin sitoutumisen lisääntyminen todettiin temporaalilohkossa (21,6 ± 7,4 %). Propofolianestesian aikana tilastollisesti merkitseviä muutoksia tapahtui frontaali- (8,1 ± 4,7 %), temporaali- (9,7 ± 5,3 %) ja parietaalilohkoissa (9,3 ± 7,6 %), sekä talamuksessa (12,1 ± 7,4 %), caudatuksessa (10,9 ± 13,5 %), putamenissa (8,4 ± 7,1 %) ja pikkuaivoissa (9,1 ± 6,2 %). Muilla aivoalueilla ei lisääntymistä todettu.

Osatyössä III subanesteettisina annoksina annostellun ketamiinin ei todettu vaikuttavan ¹¹C-flumatseniilin sitoutumiseen. Vastaavasti ksenonilla (osatyö IV) ei ollut vaikutuksia ¹¹C-flumatseniilisitoutumiseen.

Verenpaineen tilastollisesti merkitsevä lasku todettiin sevofluraani- ja propofolianestesian aikana, ja lisäksi propofoli aiheutti merkitsevän sykkeen laskun. Ketamiini taas aiheutti merkitsevän sykkeen ja verenpaineen nousun. Näillä hemodynaamiikan muutoksilla ei kuitenkaan ole vaikutusta ¹¹C-flumatseniilin sitoutumiseen johtuen käytetystä analyysimenetelmästä.

Johtopäätökset

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää erityyppisten nukutusaineiden vaikutus elävän ihmisen aivojen GABA_A-reseptorisitoutumiseen ja tätä kautta GABAergiseen välittäjäainejärjestelmään. Lisäksi ensimmäisen, metodologisen osatyön tarkoituksena oli selvittää käytetyn tutkimusmenetelmän soveltuvuus tämän asian tutkimiseen tarkastelemalla menetelmän toistettavuutta.

Tutkimuksessa todettiin, että ¹¹C-flumatseniilia hyödyntävä PET-kuvantaminen on käyttökelpoinen tutkimusmenetelmä selvittäessä nukutusaineiden vaikutuksia GABAergiseen välittäjäainejärjestelmään. Nukutusaineista sekä sevofluraa-

ni että propopoli lisäsivät ^{11}C -flumatseniilin sitoutumista GABA_A -reseptoriin viitaten GABA ergisen järjestelmän aktiivisuuden lisääntymiseen anestesian aikana. Ketamiinilla tai ksenonilla ei vastavaa vaikutusta todettu. Tämä löydös tukee hyvin in vitro- ja eläinkokeiden pohjalta saatua käsitystä nukutusaineiden vaikutusmekanismeista.

Mielenkiintoa herätti havainto, että sevofluraanin vaikutukset GABA_A -reseptorisitoutumiseen olivat voimakkaammat ja niitä esiintyi useammalla aivoalueella kuin propofolilla. Aikaisempien tutkimustulosten valossa olisi tuloksen voinut olettaa olevan päinvastainen, koska juuri propofolin vaikutusten on ajateltu välittyvän voimakkaasti GABA ergisen järjestelmän kautta, kun taas inhaloitavilla anesteeteilla on selkeitä vaikutuksia myös muihin välittäjäainejärjestelmiin⁶. Tämä löydös johtuu mahdollisesti näiden anesteettien erilaisesta vaikutusprofiilista eri GABA_A -reseptorialuokkiin. Toisaalta tähän tulokseen voi vaikuttaa se, että tutkimuksessa merkkiaineena käytetty ^{11}C -flumatseniili ei välttämättä kuvasta samalla tavalla nukutusaineiden vaikutuksia kaikkiin GABA_A -reseptorin alaluokkiin, sillä flumatseniililla tiedetään olevan matala affiniteetti esimerkiksi α_4 - ja α_6 -alayksiköitä sisältäviin GABA_A -reseptoreihin¹⁰.

Eri aivoalueiden merkityksestä anestesian synnylle on esitetty teorioita ja erityisesti talamus-

ta ja talamokortikaalisten ratoja on pidetty tärkeinä^{16,17}. Sekä sevofluraanin että propofolin todettiin aiheuttavan tilastollisesti merkitseviä muutoksia GABA_A -reseptorisitoutumisessa talamuksen alueella, mikä saattaa viitata alueen merkittävään rooliin anestesian synnyssä, mutta luotettavia johtopäätöksiä ei eri aivoalueiden merkityksestä tämän tutkimuksen perusteella vetää. Asian lopullinen selvittäminen vaatisi tutkimuksia, jossa yhdistetään aivojen metaboliaa, verenvirtausta, sähköistä toimintaa ja välittäjäainejärjestelmien tutkimusta. Lisäksi nukutusaineet nykykäsityksen mukaan vaikuttavat useampiin aivojen välittäjäainejärjestelmiin, joten anestesiamekanismien lopullinen ymmärtäminen vaatisi luonnollisesti myös muiden välittäjäainejärjestelmien tutkimusta. \square

Väitöskirja ja osatyöt

Elina Salmi. The effects of general anesthetics on GABA ergic neurotransmission. Positron emission tomography studies in healthy subjects.

- I Salmi E, Aalto S, Långsjö JW, Maksimow AT, Oikonen V, Metsähonkala L, Nägren K, Scheinin H, Hirvonen J. Measurement of GABA_A receptor binding in vivo with [^{11}C]Flumazenil: A test-retest study in healthy subjects. *NeuroImage* 2008;49:260–269.
- II Salmi E, Kaisti KK, Metsähonkala L, Oikonen V, Aalto S, Nägren K, Hinkka S, Hietala J, Korpi ER, Scheinin H. Sevoflurane and propofol increase ^{11}C -flumazenil binding to GABA -aminobutyric acid receptors in humans. *Anesth Analg* 2004;99:1420–1426.
- III Salmi E, Långsjö JW, Aalto S, Nägren K, Metsähonkala L, Kaisti



- KK, Korpi ER, Hietala J, Scheinin H. Subanesthetic ketamine does not affect 11C-flumazenil binding in humans. *Anesth Analg* 2005;101:722-775.
- IV Salmi, E, Laitio RM, Aalto S, Maksimow AT, Långsjö JW, Kaisti KK, Aantaa R, Oikonen V, Metsähonkala L, Nägren K, Parkkola R, Scheinin H. Xenon does not affect γ -aminobutyric acid type A receptors in humans. *Anesth Analg* 2007;106:129-134.
- Viitteet**
- Meyer H. Welche eigenschaft der anästhetica bedingt ihre narkotische wirkung? *Arch Exp Pathol Pharmacol* (Naunyn – Schmiedeberg's) 1899;42:109-118.
 - Overton E. Studien über die Narkose, zugleich ein Beitrag zur allgemein Pharmakologie (Gustav Fischer, Jena, 1901).
 - Franks NP, Lieb WR. Do general anesthetics act by competitive binding to specific receptors? *Nature* 1984;310:599-601.
 - Rudolph U, Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat Rev Neurosci* 2004;5:709-720.
 - Franks NP, Lieb WR. Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature* 1994;367:607-614.
 - Franks NP. General anesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nat Rev Neurosci* 2008;9:370-386.
 - Bloom F, Iversen LL. Localizing [3H]GABA in the nerve terminals of rat cerebral cortex by electron microscopic autoradiography. *Nature* 1971;229:628-630.
 - Young AB, Chu D. Distribution of GABAA and GABAB receptors in mammalian brain: potential targets for drug development. *Drug Dev Res* 1990;21:161-167.
 - Korpi ER, Gründer G, Lüddens H. Drug interactions at GABAA receptors. *Prog Neurobiol* 2002;67:113-159.
 - Möhler H. GABAA receptor diversity and pharmacology. *Cell Tissue Res* 2006;326:505-516.
 - Sanna E, Mascia MP, Klein RL, ym. Actions of the general anesthetic propofol on recombinant human GABAA receptors: influence on receptor subunits. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;274:353-360.
 - Thompson S-A, Wafford K. Mechanism of action of general anesthetics - new information from molecular pharmacology. *Curr Opin Pharmacol* 2001;1:73-83.
 - Mihic SJ, Ye Q, Wick MJ, ym. Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABAA and glycine receptors. *Nature* 1997;389:385-389.
 - Jenkins A, Greenblatt EP, Faulkner HJ, ym. Evidence for a common binding cavity for three general anesthetics within GABAA receptor. *J Neurosci* 2001;21:RC136.
 - Miller LG, Greenblatt DJ, Barnhill JG, ym. 'GABA shift' in vivo: enhancement of benzodiazepine binding in vivo by modulation of endogenous GABA. *Eur J Pharmacol* 1988;148:123-30.
 - Bazhenov M, Timofeev I, Steriade M, Sejnowski TJ. Self-sustained rhythmic activity in the reticular nucleus mediated by depolarizing GABAA receptor potentials. *Nat Neurosci* 1999;2:168-174.
 - Sugiyama K, Muteki T, Shimoji K. Halothane-induced hyperpolarization and depression of postsynaptic potentials of guinea pig thalamic neurons in vitro. *Brain Res* 1992;576:97-103.

Elina Salmi

Erikoistuva lääkäri, LT

Korva-, nenä- ja kurkkutautien klinikka

Turun yliopistollinen keskussairaala

elina.salmi[a]utu.fi

Ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation

– mechanisms and effects on graft function

Minna Ilmakunnas

Helsingin yliopisto 20.12.2008

Vastaväittäjä dosentti Styrbjörn Friman, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg, Ruotsi

Maksansiirto on vakiintunut hoitomuoto sekä akuutissa maksan vajaatoiminnassa että kroonisissa maksasairauksissa. Maksansiirron pitkäaikaistulokset ovat erinomaisia; Suomessa 95 prosenttia potilaista selviytyy ensimmäisen siirron jälkeisen vuoden, ja vielä kymmenen vuoden kuluttua siirrosta potilaista 72 prosenttia on elossa. Siirteen varhainen toiminta, immunosuppressioon liittyvät ongelmat ja siirtoon johtaneen maksasairauden uusiminen

ovat tärkeimpiä pitkäaikaisennusteeseen vaikuttavia tekijöitä. Vaikka valtaosa siirteistä toimii siirron jälkeen ongelmitta, kansainvälisissä aineistoissa jopa 15–30 prosenttia siirteistä toimii huonosti (primary graft dysfunction, PDF) tai menetetään kokonaan (primary graft non-function, PNF)¹. PDF määritellään yleisesti transaminaasinaisuutena >1500 U/l kolmen vuorokauden kuluessa siirrosta, kun taas PNF:ssä kehitty maksanekroosi, ja potilas kuolee ilman uusintasiirtoa viikon ku-