

# Propofol/Remifentanil Anestezisi ile Sevofluran Anestezisinin İnsan Eritrositlerindeki Oksidan ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri

THE EFFECTS OF PROPOFOL/REMIFENTANIL ANESTHESIA AND SEVOFLURANE ANESTHESIA ON OXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN HUMAN ERYTHROCYTES

Dr. Bayazit DİKMEN,<sup>a</sup> Dr. Gülcan ERK,<sup>a</sup> Dr. Gökhan ET,<sup>a</sup> Dr. Tuğba KÖŞ,<sup>b</sup>  
Dr. Eyüp HORASANLI,<sup>a</sup> Dr. Oya KILCI,<sup>a</sup> Dr. H.Serdar ÖZTÜRK<sup>b</sup>

<sup>a</sup>2. Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
<sup>b</sup>Biyokimya AD, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

## Özet

**Amaç:** Sevofluran ve propofol günümüzde yaygın olarak kullanılan anestezi ajanlarıdır. İnhalasyon anesteziğinin oksidan ve antioksidan etkileri tartışmalı iken, propofolün antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ancak propofolün klinik uygulama dozlarında etkili olmadığına dair yayınlar da vardır. Bu çalışmada sevofluran ve propofolün, klinik uygulama sırasında insan eritrosit oksidan/antioksidan sistem üzerine olan etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Total abdominal histerektomi planlanan (ASA I-II) toplam 20 olgu, Grup T (n= 10) ve Grup V (n= 10) olarak iki gruba ayrıldı. Grup T'deki olgulara propofol, remifentanil, N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub> ile total intravenöz anestezi, Grup V'teki olgulara ise maksimum vital kapasite tekniği ile sevofluran ve N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub> kullanılarak inhalasyon induksiyonu ve idame anestezisi uygulandı. Kan örnekleri induksiyondan önce (t<sub>1</sub>), anestezinin 30. dakikasında (t<sub>2</sub>) ve postoperatif 60. dakikada (t<sub>3</sub>) alındı. Plazma ve eritrositler ayrılarak; eritrositlerde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) ve antioksidan potansiyel (AOP) seviyeleri çalışıldı. İstatistiksel değerlendirme Friedman Two-Way ANOVA ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı.

**Bulgular:** Grup içi karşılaştırmalarda bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmezken gruplar arası değerlendirmede t<sub>2</sub> de AOP'de anlamlı farklılık (p= 0.0410) vardı.

**Sonuç:** Klinik uygulama dozlarında propofol/remifentanilin oksidatif strese etkisinin olmadığı, sevofluranın eritrositleri oksidatif strese karşı koruyabileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Oksidatif stres, propofol, sevofluran

Türkiye Klinikleri J Anest Reanim 2005, 3:15-20

## Abstract

**Objective:** Sevoflurane and propofol are widely used anesthetics agents today. While the oxidant and the antioxidant effects of inhalation anesthetics are arguable, propofol has been thought to have antioxidant effect. But there are dilemmas about antioxidant effects of propofol in clinical doses. The aim of this study was to investigate the effects of sevoflurane and propofol on human erythrocyte oxidant and antioxidant system during clinical use.

**Material and Methods:** Twenty patients, ASA I-II, undergoing total abdominal hysterectomy were divided into two groups. Group T (n= 10) received total intravenous anesthesia with propofol, remifentanil and N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub>, whereas group V (n= 10) had volatile induction and maintenance anesthesia with sevoflurane and N<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub> via maximum vital capacity technique. Blood samples were taken before induction (t<sub>1</sub>), at the 30<sup>th</sup> minute of anesthesia (t<sub>2</sub>) and at the 60<sup>th</sup> minute postoperatively (t<sub>3</sub>). After separation of plasma and erythrocytes, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activities and malondialdehyde (MDA) and antioxidant potential (AOP) levels were studied in erythrocytes. Statistical analysis were performed with Friedman Two-Way ANOVA and Mann-Whitney U tests.

**Results:** There were no statistical difference within groups, but in comparison between groups AOP levels at t<sub>2</sub> were statistically different (p= 0.0410).

**Conclusion:** Propofol/remifentanil in doses used in clinical practice were not effective on oxidative stress, whereas sevoflurane can protect the erythrocytes against oxidative stress.

**Key Words:** Oxidative stress, propofol, sevoflurane

Geliş Tarihi/Received: 29.12.2004

Kabul Tarihi/Accepted: 04.04.2005

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Oya KILCI  
Tıp Fakültesi Cad. Kaşif Hoca Sok. 1/3  
06620, Abidin Paşa, ANKARA  
bkilci@tr.net

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Anest Reanim 2005, 3

**A**nesteziğinin, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı dokuların korunmasında oynadıkları roller, son yıllarda hekimlerin ilgisini çekmiştir. Halotan, izofluran ve desfluran değişik dokularda antioksidan sistemi olumsuz

etkilemelerine rağmen sevofluranın antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir.<sup>1-4</sup>

Propofolün kimyasal yapısı, endojen antioksidan vitamin E ve hidroksi toluen butilat gibi fenol bazlı serbest radikal tüketicilere benzemektedir.<sup>5</sup> Bazı çalışmalarda propofol ve sevofluranın antioksidan özelliklerinin, diğer anesteziiklerden daha fazla olduğu ileri sürülmüştür.<sup>4,6,7</sup>

Anesteziik ajanların oksidan/antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmaların çoğu in vitro veya in vivo hayvan deneyi şeklindedir. İn vivo insan dokusundaki çalışmalar oldukça sınırlıdır.<sup>6,8-11</sup>

Çalışmamızda klinik uygulama esnasında, propofol/remifentanil ve sevofluran uygulanan iki ayrı anestezi yönteminin, oksidan ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntemler

Hastane etik kurul onayı ve bilgilendirilmiş hasta oluru alındıktan sonra, total abdominal histerektomi planlanan ASA I-II 20 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar randomize olarak Grup T (n= 10) ve Grup V (n= 10) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Endokrin bozukluğu olan, sigara içen, son 2 hafta içerisinde kan transfüzyonu yapılan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil olan tüm hastalara operasyondan 2 saat önce oral yolla 10 mg diazepam verildi. Operasyon odasına alınan olgulara non-invazif kan basıncı, EKG ve sPO<sub>2</sub> (Datascope Passport 16377 AS, USA) monitorizasyonu yapıldıktan sonra, sol el sırtına 20 G intravenöz kateter yerleştirilip 10 ml/kg/saat %0.9 NaCl infüzyonuna başlandı. Hastaların kan örneklerinin temini ve direkt kan basıncını izleyebilmek amacıyla, Allen testini takiben, 20 G kateter ile radial arter kanülasyonu yapıldı.

Anestezi induksiyonuna Grup T olgularda 90 saniye içinde gidecek şekilde 1 µg/kg remifentanil infüzyonu ile başlandı. Bir dakika sonra 2.5 mg/kg propofol infüzyonu yapıldı ve 0.1 mg/kg veküronyum bromid ile kas gevşemesi sağlandı-

tan sonra oral endotrakeal entübasyon gerçekleştirildi. Anestezi induksiyonu esnasında olgular %100 O<sub>2</sub> ile solutuldu. Anestezi idamesi, 0.25 µg/kg/saat remifentanil ve ilk 10 dk. için 12 mg/kg/saat, ikinci 10 dk. için 9 mg/kg/saat ve daha sonrası için 6 mg/kg/saat propofol infüzyonu ile sağlandı. Hastalar %50 N<sub>2</sub>O ve %50 O<sub>2</sub> karışımı ile 6 lt/dk.lık akımla solutuldu. Operasyon bitiminden 10 dakika önce intravenöz anesteziiklerin infüzyonu sonlandırıldı.

Grup V olgularda anestezi induksiyonuna, maksimum tidal volüm tekniği uygulanarak ve %100 O<sub>2</sub> içinde %8 sevofluran ile başlandı. Her 3 solukta sevofluran konsantrasyonu %2 azaltılarak olgularda kirpik refleksi kaybolduktan sonra 0.1 mg/kg veküronyum bromid ile kas gevşemesi sağlandı ve oral endotrakeal entübasyon gerçekleştirildi. Anestezi idamesi %50 N<sub>2</sub>O ve %50 O<sub>2</sub> karışımı içinde %1-3 sevofluran konsantrasyonu ve 6 lt/dk.lık akım ile sağlandı (AMS 200 Türkiye). Operasyon bitiminden 2 dk. önce sevofluran uygulaması sonlandırıldı.

Tüm olgularda operasyon bitiminden 2 dk. önce N<sub>2</sub>O kesilerek hastalar, %100 O<sub>2</sub> ile solutuldu. Gereken hastalara dekürrarizasyon uygulanarak ekstübasyon gerçekleştirildi. Ekstübasyon sonrası her iki gruptaki hastalar, %100 O<sub>2</sub> ile 5 dk. süreyle solutuldu.

Kan örnekleri anestezi induksiyonundan önce (t<sub>1</sub>), entübasyondan sonraki 30. dk.da (t<sub>2</sub>) ve ekstübasyondan sonraki 60. dk.da (t<sub>3</sub>) radial arterden alındı. 7-8 mL hacmindeki heparinli tüplere alınan kan örnekleri, 3000 devir/dk hızında 15 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra eritrositler ve plazma ayrıldı. Eritrosit sedimenti %0.9 NaCl ile 3 kez yıkandı. Ayrılan eritrosit örnekleri derin dondurucuda -70°C'de analizler yapılana kadar bekletildi.

Analiz öncesinde eritrosit sedimentleri buz soğukluğunda distile su ile hemoliz edilerek 5000 devir/dk.da 30 dk. süreyle santrifüj edildi. Analizler için üstte kalan berrak kısım kullanıldı.

**Tablo 1.** Olguların demografik verileri.

	Grup T (n= 8)*	Grup V (n= 10)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	
Anestezi Süresi (dk)	97.50 ± 14.8	100.60 ± 14.2	0.994
Ağırlık (kg)	68.75 ± 13.1	75.0 ± 10.4	0.479
Yaş (yıl)	46.12 ± 5.2	47.30 ± 7.9	0.380

\* TİVA grubundaki 2 hastadan alınan kan örneklerinde hemoliz oluştuğu için bu örnekler çalışma dışı bırakıldı.

Eritrosit örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) ve antioksidan (AOP) düzeyleri ölçüldü.<sup>12-15</sup>

İstatistiksel değerlendirmede gruplar normal dağılım açısından incelendi. Normal dağılım göstermedikleri için; grup içi karşılaştırmalar Friedman Two-Way ANOVA ve gruplar arası karşılaştırmalar Mann-Whitney U testleri ile yapıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Demografik veriler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 1).

SOD, GSH-Px, MDA, AOP değerlerinin zamanla değişimi Tablo 2 ve Grafik 1, 2, 3 ve 4'te gösterilmiştir.

Grup içi karşılaştırmalarda, bulgular arasında önemli düzeyde farklılık tespit edilmezken, gruplar arası değerlendirmede  $t_2$ 'de AOP'de önemli düzeyde fark ( $p = 0.0410$ ) bulunmuştur (Tablo 2) (Grafik 4).

Her iki grupta SOD, GSH-Px ve grup T'de AOP değerlerinin ekstübasyon sonrası 60. dk.da ( $t_3$ ), indüksiyon başlangıcındaki ( $t_1$ ) değerlere göre azaldığı, buna karşılık her iki grupta, MDA ve grup V'te AOP değerlerinin arttığı gözlenmiştir (Tablo 2).

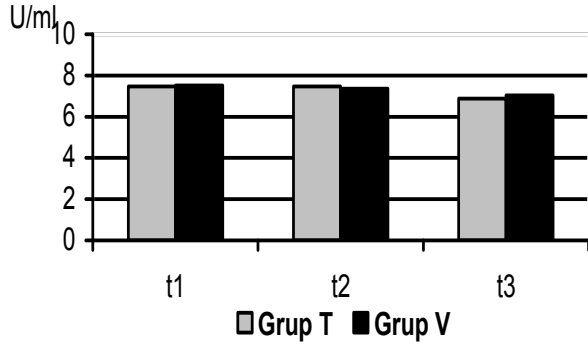
### Tartışma

Propofol, endojen antioksidan vitamin E ve hidroksi toluen butilat gibi fenol bazlı serbest oksijen radikal tüketicileri ile kimyasal yapı benzerliği göstermektedir.<sup>5</sup> İn vitro çalışmalarda propofolün; karaciğer mikrozomları, mitokondri ve beyin sinoptozomlarında oksidatif stresle indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>16</sup> Murphy ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada 2.2-8.8  $\mu\text{g mL}^{-1}$  dozda propofolün eritrositleri oksidan strese karşı koruduğunu, bu belirgin etkinin ayrıca klinik olarak da gösterilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.<sup>7</sup> İn vitro ve in vivo deneysel çalışmalarda propofolün antioksidan etkinliğinin gösterilmiş olmasına rağmen klinik kullanımdaki kan konsantrasyonlarında etkinliği hala araştırma konusudur.<sup>7,8,16</sup>

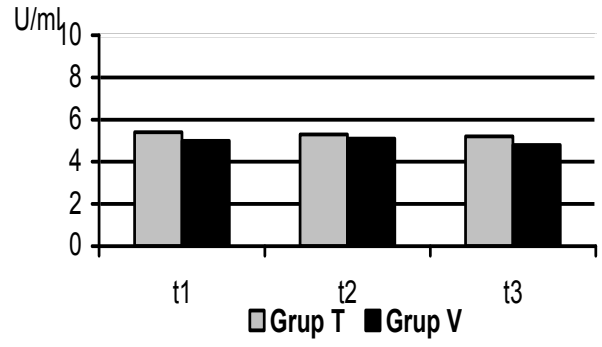
**Tablo 2.** Grup T ve V'te SOD, GSH-Px, MDA, AOP değerlerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	Örnekleme Zamanı (Ort ± SS)		
		$t_1$	$t_2$	$t_3$
SOD x $10^3$ (U/mL)	T	7.47 ± 1.02	7.48 ± 1.37	6.68 ± 1.16
	V	7.51 ± 1.27	7.36 ± 1.65	7.03 ± 1.27
	P	0.961	0.700	0.350
GSH-Px (IU/mL)	T	5.4 ± 0.8	5.3 ± 1.3	5.2 ± 1.1
	V	5.0 ± 1.4	5.1 ± 1.1	4.8 ± 1.4
	P	0.417	0.928	0.561
MDA x $10^2$ (nmol/mL)	T	2.03 ± 0.43	2.28 ± 0.49	2.31 ± 0.35
	V	2.26 ± 0.53	2.44 ± 0.38	2.47 ± 0.49
	P	0.306	0.593	0.754
AOP x $10^2$ (U/mL)	T	4.97 ± 1.17	4.86 ± 0.37	4.73 ± 1.13
	V	4.77 ± 0.62	5.29 ± 0.79	5.19 ± 0.66
	P	0.847	*0.041	0.306

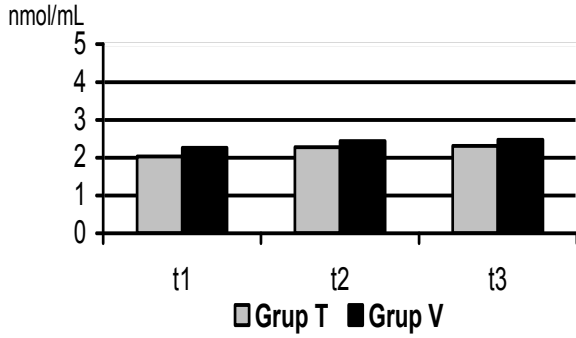
\*  $p < 0.05$



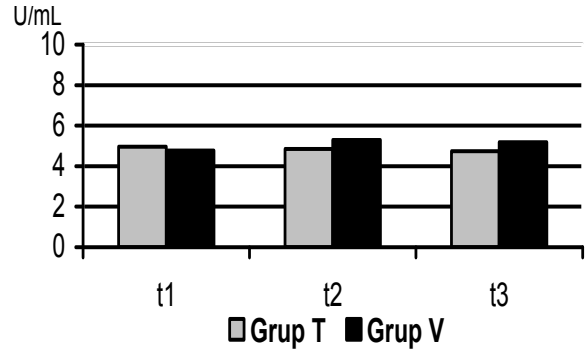
Grafik 1. Grup T ve V’te SOD değerleri.



Grafik 2. Grup T ve V’te GSH-Px değerleri.



Grafik 3. Grup T ve V’te MDA değerleri.



Grafik 4. Grup T ve V’te AOP değerleri.

Çalışmamızda, kan propofol konsantrasyonları ölçülmemiştir. Propofolün klinik kullanım sırasındaki plazma konsantrasyonu,  $0.7-20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ’dir. Propofolün proteine bağlanma oranının %97-99 olduğu düşünülürse, efektif serbest plazma konsantrasyonu  $0.6 \mu\text{g mL}^{-1}$  veya daha azdır. Ebel ve ark.  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  dozda propofolün izole rat kalbinde reperfüzyon hasarını önlemediğini göstermişlerdir.<sup>17</sup> Green ve Ebel propofolün antioksidan etkinliğinin doz bağımlı olduğunu ve  $60 \mu\text{g mL}^{-1}$ ’nin altındaki konsantrasyonlarda antioksidan etkinin azaldığını ileri sürmüşlerdir.<sup>17,18</sup>

Propofolün antioksidan etkinliğini gösteren birçok çalışmada oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir ara ürünü olarak

ortaya çıkan MDA seviyesi, tiyobarbütirik asit reaksiyonları üzerinden değerlendirilmiş ve MDA seviyesindeki azalma, serbest oksijen radikallerinin azalmasının indirekt göstergesi olarak yorumlanmıştır.<sup>19</sup>

Hücre içi kalsiyum artışı proteazları aktive ederek süperoksit üretimini arttıran ksantin oksidaz artışına yol açmaktadır. Halotan, enfluran ve izofluranın doz bağımlı olarak kalsiyum mobilizasyonunu azalttıkları bilinmektedir. Bu mekanizma ile volatil anesteziklerin serbest radikal üretimini azaltabileceği ileri sürülmektedir. İskemik köpek kalbinde halotanın serbest radikal oluşumunu önlediği gösterilmiştir.<sup>20</sup> Bunun yanında inhalasyon anesteziklerinin, tromboksan ve PGF<sub>1</sub> alfa gibi eikosanoidlerin artışına yol açarak,

oksidatif hücre hasarında artışa neden olduğu da söylenmektedir.<sup>21</sup>

Allaouchiche ve ark. propofol, sevofluran ve desfluranın oksidatif strese etkisini araştırmışlar; desfluranın oksidatif stresi arttırdığını, buna karşın sevofluranın bir değişiklik oluşturmadığını bulmuşlardır.<sup>4</sup> Aynı çalışmada propofol grubunda eritrosit SOD enzimi aktivitesinde bir değişiklik olmamıştır.

Oksidatif stres, aerobik metabolizma sırasında üretilen ve yine endojen olarak tüketilen serbest oksijen radikallerinin üretim ve tüketimi arasındaki denge bozukluğu ile ortaya çıkmaktadır. SOD ve GSH-Px önemli antioksidan enzimler olup, seviyelerindeki artış AOP'in arttığını göstermektedir.<sup>22</sup>

Çalışmamızda AOP değeri, anestezi uygulaması esnasında sevofluran grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Grafik 4). Bu da sevofluranın eritrositleri oksidatif strese karşı koruyabileceğini düşündürmektedir. Propofol / remifentanil ve sevofluran uygulanan hastalarda ekstübasyondan sonraki dönemdeki MDA artışları ve SOD, GSH-Px düşüşleri postoperatif dönemde oksidatif stresin daha bariz olduğunu düşündürmektedir (Grafik 1, 2, 3).

Sonuç olarak, klinik uygulama dozlarında propofol/remifentanilin oksidatif strese etkisinin olmadığı, sevofluranın eritrositleri oksidatif strese karşı koruyabileceği ve oksidatif stresin postoperatif dönemde daha bariz olduğu tespit edilmiştir.

#### KAYNAKLAR

- Durak I, Guven T, Birey M, et al. Halothane hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in guinea pigs; the effects of vitamin E. *Can J Anaesth* 1996;43:741-8.
- Durak I, Kurtipek O, Ozturk HS, et al. Impaired antioxidant defence in guinea pig heart tissues treated with halothane. *Can J Anaesth* 1997;44:1014-20.
- Durak I, Ozturk HS, Dikmen B, et al. Isoflurane impairs antioxidant defence system in guinea pig kidney. *Can J Anaesth* 1999;46:797-802.
- Allaouchiche B, Debon R, Goudable J, Chassard D, Duflo F. Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. *Anaesth Analg* 2001;93:981-5.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Clarendon; 1989. p.22-81, 237-45.
- Ansley DM, Lee J, Godin DV, Garnett ME, Qayumi AK. Propofol enhances red cell antioxidant capacity in swine and humans. *Can J Anaesth* 1998;45:233-9.
- Murphy PG, Davies MJ, Columb MO, Stratford N. Effect of propofol and thiopentone on free radical mediated oxidative stress of the erythrocyte. *Br J Anaesth* 1996;76:536-43.
- Bao YB, Williamson G, Tew D, et al. Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsoms: Concentration effects and clinical relevance. *Br J Anaesth* 1998;81:584-9.
- Prasad K, Kalra J, Bharadway B, Chaudhary AK. Increased oxygen free radical activity in patients on cardiopulmonary bypass undergoing aortocoronary bypass surgery. *Am Heart J* 1992;123:37-45.
- Aldemir O, Çelebi H, Çevik C, Düzgün E. The effects of propofol or halothane on free radical production after tourniquet induced ischemia-reperfusion injury during knee arthroplasty. *Acta Anaesth Scand* 2001;45:1221-5.
- Manataki AD, Tselepis AD, Glantzounis GK, Arnaoutoglou HM, Tsimoyiannis EC, Stavropoulos NE. Lipid peroxidation and the use of emulsified propofol in laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 2001;15:950-3.
- Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Ozturk HS, Yurtarlani Z. Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal* 1996;10:17-20.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
- Dahle LK, Hill EG, Hollman RT. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch Biochem Biophys* 1962;98:253-61.
- Durak I, Karabacak HI, Büyükkoçak S, et al. Impaired antioxidant defense system in the kidney tissues from rabbits treated with cyclosporin. Protective effects of vitamins E and C. *Nephron* 1998;78:207-11.
- Musacchio E, Rizzoli V, Bianchi M, et al. Antioxidant action of propofol on liver microsomes, mitochondria and brain synaptosomes in the rat. *Pharmacol Toxicol* 1991;69:75-7.
- Ebel D, Schlack W, Comfere T, Prechel B, Thamer V. Effect of propofol on reperfusion injury after regional ischemia in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1999;83:903-8.

18. Green TR, Bennet SR, Nelson VM. Specificity and properties of propofol as an antioxidant free radical scavenger. *Toxicology Applied Pharmacology* 1994;129:163-9.
19. Toivonen HJ, Ahotupa M. Free radical reaction products and antioxidant capacity in arterial plasma during coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:140-7.
20. Nakagawara M, Takeshige K, Takamatsu J, Takahashi S, Yoshitake İ, Minakami S. Inhibition of superoxide production and  $Ca^{+2}$  mobilization in human neutrophils by halothane, enflurane and isoflurane. *Anesthesiology* 1986; 64:4-12.
21. Shayevitz JR, Johnson KS, Knight PR. Halothane-oxidant interactions in the ex vivo perfused rabbit lung. Fluid conductance and eicosanoid production. *Anesthesiology* 1993;79:129-38.
22. Mc Cord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108:652-9.