Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres

Alavuk Kundović, Sandra

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:956168

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Sandra Alavuk Kundović

Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Sandra Alavuk Kundović

Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za dječju anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu u Klinici za dječje bolesti Zagreb u suradnji s Institutom za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Ljiljane Popović, dr. med. i komentorice dr. sc. Maje Peraica, dr. med., znanstvene savjetnice u trajnom zvanju.

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja znanstvenog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva.

Zahvala

Izradu ovoga doktorskog rada omogućili su dragi ljudi svojim znanjem, trudom i radom, stoga im beskrajno zahvaljujem.

Zahvaljujem voditeljici rada i mojoj dragoj mentorici ***prof. dr. sc. Ljiljani Popović****, koja je potaknula moj interes za istraživanje i uvela me u osnove znanstvenog promišljanja, na savjetima i potpori od prvoga radnog dana.*

Zahvaljujem mentorici ***dr. sc. Maji Peraica****, na iskazanom povjerenju, razumijevanju i usmjeravanju te na pruženoj pomoći i potpori od početka istraživanja. Zahvaljujem joj i kao voditeljici Jedinice za toksikologiju na mogućnosti izrade disertacije na Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada.*

Hvala dragoj ***dr. sc. Dubravki Rašić*** *na pomoći i savjetima pri provođenju ovog istraživanja te izradi disertacije.*

Zahvaljujem ***doc. dr. sc. Diani Butković****, predstojnici Zavoda za dječju anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu Klinike za dječje bolesti na poticaju i omogućavanju provođenja ovog rada.*

Zahvaljujem ***Kseniji Črnjar, dr. med.****, svojoj dragoj prijateljici koja je bila potpora od samog početka prikupljanja uzoraka i izrade rada.*

Zahvaljujem cijelom timu Zavoda za dječju anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu te Odjela za urologiju Klinike za dječje bolesti Zagreb, posebno kolegama ***dr. sc. Sandri Kralik****,* ***dr. med.****,* ***Tomislavu Kiferu, dr. med.****, i* ***Elzi Ramov, dr. med.*** *Svim* ***anestezиološkim tehničarima****, posebno* ***Bernardi Pavlović****,* ***Petri Segeš*** *i* ***Bernardu Pažuru****, sestrama u Jedinici intenzivnog liječenja, posebno tadašnjoj glavnoj sestri* ***Ani Krpan*** *i sestrama Odjela za urologiju, posebno glavnoj sestri* ***Dubravki Đurkin****.*

Zahvaljujem dječjim kirurzima Odjela za urologiju Klinike za dječje bolesti Zagreb: ***prim. Zoranu Bahtijareviću, dr. med., Mislavu Bastiću, dr. med., Anti Pajiću, dr. med., Nikici***

Lesjaku, dr. med., *i* ***Franu Štampaliji, dr. med.****, što su bili uz mene tijekom svih ovih godina i pomogli mi pri izradi ove disertacije.*

Zahvaljujem ***dr. sc. Jasni Leniček Krleža, spec. med. biokemije****, voditeljici Odjela za medicinsku biokemiju i hematologiju Klinike za dječje bolesti Zagreb te ostalim djelatnicima Odjela, posebno* ***Jasni Obuljen, Ireni Linarić*** *i* ***Andreji Rajčić*** *na suradnji i pomoći u skupljanju uzoraka.*

Veliko hvala predstavnicima tvrtki koji su pridonijeli tomu da se ovaj rad izvede: ***Tomislavu Dapcu (Markomed LTD), Krešimiru Karamarku (Pharmamed Mado d. o. o.), Aniti Djedović (Medtronic) i Marjanu Petiju (Dräger)****.*

Hvala ***Ivani Peršinović (B. Braun Adria d. o. o.)****, prijateljici i suradnici koja mi je otvorila brojna vrata.*

Hvala ***Hrvoju Matasiću, dr. med.****, koji me uveo u svijet intravenske anestezije.*

Hvala prijateljicama ***Katji Peruško*** *i* ***Petri Burić*** *na dostupnosti i pomoći oko rada i ispravaka, na strpljenju, vremenu i čitanju u nekoliko navrata, a osobito na kreativnim kolizijama koje su dovele do genijalnih rješenja.*

Hvala ***Domagoju Kiferu****, mag. pfarm. na pomoći oko statističke analize.*

Hvala svima koji su na bilo koji način doprinijeli izradi ovoga doktorskog rada.

Neizmjerno zahvaljujem svojoj obitelji na neumornoj potpori i ohrabrenju.

Posebno hvala najvažnijim dečkima u mom životu – dragom suprugu ***Darku Kundoviću*** *koji ne samo da poznaje rad na računalu nego će se i uvijek nasmijati kada čuje baš tu rečenicu te sinu* ***Viti****, maminom mišiću, na beskrajnoj ljubavi, inspiraciji i toleranciji.*

SADRŽAJ

I POPIS KRATICA

1. UVOD ... 1
   1.1. Oksidacijski stres ... 1
   1.2. Anestezija ... 5
      1.2.1. Inhalacijska anestezija ... 5
      1.2.2. Intravenska anestezija ... 6
      1.2.3. Balansirana anestezija ... 8
   1.3. Anestetici ... 9
      1.3.1. Intravenski anestetici ... 9
      1.3.2. Inhalacijski anestetici ... 12
   1.4. Nadzor živčanog sustava ... 14
      1.4.1. Elektroencefalografija ... 14
      1.4.2. Bispektralni indeks ... 14
      1.4.3. Nadzor cerebralne oksigenacije ... 16
   1.5. Biljezi oksidacijskog stresa ... 19
      1.5.1. Malondialdehid ... 19
      1.5.2. Proteinski karbonili ... 20
      1.5.3. Glutation ... 20
      1.5.4. Superoksid-dismutaza ... 21
      1.5.5. Glutation-peroksidaza ... 22
      1.5.6. Antioksidansi ... 22
2. HIPOTEZA ... 24
3. CILJEVI RADA ... 25
4. MATERIJALI I METODE ... 26
   4.1. Mjesto istraživanja ... 26
   4.2. Etičko povjerenstvo ... 26
   4.3. Istraživački postupak i priprema uzoraka za analizu ... 26
      4.3.1. Operacijski protokol ... 27
      4.3.2. Postupak randomizacije ... 28
   4.4. Metode ... 29
      4.4.1. Kemikalije ... 29
      4.4.2. Malondialdehid ... 29
      4.4.3. Glutation ... 30
      4.4.4. Reaktivni kisikovi spojevi ... 30
      4.4.5. Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme ... 31

4.4.6. Superoksid-dismutaza ... 32
4.4.7. Proteinski karbonili ... 33
4.5. Statistička analiza ... 35
5. REZULTATI ... 36
5.1. Malondialdehid ... 36
5.2. Glutation ... 38
5.3. Reaktivni kisikovi spojevi ... 40
5.4. Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme ... 42
5.5. Superoksid-dismutaza ... 44
5.6. Proteinski karbonili ... 46
5.7. INVOS ... 48
6. RASPRAVA ... 51
7. ZAKLJUČAK ... 60
8. SAŽETAK ... 62
9. SUMMARY ... 64
10. LITERATURA ... 65
11. ŽIVOTOPIS ... 74

PRILOG I

PRILOG II

PRILOG III

PRILOG IV

I POPIS KRATICA

AIN	anestetikom izazvana neurotoksičnost (engl. *anesthetic induced neurotoxicity*)
ASA	klasifikacija za prijeoperacijsku procjenu rizika Američkoga anesteziološkog društva (engl. *American Society of Anesthesiologist Status*)
ATP	adenozin-trifosfat
BIS	bispektralni indeks (engl. *bispectral index*)
CAT	katalaza
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
EEG	elektroencefalogram
EKG	elektrokardiogram
engl.	engleski jezik
ERAS	program ubrzanog oporavka kirurških bolesnika
FRAP	ukupni antioksidacijski kapacitet plazme (engl. *ferric reducing antioxidant power*)
GPx	glutation-peroksidaza
GR	glutation-reduktaza
GSH	glutation
IL	interleukin
INVOS	sustav za cerebralnu oksimetriju (engl. *IN Vivo Optical Spectroscopy*)
IRI	ishemijsko-reperfuzijska ozljeda (engl. *ischemia-reperfusion injury*)
NADPH	nikotinamid-dinukleotid-adenin-fosfat
NIBP	neinvazivno mjerenje tlaka
NIRS	spektroskopija s pomoću svjetla bliskog infracrvenom spektru (engl. *near-infrared spectroscopy*)
NMDA	N-metil-D-aspartat (engl. *N-methyl-D-aspartat*)
MDA	malondialdehid
MR	magnetska rezonancija
OSI	indeks oksidacijskog stresa (engl. *oxidative stress index*)
PC	proteinski karbonili
PONV	poslijeoperacijska mučnina i povraćanje
POCD	poslijeoperacijski kognitivni poremećaj (engl. *postoperative cognitive dysfunction*)
PRIS	sindrom povezan s infuzijom propofola (engl. *propofol related infusion syndrome*)
PUFA	višenezasićene masne kiseline (engl. *polyunsaturated fatty acids)*

ROS	reaktivni kisikovi spojevi (engl. *reactive oxygen species*)
rSO_2	regionalna saturacija kisikom (engl. *regional tissue oxygen saturation of haemoglobin*)
SOD	superoksid-dismutaza
TAC	ukupni antioksidacijski kapacitet (engl. *total antioxidant capacity*)
TAS	ukupni antioksidacijski status (engl. *total antioxidant status*)
TIVA	totalna intravenska anestezija (engl. *total intravenous anesthesia*)
TCI	ciljna koncentracija lijeka (engl. *target controlled infusion*)
TOS	ukupni oksidacijski status (engl. *total oxidant status*)
TNF	tumor nekrotizirajući faktor (engl. *tumor necrosis factor*)

1. UVOD

1.1. Oksidacijski stres

Oksidacijski stres neravnoteža je između proizvodnje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) i antioksidacijske zaštite stanica, što dovodi do poremećaja redoks signalizacije i kontrole i/ili oštećenja molekula (1). Smatra se da je oksidacijski stres uključen u brojne bolesti (upale, rak i degenerativne bolesti), intoksikacije i starenje. Reaktivni kisikovi spojevi molekule su koje sadržavaju kisik poput singletnoga kisika (O_2•), vodikova peroksida (H_2O_2), hipokloritne kiseline (HOCl), hidroksilnog aniona (OH•), superoksidnog aniona (O_2•$^-$) i dušičnog oksida (NO•). Većina njih slobodni su radikali jer posjeduju nespareni elektron u vanjskim orbitalama, što ih čini vrlo reaktivnima (2). Reakcija između dvaju nesparenih elektrona rezultira kovalentnom vezom, ali kada radikal reagira s neradikalom, novonastali radikal pokreće lančanu reakciju. Iako po definiciji H_2O_2 nije radikal uz O_2, svrstani su kao ROS jer mogu proizvesti više reaktivnih međuspojeva u prisutnosti katalizatora ili drugih slobodnih radikala. Mnogi važni slobodni radikali potječu iz O_2 i NO•, a njihovi metaboliti kao što su H_2O_2 i peroksinitrit ($ONOO^-$) smatraju se ROS-om zbog svoje reaktivnosti u biološkom okružju. Najreaktivniji kisikov radikal je hidroksilni (OH•), koji može oštetiti ugljikohidrate, proteine, lipide i deoksiribonukleinsku kiselinu (DNK).

Većina biološke energije u stanici proizlazi iz redukcije dvoatomne molekule kisika (O_2) u superoksidni radikal (O_2•$^-$) u mitohondrijskom transportu elektrona koji stvara vodu, a energija protona daje adenozin trifosfat (ATP) (3). Smanjenje nije 100 % učinkovito i 1 – 3 % kisika istječe iz transportnog lanca elektrona u obliku O_2•$^-$ (4). Ostatak O_2•$^-$ dismutiran je u H_2O_2 u mitohondrijskom matriksu mangan-superoksid dismutazom (MnSOD), a u staničnoj citoplazmi superoksidnom-dismutazom koja sadrži bakar (CuSOD) (3). Vodikov peroksid nadalje se disocira na H_2O i O_2 katalazom (CAT) i glutation-peroksidazom (GPx) (5). Slobodan ion željeza je biološki važan metal koji može sudjelovati u oštećenju stanica prouzročenom kisikom. Najveća je količina slobodnog željeza u Fe^{3+} obliku te se mora reducirati u Fe^{2+} oblik da bi postao aktivan. Aktivan oblik Fe^{2+} zajedno s H_2O_2 stvara visokoreaktivni radikal OH • Fentonovom reakcijom. Vodikov peroksid još može nastati u reakciji ksantin oksidaze, aminokiselinske oksidaze i nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH) oksidaze. Dušikov (II) oksid (dušikov monoksid) važan je radikal (proizveden NO-sintazom) zbog sudjelovanja u veliku broju fizioloških procesa. Reakcijom dušikova monoksida i

superoksidnog radikala nastaje $ONOO^-$ koji je vrlo reaktivan i sudjeluje u raznim signalnim putovima, a može prouzročiti i oštećenje stanica.

Na oksidaciju su najosjetljiviji lipidi (6). Reaktivni kisikovi spojevi međusobno djeluju s višenezasićenim masnim kiselinama (PUFA) stvarajući tako visokoreaktivne lipoperokside. Jedan OH• može početi lančanu reakciju i stvoriti velik broj hidroksiperoksida, dok reakciju ne zaustavi antioksidans koji zaustavlja lanac (7). Lipidna peroksidacija uvelike je pod utjecajem željeznih iona. Dolazi do narušavanja strukture, biofizikalnih karakteristika i konformacije masnih kiselina. Također, narušava se cjelovitost bioloških membrana, što dovodi do njihova raspada i potpune peroksidacije masti stvarajući produkte koji su reaktivni i toksični. Završni su produkti lipidne peroksidacije aldehidi (4-hidroksinonenal – HNE i malondialdehid – MDA) i prostaglandinski slični spojevi nazvani F2-izoprostani (F2-IsoPs), odnosno metabolički produkti oksidacije arahidonske kiseline (8). U većini istraživanja o djelovanju anestetika na promjenu oksidacijskog stresa mjeren je MDA. U nekima se koristio manje specifičan test temeljen na derivatizaciji MDA tiobarbituratnom kiselinom (TBA). Tim testom stvaraju se obojeni produkti koje nazivamo tiobarbiturnim tvarima reaktivnima na kiseline (TBARS) (9). MDA je indirektni pokazatelj oksidacijskog stresa mjerljiv u sistemskoj cirkulaciji te upotrebljiv kao biljeg ishemijsko-reperfuzijske ozljede (IRI). Patogeneza IRI-a složena je i u njoj sudjeluje više čimbenika kao što su suvišak slobodnih radikala kisika i drugih reaktivnih kisikovih spojeva, aktivacija neutrofila, aktivacija komplementa, citokini i drugi upalni posrednici te vazokativne tvari poput NO-a i endotelina. Na staničnoj razini produljena ishemija i vazokonstrikcija dovode do anaerobnog metabolizma i proizvodnje mliječne kiseline, što rezultira smanjivanjem zaliha ATP-a i unutarstaničnom acidozom. Kao posljedica inaktiviraju se ATPaze (npr. natrij-kalij ATPaza), pridonoseći povećanju unutarstaničnog i mitohondrijskog kalcija, što se može objasniti nefunkcionalnim istjecanjem kalcijevih iona i njihovim smanjenim ponovnim unosom u endoplazmatski retikulum. Istodobno, prekomjerna proizvodnja ROS-a i prekomjerna koncentracija kalcijevih iona rezultiraju povećanom propusnošću mitohondrija. Ksantin oksidaza, koja inače ima neznatan utjecaj na IRI, nastaje u hipoksičnim uvjetima iz ksantin dehidrogenaze i ATP katabolizma. Oslobađanje ksantin oksidaze omogućuje proizvodnju $O_2•^-$ i H_2O_2 povećavajući tako ukupan IRI. Proizvodnja superoksidnoga anionskog radikala može izravno oksidirati razne biomolekule i inaktivirati enzime te pokrenuti apoptozu, pojačati proupalni podražaj, modificirati ekspresiju adhezijskih molekula na površini leukocita i endotelnih stanica. Hipoksija tkiva i stvaranje ROS-a tijekom ishemije aktiviraju stanice prirođenog i stečenog imunosnog sustava zahvaćenog mjesta, uglavnom signalizacijom preko molekula za prepoznavanje uzorka, posebno TLR4 (engl. *toll-*

like receptor 4) i proizvodnjom IL-17. Nadalje, oslobađaju se proupalni medijatori u ishemijskom području, kao što su ROS-spojevi, citokini/kemokini iz aktiviranog endotela, makrofaga i mastocita, što aktivira leukocite (npr. neutrofili, monociti i limfociti). Osim toga, postoji obilje dokaza koji danas sugeriraju ulogu trombocita u IRI-u. Na tome mjestu trombociti dobivaju aktivirani fenotip nakon interakcije s glikoproteinom Iba, endotelnim P-selektinom i von Willebrandovim faktorom, što dovodi do njihove agregacije i oslobađanja njihovih posrednika. Poznato je da u IRI-u sudjeluje i komplement (10).

Proteini su glavna meta ROS-a jer su prisutni u vrlo visokoj koncentraciji (11). Oksidacijski stres može oštetiti proteine fragmentacijom peptidnog lanca, modulacijom njihova električnog naboja, umrežavanjem proteina i oksidacijom specifičnih aminokiselina, što može rezultirati oštećenjem ili gubitkom funkcije proteina i povećanom osjetljivošću na proteaze (4). Reaktivni peroksidni međuspojevi koji nastaju na aminokiselinskim (Tyr, His, Trp) ostatcima mogu pokrenuti daljnja oštećenja. Biljezi oksidacijskog stresa proteina karbonilne su skupine uvedene u bočne lance aminokiselina. Modifikacije DNK-a zbog proizvodnje ROS-a uključuju degradaciju baza, jedno- ili dvolančane lomove DNK-a, modifikaciju šećera, purina i pirimidina, što može prouzročiti mutacije, brisanje, translokaciju i umrežavanje s proteinima (4). Oksidacija ima negativan učinak na transkripciju i replikaciju bitnih gena. Najpoznatija je modifikacija DNK-a stvaranje 8-hidroksideoksigvanozina (8-OH-G) nastala hidroksilacijom gvanina u nukleozidu (6). Oznake oštećenja DNK-a izmjerene su jednostaničnom gel elektroforezom (kometski test) ili modifikacijom kometskog testa s formamidopirimidin DNK-glikozilazom (fpg).

Stanična antioksidacijska obrana pretvara visokoreaktivne vrste kisika u manje reaktivne spojeve. Neenzimski antioksidansi su glutation (GSH), vitamin E, vitamin C, koenzim Q10, melatonin, β-karoten, mokraćna kiselina, bilirubin i proteini koji vežu metale kao što su feritin, laktoferin i ceruloplazmin. Najvažniji su enzimski antioksidansi superoksid-dismutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation-peroksidaza (GPx), glutation-reduktaza (GSHR) i glutation-S-transferaza. Ostali su oksigenaza-1 i redoks proteini, tioredoksini (TRXs), peroksidroksini (PRX) i glutaredoksini. Antioksidansi su učinkoviti na različitim razinama širenja oksidacijskog stresa. Naime, oni ne uklanjaju ROS potpuno, već održavaju njihovu nisku koncentraciju potrebnu za staničnu signalizaciju (12). Reaktivne kisikove vrste kritične su signalne molekule uključene u regulaciju stanične proliferacije, apoptoze i ekspresije gena (6,13,14). Hoće li doći do redoks signalizacije ili oksidacijskog stresa, ovisi o vrsti ROS-a i njihovoj lokalnoj koncentraciji (15). Ključan je transkripcijski faktor koji kontrolira aktivaciju antioksidacijske obrane eritroid 2-vezujući faktor 2 (Nrf2) usidren u citoplazmi s pomoću

proteina Keap1 (Keap1) slična Kelchu. Kad se stimulira, odvaja se od Keap1 i prebacuje u jezgru koja inducira ekspresiju antioksidacijskih enzima (16,17).

Tijekom operacije bolesnici su izloženi različitim čimbenicima oksidacijskog stresa kao što su kirurška trauma, upala (npr. akutna upala slijepog crijeva) i postupcima koji uključuju ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu koja može prouzročiti oksidacijski stres. Takvi su postupci napuhivanje i ispuhivanje pneumoperitoneuma, Esmarchova traka (pneumatska poveska), kardiopulmonalno premoštenje i transplantacija organa (18,19). Budući da anestetici također utječu na oksidacijski stres, treba izabrati onaj koji će najmanje utjecati na promjenu oksidacijskog stresa kako bi se izbjegle daljnje ozljede tkiva tijekom operacije,

U ovom radu mjereni biljezi oksidacijskog stresa jesu ukupni glutation (GSH), proteinski karbonili, malondialdehid (MDA), superoksid-dismutaza (SOD), reaktivni kisikovi spojevi (ROS) i ukupni antioksidacijski kapacitet plazme (FRAP). Osim navedenih, može se mjeriti ukupni antioksidacijski status (TAS), ukupni oksidacijski status (TOS) i indeks oksidacijskog stresa (OSI). OSI je omjer TOS-a i TAS-a, a pokazatelj je razine oksidacijskog stresa.

Svrha je ovog rada usporediti kako pojedini anestetici utječu na već postojeći oksidacijski stres prouzročen operacijom jer je nastanak oksidacijskog stresa važan i smatra se da izaziva poslijeoperacijske komplikacije. Osim toga, cilj rada bio je usporediti balansiranu anesteziju i anesteziju vođenu ciljnom koncentracijom lijeka. Oskudni su i proturječni podatci o tome koja je od njih povoljnija za bolesnika s obzirom na nastanak oksidacijskog stresa, pogotovo u dječjoj dobi.

1.2. Anestezija

Anestezija je stanje kontroliranog, privremenog i reverzibilnog izazivanja neosjetljivosti. Ona može biti opća, regionalna, provodna i lokalna. Termin „opća anestezija“ obuhvaća primjenu medicinskog postupka kojem je cilj bolesniku koji se nalazi pred invazivnim terapijskim ili dijagnostičkim zahvatom oduzeti svijest (hipnotički učinak), suprimirati bolne podražaje (analgetski učinak) i lišiti ga neugodnih sjećanja na postupak (amnestički učinak) te ovisno o vrsti postupka osigurati bolesnikovu nepokretnost koja izvođaču zahvata osigurava bolje uvjete rada. Primjena postupka opće anestezije neodvojiva je od nadzora bolesnika i održavanja njegovih vitalnih funkcija unutar granica normalnog stanja. Bolesnik se u opću anesteziju može uvesti i održavati primjenom tvari intravenskim, inhalacijskim ili kombiniranim putem. U skladu s time, opća anestezija dijeli se na inhalacijsku, intravensku i balansiranu.

1.2.1. Inhalacijska anestezija

Inhalacijska anestezija podrazumijeva uvod u anesteziju i održavanje anestezije samo smjesom inhalacijskog anestetika i udahnutoga kisika ili dušikova oksidula. Spontano disanje preko maske kod inhalacijskog uvoda omogućuje bolesniku da sam regulira dubinu anestezije. Najčešće su korišteni inhalacijski anestetici sevofluran, izofluran i desfluran. To su tekućine pri sobnoj temperaturi i prisutnome atmosferskom tlaku koje postaju pare tih tekućina u isparivaču i primjenjuju se preko pluća. Svi su neionizirani, imaju malu molekularnu masu, što olakšava brzo difundiranje iz krvi u tkiva bez potrebe za aktivnim transportom. Njihov jedinstveni put unosa vrijedi za sve dobne skupine. Brzina nastupa djelovanja, plinovito stanje i put primjene omogućuju lako smanjivanje i podizanje koncentracije u plazmi. Prvi je izbor za uvod u anesteziju sevofluran jer ima jedva osjetljiv miris, ne iritira dišne putove i snažan je bronhodilatator, što sve pogoduje dječjoj populaciji. Inhalacijski anestetici najpopularniji su za održavanje anestezije zbog svoje jednostavnosti titriranja dubine anestezije i učinkovitosti bez obzira na dob. Njihova su pozitivna svojstva tijekom operacije relaksacija skeletnih mišića, očuvanje srčanog izbačaja i moždanog protoka te predvidljivo buđenje iz anestezije, a od negativnih svojstava mogu se istaknuti nedostatak analgetskog učinka i povezanost s poslijeoperacijskom mučninom i povraćanjem.

1.2.2. Intravenska anestezija

Intravenski anestetici prouzročuju anksiolizu, sedaciju, hipnozu do anestezije ovisno o dozi. Koriste se najčešće za uvod u anesteziju, a rjeđe kao stalna infuzija intravenskog anestetika. Kombiniraju se s opioidnim analgeticima, neuromišićnim relaksatorima, inhalacijskim anesteticima i/ili dušikovim oksidulom. Od intravenskih anestetika najčešće se upotrebljava barbiturat s ultrakratkim djelovanjem (tiopental), derivat fenola (propofol), derivat imidazola (etomidat), derivat fenciklidina (ketamin) i benzodiazepini (midazolam). Otkriće propofola značilo je revoluciju intravenske anestezije. Njegova primjena počela je davne 1977. godine, a danas je jedini prikladan lijek za uvod i održavanje anestezije (20). Početci totalne intravenske anestezije (TIVA) sežu u 1982. godinu, a nekoliko godina poslije, 1989., spominje se početak totalne intravenske anestezije vođenjem ciljnom koncentracijom lijeka (TCI). Korištenje TIVA-om u dječjoj populaciji nije često, spominje se da se njome otprilike 10 % dječjih anesteziologa koristi jedanput ili više puta tjedno (21). Indikacije TIVA-e u dječjoj populaciji možemo podijeliti na one koje ovise o bolesniku, vrsti operacije ili dijagnostičkom postupku. Indikacije koje ovise o bolesniku jesu: maligna hipertermija u anamnezi, povećana osjetljivost i rizik nastanka maligne hipertermije, mišićne distrofije, različite neuromuskularne bolesti, poslijeoperacijska mučnina i povraćanje (PONV) u anamnezi, akutna ili kronična reaktivnost dišnih putova, strah od maske i alergije. TIVA ima prednost u kirurgiji glave i vrata i torakalnoj kirurgiji, u neurokirurgiji, kirurgiji koja zahtijeva nadzor evociranih potencijala, kirurgiji srednjeg uha te kirurgiji koja ima povećan rizik PONV-a. Osim toga, korisna je u dijagnostičkim postupcima poput magnetske rezonancije (MR) ili biopsije mišića kod dokazivanja neuromuskularnih bolesti (21). TIVA ima mnogo prednosti, ali i nedostataka u dječjoj populaciji. Prednosti su smanjena reaktivnost dišnih putova te time i smanjena učestalost laringospazma i bronhospazma, smanjen PONV, pojačana cilijarna funkcija, bronhodilatacija te očuvana hipoksična plućna vazokonstrikcija, smanjena vjerojatnost poslijeoperacijskog delirija, mogućnost korištenja kod neuromuskularnih bolesti, u kirurgiji koja zahtijeva nadzor s evociranim potencijalima, mogućnost spontanoga disanja tijekom operacije te u konačnici ne onečišćuje okolinu isparavanjem u atmosferu. Nedostatci su rizik od bakterijske kontaminacije, bol kod davanja propofola, rizik od sindroma povezanog s infuzijom propofola (PRIS), potreba za infuzijskom pumpom, nedostatak EEG-nadzora u dječjoj populaciji, produljena duljina buđenja kod pretile djece zbog farmakokinetičkih i farmakodinamičkih osobina propofola u toj dobi (21). U ovom istraživanju upotrebljavala se TIVA uz pomoć infuzijske pumpe za održavanje ciljne koncentracije lijeka, odnosno TCI. Infuzijska pumpa TCI radi prema načelima

kliničke farmakologije koristeći se saznanjima o farmakokinetičkim i farmakodinamičkim svojstvima pojedinih lijekova. Adekvatnost takve anestezije temelji se na održavanju koncentracija lijeka u mozgu, najčešće propofola i remifentanila, kratkodjelujućeg opioida, koji djeluju sinergistički. Međutim, zbog osobina farmakokinetičkog modela „Minto“ za remifentanil te nemogućnosti korištenja u osoba koje imaju manje od 30 kg, u ovom istraživanju upotrebljavao se samo farmakokinetički model za propofol. Postoji nekoliko TCI farmakokinetičkih modela za propofol. Svi se oni temelje na modelu od triju odjeljaka ili tzv. kompartmenta (engl. *compartment*) unutar tijela. U odraslih se najčešće koriste dva farmakokinetička modela „Shnider“ i „Marsh“, a u dječjoj dobi „Kataria“ i „Paedfusor“. Primjenom takvih modela može se objasniti odnos između primijenjene doze lijeka i izmjerene koncentracije (farmakokinetika) te odnos između koncentracije lijeka i njegova učinka (farmakodinamika). TCI računalni program, odnosno mikroprocesor povezan s infuzijskom pumpom i korisničkim sučeljem, omogućuje na osnovi unesenih podataka o bolesniku (dob, spol, visina, težina) i podataka o odnosima koncentracija i vremena složenim matematičkim izračunom održavati stalnu željenu koncentraciju u plazmi ili na mjestu djelovanja. TCI ima dva načina rada. Prvi je način rada infuzija kontrolirana ciljnom koncentracijom u plazmi gdje korisnik odabire željenu (ciljnu) koncentraciju lijeka u plazmi, a farmakokinetički model upotrebljava se za izračunavanje stopa infuzije potrebnih za postizanje te koncentracije. Drugi je infuzija kontrolirana ciljnom koncentracijom na mjestu učinka, u ovom slučaju mozgu. Pri tom načinu rada korisnik postavlja ciljnu koncentraciju u mozgu, a uz pomoć farmakodinamičkog modela izračunava se stopa infuzije potrebne za postizanje te koncentracije. Pumpa ima jednostavno korisničko sučelje na kojem se prikazuje stopa infuzije, ukupna isporučena doza lijeka i procijenjene koncentracije u plazmi i na mjestu učinka kako bi se korisniku omogućilo praćenje informacija o vođenju anestezije. Interval između primjene lijeka i početka njegova djelovanja označuje vrijeme potrebno da lijek iz cirkulacije (centralni odjeljak) dođe do mjesta djelovanja (ciljnog odjeljka) i da se uspostavi ravnoteža između koncentracije lijeka u plazmi i koncentracije na mjestu djelovanja. Važno je naglasiti da je u stanju ravnoteže ciljna koncentracija u plazmi jednaka koncentraciji u mozgu (22). Farmakokinetički model koji ima tri odjeljka ima centralni, primarni odjeljak te dva periferna, brzi i spori. Nakon intravenske aplikacije lijeka njegova ukupna količina nalazi se u centralnom odjeljku (V_1). Ubrzo određena količina lijeka prelazi primarno u brzi periferni odjeljak (V_2), a ta se raspodjela događa prema kinetici prvog reda i određena je konstantom k_{12}. Konstanta eliminacije *k* broj je koji numerički opisuje frakciju lijeka koja se konstantno eliminira u jedinici vremena neovisno o koncentraciji. Čim se određena količina lijeka nađe u perifernom odjeljku,

mala količina lijeka ponovno se vraća u centralni odjeljak, što je opisano konstantom k_{21}. Konstante k_{13} i k_{31} opisuju uspostavljanje ravnoteže između centralnog i sporog perifernog odjeljka (V_3). Eliminacija počinje odmah nakon primjene lijeka. Zbroj svih volumena odgovara ukupnu volumenu distribucije u stanju ravnoteže. Prijelaz lijeka između odjeljaka kvantificira se tzv. distribucijskim ili međuodjeljnim klirensom (engl. *clirens*). Svaki odjeljak ima svoj klirens – brzi i spori između odjeljaka te eliminacijski. Brzina snižavanja koncentracije ovisi o veličini odjeljaka te o njihovim klirensima. Ukupni volumen distribucije može biti znatno veći od volumena tijela jer su ti volumeni virtualni i dobivaju se matematičkim izračunom. Vrijeme od početka infuzijske primjene lijeka do trenutka kada se koncentracija lijeka smanji na polovicu početne vrijednosti definira se kao vrijeme polovične eliminacije (engl. *context-sensitive half-time*), odnosno vrijeme potrebno da se koncentracija u plazmi smanji na 50 % od početne vrijednosti nakon prekida kontinuirane infuzije lijeka. Prema vremenu polovične eliminacije može se odrediti kada će biti potrebno ponovno dati lijek kako bi se postigla ciljna koncentracija lijeka u organizmu (23).

Važno je napomenuti da postoje brojne razlike u metabolizmu lijekova između odraslih i djece kao i između novorođenčeta, dojenčeta i starijega djeteta. Te razlike u metabolizmu uzrokuju farmakodinamičke i farmakokinetičke posebnosti različitih dobnih skupina.

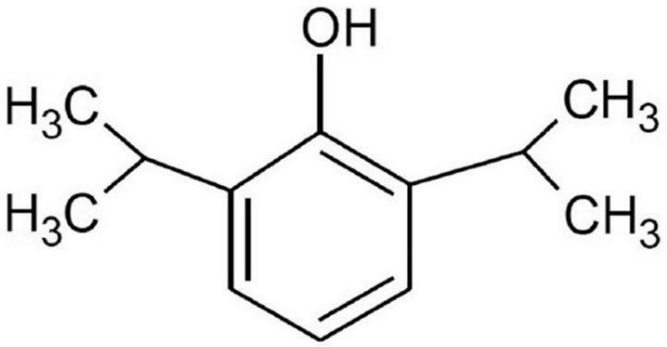
1.2.3. Balansirana anestezija

Balansirana anestezija vrsta je opće anestezije kod koje se koriste različiti lijekovi (intravenski hipnotici, analgetici, inhalacijski anestetici) u najmanjoj količini koja je potrebna da se postigne željeni učinak i tako izbjegnu nuspojave koje su moguće pri upotrebi većih doza jednog od primijenjenih lijekova.

1.3. Anestetici

1.3.1. Intravenski anestetici

1.3.1.1. Propofol



Slika 1.3.1.1. Kemijska struktura propofola

Propofol (2,6-diisopropilfenol) je alkilfenol netopljiv u vodenoj otopini. To je intravenski anestetik koji se široko upotrebljava za uvod u anesteziju i njezino održavanje kao totalna intravenska anestezija (TIVA/TCI), sedaciju pri zahvatima u regionalnoj anesteziji i kao sredstvo za sedaciju u jedinicama intenzivne medicine. Njegova upotreba odobrena je 1989. godine (24). Priprema se kao emulzija od 1 % izotonične otopine, 10 % sojina ulja, 2,25 % glicerola i 1,2 % lecitina iz jaja. Doza propofola za indukciju anestezije u odraslih je od 1,5 do 2,5 mg/kg, a u djece do 5 mg/kg, što dovodi do gubitka svijesti za manje od 30 sekundi. Jedna je od važnih prednosti, za razliku od ostalih intravenskih hipnotika, osim brzog početka i kratko djelovanje. Anestezija traje 15 minuta uz minimalne rezidualne simptome središnjega živčanog sustava (25). Mehanizam djelovanja nije jasan, ali čini se da propofol stimulira receptor γ-aminomaslačne kiseline (GABA) vezivanjem za β-podjedinicu, što dovodi do povećane transmembranske kloridne provodljivosti prouzročujući hiperpolarizaciju postsinaptičke stanične membrane i time inhibiciju provodljivosti postsinaptičkog neurona (25). Drugi su mehanizmi inhibicija glutamatnih N-metil-D-aspartat receptora (NMDA) i receptora α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionske kiseline (AMPA), stimulacija glicinskih receptora, inhibicija nikotinskih acetilkolinskih receptora te djelovanje na spore kalcijeve ionske kanale, što umanjuje priljev kalcija (24). Propofol ima vrijeme polovične eliminacije od 30 do 90 min.

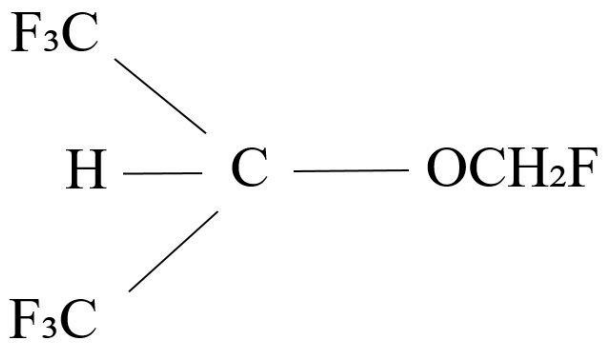
Nakon infuzije dulje od osam sati vrijeme polovične eliminacije manje je od 40 minuta. Metabolizira se u jetri uz pomoć citokroma P450 i izlučuje urinom. Njegov klirens iznosi između 20 i 30 mL/kg/min, to jest veći je od protoka krvi kroz jetru. To upozorava na postojanje drugog načina eliminacije koji zaobilazi jetru. Propofol ima sedativna, anksiolitička i antikonvulzivna svojstva. Nadalje, ima korisne protuupalne i antioksidacijske učinke kao i neuroprotektivna svojstva, uključujući smanjenje intrakranijalnog tlaka. Uobičajene su neželjene reakcije nakon primjene propofola depresija kardiovaskularnog sustava, što dovodi do smanjenja otkucaja srca i krvnog tlaka, smanjenje perifernoga vaskularnog otpora, respiratorna depresija ovisna o dozi, bol na mjestu injiciranja i alergijske reakcije. Doza propofola dovoljna za održavanje anestezije smanjuje udisajni volumen (engl. *tidal volumen)* i povećava frekvenciju disanja. Ventilacijski odgovor na hipoksiju i CO_2 znatno je suprimiran. Apneja (prestanak disanja) događa se znatno češće nakon indukcijske doze propofola nego kod ostalih anestetika. Bol pri injiciranju češća je kod injekcije u području malih vena dorzuma šake, stoga se preporučuje davanje u veće kubitalne vene ili uz adjuvanse poput opioida ili lokalnog anestetika. Katkad se tijekom indukcije viđaju ekscitacijski učinci (mioklonus, opistotonus i konvulzije), a moguće su i alergijske reakcije (25). PRIS je rijedak sindrom koji zahvaća bolesnike u jedinicama intenzivne medicine kod dugotrajnoga davanja propofola u dozama (> 4 mg/kg/h u više od 24 h), što može dovesti do srčanoga zatajenja, rabdomiolize, metaboličke acidoze i zatajenja bubrega. Smatra se da je uzrok PRIS-a poremećaj metabolizma masnih kiselina na razini mitohondrija. Najčešće se događa u djece s kongenitalnom srčanom greškom ili bolešću nakupljanja te u bolesnika koji istodobno primaju kateholamine i steroide. Liječenje je potporno, tj. rano prepoznavanje i što ranije prekidanje infuzije propofola (24).

Propofol ima antioksidacijski potencijal u sprječavanju lipidne peroksidacije (26). Zbog sličnosti s α-tokoferolom (oba imaju fenolnu hidroksilnu skupinu) propofol može zamijeniti antioksidacijsku funkciju α-tokoferola. Propofol i α-tokoferol prekidaju lanac lipidne peroksidacije uklanjanjem lipidnih peroksilnih radikala ($LOO^{\cdot}$) (27). U toj reakciji propofol postaje fenoksi radikal koji je puno manje reaktivan od $LOO^{\cdot}$. Propofol donira vodikov atom iz hidroksilne (OH^{-}) skupine i time inhibira peroksidaciju lipida. Osim inhibicije peroksidacije lipida, u različitim organima štakora mjerenim *in vitro* propofol povećava antioksidacijski obrambeni sustav (28). U pokusima na štakorima nađeno je da propofol štiti bubreg od bubrežnog zatajenja (29) i oštećenja jetre nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede (30)(31), smanjuje lipidnu peroksidaciju u leđnoj moždini nakon ozljede (32), ublažava poslijeoperacijske znakove ozljede organa nakon transplantacije jetre (33)(34) i štiti od opstrukcijske žutice (35).

Pretpostavlja se da nekoliko neanestetičkih i nesedativnih svojstava propofola može biti povezano s oksidacijskim stresom. Neki autori otkrili su da propofol može smanjiti oksidacijski stres prouzročen doksorubicinom u kultiviranim kardiomiocitima novorođenčadi, pa su predložili propofol kao moguću dodatnu terapiju u takvoj citostatskoj terapiji (36). U drugim je istraživanjima otkriveno kako propofol štiti jetru štakora od upalnih učinaka halotana u hipoksičnim uvjetima (37), kao i nakon djelomične hepatektomije (38). Također je predloženo da propofol može biti koristan u liječenju glioblastoma jer na ljudskim stanicama glioblastoma GBM 8401 aktivira apoptozu smanjujući Bcl-2 (engl. *B-cell lymphoma 2*), povećavajući aktivaciju Bax-a (engl. *BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator*) i kaspaze (39). Smatra se da propofol ima i blagotvorno djelovanje u kritičnih bolesnika, osobito onih sa sustavnim upalnim odgovorom i sepsom (40). U tih bolesnika smanjuje koncentraciju citokina i modulira ekspresiju dušičnog oksida. U bolesnika anesteziranih propofolom kojima je učinjena radikalna ezofagektomija učestalost teških poslijeoperacijskih komplikacija bila je znatno niža (7/92) u usporedbi s bolesnicima koji su anestezirani inhalacijskim anestetikom sevofluranom (18/94) (41).

1.3.2. Inhalacijski anestetici

1.3.2.1. Sevofluran



Slika 1.3.2.1. Kemijska struktura sevoflurana

Sevofluran [fluorometil-2,2,2-trifluoro-1-(trifluorometil) etil eter] potpuno je fluorinirani metil izopropilni eter slatkasta mirisa koji se koristi od 90-ih godina prošloga stoljeća za opću anesteziju. Njegov tlak pare dopušta upotrebu klasičnog isparivača, slabo je topljiv u krvi, što omogućuje brz uvod u anesteziju i brzo buđenje nakon anestezije. Zbog jedva osjetljiva mirisa, bez nadražljivosti dišnih putova i zbog snažnog bronhodilatatornog svojstva, sevofluran je najčešće korišten anestetik za uvođenje anestezije preko maske u djece (25,42). Sevofluran se ne biotransformira do trifluoroacetata kao ostali inhalacijski anestetici, nego nastaje acil-halid (heksafluoroizopropranolol). Na taj se način ne stvaraju protutijela na trifluoroacetilirajuće proteine jetre, a samim time ni hepatitis kakav izaziva halotan. Sevofluran se u prisutnosti apsorbera za ugljikov dioksid razgrađuje i stvara fluorometil-2,2-difluoro-1-(trifluorometil)vinil-eter nazvan „spojem A“. Taj je spoj, ovisno o dozi, nefrotoksičan u štakora te prouzročuje tubularno oštećenje bubrega. Nije dokazana povezanost „spoja A“ s bubrežnim oštećenjem u ljudi koji već otprije imaju poznatu bubrežnu bolest kao ni u ljudi kod kojih je anestezija održavana niskim i minimalnim protocima ispod 1 L/min i manje (25).

Inhalacijski anestetici su lipofilni i lako prolaze kroz posteljicu. Fetusi mogu biti izloženi primjerice lipofilnom inhalacijskom anestetiku sevofluranu tijekom neopstetričkih operacija i fetalnih intervencija u drugom tromjesečju trudnoće kada počinje razvoj mozga (43). Oksidacijski stres u mozgu eksperimentalnih životinja prouzročen većim dozama sevoflurana potrebnim za postizanje mirovanja maternice izaziva upalu, apoptozu, promjenu sinaptičkih

proteina i nakupljanje hiperfosforiliranih tau proteina koji su u korelaciji s oštećenjem pamćenja. Kognitivno oštećenje također je uočeno kod miševa koji su opetovano bili izloženi sevofluranu kao i porast proupalnih proteina interleukina 6 (IL-6) i tumor nekrotizirajućeg faktora α (TNF-α) (44). Porast IL-6 i faktora Nrf2 (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2,* Nrf2) također je pronađen u štakora izloženih sevofluranu pet sati (45).

Inhalacijski anestetici mogu dovesti do akutnog neurotoksičnog učinka što je povezano s oksidacijskim stresom i kasnijim poteškoćama u učenju i pamćenju koje nazivamo anestetikom izazvana neurotoksičnost (AIN) (46). Postoji teorija da je nakon višestrukog izlaganja i nakon duže anestezije moguć rizik od hiperaktivnog poremećaja i deficita pažnje te poremećaj u usvajanju jezika i apstraktnom rasuđivanju (47). U velikome randomiziranom multicentričnom kontroliranom ispitivanju koje je provedeno u 722 djece u 28 bolnica (Australija, Italija, SAD, Velika Britanija, Kanada, Nizozemska, Novi Zeland) testiran je rizik od nepovoljnih neurorazvojnih ishoda (48,49). Nakon praćenja od dvije i pet godina utvrđeno je da opća anestezija od 1 h u dojenačkoj dobi ne prouzročuje znatne neurokognitivne ili bihevioralne deficite. U starijih osoba opća anestezija inhalacijskim anesteticima može prouzročiti poslijeoperacijski kognitivni poremećaj (POCD). Starija dob smatra se neovisnim čimbenikom rizika, dok su ostali čimbenici koji su povezani s POCD-om veće i invazivnije operacije, dulje trajanje opće anestezije, dubina anestezije, niže obrazovanje bolesnika, ponovljene opće anestezije, poslijeoperacijska infekcija te respiracijske komplikacije. Zbog toga je važno upotrebljavati intraoperacijski nadzor dubine anestezije kako bi se smanjila mogućnost nastanka POCD-a (50). Danas se provodi program ERAS (engl. *Enhanced Recovery After Surgery*, ERAS), čiji je cilj što kraći boravak starijih osoba u bolnici, što smanjuje poslijeoperacijske komplikacije, a oporavak je brži. Nedavno su objavljeni prilično kontroverzni rezultati o neurotoksičnosti sevoflurana u dječjoj dobi. Smatralo se da opća anestezija sevofluranom ima utjecaj na nezreli mozak te je preporučeno da se izbjegava opća anestezija do treće godine života (42). Godinu dana poslije objavljeni su rezultati triju velikih studija GAS-a (engl. *general anesthesia spinal*), PANDA (engl. *Pediatric Anesthesia Neurodevelopment Assessment*) i MASK (engl. *Mayo Anesthesia Safety in Kids*) te je zaključeno da rutinska anestezija za kraće operacije nije neurotoksična i ne utječe na razvoj mozga (51).

Nadalje, u studijama na ljudima podvrgnutim manjim operacijama sevofluran ima antioksidacijska i protuupalna svojstva (52). Suprotno tome, u bolesnika koji su prošli veću operaciju (npr. kolecistektomija, histerektomija, ortopedske operacije itd.), a time i dulje

trajanje opće anestezije, sevofluran privremeno povećava oksidacijski stres.

1.4. Nadzor živčanog sustava

1.4.1. Elektroencefalografija

Elektroencefalografija (EEG) neinvazivna je metoda koja bilježi električnu aktivnost moždanih stanica (neurona). Važne promjene EEG-a tijekom djetinjstva pokazuju sazrijevanje mozga. To je osobito izraženo tijekom prve godine života, a odraz su karakterističnih obrazaca razvoja od neonatalnog razdoblja do adolescencije (53). S druge strane, farmakološki utjecaj anestetika na mozak također se mijenja ovisno o djetetovoj dobi. Zbog te interindividualne varijabilnosti vrlo je važno znati kako pojedini anestetik utječe na mozak. Ti se učinci mogu pratiti analizom kortikalnog signala EEG-a. Profili EEG-a, ovisni o dobi, široko su opisani kod djece bez anestezije, dok je podataka tijekom anestezije vrlo malo. Unatoč tome postoje mnoge pedijatrijske studije koje govore o nadzoru dubine anestezije koji se temelji na EEG-u. U tim studijama bispektralni indeks (BIS), koji omogućuje izračunavanje jednoga broja iz algoritma koji uključuje kortikalne parametre EEG-a, jedan je od najviše proučavanih nadzora dubine anestezije u dječjoj dobi (54).

1.4.2. Bispektralni indeks

Bispektralni indeks (BIS) monitor (Covidien, Boulder, CO, USA [prije Aspect Medical Systems, Norwood, MA, USA]) kvantitativni je neinvazivni EEG-uređaj koji se koristi točnim algoritmom za analizu električnog signala dobivenog iz prednjega frontalnog elektrodnog polja generirajući broj između 0 i 100. Vrijednosti veće od 80 odgovaraju budnom stanju, između 60 i 80 sedaciji (bolesnik može odgovarati na stimulans), a vrijednosti između 40 i 60 odražavaju razinu nesvjesnosti koja je pogodna za operaciju, dok 0 odgovara izoelektričnoj liniji što odražava potpunu inhibiciju izbijanja cerebralnoga korteksa (engl. *burst suppression*) (55). Monitor BIS pruža korisne informacije tijekom svih triju faza anestezije: za uvod u anesteziju, tijekom održavanja anestezije i pri buđenju. Uporabom BIS monitora izbjegava se budno stanje za vrijeme operacije i postiže brže buđenje bolesnika zbog mogućega preciznijeg titriranja lijekova prateći dubinu anestezije. Usporedba utjecaja propofola i sevoflurana na vrijednosti

BIS monitora različita je. Većina intravenskih anestetika izaziva, ovisno o dozi, usporavanje oscilacija EEG-a dostižući razdoblja izoelektrične linije. BIS vrijednosti dokazano se smanjuju kako se povećava koncentracija propofola od 2 do 6 μg/mL u plazmi. U djece starije od pet godina učinci propofola na EEG nalikuju na one u odraslih. Tijekom „kirurške anestezije“ propofolom dominira delta (δ) spora aktivnost u zapisu EEG-a. S druge strane, opisan je dinamički profil brzih beta-oscilacija: beta-aktivnost povećava se kod nižih koncentracija propofola od 2 do 3 μg/mL u plazmi, a smanjuje se kako se koncentracija propofola u plazmi povećava. Ovisno o dozi sevoflurana vrijednosti na ekranu BIS monitora mijenjaju se u dvije faze. Prva je faza smanjenje vrijednosti BIS-a ovisno o dozi kada se koncentracija sevoflurana povećava s 0 % na 4 %. Druga je faza ponovna pojava visokih vrijednosti BIS-a nakon povećanja koncentracije sevoflurana s 4 % na 5 %. Različiti autori pretpostavljaju da povećane vrijednosti BIS-a mogu biti više povezane s brzim oscilacijama u EEG-u nego s nedovoljnom dubinom anestezije (54).

Slika 1.4.2. Bispektralni indeks monitor. Preuzeto iz: Monitoring consciousness, Using the Bispectral Index (BIS) brain monitoring system. A pocket guide for clinicians. Medtronic, 2018.

1.4.3. Nadzor cerebralne oksigenacije

1.4.3.1. Bliska infracrvena spektroskopija

Bliska infracrvena spektroskopija (NIRS) neinvazivna je spektrofotometrijska metoda otkrivena sredinom 70-ih godina, a omogućuje praćenje ravnoteže između dostave i potrošnje kisika u mozgu ili drugim tkivima (56). Primarne su molekule koje apsorbiraju svjetlost unutar valnih duljina svjetlosti bliskom infracrvenom svjetlu (700 – 1300 nm) kromofori: hemoglobin, bilirubin i citokrom. Uređaji za tu vrstu spektroskopije koriste izvor svjetlosti od dvije valne duljine (730 i 810 nm) koje, prolazeći kroz tkiva, mjere njihova apsorpcijska svojstva. Pri valnoj duljini od 730 nm apsorpcijski spektri hemoglobina i oksihemoglobina maksimalno su razdvojeni i postoji minimalno preklapanje s apsorpcijskim spektrom vode. Pri valnoj duljini od 810 nm imaju jednaku apsorpciju, čime se dobiva ukupna koncentracija hemoglobina. Kompjutorski program obrađuje dobivene informacije prema modificiranom Beer-Lambertovu zakonu, kojim se dobiva brojčana vrijednost cerebralne ili somatske oksigenacije (57). Prema Beerovu zakonu intenzitet svjetlosti opada kako se povećava koncentracija tvari kroz koju svjetlost prolazi, dok Lambertov zakon tvrdi da se intenzitet svjetlosti smanjuje kako se povećava udaljenost kroz koju svjetlost prolazi. Na temelju obaju zakona kisik se može izmjeriti prema količini emitirane svjetlosti koju tvar apsorbira i prema količini svjetlosti koja kroz nju prolazi. Apsorpcija svjetlosti bit će proporcionalna statusu oksigenacije tkiva (58).

Senzor se sastoji od izvora svjetla i dvaju detektora, a postavlja se na kožu iznad promatranog tkiva tako da je jedan detektor bliže, a drugi dalje od izvora svjetla. Fotoni putuju do detektora kroz tkivo po eliptičnoj liniji i na tom putu dolazi do njihove refleksije, disperzije i apsorpcije. Prema izvoru svjetla koji može biti dioda (engl. *light-emitting diode*, LED) ili laser razlikujemo nekoliko vrsta monitora – monitori koji se koriste diodom (INVOS i Equanox) i monitori koji se koriste laserom (Fore-Sight, NIRO-300, CerOx) (59).

NIRS metoda najčešće se upotrebljava za nadzor cerebralne oksigenacije za vrijeme kardiokirurških operacija, operacija u torakalnoj i vaskularnoj kirurgiji. Praćenje oksigenacije mozga izrazito je važno pri takvim operacijama zbog upotrebe ekstrakorporalne cirkulacije i selektivne kanulacije arterija koje mogu znatno smanjiti dostavu kisika u moždano tkivo i prouzročiti trajno oštećenje mozga (58).

INVOS sustav koristi se SomaSenzorima koji se postavljaju na obje frontalne strane nekoliko centimetara iznad ruba orbite, a svjetlost prodire oko 2 cm u tkivo. Povezani su s kompjutoriziranim ekranom koji omogućava grafički prikaz vrijednosti u realnom vremenu

svakih 10 sekundi. Na taj način omogućen je nadzor oksigenacije frontalne cerebralne kore dobivene refleksijom iz malih krvnih žila (kapilare, arteriole, venule). Potrebno je prvo izmjeriti bazalnu vrijednost regionalne saturacije kisikom (rSO_2) prije početka operacije i primjene anestetika te dok bolesnik udiše sobni zrak. Podatci se bilježe i na prijenosnu memoriju, što omogućuje kasniju analizu.

Slika 1.4.3.a. INVOS senzor za mjerenje cerebralne oksigenacije. Preuzeto iz: INVOS Cerebral/Somatic Oximeter Operations Manual. Covidien, 2013.

Vrijednosti izmjerene za vrijeme operacije uspoređuju se s bazalnom vrijednosti. Vrijednosti 20 – 25 % manje u odnosu na bazalnu vrijednost ili smanjenje rSO_2 na 50 % od bazalne vrijednosti povezane su s poslijeoperacijskim komplikacijama kao što su kognitivna disfunkcija, moždana ishemija i koma. Postupci kojima nastojimo poboljšati rSO_2 podrazumijevaju isključivanje nekoga mehaničkog uzroka (npr. položaj glave, položaj aortalne kanile), smanjivanje potreba moždanog metabolizma, povećanje moždanog protoka krvi, povećanje parcijalnog tlaka ugljikova dioksida (pCO_2) na višu fiziološku vrijednost, povišenje krvnog tlaka i povećanje hematokrita. Prednosti su te metode neinvazivnost, mogućnost praćenja u stvarnom vremenu i jednostavnost upotrebe i interpretacije. Nedostatci su što nije moguće mjerenje u slučaju cerebralne atrofije, koja je česta u starijih pacijenata, ili subduralnog/epiduralnog hematoma jer zrake svjetlosti ne mogu doprijeti do moždanog tkiva (56,59).

Slika 1.4.3.b. INVOS monitor. Preuzeto iz: INVOS 5100 Cerebral/Somatic Oximeter Operations Manual. Covidien, 2013.

NIRS se primjenjuje i u pedijatrijskoj populaciji. Veliku primjenu ima kod operacija kongenitalnih srčanih grešaka jer omogućuje brzo djelovanje u slučaju pada postotka kisika. Njegova uloga u jedinicama intenzivne medicine nakon takvih operacija nije još potpuno ustanovljena, ali dokazi upućuju na to da ima veliku ulogu i u tom razdoblju. Povišeni laktati i saturacija miješane venske krvi dokazano upućuju na slabu isporuku kisika, posebno kod pacijenata u jedinicama intenzivne medicine gdje NIRS može imati veliku ulogu, ali potrebna su još dodatna istraživanja da bi se to dokazalo (60).

1.5. Biljezi oksidacijskog stresa

1.5.1. Malondialdehid

Peroksidacija lipida složen je proces koji se zbiva u životinjama i biljkama. Uključuje stvaranje i poticanje daljnjeg nastanka lipidnih radikala, preraspodjelu dvostrukih veza u nezasićenim masnim kiselinama i moguće razaranje membranskih lipida. Pritom mogu nastati aldehidi, ketoni, ugljikovodici (etan, eten, pentan), epoksidi i izoprostani (61). Stanične membrane bogate su nezasićenim masnim kiselinama i okružene tekućinom bogatom kisikom i ionima metala, zbog čega su podložne peroksidaciji. Peroksidacija lipida najčešće počinje otpuštanjem vodika (dehidrogenacija) nezasićene masne kiseline stvarajući tako lipidni radikal (62). Intenzivna lipidna peroksidacija u biološkim membranama dovodi do gubitka fluidnosti, opadanja vrijednosti membranskoga potencijala, povećanja permeabilnosti za H^+ i druge ione te do moguće rupture stanice i otpuštanja njezina sadržaja (61). Preraspodjela dvostrukih veza rezultira stvaranjem konjugiranih diena. Napad molekulskoga kisika stvara lipid peroksi radikal koji dalje izdvaja atom vodika iz susjedne molekule lipida stvarajući lipidni hidroperoksid ili pak nastaje lipidni endoperoksid. Stvaranje lipidnog endoperoksida koji sadržava barem tri isprekidane metilenske dvostruke veze može dovesti do stvaranja MDA-a kao produkta oštećenja (62). MDA je organski spoj kemijske formule $CH_2(CHO)_2$, a u organizmu prevladava njegova enolna forma. Budući da MDA pokazuje visoku sposobnost stvaranja adukata s mnogim biološkim molekulama, većina MDA-a vezana je za dijelove DNK-a i aminokiseline u proteinima. Cirkulirajući MDA postoji u dvama oblicima – slobodni (nevezani) i kovalentno vezan za različite biomolekule poput proteina, nukleinskih kiselina, lipoproteina i topljivih aminokiselina. Važno je naglasiti razmatraju li se slobodne (nevezane) ili ukupne (nevezane i vezane) razine MDA-a. Ukupna koncentracija MDA-a lakše se mjeri jer se velik postotak cirkulirajućeg MDA-a veže na proteine plazme. Slobodni MDA prisutan je u biološkim uzorcima u malim količinama. Hidroliza proteina vezanog na MDA može se postići tretiranjem uzorka s alkalnom otopinom ili s otopinom kiseline (63).

1.5.2. Proteinski karbonili

Oksidacija proteina složen je štetni proces jer su proteini nositelji većine staničnih procesa u živim organizmima. Oksidacijsko oštećenje u proteinima smanjuje efikasnost i preciznost vitalnih biokemijskih procesa, što dovodi do stanične degeneracije i smrti. Proteini mogu biti modificirani velikim brojem različitih oksidacijskih reakcija koje možemo podijeliti na reverzibilne i ireverzibilne. U ireverzibilne reakcije ulaze karbonilacija proteina i nitriranje tirozina (64).

Karbonilacija proteina biokemijska je promjena proteina kojom se uvode karbonilne grupe (C=O) u proteine. Nastaje oksidacijom izloženih bočnih lanaca hidrofilnih aminokiselina prolina, arginina, lizina i treonina. Karbonilirani proteini prouzročuju gubitak proteinske strukture, a time i enzimske aktivnosti, pa povećana razina nefunkcionalnih proteina u stanici izaziva poremećaj staničnih funkcija. Umjereno karbonilirani proteini razgrađuju se proteolizom, dok se teško karbonilirani proteini povezuju međusobno kovalentnim vezama u netopljive proteinske agregate otporne na proteolitičku razgradnju. Kvantitativno su najvažniji produkti karbonilacije proteina glutaminski semialdehid arginina i prolina te aminoadipinski semialdehid lizina. Nadalje, karbonilni derivati lizina, cisteina i histidina mogu nastati u sekundarnim reakcijama s reaktivnim karbonilnim komponentama na ugljikohidratima (produkti glikooksidacije), lipidima i krajnjim produktima glikacije/lipooksidacije. Zbog ireverzibilne prirode karbonilacija je najštetniji oblik oksidacijskog oštećenja proteina (65).

Određivanje razine karbonilnih grupa u proteinima se često koristi za mjerenje razine oksidacijskog oštećenja proteina. Razvijene su različite metode za detekciju i kvantifikaciju proteinskih karboniliranih grupa i većina njih uključuje derivatizaciju karbonilnih grupa s 2,4-dinitrofenilhidrazinom te imunodetekciju nastalog hidrazona korištenjem monoklonalnim ili poliklonalnim antitijelima (65).

1.5.3. Glutation

Glutation (L-γ-glutamil-L-cisteinil-glicin, GSH) je tiol male molekulske mase, prisutan u svim tkivima sisavaca s najvišom koncentracijom u jetri, a jedan je od najvažnijih antioksidansa (66,67). GSH ima nekoliko važnih fizioloških funkcija, poput inaktivacije visokoreaktivnih kisikovih spojeva, detoksikacije različitih vrsta ksenobiotika i karcinogena, održavanja

oksidacijskog statusa ostalih antioksidansa, poput askorbinske kiseline i α-tokoferola te poticanja staničnoga imunosnog odgovora aktivacijom limfocita (68). Unutar stanice GSH sudjeluje u sustavu signaliziranja (reverzibilno se veže na -SH skupinu unutar proteina, što može aktivirati i inaktivirati sam protein), modulira staničnu diobu (povećana koncentracija GSH-a u stanici povezana je s pojačanom diobom stanica) i apoptozu (njegova koncentracija u stanici snižena je tijekom apoptoze). Sintetizira se iz aminokiselina L-glutamata, L-cisteina i glicina, a reakcije kataliziraju enzimi γ-glutamilcistein sintetaza i GSH-sintetaza. U stanicama postoji u dvama oblicima, reducirani oblik kao tiol (GSH) i kao reducirani disulfid (GSSG). Reducirani oblik kao tiol dominantan je oblik te ga ima više od 98 % od ukupnoga glutationa. U eukariotskim se stanicama GSH nalazi u citoplazmi (80 – 85 %), mitohondrijima (10 – 15 %) i endoplazmatskom retikulumu. Antioksidacijsku funkciju GSH-a uglavnom obavlja GSH-peroksidaza (GPx) koja smanjuje koncentraciju vodikova peroksida i lipidni peroksid, dok se GSH oksidira u GSSG. Vraćanje u GSH pomaže GSSG-reduktaza (GSR) uz NADPH tvoreći tako redoks ciklus (67). Uobičajeno je da porast koncentracije GSH-a upućuje na univerzalni stanični odgovor na oksidacijski stres, međutim pri pogoršanju nekih bolesti smanjuje se koncentracija GSH-a. Različite su bolesti povezane s promijenjenom GSH-sintezom ili izmjenama u njezinoj koncentraciji. Smanjena koncentracija GSH-a mjeri se u brojnim patološkim stanjima uključujući dijabetes, rak, HIV, jetrene bolesti, TB, uremiju, plućnu fibrozu, Alzheimerovu bolest, Parkinsonovu bolest i druge, stoga bi koncentracija GSH-a mogla biti biljeg za te bolesti (69).

1.5.4. Superoksid-dismutaza

Superoksid-dismutaza (SOD; E.C. 1.15.1.1.) enzim je koji katalizira reakciju razgradnje $O_2^{\bullet -}$ u kisik i vodikov peroksid te tako štiti stanicu od toksičnih produkata aerobnoga disanja (70). Navedenu reakciju prati alternativna redukcija oksidacije metalnih iona prisutnih na aktivnome mjestu SOD-a. Na temelju iona kofaktora metala prisutnih na aktivnim mjestima, SOD se može svrstati u četiri različite skupine: bakar-cink-SOD (Cu, Zn-SOD), željezo-SOD (Fe-SOD), mangan-SOD (Mn-SOD) i nikal-SOD (Ni-SOD) (71). Superoksid nastaje tijekom mnogih procesa u organizmu kao što su aerobni metabolizam, oksidativna fosforilacija i fotosinteza. Budući da SOD ima ključnu funkciju kontrole razine ROS-a u organizmu, ima utjecaj na patogenezu, starenje, degenerativne bolesti i rak te bi mogao koristiti u terapiji bolesti povezanih s oksidacijskim stresom (72).

1.5.5. Glutation-peroksidaza

Glutation-peroksidaze (GPx) skupina su filogenetski srodnih enzima, a evolucijski su svrstane u tri skupine: GPx1/GPx2, GPx3/GPx5/GPx6 i GPx4/GPx7/GPx8. Glutation-peroksidaze 1 – 4 javljaju se u svih sisavaca i po kemijskom su sastavu selenoproteini sa selenocisteinom u katalitičkom središtu. Kataliziraju redukciju vodikova peroksida ili organskih peroksida do vode ili pripadajućih alkohola koristeći se glutationom kao reducensom. Imaju antioksidacijsku funkciju u različitim dijelovima stanice (5). GPx-1 ima mnogo staničnih funkcija: zaštita stanice od oksidacijskog oštećenja; regulacija metabolizma i funkcija mitohondrija; kontrola staničnih procesa, poput apoptoze, rasta i signaliziranja modulacijom staničnih koncentracija vodikova peroksida i ukupne unutarstanične redoks ravnoteže. Zbog svega navedenog, GPx ima ulogu u prevenciji raka i kao zaštitno sredstvo kod neuroloških i kardiovaskularnih bolesti (73). Nadalje, zasad ne postoje čvrsti dokazi, no misli se da bi poremećaji u sintezi GPx-a mogli biti uključeni u neke oblike anemija, primjerice u novorođenčadi je opisana hemolitička anemija prouzročena manjkom selena tijekom trudnoće (74).

1.5.6. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje u malim koncentracijama, u odnosu prema oksidacijskim supstratima, dovode do odgađanja ili inhibicije stvaranja oksidacijskog stresa, odnosno štetna djelovanja slobodnih radikala. Djelovanje se može opisati uklanjanjem kisika, metalnih iona, ciljnih ROS-supstrata poput superoksida ili vodikova peroksida ili uklanjanjem slobodnih radikala i singletnoga kisika (61). Osim djelovanja na oksidacijski stres, antioksidansi smanjuju mutacije DNK-a, maligne transformacije i druge vrste oštećenja stanice (6). Mogu se podijeliti na unutarstanične i izvanstanične. Unutarstanični su antioksidansi superoksid-dismutaze koje katalitički uklanjaju $O_2^{\bullet -}$, katalaza koja uklanja H_2O_2 prisutan u velikim koncentracijama, glutation-peroksidaze koje uklanjaju H_2O_2 prisutan u malim koncentracijama i organske hiperperokside (61). U izvanstanične antioksidanse ubrajaju se askorbinska kiselina (vitamin C), tokoferoli (vitamin E), karotenoidi (beta-karoten) i fenoli (stilbeni, fenolne kiseline poput benzojeve i hidroksibenzojeve kiseline, derivati cimeta i hidroksicimetne kiseline, flavonoidi) (6). Osnovna je zadaća izvanstaničnih antioksidansa očuvanje iona željeza i bakra u nereaktivnim oblicima te sprječavanje mogućeg međudjelovanja s ostalim slobodnim

radikalima štiteći tako lipidne molekule od oksidacijskog stresa (61). Unutarstanični antioksidansi (enzimi, mokraćna kiselina, bilirubin, proteini koji vežu metal kao feritin, transferin, laktoferin, ceruloplazmin) nadopunjuju se izvanstaničnim antioksidansima prisutnima u prehrani ili u prehrambenim dodatcima. Prehrana bogata voćem, povrćem, cjelovitim žitaricama, mahunarkama i omega-3 masnim kiselinama može djelovati preventivno na pojavu određenih bolesti (6).

2. HIPOTEZA

Hipoteza je ovog istraživanja:

Anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju.

3. CILJEVI RADA

Glavni je cilj ovog istraživanja pronalaženje anesteziološke tehnike (balansirana, TCI/TIVA) koja izaziva manji oksidacijski stres u djece s hidronefrozom podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes zbog stenoze pijeloureteričnog vrata.

Specifični je cilj ovog istraživanja ustvrditi dinamiku kretanja markera oksidacijskog stresa u perioperacijskom razdoblju; prije uvoda u anesteziju, 30 min i 24 h od početka operacije.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Mjesto istraživanja

Istraživanje je provedeno u Klinici za dječje bolesti Zagreb, u Zavodu za dječju anesteziologiju i intenzivnu medicinu u suradnji s Odjelom za dječju urologiju Klinike za kirurgiju. Uzorci ispitanika analizirani su u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu.

4.2. Etičko povjerenstvo

Etičko povjerenstvo Klinike za dječje bolesti Zagreb (predsjednica Etičkog povjerenstva prof. dr. sc. Vlasta Đuranović, dr. med.) 29. prosinca 2014. godine dalo je suglasnost za provođenje ovog istraživanja. Etičko povjerenstvo Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada (predsjednica Etičkog povjerenstva dr. sc. Martina Piasek, dr. med., znanstvena savjetnica u tr. zvanju) 3. veljače 2015. godine ocijenilo je da će tijekom istraživanja svi postupci biti etički ispravni.

4.3. Istraživački postupak i priprema uzoraka za analizu

Istraživanje je predviđeno na 60 ispitanika, a provedeno je na 32 ispitanika u dobi od tri do 16 godina koji su zbog svoje osnovne bolesti – hidronefroze stečene stenozom pijeloureteričnog vrata – operirani po metodi Anderson-Hynes (pijeloplastika). Prema klasifikaciji ASA-e to su bolesnici stupnja II, odnosno imaju blagu sistemsku bolest bez funkcionalnih ograničenja. Kriteriji isključenja bili su prisutnost respiratornih, kardiovaskularnih, neuroloških, endokrinoloških, autoimunih te ostalih bubrežnih bolesti i alergija na lijekove koji su se u istraživanju koristili.

Ispitanici su randomizirano podijeljeni u dvije skupine. U skupini 1 nalazi se 16 ispitanika anesteziranih u balansiranoj anesteziji, a u skupini 2 nalazi se 16 ispitanika anesteziranih vođenjem ciljnom koncentracijom lijeka, neovisno o dobi i spolu.

4.3.1. Operacijski protokol

Svi ispitanici dobili su oralnu premedikaciju midazolamom 30 min prije operacije. Doza potrebne premedikacije izračunata je prema dijagramu za određivanje doze prema tjelesnoj masi i površini tijela. U operacijskoj sali svaki bolesnik imao je standardni neinvazivni anesteziološki nadzor koji se sastoji od pulsne oksimetrije (spO_2), kapnografije ($etCO_2$), elektrokardiograma (EKG), neinvazivnog mjerenja arterijskog tlaka (engl. *Non-Invasive Blood Pressure,* NIBP) i sonde za mjerenje tjelesne temperature. Uz standardni nadzor bolesnici su imali i nadzor dubine anestezije uz pomoć BIS-a i monitor regionalne saturacije kisikom INVOS. Svi su ispitanici individualno terapijski anestezirani u rasponu adekvatne dubine anestezije na ljestvici između 40 i 60. Uz pomoć sustava INVOS pratila se regionalna saturacija na kapilarnoj razini cerebralne krvi i u području oko bubrega. Mjerilo se uz pomoć dvaju senzora, odnosno elektroda zvanih SomaSenzori. Prvi, cerebralni senzor postavljen je na frontalni dio korteksa, a drugi između razine kralježaka Th12 i L3 u srednjoj aksilarnoj liniji na suprotnoj strani od operacijskog polja. Svi ispitanici prije početka uvoda u anesteziju imali su postavljen venski pristup.

Uvod u anesteziju skupine 1 (balansirana anestezija) počeo je inhalacijski korištenjem maske mješavinom sevoflurana, kisika i zraka, uz dodatak intravenskih lijekova. Od intravenskih lijekova svaki je ispitanik primio opioid (Fentanyl) i neuromišićni relaksans (Esmeron), a anestezija se tijekom operacije održavala mješavinom kisika, zraka i sevoflurana uz ponavljanje intravenskih lijekova prema potrebi. Lijekovi su dozirani prema tjelesnoj težini ispitanika te prema vrijednostima BIS-a i INVOS-a.

U skupini 2 (TCI anestezija) uvod je učinjen intravenskim propofolom, uz pomoć TCI pumpe (Alaris PK Plus, CareFusion, Švicarska), uz dodatak intravenskih lijekova, opioida (Fentanyl) i neuromišićnog relaksansa (Esmeron). Anestezija se održavala tijekom operacije intravenskim propofolom uz TCI pumpu, uz mješavinu kisika i zraka, a dodatni lijekovi ponavljani su prema potrebi. Svi lijekovi dozirani su prema tjelesnoj težini ispitanika i prema BIS-u i INVOS-u. Program „Kataria“ korišten je za TCI model za propofol u svih ispitanika skupine 2.
Dišni put u svih je ispitanika obiju skupina osiguran endotrahealnim tubusom prema veličini i dobi ispitanika. Svima je postavljen dodatni venski pristup i urinarni kateter. Nakon uvoda u anesteziju svi su ispitanici postavljeni u pregnuti bočni položaj. Taj položaj najbolje odgovara kirurgu za lumbotomijski rez i uvid u operacijsko područje oko bubrega.

Uzorci krvi skupljeni su u tri navrata tijekom operacije za mjerenje biljega oksidacijskog stresa: prije uvoda u anesteziju, 30 min od početka operacije i 24 h od početka. Odmah nakon uzimanja iz perifernoga venskog puta, uzorci krvi spremljeni su u epruvetu s antikoagulansom te na Odjelu za medicinsku biokemiju i hematologiju Klinike za dječje bolesti Zagreb centrifugirani 5 min na 3500 o/min. Dobivena plazma po uzorku skladištena je u nekoliko alikvota u zamrzivaču na -20 °C.

Svi su ispitanici nakon operacije ekstubirani i probuđeni te smješteni u Jedinicu intenzivnog liječenja Zavoda za dječju anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu uz jednaku poslijeoperacijsku skrb.

Na kraju su svi skupljeni uzorci premješteni u osiguranim uvjetima u Jedinicu za toksikologiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada radi mjerenja biljega oksidacijskog stresa. Mjereni su MDA, GSH, SOD, ROS, FRAP i proteinski karbonili.

4.3.2. Postupak randomizacije

Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. U skupini 1 bili su ispitanici koji su dobili balansiranu anesteziju, a u skupini 2 ispitanici koji su dobili TCI anesteziju. Uvrštavanje u pojedinu skupinu bilo je slučajnim odabirom (randomizacijom). Nakon što su roditelji pročitali informirani pristanak i složili se da njihovo dijete sudjeluje u studiji, potpisali su suglasnost. Istraživanje je provedeno na djeci u dobi od tri do 16 godina, zbog čega je svaki ispitanik stariji od devet godina također potpisao suglasnost kao maloljetna osoba. Svakom ispitaniku pružila se zatvorena omotnica da izvuče jedan nasumični broj prema kojem je anesteziolog utvrdio kojoj skupini ispitanik pripada. Neparni brojevi pripadali su balansiranoj skupini, a parni TCI skupini.

4.4. Metode

4.4.1. Kemikalije

1. 1, 1, 3, 3-tetrametoksi propan, Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, SAD
2. Tiobarbituratna kiselina, Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, SAD
3. 2, 4-dinitrofenilhidrazin
4. Goveđi serumski albumin (BSA), Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, SAD
5. Gvanidin hidroklorid, Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, SAD
6. Metanol HPLC čistoće, CH_3OH, Sigma Chemicals, St.Louis, Missouri, SAD
7. Ultračista voda (18MΩ) dobivena iz vodenog sustava Mili-Q Gradient
8. Ostale kemikalije i reagensi analitičke su kvalitete, a njihov komercijalni izvor naveden je pod opisom određenih metoda.

4.4.2. Malondialdehid

Koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je modificiranom metodom koju su opisali Drury i sur. (1997) (75). Metoda se temelji na vezanju MDA-a s tiobarbituratnom kiselinom (TBA), pri čemu nastaje ružičasti spoj koji apsorbira svjetlost valne duljine od 538 nm.

Postupak
50 µL uzorka plazme
750 µL fosforne kiseline (H_3PO_4) (1 %), Kemika, Zagreb, Hrvatska
250 µL tiobarbituratne kiseline (TBA) (0,6 %)
5 µL butiliranog hidroksitoluena (BHT) (0,2 %)
445 µL destilirane vode

Uzorci s reagensima promiješani su i stavljeni u vodenu kupelj (90 °C, 30 min). Reakcija je zaustavljena hlađenjem u vodi i 20 µL uzorka injektirano je u visokoučinkovit tekućinski kromatograf (HPLC) koji se sastoji od uređaja za uklanjanje otopljenih plinova, izokratne i gradijentne pumpe, termostatiranog prostora za kolonu te UV i fluorescentnoga detektora (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Pretkolona i analitička kolona C-18 obrnute su faze (LiChrosper, Merck, Darmstadt, Njemačka) s česticama veličine 5 µL (dimenzije pretkolone 4,0 x 4,0, a kolone 4,0 x 125,0 mm). Iz mobilne faze koja se sastojala od 50 mM KH_2PO4 i

metanola (60 : 40, v/v, pH 6,8) uklonjen je otopljeni zrak u ultrazvučnoj kupelji (15 min). Protok mobilne faze bio je 1 mL/min. MDA je mjeren fluorescentnim detektorom pri valnoj duljini ekscitacije od 514 nm i emisije od 544 nm. Pri tim uvjetima vrijeme zadržavanja MDA-a na koloni bilo je 2,5 min.

4.4.3. Glutation

Koncentracija glutationa određena je prema modificiranoj opisanoj metodi koju su napisali Kamencic i sur. (2000) (76).

Postupak

100 µL razrijeđene plazme (10 x)

20 µL 0,24 mM monoklorbiman

u fosfatnom puferu (pH 7,4) pripremljenom od 79,46 g (NaCl) + 2,01 g (KCl) + 11,59 g (Na_2HPO_4) + 2,72 g (KH_2PO_4) otopljenom u 1 L destilirane vode

Količina GSH-a u plazmi izmjerena je s pomoću monoklorobimana (MBCl) koji se pretvara u visokofluorescentni biman vezanjem s GSH-om u stanicama. Metoda je izvedena uz pomoć 10 % plazme razrijeđene u ledeno hladnom 50 mM fosfatnom puferu (PBS) (pH 7,4). Plazma je razrijeđena 10x, tj. 100 µL plazme je dodano 900 µL fosfatnog pufera. Uzorci razrijeđene plazme pipetirani su u jažice mikrotitarske pločice s 96 mjesta nakon dodavanja 20 µL 0,24 mM MBCl u fosfatnom puferu. Kontrole autofluorescencije plazme pripremljene su bez dodavanja uzorka, a kontrole autofluorescencije boje pripremljene su bez dodavanja boje. Svi uzorci inkubirani su 20 minuta na 37 °C. Fluorescencija je određena pri ekscitaciji od 355 nm i valnoj duljini emisije od 460 nm, s pomoću čitača mikrotitarskih pločica (Tecan Infinite M200PRO plate reader, Tecan Austria GmbH).

4.4.4. Reaktivni kisikovi spojevi

Koncentracija reaktivnih kisikovih spojeva određena je prema modificiranoj opisanoj metodi koju su napisali Socci i sur. (1999)(77).

Postupak

100 µL razrijeđene plazme u fosfatnog puferu (pH 7,4)

20 µL 0,12 mM 2,7-diflouroscein diacetat

Inkubacija 30 min na 37 °C

Mjerenje fluorescencije: ekscitacija 488 nm, emisija 525 nm (Tecan Infinite M200PRO plate reader, Tecan Austria GmbH)

Količina ROS-a u plazmi izmjerena je s pomoću 2,7-diklorofluorescin diacetata (DCFDA) koji se pretvara u visokofluorescentni DCF uz pomoć staničnih peroksida (uključujući vodikov peroksid) i dihidroetidija (DHE) koji se pretvara u fluorescentni spoj uz pomoć superoksidnog radikala. Ukratko, pripremljena je 10 % otopina plazme razrjeđivanjem u ledeno hladnom 50 mM fosfatnom puferu (PBS) (pH 7,4). Kontrole za autofluorescenciju plazme pripremljene su bez dodavanja DCFH-DA ili DHE, a kontrole za autofluorescenciju boje pripremljene su bez dodavanja boje.

4.4.5. Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme

Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme (FRAP) određen je prema metodi koju su opisali Benzie i Strain 1996. Metoda se temelji na redukciji Fe (III)-tripiridiltriazin kompleksa (žute boje) u njegov reducirani Fe (II) oblik (plave boje) u prisutnosti antioksidansa. Određuje se spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na redukciji praćenoj porastom apsorbancije pri 593 nm. Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme izračunava se iz kalibracijske krivulje, a kao pozitivna kontrola koristi se vitamin C (80).

Osnovna kemijska reakcija ista je za sve modifikacije FRAP testova:

Fe^{3+} + antioksidans → Fe^{2+} + oksidirani antioksidans.

Postupak

300 mM acetatni pufer (pH 3,6)

40 mM HCl, Kemika, Zagreb, Hrvatska

10 mM TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine), Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, SAD

20 mM $FeCl_3$ x 6 H_2O, Merck, Darmstadt, Njemačka

Standard: $FeSO_4$ x 7 H_2O, Merck, Darmstadt, Njemačka

FRAP reagens (u omjeru A : B : C = 10 : 1 : 1)

A = acetatni pufer (100 mL)

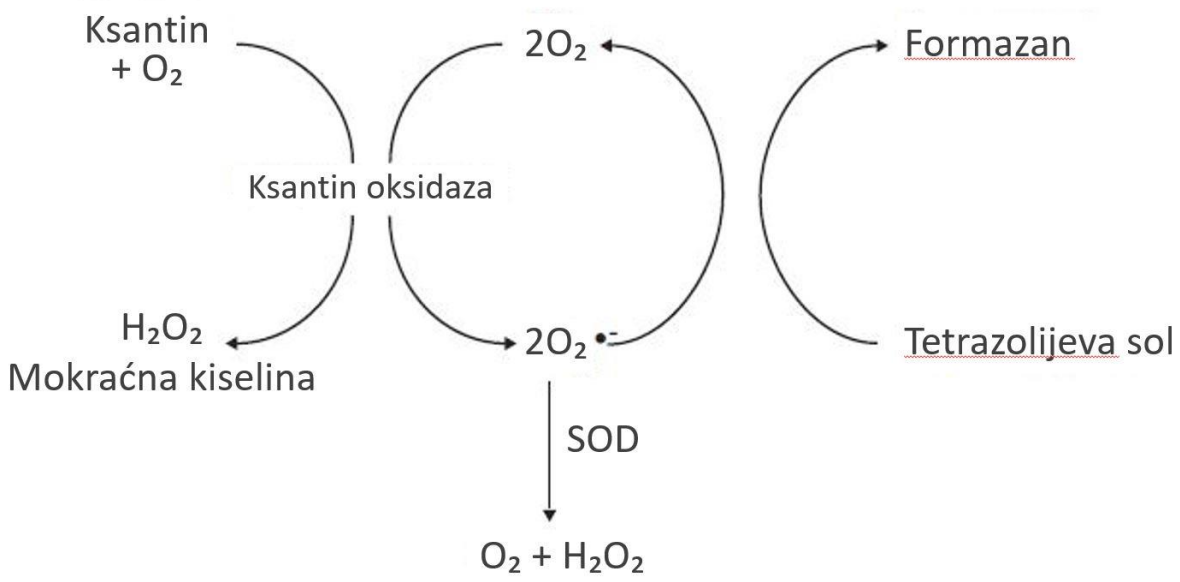
B = TPTZ (10 mL)

C= FeCl3 (10 mL)

Priprema se ukupni volumen ovisno o broju uzoraka (1 mL po uzorku). Otopina se zagrijava na 37 °C te se tijekom cijelog postupka održava u kupelji. U smjesu koju čine 30 µL uzorka (standarda ili vode) i 1 mL FRAP reagensa prethodno zagrijan na 37 °C stavlja se u tresilicu Vortex na 10 sekundi. Uzorci se inkubiraju na 37 °C te se nakon 4 min prati porast apsorbancije na 593 nm. Koncentracija u uzorku (mmol/L) izračuna se iz baždarnog dijagrama standarda.

4.4.6. Superoksid-dismutaza

Za mjerenje enzimske aktivnosti SOD-a koristio se komercijalni komplet kemikalija za određivanje SOD-a (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) prema uputama proizvođača. Upotreba komercijalnoga kompleta temelji se na mjerenju superoksidnog radikala koji mjeri aktivnost sve tri vrste SOD-a (Cu/Zn, Mn i FeSOD) dobivene ksantin oksidazom i hipoksantinom. Jedna jedinica SOD-a definira se kao količina enzima potrebna da pokaže 50 % dismutacije superoksidnog radikala.



Slika 4.4.1. Shema kompleta za ispitivanje SOD-a. Preuzeto i prevedeno iz: Cayman's Superoxide Dismutase Assay Kit

Postupak

Uzorci plazme pripremljeni su u 20 mM HEPES puferu (pH 7,2), koji sadržava 1 mM EGTA, 210 mM manitola i 70 mM saharoze. Ispitivala su se različita razrjeđivanja plazme te apsorpcije na različitim valnim duljinama. Optimalna valna duljina bila je 435 nm i razrjeđivanje plazme u omjeru 1 : 10. Rezultati aktivnosti SOD-a izražene su kao jedinice po mililitru u plazmi.

4.4.7. Proteinski karbonili

Koncentracija proteinskih karbonila određena je prema modificiranoj opisanoj metodi koju su napisali Mercier i sur. (2004) (78) te Domijan i sur. (2005) (79).

Postupak

100 mL fosfatnog pufera (pH 7,4)
2,4 – dinitrofenilhidrazin (DNPH) (0,2 %)
otopina guanidina (6 M s pH 6,5)

Pripremljena 10 % otopina plazme razrijedi se fosfatnim puferom (pH 7,4) koji sadržava 1,5 % KCl i EDTA (3 mmol/L). Svaki se uzorak podijeli u tri alikvota, protein precipitiraju s 10 % TCA i centrifugiraju (10 min, 3,000 g). Talog jednog alikvota resuspendira se u HCl (1 mL, 2 mol/L HCl) i taj služi kao slijepa proba, a talog drugih dvaju alikvota u jednakom volumenu 0,2 % 2,4-DNPH u 2 mol/L HCl. Nakon inkubacije na sobnoj temperaturi uzorci se precipitiraju s 10 % TCA i ponovno centrifugiraju pod istim uvjetima. Talog se ispire etanolom s etil-acetatom (1 mL, 1 : 1), a zatim se proteini otapaju u guanidin-hidrokloridu s HCl. Koncentracija proteina mjeri se spektrofotometrijski prema slijepoj probi pri valnoj duljini od 280 nm, a koncentracija proteinskih karbonila kao apsorbancija pri valnoj duljini 370 nm korištenjem apsorpcijskim koeficijentom (22,0 $Lmmol^{-1}$ cm^{-1}). Rezultati se izražavaju kao nmol 2,4-DNPH po mg proteina (79).

4.5. Statistička analiza

Izmjereni podatci u ovom istraživanju analizirani su općim mješovitim modelom u kojem je kao zavisna varijabla korišten pokazatelj oksidacijskog stresa, a kao nezavisne varijable korišteni su *vrijeme* (kategorija s tri razine: „prije uvoda u anesteziju“, „30 minuta od početka operacije“ i „24 sata od početka operacije“) koje je ugniježđeno unutar *vrste anestezije* (kategorija s dvije razine: „TCI“ i „balansirana“). U model je uključena i *identifikacijska oznaka ispitanika* kao nasumični efekt radi kontrole varijabilnosti između ispitanika.

Prije prilagođavanja modela izmjerene koncentracije MDA-a i FRAP-a su $\log_{10}$ transformirane, dok su ostali biljezi oksidacijskog stresa transformirani inverznom transformacijom rangova u standardnu normalnu razdiobu.

Iz prilagođenih modela procijenjene su srednje vrijednosti skupina u svakoj vremenskoj točki te je na njima napravljena *post hoc* analiza u kojoj su uspoređene promjene između prve i druge, odnosno prve i treće vremenske točke za svaku vrstu anestezije. Osim toga, opažene promjene (u odnosu na prvu vremensku točku) uspoređene su između skupina. Potencijalni lažno pozitivni rezultati, koji su mogli nastati zbog višestrukog testiranja, kontrolirani su metodom Benjamini-Hochberg.

Izmjereni podatci za prvu vremensku točku prikazani su medijanom i interkvartilnim rasponom, dok su za drugu i treću vremensku točku rezultati prikazani stupnjem povećanja (omjerom) u odnosu na prvu točku (medijan i interkvartilni raspon omjera). Omjeri su također prikazani i kutijastim dijagramima čije granice kutije definiraju prvi (Q_1) i treći kvartil (Q_3), a linija unutar kutije prikazuje medijan. Brkovi se protežu do minimalne odnosno maksimalne vrijednosti koja je obuhvaćena unutarnjom granicom. Granične vrijednosti unutarnje granice definirane su kao 1. kvartil umanjen za 1,5 × interkvartilnog raspona (IQR), odnosno 3. kvartil uvećan za 1,5 × IQR. Opažena mjerenja izvan unutarnje granice (stršeće vrijednosti) prikazana su točkama. Na istim je grafovima naznačena i statistička značajnost *p*-vrijednostima: iznad kutijastoga dijagrama za usporedbe između vremenskih točaka unutar skupine i iznad linije koja povezuje dvije skupine za usporedbe između vrsta anestezije. Sve prikazane *p*-vrijednosti korigirane su na višestruko testiranje, a razina statističke značajnosti postavljena je na $\alpha = 0{,}05$.

Za statističku analizu korišten je računalni program R uz dodatne pakete *lme4, emmeans, ggplot2* (81)(82)(83).

5. REZULTATI

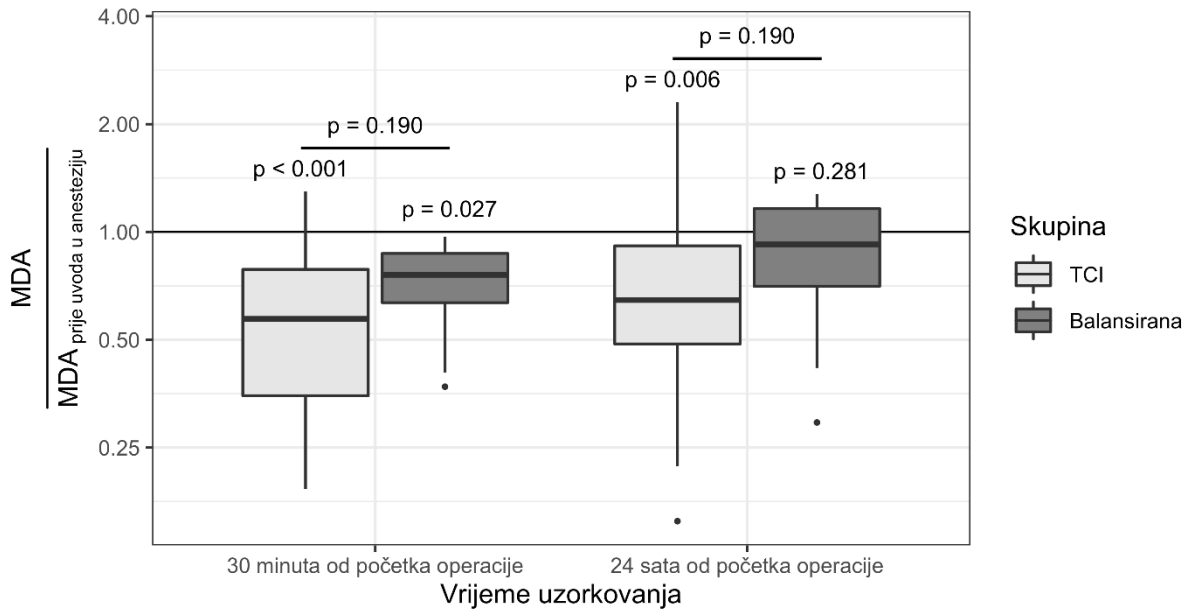
U ovom istraživanju sve koncentracije biljega oksidacijskog stresa mjerene su u objema skupinama u tri vremenske točke: prije uvoda u anesteziju, 30 min od početka operacije i 24 h od početka.

5.1. Malondialdehid

U ovom istraživanju koncentracije MDA-a mjerene su fluorescentnim detektorom. Uzorci krvi dobiveni su od 15 ispitanika u balansiranoj skupini i 16 ispitanika u TCI skupini, u kojoj je razmatrano 13 ispitanika u trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije iz tehničkih razloga prikupljanja uzoraka.

Tablica 5.1. *Koncentracija MDA-a u nmol/mL u točki prije uvoda u anesteziju (MDA_1) i omjeri koncentracija u točkama 30 min od početka operacije (MDA_2) i 24 h od početka (MDA_3) s koncentracijom u točki prije uvoda u anesteziju (MDA_1).*

vrijeme uzorkovanja	**prije uvoda u anesteziju**		**30 minuta od početka operacije**		**24 sata od početka operacije**	
anestezija	**N**	$\boldsymbol{MDA_1}$ ($\frac{nmol}{ml}$) **medijan (Q_1 – Q_3)**	**N**	$\frac{\boldsymbol{MDA_2}}{\boldsymbol{MDA_1}}$ **medijan (Q_1 – Q_3)**	**N**	$\frac{\boldsymbol{MDA_3}}{\boldsymbol{MDA_1}}$ **medijan (Q_1 – Q_3)**
TCI	15	1,108 (0,550 – 1,519)	15	0,572 (0,350 – 0,787)	15	0,645 (0,487 – 0,916)
balansirana	16	0,750 (0,573 – 1,022)	16	0,758 (0,636 – 0,871)	13	0,923 (0,705 – 1,162)



Slika 5.1. *Omjeri koncentracija MDA-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s koncentracijom MDA-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.1. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan koncentracije MDA-a 30 minuta od početka operacije 1,75 puta manji (IQR = 1,27 – 2,86) od koncentracije MDA-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost $p < 0{,}001$. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini 1,32 puta manji (IQR = 1,15 – 1,57). Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost $p = 0{,}027$. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je koncentracije MDA-a 1,55 puta manji (IQR = 1,09 – 2,05) od koncentracije MDA-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, statistički značajno uz vrijednost $p = 0{,}006$ za razliku od druge skupine gdje je 1,08 puta manji (IQR = 0,86 – 1,42) od koncentracije MDA-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost $p = 0{,}281$. Opaženo se smanjenje koncentracije MDA-a 30 min od početka operacije (u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju) u skupini u TCI anesteziji (MDA_2/MDA_1: medijan = 0,572; IQR = 0,350 – 0,787) statistički značajno ne razlikuje ($p = 0{,}190$) od smanjenja koncentracije MDA-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji (MDA_2/MDA_1: medijan = 0,758; IQR = 0,636 –

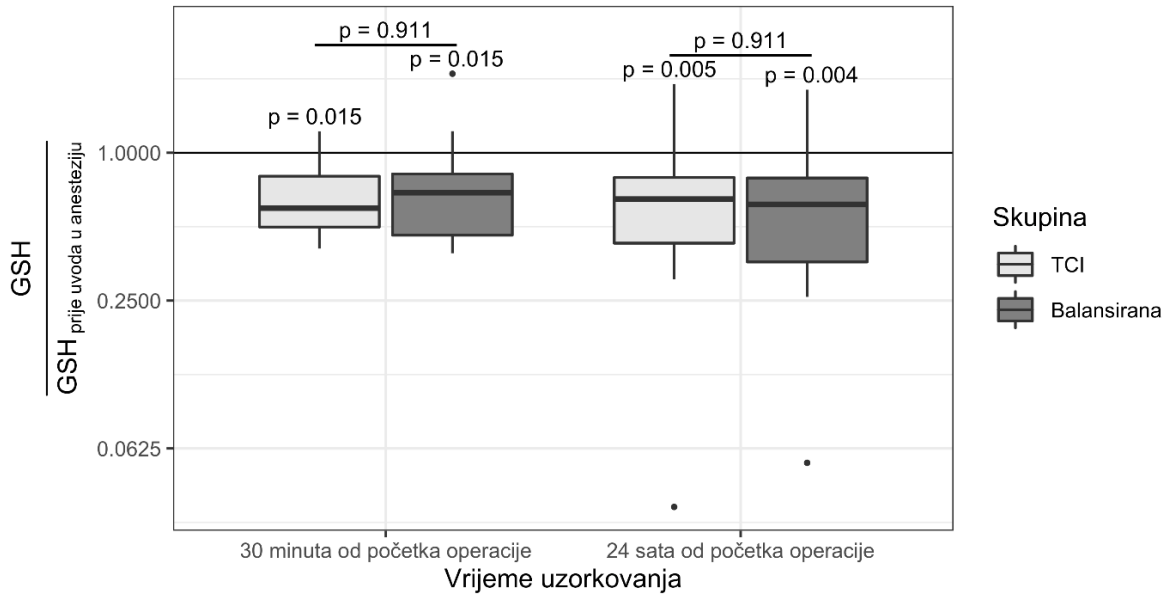
0,871). Isto vrijedi i za treću vremensku točku 24 h od početka operacije bez statistički značajne razlike (p = 0,190) (Slika 5.1.).

5.2. Glutation

Koncentracije GSH-a izmjerene su u plazmi 16 ispitanika u skupini koja je dobila TCI anesteziju i 16 ispitanika u skupini u balansiranoj anesteziji. U skupini s TCI anestezijom u drugoj i trećoj vremenskoj točki koncentracija GSH izmjerena je u 15 ispitanika, a u skupini s balansiranom anestezijom u trećoj vremenskoj točki kod 14 ispitanika.

Tablica 5.2. *Koncentracija GSH-a u točki prije uvoda u anesteziju (GSH_1) i omjeri koncentracija u točkama 30 min od početka operacije (GSH_2) i 24 h od početka (GSH_3) s koncentracijom u točki prije uvoda u anesteziju (GSH_1). Rezultati su izraženi kao intenzitet fluorescencije.*

vrijeme uzorkovanja	**prije uvoda u anesteziju**		**30 minuta od početka operacije**		**24 sata od početka operacije**	
anestezija	**N**	$\boldsymbol{GSH}$ **medijan (Q_1 – Q_3)**	**N**	$\frac{GSH_2}{GSH_1}$ **medijan (Q_1 – Q_3)**	**N**	$\frac{GSH_3}{GSH_1}$ **medijan (Q_1 – Q_3)**
TCI	16	734 (588– 803)	15	0,595 (0,498 – 0,803)	15	0,648 (0,432 – 0,795)
balansirana	16	822 (558 – 910)	16	0,688 (0,462 – 0,823)	14	0,618 (0,359 – 0,791)



Slika 5.2. *Omjeri koncentracija GSH-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s koncentracijom GSH-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.2. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan koncentracije GSH-a 30 minuta od početka operacije 1,68 puta manji (IQR = 1,25 – 2,01) od koncentracije GSH-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost p = 0,015. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini 1,45 puta manji (IQR = 1,22 – 2,16). Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost p = 0,015. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je koncentracije GSH-a 1,54 puta manji (IQR = 1,26 – 2,31) od koncentracije GSH-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, statistički značajno uz vrijednost p = 0,005 za razliku od druge skupine gdje je 1,62 puta manji (IQR = 1,26 – 2,79) od koncentracije GSH-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost p = 0,004. Opaženo se smanjenje koncentracije GSH-a 30 min od početka operacije (u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju) u skupini u TCI anesteziji (GSH_2/GSH_1: medijan = 0,595; IQR = 0,498 – 0,803) statistički značajno ne razlikuje (p = 0,911) od smanjenja koncentracije GSH-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji (GSH_2/GSH_1: medijan = 0,688; IQR = 0,462 – 0,823). Isto

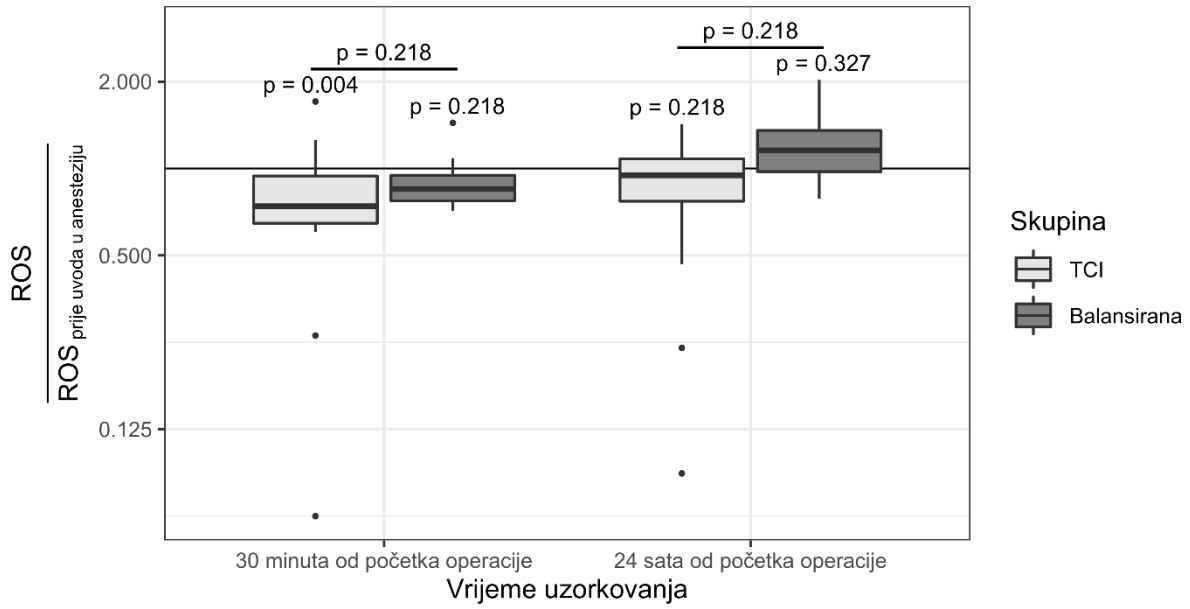
vrijedi i za treću vremensku točku 24 h od početka operacije bez statistički značajne razlike (*p* = 0,911) (Slika 5.2.).

5.3. Reaktivni kisikovi spojevi

Koncentracije ROS-a izmjerene su u plazmi 16 ispitanika u skupini u TCI anesteziji i 16 ispitanika u skupini u balansiranoj anesteziji. U skupini u TCI anesteziji koncentracije ROS-a izmjerene su u drugoj i trećoj vremenskoj točki kod 15 ispitanika, a u skupini u balansiranoj anesteziji u trećoj vremenskoj točki kod 14 ispitanika. Rezultati su izraženi kao intenzitet fluorescencije.

Tablica 5.3. *Koncentracija ROS-a u točki prije uvoda u anesteziju (ROS_1) i omjeri koncentracija u točkama 30 min od početka operacije (ROS_2) i 24 h od početka (ROS_3) s koncentracijom u točki prije uvoda u anesteziju (ROS_1). Rezultati su izraženi kao intenzitet fluorescencije.*

vrijeme uzorkovanja	prije uvoda u anesteziju		30 minuta od početka operacije		24 sata od početka operacije	
anestezija	N	ROS medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{ROS_2}{ROS_1}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{ROS_3}{ROS_1}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)
TCI	16	14705 (4542– 23604)	15	0,741 (0,646 – 0,943)	15	0,947 (0,770 – 1,081)
balansirana	16	17704 (4252 – 19107)	16	0,849 (0,773 – 0,947)	14	1,155 (0,975 - 1,356)



Slika 5.3. *Omjeri koncentracija ROS-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s koncentracijom ROS-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.3. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan koncentracije ROS-a 30 minuta od početka operacije 1,35 puta manji (IQR = 1,06 – 1,55) od koncentracije ROS-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost p = 0,04. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini 1,18 puta manji (IQR = 1,26 – 1,29). Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,218. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je koncentracije ROS-a 1,06 puta veći (IQR = 0,93 – 1,30) od koncentracije ROS-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, što statistički nije značajno uz vrijednost p = 0,218, dok je u drugoj skupini 0,87 puta veći (IQR = 0,74 – 1,03) od koncentracije ROS-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,327. Opaženo smanjenje koncentracije ROS-a 30 min od početka operacije (u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju) u skupini u TCI anesteziji (ROS_2/ROS_1: medijan = 0,741; IQR = 0,646 – 0,943) statistički se značajno ne razlikuje (p = 0,218) od smanjenja koncentracije ROS-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji (ROS_2/ROS_1: medijan = 0,849; IQR = 0,773 – 0,947). S

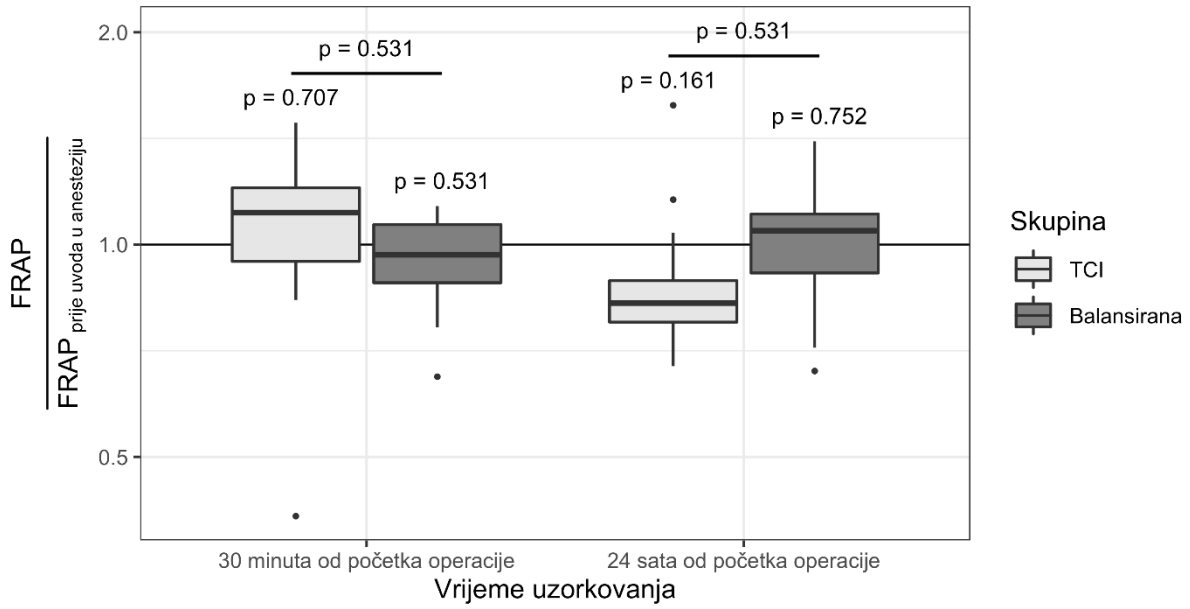
druge strane, u točki 24 h od početka operacije opaženo je povećanje bez statistički značajne razlike (p = 0,218) (Slika 5.3.).

5.4. Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme

Koncentracije FRAP-a izmjerene su u plazmi 16 ispitanika u skupini u TCI anesteziji i 16 ispitanika u skupini u balansiranoj anesteziji. U skupini u balansiranoj anesteziji koncentracije FRAP-a izmjerene su u 14 ispitanika u trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije iz tehničkih razloga prikupljanja uzoraka.

Tablica 5.4. *Koncentracija FRAP-a u nmol/mL u točki prije uvoda u anesteziju ($FRAP_1$) i omjeri koncentracija u točkama 30 min od početka operacije ($FRAP_2$) i 24 h od početka ($FRAP_3$) s koncentracijom u točki prije uvoda u anesteziju ($FRAP_1$).*

vrijeme uzorkovanja	prije uvoda u anesteziju		30 minuta od početka operacije		24 sata od početka operacije	
anestezija	N	$\boldsymbol{FRAP_1}$ ($\frac{nmol}{ml}$) medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{\boldsymbol{FRAP_2}}{\boldsymbol{FRAP_1}}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{\boldsymbol{FRAP_3}}{\boldsymbol{FRAP_1}}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)
TCI	16	0,294 (0,267 – 0,322)	16	1,110 (0,947 – 1,204)	16	0,826 (0,776 – 0,889)
balansirana	16	0,359 (0,314 – 0,426)	16	0,967 (0,883 – 1,067)	14	1,046 (0,911 – 1,105)



Slika 5.4. *Omjeri koncentracije FRAP-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s koncentracijom FRAP-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.4. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan koncentracije FRAP-a 30 min od početka operacije 0,9 puta veći (IQR = 0,83 – 1,06) od koncentracije FRAP-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,707. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini za 1,034 puta veći (IQR = 0,94 – 1,13) bez statistički značajne razlike uz vrijednost p = 0,531. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je koncentracije FRAP-a 1,21 put manji (IQR = 1,12 – 1,29) od koncentracije FRAP-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, ali nije statistički značajno uz vrijednost p = 0,161, za razliku od druge skupine gdje je 0,96 puta veći (IQR = 0,90 – 1,10) od koncentracije FRAP-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,752. Opaženo povećanje koncentracije FRAP-a 30 min od početka operacije (u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju) u skupini TCI anestezije ($FRAP_2/FRAP_1$: medijan = 1,11; IQR = 0,947 – 1,204) statistički se značajno ne razlikuje (p = 0,531) od povećanja koncentracije FRAP-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji ($FRAP_2/FRAP_1$: medijan = 0,967; IQR = 0,883 – 1,067). Nasuprot tome, u trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije ne može se reći da je došlo

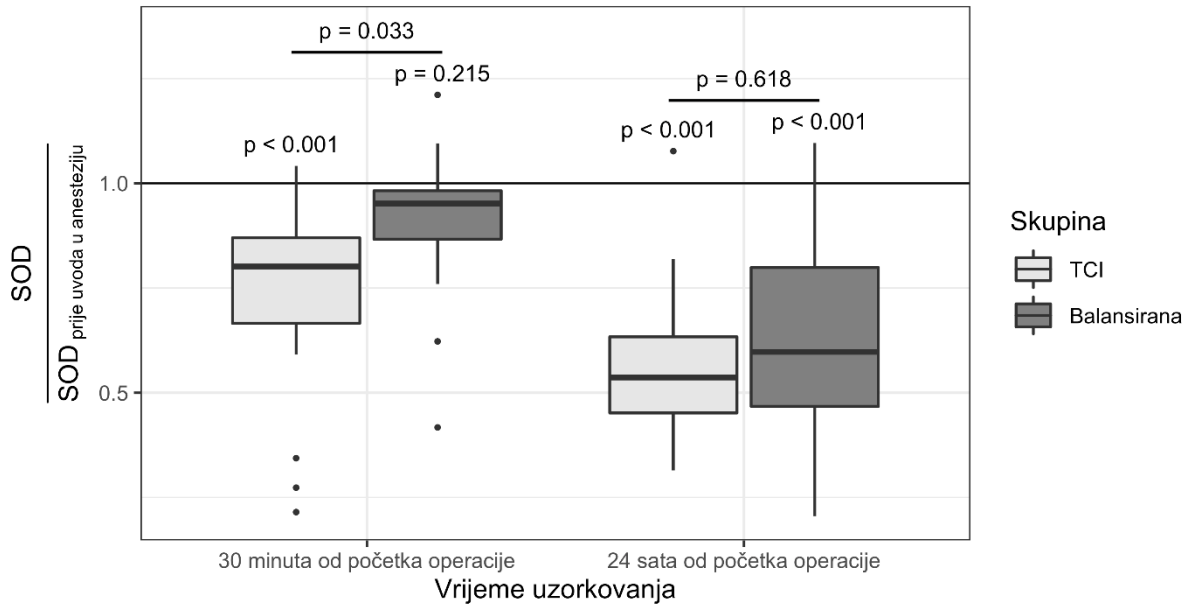
do pada medijana koncentracije FRAP-a u TCI skupini ni do porasta u balansiranoj skupini jer se statistički značajno ne razlikuju (p = 0,531) (Slika 5.4.).

5.5. Superoksid-dismutaza

Rezultati aktivnosti SOD-a izmjerene su u plazmi 16 ispitanika u skupini u TCI anesteziji i 16 ispitanika u skupini u balansiranoj anesteziji. U trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije zbog tehničkih razloga tijekom prikupljanja uzoraka, aktivnost SOD-a izmjerena je u skupini u TCI anesteziji u 15, a u skupini u balansiranoj anesteziji u 14 ispitanika.

Tablica 5.5. *Aktivnost SOD-a u U/mL u točki prije uvoda u anesteziju (SOD_1) i omjeri aktivnosti u točkama 30 min od početka operacije (SOD_2) i 24 h od početka (SOD_3) s aktivnosti u točki prije uvoda u anesteziju (SOD_1).*

vrijeme uzorkovanja	prije uvoda u anesteziju		30 minuta od početka operacije		24 sata od početka operacije	
anestezija	N	SOD_1 ($\frac{U}{ml}$) medijan (Q_1 – Q_3)	N	$\frac{SOD_2}{SOD_1}$ medijan (Q_1 – Q_3)	N	$\frac{SOD_3}{SOD_1}$ medijan (Q_1 – Q_3)
TCI	16	6,565 (5,829 – 8,204)	16	0,760 (0,630 – 0,835)	15	0,526 (0,468 – 0,602)
balansirana	16	6,964 (6,328 – 7,733)	16	0,935 (0,831 – 0,976)	14	0,574 (0,478 – 0,757)



Slika 5.5. *Omjeri aktivnosti SOD-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s aktivnosti SOD-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.5. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan aktivnosti SOD-a 30 min od početka operacije 1,32 puta manji (IQR = 1,20 – 1,59) od aktivnosti SOD-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost $p < 0{,}001$. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini za 1,07 puta manji (IQR = 1,02 – 1,20) statistički bez značajne razlike uz vrijednost $p = 0{,}215$. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je i enzima SOD-a 1,90 puta manji (IQR = 1,66 – 2,14) od aktivnosti SOD-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, što je statistički značajno uz vrijednost $p < 0{,}001$, za razliku od druge skupine gdje je 1,74 puta manji (IQR = 1,32 – 2,09) od aktivnosti SOD-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika statistički je značajna uz vrijednost $p < 0{,}001$. Opaženo smanjenje aktivnosti SOD-a 30 min od početka operacije (u odnosu na aktivnosti prije uvoda u anesteziju) u skupini TCI anestezije (SOD_2/SOD_1: medijan = 0,760; IQR = 0,630 – 0,835) statistički se značajno razlikuje ($p = 0{,}033$) od smanjenja aktivnosti SOD-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji (SOD_2/SOD_1: medijan = 0,935; IQR = 0,831 – 0,976). Nasuprot tome, u trećoj vremenskoj točki

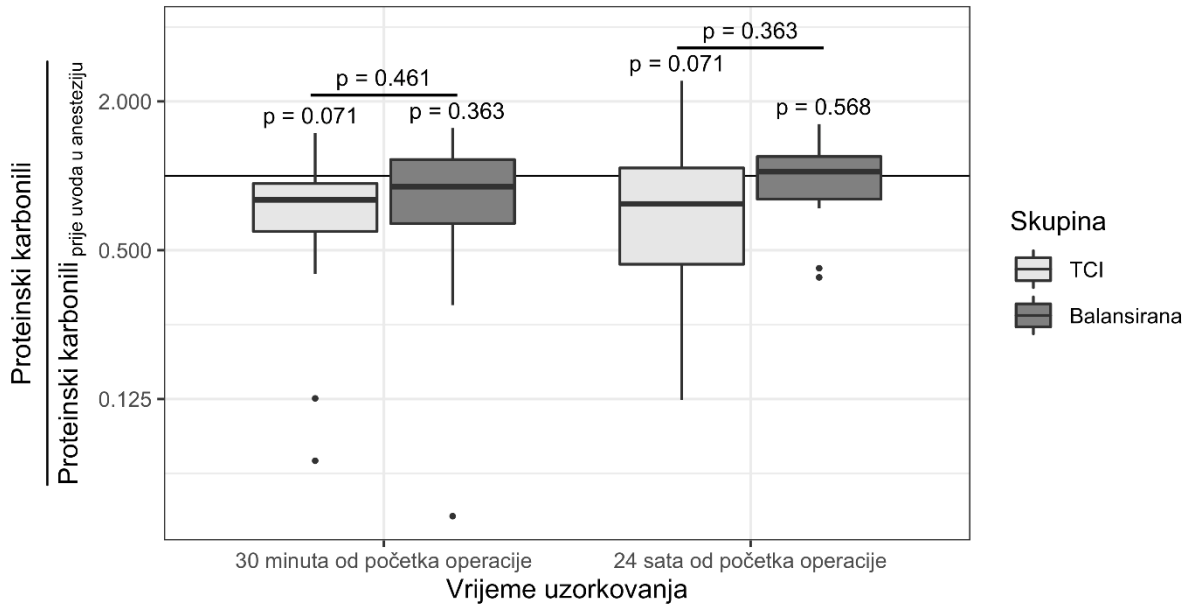
24 h od početka operacije nema statistički značajne razlike u smanjenju aktivnosti između skupina u odnosu na aktivnost prije uvoda u anesteziju (Slika 5.5.).

5.6. Proteinski karbonili

Koncentracije proteinskih karbonila (PC) izmjerene su u plazmi 16 ispitanika u skupini u TCI anesteziji i 16 ispitanika u skupini u balansiranoj anesteziji. U skupini u TCI anesteziji koncentracije PC izmjerene su u 15 ispitanika u drugoj vremenskoj točki i 14 ispitanika u trećoj vremenskoj točki zbog tehničkih razloga prikupljanja uzoraka. U skupini u balansiranoj anesteziji u trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije izmjerene su koncentracije PC-a u 12 ispitanika zbog tehničkih razloga tijekom analize.

Tablica 5.6. *Koncentracija PC-a u nmol/mg u točki prije uvoda u anesteziju (PC_1) i omjeri koncentracija u točkama 30 min od početka operacije (PC_2) i 24 h od početka (PC_3) s koncentracijom u točki prije uvoda u anesteziju (PC_1).*

vrijeme uzorkovanja	prije uvoda u anesteziju		30 minuta od početka operacije		24 sata od početka operacije	
anestezija	N	PC_1 ($\frac{nmol}{mg}$) medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{PC_2}{PC_1}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)	N	$\frac{PC_3}{PC_1}$ medijan ($Q_1 – Q_3$)
TCI	16	2,058 (1,523 – 2,908)	15	0,799 (0,599 – 0,931)	14	0,771 (0,457 – 1,076)
balansirana	16	1,753 (1,423 – 2,486)	16	0,905 (0,642 – 1,169)	12	1,040 (0,805 – 1,197)



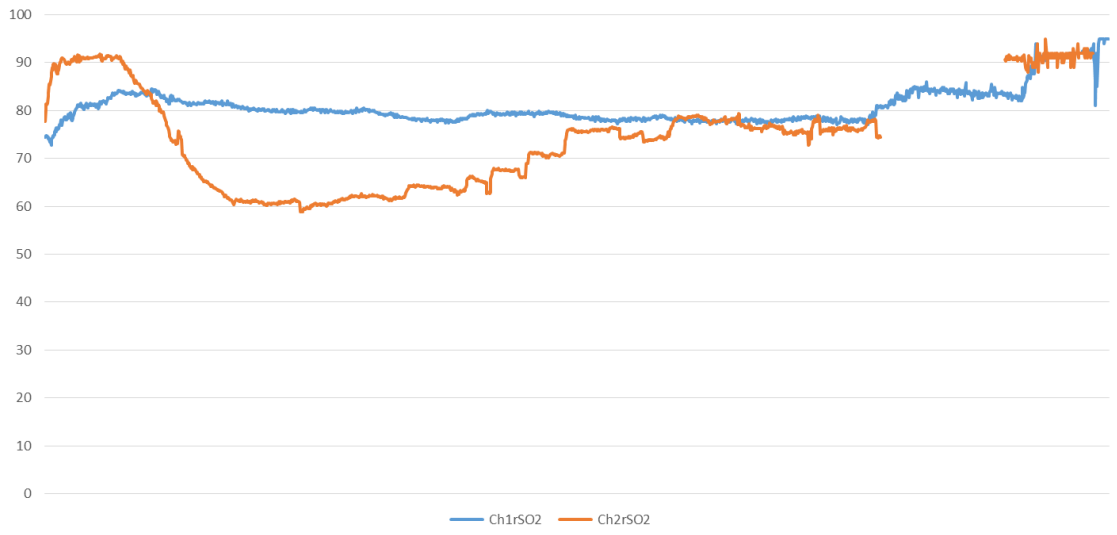
Slika 5.6. *Omjeri koncentracije PC-a u vremenskoj točki 30 min od početka operacije i 24 h od početka s koncentracijom PC-a prije uvoda u anesteziju. Statistička značajnost različitosti omjera od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je razlika omjera između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku.*

Prema rezultatima iz Tablice 5.6. vidljivo je da je u skupini ispitanika u TCI anesteziji medijan koncentracije PC-a 30 min od početka operacije 1,25 puta manji (IQR = 1,07 – 1,67) od koncentracije PC-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,071. Nasuprot tome, u balansiranoj je skupini za 1,1 put manji (IQR = 0,86 – 1,56) bez statistički značajne razlike uz vrijednost p = 0,363. U drugoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije u skupini u TCI anesteziji medijan je koncentracije PC-a 1,3 puta manji (IQR = 0,93 – 2,19) od koncentracije PC-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju, ali nije statistički značajno uz vrijednost p = 0,071, za razliku od druge skupine gdje je 0,96 puta veći (IQR = 0,84 – 1,24) od koncentracije PC-a izmjerenog prije uvoda u anesteziju. Opažena razlika nije statistički značajna uz vrijednost p = 0,568. Opaženo smanjenje koncentracije PC-a 30 min od početka operacije (u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju) u skupini TCI anestezije (PC_2/PC_1: medijan = 0,799; IQR = 0,599 – 0,931) statistički se značajno ne razlikuje (p = 0,461) od smanjenja koncentracije PC-a u skupini ispitanika u balansiranoj anesteziji (PC_2/PC_1: medijan = 0,905; IQR = 0,642 – 1,169). Nasuprot tome, u trećoj vremenskoj točki 24 h od početka operacije ne može se reći da je došlo do pada medijana

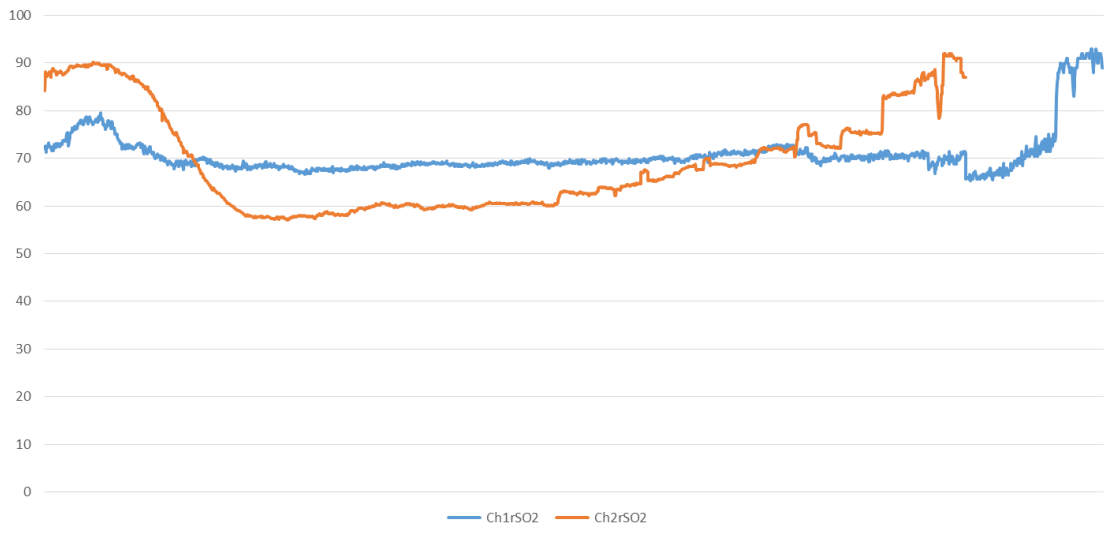
koncentracije FRAP-a u TCI skupini ni do porasta u balansiranoj skupini jer se statistički značajno ne razlikuju (p = 0,363) (Slika 5.6.).

5.7. INVOS

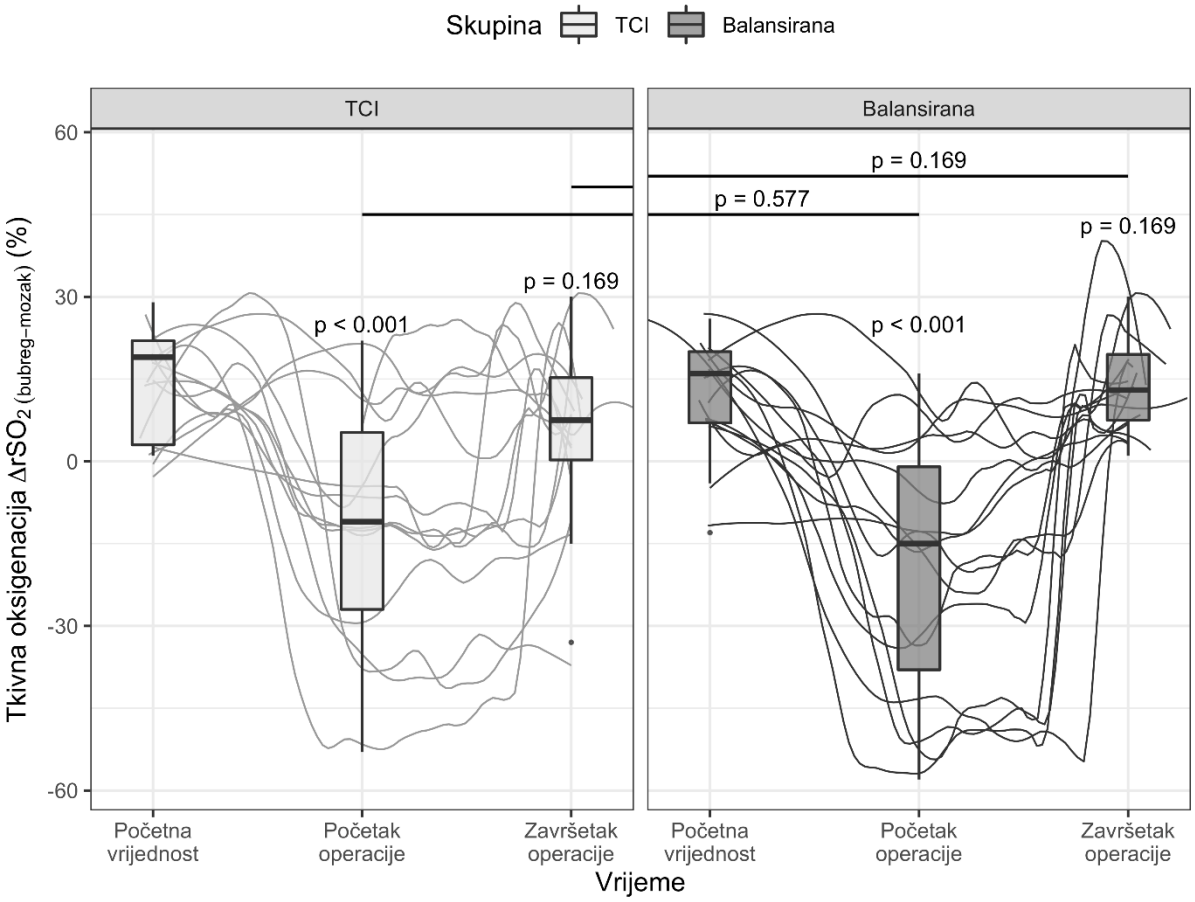
Svim ispitanicima prije uvoda u anesteziju bila su postavljena dva senzora (SomaSenzor) INVOS uređaja za praćenje moždane i somatske oksigenacije. Nakon postavljanja označila se početna (*baseline*) vrijednost. Uređaj daje mogućnost praćenja događaja tijekom operacije. Moguće je označiti početak, hemodinamski urušaj ili bilo kakvu promjenu položaja ili događaja te završetak operacije i šivanje kože. U ovom istraživanju označen je početak operacije i šivanje kože na kraju jer se ni u jednog ispitanika nije dogodio hemodinamski urušaj. Svi su ispitanici nakon uvoda u anesteziju premješteni u pregnuti bočni položaj, a senzor koji je pratio somatsku oksigenaciju na suprotnoj strani od operacijskog polja time je bio potisnut podloškom ispod bolesnika, pa je i izmjerena vrijednost oksigenacije tog senzora bila niža od početne.



Slika 5.7.a. *Srednja vrijednost oksigenacije mozga (plava krivulja – Ch1rSO₂) i somatske oksigenacije (narančasta krivulja – Ch2rSO₂) svih ispitanika skupine 1 (balansirana anestezija) za vrijeme operacije izražena u postotcima.*



Slika 5.7.b. *Srednja vrijednost oksigenacije mozga (plava krivulja – Ch1rSO₂) i somatske oksigenacije (narančasta krivulja – Ch2rSO₂) svih ispitanika skupine 2 (TCI anestezija) za vrijeme operacije izražena u postotcima.*



Slika 5.7.c. *Prikaz razlika u vremenskim točkama (početna vrijednost, početak operacije, završetak operacije) između somatske oksigenacije (Ch2rSO₂) i moždane oksigenacije (Ch1rSO₂) u skupinama. Statistička značajnost različitosti razlike od 1 naznačena je s p-vrijednosti iznad kutijastoga dijagrama, dok je značajnost razlika između skupina naznačena s p-vrijednosti iznad linije koja povezuje skupine za svaku vremensku točku. Svaka linija prikazuje jednog ispitanika.*

Prema Slici 7.5.c. vidljivo je da je u drugoj vremenskoj točki koja prikazuje početak operacije razlika između somatske i moždane oksigenacije manja od 0, što znači da je somatska oksigenacija bila značajno niža od moždane oksigenacije uz statističku značajnost $p < 0{,}001$. To smanjenje već je spomenuto zbog promjene položaja ispitanika za početak operacije. Tijekom operacije ne bilježi se značajan pad razlike između oksigenacija. Nema statistički značajne razlike tijekom i na kraju operacije između skupina.

6. RASPRAVA

Svrha je opće anestezije smanjiti potencijalno štetne utjecaje anestetika na organizam do najmanje moguće mjere, uz pravilnu primjenu stupnja anestezije. Anestetik bi trebao biti čist i stabilan, trebao bi brzo početi djelovati te ne bi trebao neželjeno utjecati na vitalne funkcije tijekom i nakon primjene. Opća anestezija zajedno s kirurškim liječenjem može promijeniti ravnotežu imunosnog i antioksidacijskog sustava. U uvodu je spomenuto da opća anestezija remeti imunosni odgovor i inducira upalne mehanizme. Neprekidno stvaranje i fiziološko uklanjanje slobodnih radikala unutar stanice omogućuje održavanje optimalnih oksidacijsko-redukcijskih uvjeta u molekularnom mikrookolišu. Time se posredno omogućuje nesmetan tijek prijenosa staničnih signala, regulacija tonusa krvnih žila i drugih biokemijskih procesa. Slobodni radikali i drugi reaktivni oblici kisika u patofiziološkim uvjetima mogu posredno ili neposredno oštetiti sve stanične dijelove i prouzročiti smrt stanice. Oni oštećuju membrane tako što potiču lipidnu peroksidaciju stvarajući lipoperoksilne radikale i druge bioreaktivne produkte, inaktiviraju stanične enzime, prouzročuju oksidaciju nekih aminokiselina ili kidaju peptidnu vezu. Osim toga, depolimeriziraju polisaharide i oštećuju DNK tako što mijenjaju baze u nukleinskim kiselinama i prouzročuju lomove polinukleotidnih lanaca (84). Najčešće je mjerljiv biljeg oksidacijskog stresa MDA. U stanici postoje mehanizmi koji je štite od toksičnoga djelovanja slobodnih kisikovih radikala. Antioksidacijska obrana organizma nastaje u stanici ili se u organizam unosi (najčešće) hranom odnosno u obliku vitaminskih suplemenata. Više staničnih enzima (enzimski antioksidansi) pretvaraju slobodne kisikove radikale u manje toksične ili netoksične produkte i time smanjuju oksidacijski stres. Istraživanja su pokazala da različiti anestetici i anesteziološke tehnike različito djeluju na stvaranje oksidacijskog stresa i antioksidacijskoga kapaciteta. Rezultati jednog istraživanja ne potvrđuju uvijek rezultate drugoga. Razlog tomu vjerojatno je u različitosti operacija, duljini i vrsti anestezije te razlici u vremenu uzimanja uzoraka krvi.

Osvrt na rezultate provedenog istraživanja

U ovom su istraživanju sudjelovala ukupno 32 ispitanika u dobi od tri do 16 godina. Slučajnim odabirom podijeljeni su u dvije skupine – balansiranu i TCI skupinu. Mjereno je šest različitih biljega oksidacijskog stresa (MDA, GSH, SOD, ROS, FRAP i proteinski karbonili) u tri različite vremenske točke: prije uvoda u anesteziju, 30 min od početka operacije i 24 h od

početka. Uspoređivao se utjecaj balansirane anestezije i anestezije vođene ciljnom koncentracijom lijeka s obzirom na veličinu oksidacijskog stresa u djece operirane po metodi Anderson-Hynes zbog stenoze pijeloureteričnog vrata.

Rezultati ovog istraživanja ne potvrđuju postavljenu hipotezu da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju. Prema dobivenim rezultatima nema statistički značajne razlike između balansirane i TCI skupine uspoređujemo li ih prije uvoda u anesteziju s vremenskim točkama 30 min i 24 h od početka operacije s obzirom na veličinu oksidacijskog stresa.

Osvrt na rezultate koncentracija oksidacijskih biljega u provedenom istraživanju i literaturnih podataka

U ovom su se istraživanju od oksidacijskih biljega analizirali MDA i proteinski karbonili. Rezultati dobivenih koncentracija prikazani su u tablicama 5.1. i 5.6. te na slikama 5.1. i 5.6. Na temelju rezultata iz Tablice 5.1. i Slike 5.1. vidljivo je da koncentracija MDA-a u obje skupine statistički značajno niža u vremenskoj točki 30 min od početka operacije u odnosu na vrijednosti prije uvoda u anesteziju, ali bez statistički značajne razlike između skupina (p = 0,190). Isto tako, koncentracija MDA-a 24 h od početka operacije statistički je značajno niža u TCI skupini (p = 0,006) u odnosu na koncentraciju prije uvoda u anesteziju. Koncentracija proteinskih karbonila nije se promijenila u 24 h od početka operacije u odnosu na prije uvoda u anesteziju.

Literaturni podatci vrlo su skromni u ovom području te su većinom temeljeni na životinjama i odrasloj populaciji. Neki autori utvrdili su da je nakon laparoskopske operacije i pneumoperitoneuma u trajanju od 40 minuta, u anesteziji s propofolom, koncentracija MDA-a u plazmi kod pasa znatno veća 12 h i 24 h nakon evakuacije plina, dok ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) nije promijenjen (85). Koncentracija MDA-a u plazmi nije bitno promijenjena u skupini od 29 davatelja jetre nakon operacije u kojoj je upotrijebljen propofol u anesteziji u usporedbi s koncentracijom MDA-a prije operacije (86). Koncentracija MDA u plazmi nije bila promijenjena u 15 pacijenata koji su bili podvrgnuti manjoj operaciji koja je trajala oko dva sata (87). U istraživanju u skupini od 50 bolesnika koji su bili u anesteziji s propofolom i 50 bolesnika koji su dobili ketamin, propofolska skupina imala je nižu peroksidaciju lipida u krvi, aktivnost GPx-a i SOD-a (88). Učinak propofola na parametre oksidacijskog stresa također je

ocijenjen u plazmi desetero djece s acijanotičnom srčanom greškom podvrgnute operaciji (89). Koncentracije MDA-a, GSH-a, laktata i piruvata u plazmi bile su nepromijenjene 30 min nakon pokretanja kardiopulmonalnoga premoštenja i na kraju operacije u odnosu na početne vrijednosti prije operacije. U studiji na 12 bolesnika koji su bili podvrgnuti laparoskopskoj kolecistektomiji, koncentracija MDA-a u plazmi znatno je smanjena minutu prije ispuhivanja i 20 min nakon ispuhivanja plina u usporedbi s koncentracijama prije upuhivanja plina u trbušnu šupljinu (90). Koncentracija MDA-a u plazmi povećala se kod 17 bolesnika tijekom djelomične hepatektomije nakon 60-minutne anestezije s propofolom u usporedbi s vrijednostima prije anestezije, a vraćanje u početne vrijednosti trajalo je oko 24 sata (38).

S druge strane, u odraslih mužjaka štakora izloženost sevofluranu četiri sata povećala je koncentraciju MDA-a u jetri, bubrezima, mozgu i plućima, ali se aktivnost SOD-a nije promijenila u usporedbi s kontrolnim skupinama (91). Takav tretman smanjio je aktivnost GPx-a u bubrezima. Učinak sevoflurana i izoflurana uspoređivan je u istraživanju na štakorima s transplantacijom jetre. U skupini „davatelja“ i „primatelja“, koji su bili anestezirani jednim od anestetika, koncentracija TBARS-a u serumu bila je znatno niža kod štakora anesteziranih sevofluranom (92). Sevofluran ima blagotvoran učinak koji je doveo do smanjene razine MDA-a u jetri štakora nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede (31). U nekoliko ispitivanja na ljudima utvrđeno je da sevofluran ne povećava oksidacijski stres u perifernoj krvi ili se pak vraća u normalne vrijednosti od 24 do 48 h nakon izlaganja. U spomenutim istraživanjima koncentracije MDA-a i proteinskih karbonila u plazmi nisu se razlikovale kod 20 bolesnika prije te 16 h i 24 h nakon laparoskopske operacije (93). U drugoj studiji kod skupine od 20 bolesnika koji su bili podvrgnuti zahvatima na donjim ekstremitetima, u općoj anesteziji sevofluranom i uz primjenu Esmarchova poveza koji prouzročuje ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu, izmjerene su aktivnost GPx-a i koncentracija MDA-a u serumu (94). Uzorci krvi uzeti su prije uvoda u anesteziju, odmah nakon puštanja poveza i 48 h nakon toga. Koncentracija GPx-a bila je znatno veća u uzorcima krvi uzetima neposredno nakon oslobađanja poveza s daljnjim porastom 48 h nakon toga, dok se koncentracija MDA-a u serumu nije mijenjala tijekom operacije i 24 h nakon toga, ali se znatno smanjila nakon 48 h.

Osvrt na rezultate koncentracija antioksidacijskih biljega oksidacijskog stresa u ovom istraživanju i literaturnih podataka

U ovom su se istraživanju od antioksidacijskih biljega analizirali aktivnost SOD-a te koncentracije GSH-a i FRAP-a. Rezultati dobivenih koncentracija prikazani su u tablicama 5.2., 5.4. i 5.5. te na slikama 5.2., 5.4. i 5.5. Na temelju rezultata vidljivo je da je aktivnost SOD-a u TCI skupini statistički značajno manja 30 min od početka operacije ($p < 0{,}001$), dok u objema skupinama dolazi do pada aktivnosti SOD-a 24 h od početka uz značajnu statističku razliku ($p < 0{,}001$), ali bez značajne statističke razlike između skupina ($p = 0{,}618$) u usporedbi s koncentracijom prije uvoda u anesteziju. Isti se trend vidi mjerenjem koncentracije GSH-a, koji je niži i to u objema skupinama u objema vremenskim točkama, ali bez statistički značajne razlike između skupina ($p = 0{,}911$). Ukupni antioksidacijski kapacitet plazme nije se promijenio 24 h od početka operacije u odnosu na onaj prije uvoda u anesteziju.

Na eksperimentalnom modelu pasa nađeno je smanjenje TAC-a u plazmi nakon laparotomije i gastrotomije na kraju anestezije propofolom (95). Suprotno tome, koncentracija TBARS-a u plazmi, omjer reduciranog i oksidiranog glutationa (GSH/GSSG) i koncentracija antioksidacijskih enzima SOD-a, katalaze (CAT) i glutation-reduktaze (GR) nisu bili modificirani četverosatnom infuzijom propofola (25 i 62,5 mg/kg/h) (96).

S druge strane, u jetri ženki štakora dvosatna izloženost sevofluranu prouzročila je povećanje aktivnosti glutation-sintetaze (GST) i SOD-a, kao i razinu TBARS-a u usporedbi s kontrolnim skupinama iste dobi (97).

U studiji kod 24 djece u dobi od 12 do 36 mjeseci podvrgnute rekonstrukciji hipospadije u anesteziji sevofluranom oksidacijski stres izmjeren je u krvi uzetoj nakon indukcije u anesteziju te dva sata i tri dana nakon toga (98). U staničnom dijelu krvi uzete nakon indukcije u anesteziju, dva sata i tri dana nakon toga utvrđeno je da sevofluran povećava koncentracije SOD-a i GPx-a dva sata nakon operacije, a u uzorcima nakon tri dana nađene su njihove prijeoperacijske vrijednosti.

Nedostatak promjene aktivnosti enzima GPx-a u perifernoj krvi također je primijećen u skupini od 15 bolesnika u dobi od 15 do 50 godina koji su bili u općoj anesteziji sevofluranom (99). U skupini bolesnika koji su bili podvrgnuti laparoskopskoj kolecistektomiji TAS je bitno porastao, dok se TOS nije mijenjao u uzorcima krvi uzetima neposredno nakon završetka operacije u odnosu na prijeoperacijske vrijednosti.

Usporedba rezultata provedenog istraživanja i literaturnih podataka o oksidacijskom stresu izazvanom intravenskim anesteticima

Propofol je jedan od najčešće korištenih intravenskih anestetika koji ima vrlo sličnu kemijsku strukturu kao α-tokoferol (vitamin E). Vitamin E štiti staničnu membranu od kisikovih radikala stvorenih u oksidacijskom stresu (100). Propofol povećava antioksidacijski kapacitet plazme u ljudi. Njegovo djelovanje temelji se na stvaranju relativno slabije reaktivnih slobodnih radikala koji djeluju poput antioksidansa koji prekidaju lanac oksidacije. Nadalje, povećava aktivnost antioksidacijskog sustava GSH (26). U nekoliko *in vitro* i *in vivo* studija propofol može izravno ukloniti ROS, inhibirati stvaranje slobodnih radikala i peroksidaciju lipida na pokusnim modelima te zaštititi stanice mozga od oksidacijskog stresa (101). Može se reći da propofol djeluje kao neuroprotektivno sredstvo, posebno u stanjima cerebralne ishemije i IRI-a. Propofol aktivira receptore gama-amino-maslačne kiseline (engl. *gaba-Aminobutyric acid,* GABA), odnosno modulira ekscitacijske aminokiseline u mozgu. Uz to, propofol sprječava apoptozu i upalu te regulira proteine ili ionsku homeostazu koji imaju neuroprotektivne učinke (101). Ipak, rezultati ovog istraživanja nisu potvrdili hipotezu da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka, u ovom slučaju propofolom, ne prouzročuje manji oksidacijski stres u odnosu na skupinu u balansiranoj anesteziji.

Postoje različita istraživanja o drugim intravenskim anesteticima koji se u ovom istraživanju nisu koristili, a to su tiopental, ketamin i etomidat te o njihovu utjecaju na oksidacijski stres. Tiopental (2–tio-5-etil-5-sek-pentilbarbiturna kiselina) je intravenski anestetik koji se ubraja u skupinu barbiturata, a danas se mnogo češće koristi za indukciju u brzom slijedu (engl. *rapid sequence intubation,* RSI) nego za održavanje anestezije. Studije na životinjama o učincima tiopentala na oksidacijski stres pokazuju neujednačene rezultate. U štakora s kontuzijskom ozljedom leđne moždine pokazao je blagotvorne učinke, koncentracija MDA-a leđne moždine bila je znatno niža nego u kontrolnih štakora koji nisu bili liječeni tiopentalom (32). U drugom istraživanju, za razliku od toga, štakori su pokazali veću razinu koncentracije MDA-a i niže razine koncentracija GSH-a, GPx-a i GSHR-a u mozgu, srcu i bronhijalnom tkivu (102). U pasa s kirurškom traumom tiopental je bitno povećao TOS u plazmi, dok je TAS ostao nepromijenjen, što je rezultiralo povećanim OSI indeksom (95). S druge strane, u istraživanju na bolesnicima koji su bili podvrgnuti laparoskopskoj kolecistektomiji, koncentracija MDA-a u plazmi tijekom cijele operacije nije se mijenjala, što je sugeriralo da tiopental ima antioksidacijska svojstva (90).

Drugi intravenski anestetik koji se koristi jest ketamin ($C_{13}H_{16}ClNO$), antagonist receptora N-metil-D-aspartata (NMDA) (25). *In vitro* je zabilježeno da ketamin proizvodi toksične učinke samo u mnogo većim koncentracijama od onih kojima se koristimo u općoj anesteziji (103,104). U istraživanju u kojem je koncentracija ketamina u plazmi odgovarala koncentraciji tijekom anestezije (30 μg/mL) proizvodnja reaktivnih kisikovih spojeva u neutrofilima ($O_2•^-$, H_2O_2 i $OH•^-$) nije se razlikovala od kontrolne skupine (105). U studiji na štakorima ketamin pokazuje zaštitne učinke protiv oksidacijskog stresa. Zapravo, ketaminska anestezija rezultirala je znatno nižim koncentracijama MDA-a u bubrežnom i jetrenom tkivu u odnosu na propofol, tiopental i fentanil (106). Nasuprot tome, druga skupina autora našla je znatno veću razinu MDA-a i niže razine GSHR-a i GPx-a, što je pripisala povećanim razinama adrenalina koje nastaju djelovanjem ketamina, a poznato je da adrenalin inducira oksidacijski stres (107). Pokazalo se da i kod miševa ketamin ublažava (sekundarnu) ozljedu mozga koja se događa kada proizvodnja ROS-a prevlada antioksidacijski kapacitet (108). Nađene su smanjena koncentracija MDA-a u mozgu i povećana aktivnost GPx-a, SOD-a i NRf2 uz bitno smanjen sadržaj vode u mozgu i poboljšanu ocjenu moždane funkcije (test hvata). U malobrojnim istraživanjima nađen je pozitivan učinak djelovanja ketamina na ljude. U odraslih bolesnika i djece tijekom kardiokirurške operacije ketamin je ublažio upalni odgovor smanjenjem proupalnih IL-6 i IL-8 i/ili povećanjem protuupalnog IL-10 (109,110).

Za razliku od ketamina, etomidat (R- (+) – 1 - (α-metilbenzil)-imidazol-5-etilkarboksilat-sulfat) kratkotrajni je intravenski anestetik, čiji R (+) enantiomer ima mnogo veće hipnotičko djelovanje od S (-) enantiomera. U kliničkoj je upotrebi od 1972. godine, a zahvaljujući svojim minimalnim učincima na krvni tlak i disanje, idealan je za nestabilne bolesnike i u kardiokirurškoj anesteziji. Međutim, njegova upotreba kao anestetika ograničena je otkako su objavljeni izvještaji o ozbiljnoj supresiji adrenokortikalne funkcije (25,111). Manje se upotrebljava za uvod u anesteziju u kritično bolesnih jer supresijom nadbubrežne žlijezde smanjuje oslobađanje kortizola, a time jače suprimira protuupalni odgovor (112). *In vitro*, etomidat ne utječe na proizvodnju TBARS-a i obrambeni sustav glutationa (GPx, GSHR, GST) (28). Slično je primijećeno u istraživanjima na životinjama. Čini se da etomidat ne utječe na razinu MDA-a, ne mijenja ni aktivnost SOD-a u mozgu štakora, dok znatno smanjuje razinu MDA-a i povećava razinu GSH-a u leđnoj moždini nakon ozljede (113,114). U studijama na ljudima njegov se učinak na razinu MDA-a u plazmi uspoređivao s učinkom tiopentala i propofola. U bolesnika koji su bili podvrgnuti laparoskopskoj kolecistektomiji, etomidat je povećao razinu MDA-a prije i nakon desuflacije intraabdominalnog plina u usporedbi s drugim anesteticima (90). U drugom istraživanju sa 60 pacijenata koji su bili podvrgnuti operaciji zbog

frakture potkoljenice etomidat nije utjecao na aktivnost SOD-a, a bolesnici koji su ga primali imali su kraće vrijeme hospitalizacije zbog manje poslijeoperacijskih komplikacija (115).

Usporedba rezultata provedenog istraživanja i literaturnih podataka o oksidacijskom stresu izazvanom inhalacijskim anesteticima

Inhalacijski anestetici induciraju oksidacijski stres i upalni odgovor otpuštajući slobodne radikale poput upalnih medijatora i superoksidnih aniona smanjujući tako antioksidacijski kapacitet. Ti anestetici mogu inhibirati slobodne radikale do danas nepoznatim mehanizmom pa se smatra da redukcija intracelularnoga kalcija dovodi do povećane intersticijske glikolize metabolita (glukoza, laktat, piruvat) u skeletnim mišićima tijekom IRI-a. Međutim, postoje i proturječne studije koje to ne dokazuju, nego suprotno, govore u prilog povećanju antioksidacijskoga kapaciteta. S obzirom na složenost patogeneze i brojna međudjelovanja čimbenika tijekom IRI-a mogući su različiti ishodi utjecaja inhalacijskih anestetika na oksidacijski stres (91,99).

Rezultati ovog istraživanja nisu potvrdili hipotezu da balansirana anestezija upotrebom sevoflurana prouzročuje veći oksidacijski stres u odnosu na TCI anesteziju kod djece koja su bila podvrgnuta operaciji zbog stenoze pijeloureteričnog vrata. Već je spomenut utjecaj sevoflurana na oksidacijski stres, a dalje slijedi osvrt na ostale volatilne anestetike.

Desfluran (1,2,2,2-tetrafluoroetil difluorometileter) ima koeficijent raspodjele plinova u krvi niži od ostalih inhalacijskih anestetika, što omogućuje brz oporavak od opće anestezije, ali zbog svojega iritantnog mirisa nije pogodan za uvod u anesteziju kod djece. Postoji nekoliko istraživanja o utjecaju desflurana na oksidacijski stres. U jednom istraživanju na životinjama nađena je povišena koncentracija MDA-a i niža koncentracija GPx-a u odnosu na skupinu koja je dobila sevofluran i propofol (116). U istraživanjima na ljudima dokazano je da povećava oksidacijski stres nakon elektivnoga kirurškog zahvata smanjujući razinu α-tokoferola (117) ili povećava razinu MDA-a i proteinskih karbonila nakon šest sati anestezije desfluranom (116).

Izofluran (2-kloro-2-(difluorometoksi)-1,1,1-trifluoro-etan) zahvaljujući svojoj niskoj topljivosti prouzročuje sporu indukciju i oporavak iz anestezije. Pokazuje antioksidacijska svojstva u *in vitro* istraživanjima, dok *in vivo* povećava oksidacijski stres povećavajući lipidnu peroksidaciju. Istraživanja čiji rezultati pokazuju veći oksidacijski stres temelje se na većim operacijama i duljoj izloženosti izofluranu (116).

Poznato je da N_2O (dušični oksid) ireverzibilno inaktivira metionin sintetazu, što dovodi do povećane koncentracije homocisteina u plazmi koji inhibira ekspresiju antioksidacijskih enzima

uključujući i GPx (118). U jednom istraživanju na medicinskim sestrama pokazala se pozitivna povezanost između razine izloženosti N_2O i oksidacijskog oštećenja DNK-a, što je mjereno Fpg-modificiranim kometskim testom. Medicinske sestre koje su bile izložene imale su znatno veći ROS u limfocitima i razinu TBARS-a u plazmi i urinu te nižu aktivnost GPx-a nego zdravstveni djelatnici koji nisu bili izloženi (116).

Nedostatci provedenog istraživanja

Glavni je nedostatak ovog istraživanja nedovoljna količina krvnih uzoraka nastala zbog smanjena broja elektivnih operacija u uvjetima epidemije COVID-19 i potresa u Zagrebu koji je znatno utjecao na Kliniku za dječje bolesti Zagreb i Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada. Za ovo je istraživanje planirano 60 ispitanika, no skupljeni su uzorci 32 ispitanika.

Drugi je nedostatak što uzorci nisu uvijek uzeti na identičan način zbog tehničkih razloga. U jednom slučaju ispitanik je nakon operacije dobio paravertebralni blok za poslijeoperacijsku analgeziju.

Kao nedostatak može se navesti i dobna skupina ispitanika. Vrlo je velika razlika između vođenja anestezije ciljnom koncentracijom lijeka u djeteta od tri godine i 16 godina zbog fizioloških osobina ispitanika i farmakokinetičkih i farmakodinamičkih osobina lijeka, u ovom slučaju propofola.

Prednosti provedenog istraživanja

Ovo istraživanje novo je poglavlje dječje anestezije koje uspoređuje dvije anesteziološke tehnike s obzirom na veličinu oksidacijskog stresa. Određujući veličinu oksidacijskog stresa između balansirane anestezije i anestezije vođene ciljnom koncentracijom lijeka i uspoređujući ih s dosad poznatim podatcima iz literature, prvi put takve informacije postaju dostupne. Isto tako, potaknuti rezultatima ovog istraživanja, drugi bi se anesteziolozi trebali koristiti TCI pumpom za vođenje anestezije u dječjoj kirurgiji.

U ovom se istraživanju koristila TCI pumpa za vođenje anestezije ciljnom koncentracijom lijeka, što je vrlo rijetko u Hrvatskoj i svijetu, zbog čega su i literaturni podatci vrlo oskudni.

Upotreba nadzora za dubinu anestezije i praćenje cerebralne i somatske oksimetrije nije dio standardnoga anesteziološkog nadzora u dječjoj anesteziji.

Predviđanje daljnjih istraživanja

Ovo se istraživanje nadovezuje na dosad skromna istraživanja oksidacijskog stresa u dječjoj anesteziji i kao najiscrpnije istraživanje na temelju dviju različitih anesterioloških tehnika može biti osnova budućim sličnim istraživanjima na drugim operacijama u dječjoj kirurgiji.
Dobiveni rezultati pokazuju potrebu za provođenjem budućih istraživanja koja bi izborom operacijskog zahvata druge kirurške vrste, zahvata duljeg trajanja i mjerenja drugih ili istih biljega oksidacijskog stresa u drugim vremenskim točkama mogla potvrditi postavljenu hipotezu ovog istraživanja ili rezultate dobivene u njemu.
Zaključno, buduća bi istraživanja trebala odgovoriti na pitanje koji operacijski zahvat i koja anesteziološka tehnika, uspoređujući anesteziju vođenu ciljnom koncentracijom lijeka i balansiranu, izaziva manji oksidacijski stres u djece.

7. ZAKLJUČAK

Rezultati provedenoga istraživanja ne potvrđuju postavljenu hipotezu da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju.
Prema svim dobivenim rezultatima nema statistički značajne razlike u skupinama.

Na osnovi rezultata ovog istraživanja može se zaključiti:

1. Biljezi oksidacijskog stresa u djece u dobi od tri do 16 godina tijekom operacije po metodi Anderson-Hynes statistički se značajno ne razlikuju s obzirom na vrstu anestezije.

2. Koncentracija MDA-a u plazmi 30 minuta od početka operacije značajno se smanjuje u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju, ali nema statistički značajne razlike između skupina.

3. Koncentracija MDA-a u plazmi 24 h od početka operacije značajno je niža od koncentracije prije uvoda u anesteziju u skupini ispitanika koja je dobila TCI anesteziju.

4. Koncentracija GSH-a u plazmi 30 min od početka operacije i 24 h nakon nje značajno je različita od koncentracije prije uvoda u anesteziju, ali nema statistički značajne razlike između skupina.

5. Koncentracija ROS-a u plazmi 30 min od početka operacije u skupini koja je dobila TCI anesteziju značajno je niža od koncentracije prije početka operacije.

6. Koncentracije FRAP-a ne mijenjaju se u vremenskim točkama 30 min i 24 h od početka operacije u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju u obje ispitivane skupine.

7. Aktivnost SOD-a u plazmi 30 min od početka operacije niža je u odnosu na aktivnost prije uvoda u anesteziju, uz statistički značajnu razliku između skupina.

8. Aktivnost SOD-a u plazmi 24 h nakon operacije značajno je niža u objema skupinama, ali nema značajne statističke razlike između skupina.

9. Koncentracije PC-a u plazmi ne mijenjaju se 30 min i 24 h od početka operacije u odnosu na koncentracije prije uvoda u anesteziju u obje ispitivane skupine.

10. Promjena položaja ispitanika iz horizontalnoga supinacijskog položaja u pregnuti bočni položaj često je bila uzrokom somatske, u ovom slučaju perirenalne desaturacije.

Rezultati ovog istraživanja ne potvrđuju postavljenu hipotezu da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju.
U zaključku prema dobivenim rezultatima nema statistički značajne razlike između balansirane i TCI skupine uspoređujemo li ih prije uvoda u anesteziju s vremenskim točkama 30 min i 24 h od početka operacije s obzirom na veličinu oksidacijskog stresa.

8. SAŽETAK

Oksidacijski stres nastaje kada proizvodnja ROS-a nadvlada staničnu zaštitu antioksidansima. Definira se kao pomak ravnoteže u staničnim oksidacijsko-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Riječ je o stanju prekomjernog stvaranja slobodnih radikala kisika koji oštećuju staničnu membranu, razgrađuju višestruko nezasićene masne kiseline, pri čemu nastaju produkti lipidne peroksidacije, oksidiraju neke aminokiseline ili kidaju peptidnu vezu, depolimeriziraju polisaharide i oštećuju DNK. Opća anestezija i kirurško liječenje mogu promijeniti ravnotežu imunosnog i antioksidacijskog sustava, što povećava stopu komplikacija i odgađa oporavak nakon operacije. Važno je znati koji su učinci anestetika na oksidacijski stres, posebno u operacijama s visokom produkcijom ROS-a, jer njihov aditivni ili antagonistički učinak može biti presudan za ishod operacije. Studije *in vitro* i studije na životinjama na tu temu brojne su, ali pokazuju veliku varijabilnost. Nema puno studija na ljudima, a ono što znamo, temelji se na različitim operacijama i na biljezima oksidacijskog stresa koji su različito mjereni najčešće prije i nakon nje. Dosad većina intravenskih anestetika ima antioksidacijska svojstva, dok inhalacijski anestetici pri duljim operacijama privremeno povećavaju oksidacijski stres.

Hipoteza je ovog istraživanja bila da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju. Cilj je ovog istraživanja bio utvrditi anesteziološku tehniku (balansirana, TCI/TIVA) koja izaziva manji oksidacijski stres u djece s hidronefrozom podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes zbog stenoze pijeloureteričnog vrata. Osim toga, specifično je trebalo utvrditi dinamiku kretanja markera oksidacijskog stresa u perioperacijskom razdoblju: prije uvoda u anesteziju, 30 min i 24 h od početka operacije.

Prikupljeni su uzorci krvi u 32 ispitanika u dobi od tri do 16 godina u trima navratima u perioperacijskom razdoblju: prije uvoda u anesteziju, 30 min i 24 h od početka operacije. Uzorci krvi pohranjeni su u zamrzivaču na -20 °C te analizirani na kraju istraživanja. Analizirani su MDA, GSH, SOD, ROS, FRAP i proteinski karbonili.

Rezultati provedenog istraživanja nisu potvrdili postavljenu hipotezu da anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom, podvrgnute operaciji po metodi Anderson-Hynes, izražava manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju.
Uspoređujući sve koncentracije biljega oksidacijskog stresa mjerene u ovom istraživanju, one se nisu statistički značajno razlikovale između skupina u odnosu na vrijeme prikupljanja.

Originalni rezultati ovog istraživanja omogućit će i dalje korištenje objema anesteziološkim tehnikama kod takve operacije bez dodatna povećavanja oksidacijskog stresa koji ona prouzročuje. Isto tako, rezultati ovog istraživanja proširit će saznanja o utjecaju balansirane anestezije i anestezije vođene ciljnom koncentracijom lijeka na veličinu oksidacijskog stresa u djece.

9. SUMMARY

Title of doctoral thesis: *Comparison of the Effect of Balanced Anesthesia and Anesthesia with Target Controlled Infusion in Children with Hydronephrosis Due to the Size of Oxidative Stress*

Oxidative stress occurs when reactive oxygen species (ROS) production overwhelms the cell protection by antioxidants. This condition could damage the cell membrane, decompose polyunsaturated fatty acids, creating products of lipid peroxidation, cause oxidation of an amino acid, depolymerized polysaccharides and damage DNA. It is important to know what effects of anesthetics to expect in terms of oxidative stress, particularly in surgical procedures with high ROS production, because their either additive or antagonistic effect may be pivotal for the outcome of surgery. *In vitro* and animal studies on this topic are numerous, but show large variability. There are not many human studies and the best of our knowledge has been learned from different surgical procedures measuring different endpoints in blood samples taken mostly before and after surgery. Usually intravenous anesthetics have antioxidative properties, while volatile anesthetics temporarily increase oxidative stress in longer surgical procedures. This research is to determine the magnitude of oxidative stress between balanced anesthesia and anesthesia with Target Controlled Infusion in children subjected to Anderson-Hynes operation. Oxidative sress induced by general anesthesia is an important factor in causing higher rate of postoperative complications and delayed recovery after surgery.

Name of the author: Sandra Alavuk Kundović

Year: 2020

10. LITERATURA

1. Jones DP. Redefining oxidative stress. Antioxid Redox Signal. 2006;8:1865–79.
2. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 5. izd. Free Radicals in Biology and Medicine. USA: Oxford University Press; 2015. Str 22.
3. Kevin LG, Novalija E, Stowe DF. Reactive oxygen species is mediators of cardiac injury and protection: The relevance to anesthesia practice. Anesth Analg. 2005;101(5):1275–87.
4. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J. 2012;5(1):9–19.
5. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. Biochim Biophys Acta - Gen Subj. 2013;1830(5):3289–303.
6. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur J Med Chem. 2015;97:55–74.
7. Csala M, Kardon T, Legeza B, Lizák B, Mandl J, Margittai É, et al. On the role of 4-hydroxynonenal in health and disease. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis. 2015;1852(5):826–38.
8. Milne GL, Sanchez SC, Musiek ES, Morrow JD. Quantification of F2-isoprostanes as a biomarker of oxidative stress. Nat Protoc. 2007;2(1):221–6.
9. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2005;15(4):316–28.
10. Ansari J, Gavins FNE. Ischemia-Reperfusion Injury in Sickle Cell Disease: From Basics to Therapeutics. Am J Pathol. 2019;189(4):706–18.
11. Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. Biochem Biophys Res Commun. 2003;305(3):761–70.
12. Al-Omar MA, Beedham Ch AA. Pathological roles of reactive oxygen species and their defence mechanisms. Saudi Pharm J. 2004;12(1):1–18.
13. Simon H. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. Apoptosis. 2000;5:415–8.
14. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. Cell Signal. 2012;24(5):981–90.
15. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. Curr

Biol. 2014;24(10):R453–62.

16. Lee J, Anderson PC, Padgitt JK, Hanson JM, Waters CM, Johnson JA. Nrf2 , not the estrogen receptor , mediates catechol estrogen-induced activation of the antioxidant responsive element. Biochim Biophys Acta. 2003;1629:92–101.
17. Yin J, Ren W, Wu X, Yang G, Wang J, Li T, i sur. Oxidative stress-mediated signaling pathways: A review. J Food, Agric Environ. 2013;11(2):132–9.
18. Baysal Z, Cengiz M, Ozgonul A, Cakir M. Oxidative status and DNA damage in operating room personnel. Clin Biochem. 2009;42(3):189–93.
19. Glantzounis GK, Tselepis AD, Tambaki AP, Trikalinos TA, Manataki AD, Galaris DA, i sur. Laparoscopic surgery-induced changes in oxidative stress markers in human plasma. Surg Endosc. 2001;15:1315–9.
20. Absalom AR, Struys MM. Overwiew of Target Controlled Infusions and Total Intravenous Anaesthesia. Gent, Academia Press; 2007. Str. 9-12.
21. Gaynor J, Ansermino JM. Paediatric total intravenous anaesthesia. BJA Educ. 2016;16(11):369–73.
22. Anderson BJ, Houghton J. Total Intravenous Anesthesia and Target-Controlled Infusion. 6. izd. A Practice of Anesthesia for Infants and Children. Elsevier Inc.; 2019. Str. 177-98.
23. Jukić M, Husedžinović I, Kvolik S, Majerić Kogler V, Perić M. Klinička anesteziologija, drugo, izmjenjeno i dopunjeno izdanje. Zagreb, Medicinska naklada; 2013. Str. 39-46.
24. Mirrakhimov AE, Voore P, Halytskyy O, Khan M, Ali AM. Propofol infusion syndrome in adults: A clinical update. Crit Care Res Pract. 2015;2015.
25. Stoelting RK, Shafer S, Flood P, Rathmell JP. Stoelting's Pharmacology and Physiology in Anesthetic Practice. Fifth Edition. Philadelphia, USA, Wolters Kluwer Health; 2015. Str. 98-204.
26. Boisset S, Patrick JS, Favetta P. Relative antioxidant capacities of propofol and its main metabolites. Arch Toxicol. 2004;78:635–42.
27. Aarts L, van der Hee R, Dekker I, de Jong J, Langemeijer H, Bast A. The widely used anesthetic agent propofol can replace α-tocopherol as an antioxidant. FEBS Lett. 1995;357(1):83–5.
28. De La Cruz JP, Sedeno G, Carmona JA. The In vitro Effects of Propofol on Tissular Oxidative Stress in the Rat. Anesth Analg. 1998;87:1141–6.
29. Li Y, Zhong D, Lei L, Jia Y. Propofol Prevents Renal Ischemia- Reperfusion Injury via Inhibiting the Oxidative Stress Pathways. Cell Physiol Biochem. 2015;37:14–26.

30. Bellanti F, Mirabella L, Mitarotonda D, Blonda M, Tamborra R, Cinnella G, i sur. Free Radical Biology and Medicine Propofol but not sevo fl urane prevents mitochondrial dysfunction and oxidative stress by limiting HIF-1 α activation in hepatic ischemia / reperfusion injury. Free Radic Biol Med. 2016;96:323–33.
31. Xu Z, Yu J, Wu J, Qi F, Wang H, Wang Z, i sur. The effects of two anesthetics, propofol and sevoflurane, on liver ischemia/reperfusion injury. Cell Physiol Biochem. 2016;38(4):1631–42.
32. Kaptanoglu E, Sen S, Beskonakli E, Surucu HS, Tuncel M, Kilinc K, i sur. Antioxidant Actions and Early Ultrastructural Findings of Thiopental and Propofol in Experimental Spinal Cord Injury. J Neurosurg Anestesiol. 2002;14(2):114–22.
33. Yuan D, Su G, Liu Y, Chi X, Feng J, Zhu Q, i sur. Propofol attenuated liver transplantation - induced acute lung injury via connexin43 gap junction inhibition. J Transl Med. 2016;1–11.
34. Yao W, Han X, Zhang Y, Guan J, Ge M, Chen C, i sur. Intravenous Anesthetic Protects Hepatocyte from Reactive Oxygen Species-Induced Cellular Apoptosis during Liver Transplantation In Vivo. Oxidative Med Cell Longev. 2018;2018:1-10.
35. Yildiz H, Coskuner I, Bulbuloglu E, Silay E, Kurutas E, Dogan Z, i sur. The protective effects of ketamine and propofol in obstructive jaundice: an experimental study. Bratisl Lek List. 2012;113(3):139–44.
36. Lai HC, Yeh YC, Wang LC, Ting CT, Lee WL, Lee HW, i sur. Propofol ameliorates doxorubicin-induced oxidative stress and cellular apoptosis in rat cardiomyocytes. Toxicol Appl Pharmacol. 2011;257(3):437–48.
37. Brasil LJ, San-miguel B, Kretzmann NA, Gomes JL, Amaral D, Zettler CG, i sur. Halothane induces oxidative stress and NF- kB activation in rat liver : Protective effect of propofol. Toxicology. 2006;227:53–61.
38. Laviolle B, Basquin C, Aguillon D, Compagnon P, Morel I, Turmel V, i sur. Effect of an anesthesia with propofol compared with desflurane on free radical production and liver function after partial hepatectomy. Fundam Clin Pharmacol. 2012;26(6):735–42.
39. Hsu S, Jan C-R, Liang W-Z. Evaluation of cytotoxicity of propofol and its related mechanism in glioblastoma cells and astrocytes. Environm Toxicol. 2017;6:1–15.
40. Baronica R, Tonković D BG, i sur. Antioxidant properties of medications used in critically ill patients. Neurol Croat. 2013;62:51–8.
41. Tsuchiya M, Shiomoto K, Mizutani K, Fujioka K, Suehiro K, Yamada T, i sur. Reduction of oxidative stress a key for enhanced postoperative recovery with fewer complications

in esophageal surgery patients Randomized control trial to investigate therapeutic impact of anesthesia management and usefulness of simple blood test for prediction of high-risk patients. Medecine (Baltimore). 2018;97:47.

42. Lv X, Yan J, Jiang H. Inhaled anesthetic sevoflurane: Neurotoxicity or neuroprotection in the developing brain. Int J Clin Exp Med. 2017;10(7):9930–8.
43. Chai D, Cheng Y, Jiang H. Fundamentals of fetal toxicity relevant to sevoflurane exposures during pregnancy. Int J Dev Neurosci. 2019;72:31–5.
44. Shen X, Dong Y, Xu Z, Wang H, Miao C, Soriano SG, i sur. Selective anesthesia-induced neuroinflammation in developing mouse brain and cognitive impairment. Anesthesiology. 2013;118(3):502–15.
45. Tian Y, Wu X, Guo S, Ma L, Wei H, Zhao X. Minocycline attenuates sevoflurane-induced cell injury via activation of Nrf2. Int J Mol Med. 2017;39(4):869–78.
46. Johnson SC, Pan A, Li L, Sedensky M, Morgan P. Neurotoxicity of Anesthetics: Mechanisms and Meaning from Mouse Intervention Studies. Neurotoxicol Teratol. 2019;71:22–31.
47. Olsen EA, Brambrink AM. Anesthesia for the young child undergoing ambulatory procedures: Current concerns regarding harm to the developing brain. Curr Opin Anaesthesiol. 2013;26(6):677–84.
48. Davidson AJ, Disma N, De Graaff JC, Withington DE, Dorris L, Bell G, i sur. Neurodevelopmental outcome at 2 years of age after general anaesthesia and awake-regional anaesthesia in infancy (GAS): An international multicentre, randomised controlled trial. Lancet. 2016;387(10015):239–50.
49. McCann ME, Berde C, Soriano S, Marmor J, Bellinger D, de Graaff JC, i sur. Neurodevelopmental outcome at 5 years of age after general anaesthesia or awake-regional anaesthesia in infancy (GAS): an international, multicentre, randomised, controlled equivalence trial. Lancet. 2019;393(10172):664–77.
50. Kotekar N, Shenkar A, Nagaraj R. Postoperative cognitive dysfunction – current preventive strategies. Clin Interv Aging. 2018;13:2267–73.
51. Vutskits L, Culley DJ. GAS, PANDA, and MASK: No Evidence of Clinical Anesthetic Neurotoxicity! Anesthesiology. 2019;131(4):762–4.
52. Lee YM, Song BC, Yeum KJ. Impact of Volatile Anesthetics on Oxidative Stress and Inflammation. Biomed Res Int. 2015;2015:1-8.
53. Eisermann M, Kaminska A, Moutard ML, Soufflet C, Plouin P. Normal EEG in childhood: From neonates to adolescents. Neurophysiol Clin. 2013;43(1):35–65.

54. Rigouzzo A, Khoy-Ear L, Laude D, Louvet N, Moutard ML, Sabourdin N, i sur. EEG profiles during general anesthesia in children: A comparative study between sevoflurane and propofol. Paediatr Anaesth. 2019;29(3):250–7.
55. Schuller PJ, Newell S, Strickland PA, Barry JJ. Response of bispectral index to neuromuscular block in awake volunteers. Br J Anaesth. 2015;115:95–103.
56. Denault A, Deschamps A, Murkin JM. A proposed algorithm for the intraoperative use of cerebral near-infrared spectroscopy. Semin Cardiothorac Vasc Anesth. 2007;11(4):274–81.
57. Bonser RS, Pagano D, Haverich A. Brain protection in cardiac surgery. 1. izd. Springer -Verlag London Limited; 2011.
58. Murniece S, Soehle M, Vanags I, Mamaja B. Regional cerebral oxygen saturation monitoring during spinal surgery in order to identify patients at risk for cerebral desaturation. Appl Sci. 2020;10(6):4–11.
59. Biedrzycka A, Lango R. Tissue oximetry in anaesthesia and intensive care. Anaesthesiol Intensive Ther. 2016;48(1):41–8.
60. Desmond FA, Namachivayam S. Does near-infrared spectroscopy play a role in paediatric intensive care? BJA Educ. 2016;16(8):281–5.
61. Štefan L, Tepšić T, Zavidić T, Urukalo M, Tota D, Domitrović R. Lipid Peroxidation-Causes and Consequences. Medecine. 2007;43:84–93.
62. J. A. Buege and S. D. Aust. Microsomal lipid peroxidation. J Phys Conf Ser. 1975;71:303–10.
63. Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: Oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation. Antioxidants. 2019;8(3):72.
64. Cai Z, Yan L-J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. J Biochem Pharmacol Res. 2013;1(1):15–26.
65. Nyström T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. EMBO J. 2005;24(7):1311–7.
66. Meister A. Biosynthesis an and Functions of Glutathione, an Essential Biofactor. J Nutr Sci Vitaminol. 1992;1–6.
67. Lu SC. Glutathione synthesis. Biochim Biophys Acta - Gen Subj. 2013;1830(5):3143–53.
68. Satriano A, Franchini S, Lapergola G, Pluchinotta F, Anastasia L, Baryshnikova E, i sur. Glutathione blood concentrations: A biomarker of oxidative damage protection during

cardiopulmonary bypass in children. Diagnostics. 2019;9(3):8–10.

69. Teskey G, Abrahem R, Cao R, Gyurjian K, Islamoglu H, Lucero M, i sur. Glutathione as a Marker for Human Disease. Advances in Clinical Chemistry, Vol 87. Elsevier Ltd; 2018. Str. 141–159.
70. Fukai T, Ushio-fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. Antioxid Redox Signal. 2011;15(6):1583–606.
71. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. Int J Health Sci (Qassim). 2018;12(3):88–93.
72. Perry J, Shin D, Getzoff E, Tainer J. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. Biochim Biophys Acta. 2010;1804(2):245–62.
73. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease : Antioxid Redox Signal. 2011;15(7):1958–96.
74. Bradamante V, Lacković Z. Oksidativni stres i djelotvornost antioksidansa. Zagreb: Medicinska naklada; 2002. Str. 1–120.
75. Drury JA, Nycyk JA, Cooke RWI. Comparison of urinary and plasma malondialdehyde in preterm infants. Clin Chim Acta. 1997;263(2):177–85.
76. Kamencic H, Lyon A, Paterson PG, Juurlink BHJ. Monochlorobimane fluorometric method to measure tissue glutathione. Anal Biochem. 2000;286(1):35–7.
77. Socci DJ, Bjugstad KB, Jones HC, Pattisapu J V., Arendash GW. Evidence that oxidative stress is associated with the pathophysiology of inherited hydrocephalus in the H-Tx rat model. Exp Neurol. 1999;155(1):109–17.
78. Mercier Y, Gatellier P, Viau M, Remignon H, Renerre M. Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. Meat Sci. 1998;48(3–4):301–18.
79. Domijan AM, Rudeš K PM. The effect of ochratoxin A on the concentration of protein carbonyls in rats. Arh Hig Rada Toksikol. 2005;56:311–5.
80. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "" Antioxidant Power "": The FRAP Assay. Anal Biochem. 1996;239:70–6.
81. Bates D, Mächler M, Bolker BM, Walker SC. Fitting linear mixed-effects models using lme4. J Stat Softw. 2015;67(1).
82. Wichkam H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. New York, Springer International Publishing; 2016.
83. Team RC. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna; 2020.
84. Atukeren P, Ramazan M. The Stance of Antioxidants in Brain Tumors. In: Lichtor T,

editor. Clinical Management and Evolving Novel Therapeutic Strategies for Patients with Brain Tumors. IntechOpen; 2013.

85. Alipour F, Emami MR, Mohri M. Endocrine and oxidative stress characteristics in different anesthetic methods during pneumoperitoneum in dogs. Comp Clin Pathol. 2018;27:1667–73.

86. Ucar M, Ozgül U, Polat A, Toprak HI, Erdogan MA, Aydogan MS, i sur. Comparison of Antioxidant Effects of Isoflurane and Propofol in Patients Undergoing Donor Hepatectomy. Transplant Proc. 2015;47(2):469–72.

87. Braz MG, Braz LG, Braz JR, Pierine DT, Correa CR, Ferreira AL, i sur. Comparison of oxidative stress in ASA physical status I patients scheduled for minimally invasive surgery under balanced or intravenous anesthesia. Minerva Anestesiol. 2013;79(9):1030–8.

88. Khoshraftar E, Ranjbar A, Kharkhane B, Heidary ST, Gharebaghi Z. Antioxidative Effects of Propofol vs. Ketamin in Individuals Under- going Surgery. Arch Iran Med. 2014;17(7):486–9.

89. Dumaresq DMH, de Vasconcelos CR, Guimarães BS, Cavalcante LS. Metabolic and oxidative effects of sevoflurane and propofol in children undergoing surgery for congenital heart disease 1 Efeitos metabólicos e oxidativos do sevoflurano e do propofol em crianças portadoras de cardiopatia congênita submetidas à cirurgia. Acta Chirur Bras. 2011;26:66–71.

90. Yagmurdur H, Cakan T, Bayrak A, Arslan M. The effects of etomidate, thiopental, and propofol in induction on hypoperfusion — reperfusion phenomenon during laparoscopic cholecystectomy. Acta Anaesthesiol Scand. 2004;(19):772–7.

91. Türkan H, Aydin A, Sayal A, Eken A, Akay C, Karahalil B. Oxidative and antioxidative effects of desflurane and sevoflurane on rat tissue in vivo. Arh Hig Rada Toksikol. 2011;62(2):113–9.

92. Dal Molinm SZF, Kruelm CRP, De Fraga RS, Alboim C, De Oliveira JR, Alvares-Da-silva MR. Differential protective effects of anaesthesia with sevoflurane or isoflurane An animal experimental model simulating liver transplantation. Eur J Anaesthesiol. 2014;31(12):695–700.

93. Sivaci R, Kahraman A, Serteser M, Sahin DA, Dilek ON. Cytotoxic effects of volatile anesthetics with free radicals undergoing laparoscopic surgery. Clin Biochem. 2006;39(3):293–8.

94. Akın M, Ayoglu H, Okyay D, Ayoglu F, Gür A, Can M, i sur. Effects of various

anesthesia maintenance on serum levels of selenium, copper, zinc, iron and antioxidant capacity. Brazilian J Anesthesiol (English Ed. 2015;65(1):51–60.

95. Lee JY. Oxidative stress due to anesthesia and surgical trauma and comparison of the effects of propofol and thiopental in dogs. J Vet Med Sci. 2012;74(5):663–5.

96. Félix LM, Correia F, Pinto PA, Campos SP, Fernandes T, Videira R, i sur. Propofol affinity to mitochondrial membranes does not alter mitochondrial function. Eur J Pharmacol. 2017;803:48–56.

97. Arslan M, Isik B, Kavutcu M, Kurtipek O. Oxidative stress and antioxidant activity of female rat liver tissue after sevoflurane anaesthesia:young versus old. Bratisl Lek List. 2012;113(12):702–6.

98. Zhou X, Lu D, Li W da, Chen X hui, Yang X yu, Chen X, et al. Sevoflurane Affects Oxidative Stress and Alters Apoptosis Status in Children and Cultured Neural Stem Cells. Neurotox Res. 2018;33(4):790–800.

99. Erbas M, Demiraran Y, Ak Yildirim H, Sezen G, Iskender A, Karagoz I, i sur. Comparison of effects on the oxidant/antioxidant system of sevoflurane, desflurane and propofol infusion during general anesthesia. Brazilian J Anesthesiol. 2015;65(1):68–72.

100. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Ann Bot. 2003;91:179–94.

101. Fan W, Zhu X, Wu L, Wu Z, Li D, Huang F, i sur. Propofol: An anesthetic possessing neuroprotective effects. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015;19(8):1520–9.

102. Ahiskalioglu EO, Aydin P, Ahiskalioglu A, Suleyman B, Kuyrukluyildiz U, Kurt N, i sur. The effects of ketamine and thiopental used alone or in combination on the brain, heart, and bronchial tissues of rats. Arch Med Sci. 2018;14(3):645–54.

103. Bai X, Yan Y, Canfield S, Muravyeva MY, Kikuchi C, Zaja I, i sur. Ketamine enhances human neural stem cell proliferation and induces neuronal apoptosis via reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. Anesth Analg. 2013;116(4):869–80.

104. Ito H, Uchida T, Makita K. Ketamine causes mitochondrial dysfunction in human induced pluripotent stem cell: Derived neurons. PLoS One. 2015;10(5):1–20.

105. Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, i sur. The inhibitory effects of thiopental, midazolam, and ketamine on human neutrophil functions. Anesth Analg. 1998;86(1):159–65.

106. Hatipoglu S, Yildiz H, Bulbuloglu E, Coskuner I, Kurutas EB, Hatipoglu F, i sur. Protective effects of intravenous anesthetics on kidney tissue in obstructive jaundice. World J Gastroenterol. 2014;20(12):3320–6.

107. Parvin R, Akhter N. Protective effect of tomato against adrenaline-induced myocardial infarction in rats. Bangladesh Med Res Counc Bull. 2008;34(3):104–8.
108. Liang J, Wu S, Xie W, He H. Ketamine ameliorates oxidative stress-induced apoptosis in experimental traumatic brain injury via the Nrf2 pathway. Drug Des Devel Ther. 2018;12:845–53.
109. Welters ID, Feurer MK, Preiss V, Mller M, Scholz S, Kwapisz M, i sur. Continuous S-(+)-ketamine administration during elective coronary artery bypass graft surgery attenuates pro-inflammatory cytokine response during and after cardiopulmonary bypass. Br J Anaesth. 2011;106(2):172–9.
110. Durandy Y. Minimizing Systemic Inflammation During Cardiopulmonary Bypass in the Pediatric Population. Artif Organs. 2014;38(1):11–8.
111. Raines DE. The pharmacology of etomidate and etomidate derivatives. Int Anesthesiol Clin. 2015;53(2):63–75.
112. Allen C, Washington S. The role of etomidate as an anaesthetic induction agent for critically ill patients. Br J Hosp Med. 2016;77(5):282–6.
113. Li X, Lu F, Li W, Xu J, Sun XJ, Qin LZ, i sur. Underlying mechanisms of memory deficits induced by etomidate anesthesia in aged rat model: Critical role of immediate early genes. Chin Med J. 2016;129(1):48–53.
114. Cayli SR, Ates O, Karadag N, Altinoz E, Yucel N, Yologlu S, i sur. Neuroprotective effect of etomidate on functional recovery in experimental spinal cord injury. Int J Dev Neurosci. 2006;24(4):233–9.
115. Li R, Fan L, Ma F, Cao Y, Gao J, Liu H, i sur. Effect of etomidate on the oxidative stress response and levels of inflammatory factors from ischemia-reperfusion injury after tibial fracture surgery. Exp Ther Med. 2017;13(3):971–5.
116. Alavuk Kundović S, Rašić D, Popović Lj, Peraica M, Črnjar K. Oxidative stress under general intravenous and inhalation anaesthesia. Arch Ind Hyg Toxicol. 2020;71(3):169–77.
117. Eroglu F, Yavuz L, Ceylan BG, Yílmaz F, Eroglu E, Delibas N, i sur. New volatile anesthetic, desflurane, reduces vitamin e level in blood of operative patients via oxidative stress. Cell Biochem Funct. 2010;28(3):211–6.
118. Myles PS, Chan MTV, Kaye DM, McIlroy DR, Lau CW, Symons JA, i sur. Effect of nitrous oxide anesthesia on plasma homocysteine and endothelial function. Anesthesiology. 2008;109(4):657–63.

11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11. kolovoza 1986. godine u Puli. Osnovnu školu i opću gimnaziju završila sam u Puli. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci upisala sam 2005. godine, a nakon prve godine upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu koji završavam 2011. godine. Specijalizaciju iz anesteziologije, reanimatologije i intenzivne medicine započinjem u Klinici za dječje bolesti Zagreb u ožujku 2013. godine, a specijalistički ispit polažem u Zagrebu 18. prosinca 2019. godine. Otada sam liječnica Zavoda za dječju anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Klinike za dječje bolesti Zagreb. Akademske godine 2013./2014. upisala sam poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Cijelo vrijeme dodatno usvajam znanja o dječjoj anesteziologiji. Članica sam Hrvatskoga liječničkog zbora, Hrvatske liječničke komore, Hrvatskoga društva za anesteziologiju i intenzivno liječenje (HDARIM) te Europskoga društva za anesteziju (ESA). Dobitnica sam Nagrade za posebno postignuće u medicinskoj struci i znanosti Sveučilišta u Zagrebu Medicinskog fakulteta, Povelje za osobite zasluge u promicanju interesa liječničkoga staleža i skrbi o zdravlju naroda Hrvatskoga liječničkoga zbora i Nagrade grada Zagreba zbog sudjelovanja u operacijskom zahvatu razdvajanja sijamskih blizanki. Autorica sam i koautorica više znanstvenih i stručnih radova. Aktivno sam sudjelovala na brojnim domaćim i međunarodnim anesteziološkim simpozijima, kongresima i tečajevima. Aktivno se služim engleskim jezikom u govoru i pismu. Udana sam i majka jednog sina.

PRILOG I

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

ETIČKO POVJERENSTVO

„Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres“

Prilog T1: Obavijest za roditelje maloljetne osobe (3-16. god.)

Poštovani/poštovana,

Pozivamo Vas da u svojstvu ispitanika sudjelujete u znanstvenom istraživanju čiji je glavni cilj istražiti poštedniju anesteziološku tehniku (od ispitivane dvije) obzirom na veličinu oksidacijskog stresa u djece s dijagnozom hidronefroze, temeljem individualnog pristupa korištenjem BIS-a i INVOS-a.To istraživanje se provodi u sklopu izrade disertacije. Voditelj projekta je prof.dr.sc. Ljiljana Popović, dr.med., a predviđeno trajanje projekta je od (1/2015) do (1/2018). Projekt se provodi u sljedećim ustanovama: Klinici za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, Zagreb te u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, Zagreb. Vaše sudjelovanje u istraživanju treba se temeljiti na jasnom razumijevanju ciljeva istraživanja i načina i postupaka za njegovo provođenje te mogućih koristi ili rizika za Vas kao ispitanika. Stoga Vas molimo da, prije donošenja odluke, pažljivo pročitate i proučite ovu obavijest, a ako u njoj naiđete na bilo kakve nejasnoće ili nepoznate riječi i izraze da o tome pitate istraživače i liječnike koji u istraživanju sudjeluju i dužni su Vam i spremni odgovoriti na svako pitanje.

OPIS KLJUČNOG PROBLEMA I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

U ovom istraživanju je riječ o ispitivanju veličine stvaranja oksidacijskog stresa kod djece s hidronefrozom SFU (Society of Fetal Urology) stupnja III i IV, podvrgnuta kirurškom liječenju po Anderson-Hynes metodi, odnosno plastici pijeloureteričnog vrata, uspoređujući balansiranu i anesteziju vođenu ciljnom koncentracijom lijeka. Istraživanje u kojem su ispitanici randomizirano, tj. slučajnim odabirom raspoređeni u dvije skupine.
Uspoređivat ćemo dvije različite metode anestezije, balansiranu i anesteziju vođenu ciljnom koncentracijom lijeka. Prva je klasična metoda u kojoj se koriste osim anestetika (hipnotika) za izazivanje sna, analgetika za bezbolnost i sprečavanje refleksnog odgovora na bol, mišićnih relaksansa za relaksaciju skeletne muskulature i inhalacijski anestetici. Drugom se metodom uz

pomoć kompjutora određuje potrebna doza gore navedenih lijekova izuzev inhalacijskih anestetika.
Svaki ispitanik će dobiti individualnu dozu lijekova ovisno o BISU-u (Bispectral Index) i INVOS-u (In Vivo Optical Spectroscopy). BIS je uređaj koji pruža objektivne informacije o dubini anestezije, a INVOS o koncentraciji kisika u mozgu.
Stoga je u ovom istraživanju temeljna znanstvena hipoteza da je anestezija vođena ciljnom koncentracijom lijeka u djece s dijagnozom hidronefroze podvrgnutoj operacijskom zahvatu po Anderson-Hynes metodi poštednija, odnosno izaziva manji oksidacijski stres u odnosu na balansiranu anesteziju.

CILJ I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je ustvrditi poštedniju anesteziološku tehniku (od ispitivane dvije) obzirom na veličinu oksidacijskog stresa u kirurški liječene djece s hidronefrozom, temeljem individualnog pristupa korištenjem BIS-a i INVOS-a. Podatci o vrijednostima oksidacijskog stresa u djece kod takvih operacija nema u nama dostupnim znanstvenim časopisima te bi ovo istraživanje unaprijedilo saznanja o boljoj i poštednijoj anesteziji za dječju populaciju te pridonijelo bržem poslijeoperacijskom oporavku i otpustu iz bolnice.

ULOGA VAS KAO ISPITANIKA U ISTRAŽIVANJU

U istraživanje će biti uključena djeca u dobi od 3-16 godina koja su došla u Kliniku za kirurgiju Klinike za dječje bolesti Zagreb radi operacijskog zahvata. Uključenim ispitanicima će se određivati biljezi oksidacijskog stresa iz krvi. U svakog ispitanika će se uzimati krv (2mL) tri puta. Prvo uzimanje će se provesti prije operacije, drugo 30 min od početka operacije te treće 24 sata od završetka operacije. Krv će se uzimati iz postavljenog vanjskog venskog puta (braunile), neposredno nakon namazane EMLA kreme (lokalni anestetik) koja će ublažit bol, a dio je standardnog propisanog prijeoperacijskog postupka. Sudjelovanje Vašeg djeteta nakon zadnjeg uzimanja krvi 24 h nakon operacije u ovom istraživanju prestaje. Tijekom istraživanja dijete neće morati mijenjati životne navike niti tijek liječenja.

KOJE SU ZA VAS MOGUĆE PREDNOSTI I KORISTI OD SUDJELOVANJA?

Vašem djetetu će se pratiti individualna veličina oksidacijskog stresa mjerenjem biljega u krvi, a to će dati vrijedne informacije o zbivanjima u organizmu djeteta budući da se prate promjene na istom ispitaniku unutar 24 sata perioperacijski. Ovo istraživanje bi unaprijedilo saznanja o poštednoj anesteziološkoj tehnici, što bi se u budućnosti moglo primijeniti u odabiru anesteziološke tehnike i monitoriranju dubine anestezije.

KOJI SU ZA VAS MOGUĆI RIZICI SUDJELOVANJA U ISTRAŽIVANJU?

Za vaše dijete ne postoje dodatni rizici zbog sudjelovanja u ovom istraživanju jer će se uzorci krvi uzimati istovremeno s uzorcima potrebnim za operacijski zahvat.

POSTOJE LI DRUGI LIJEKOVI, DRUGE DIJAGNOSTIČKE METODE ILI DRUGI OPERACIJSKI PRISTUPI?

Ispitanici uključeni u ovo istraživanje neovisno o istraživanju zbog svoje primarne bolesti trabaju operacijski zahvat. Istraživanje nema utjecaja na ishod kirurškog liječenja. Individualni pristup može imat utjecaja na kvalitetniji perioperacijski tijek. U istraživanju će se koristiti lijekovi koji se inače svakodnevno koriste.

MORATE LI SUDJELOVATI U ISTRAŽIVANJU?

Vi ćete u potpunosti slobodno i samostalno odlučiti hoće li Vaše dijete sudjelovati u ovom istraživanju. Sudjelovanje je dragovoljno i u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga, imate pravo bez ikakvih posljedica odlučiti da se Vaše dijete povlači iz istraživanja. U tom slučaju dijete će se nastaviti dalje liječiti na način koji je uobičajen. Ako odlučite prekinuti sudjelovanje u istraživanju, lijepo Vas molimo da o tome na vrijeme obavijestite voditelja projekta i njegove suradnike. Možete izabrati ne sudjelovati ili možete odustati od sudjelovanja u bilo kojem trenutku istraživanja. Vaše nesudjelovanje ili odustajanje od sudjelovanja neće imati nikakve negativne posljedice na daljnje liječenje Vašeg djeteta.

POVJERLJIVOST I PRAVO UVIDA U DOKUMENTACIJU

Svi osobni podatci djeteta bit će pohranjeni i obrađivani u elektroničkom obliku, a voditelj projekta i njegovi suradnici su dužni u potpunosti poštivati propisane postupke za zaštitu osobnih podataka. U naše baze podataka Vi ćete biti uneseni prema inicijalima imena i prezimena i pomoću posebnog koda. Vašu medicinsku dokumentaciju će pregledavati samo voditelj projekta i njegovi suradnici, a ime Vašeg djeteta nikada neće biti otkriveno trećim osobama. Pristup dokumentaciji mogu imati i predstavnici Etičkog povjerenstva Klinike za dječje bolesti Zagreb u kojoj se Vaše dijete liječi, predstavnici Etičkog povjerenstva Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada gdje će se obavljat analitičke metode iz izvađenih uzoraka krvi, te predstavnici Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta, koje je odgovorno za odobravanje i nadzor nad provođenjem ovog istraživanja.

ZA ŠTO ĆE SE KORISTITI PODATCI DOBIVENI U OVOM ZNANSTVENOM ISTRAŽIVANJU?

Podatci dobiveni u ovom znanstvenom istraživanju mogu biti korisni u kliničkoj praksi. Identitet Vašeg djeteta ostati će u potpunosti anoniman i zaštićen. Ti će podatci, bez otkrivanja osobnih podataka o ispitanicima biti objavljeni u odgovarajućim znanstvenim časopisima i publikacijama.

TKO ORGANIZIRA I FINANCIRA OVO ISTRAŽIVANJE?

Kemikalije i potrošni materijal za istraživanje će se financirati iz sredstava Jedinice za toksikologiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada.

TKO JE ODOBRIO OVO ISTRAŽIVANJE?

Ovo istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Etičko povjerenstvo Klinike za dječje bolesti Zagreb i Etičko povjerenstvo Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, nakon temeljite analize dostavljenog prijedloga istraživanja i prateće dokumentacije. Istraživanje se provodi u skladu sa svim primjenljivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje istraživanja te sigurnost osoba koje u njemu sudjeluju, uključujući «Osnove dobre kliničke prakse» i «Helsinšku deklaraciju».

KOGA MOŽETE KONTAKTIRATI ZA DODATNE OBAVIJESTI I UPUTE?

Kao sudionik istraživanja imate pravo na informacije o istraživanju. Možete pitati u vezi istraživanja bilo kada tijekom sudjelovanja u istraživanju. Ukoliko imate bilo kakvih pitanja slobodno nazovite glavnog istraživača (Sandra Alavuk Kundović) koja sudjeluje u provođenju projekta u svrhu izrade svog doktorskog rada, tel 0981704299.
Ako su Vam potrebne bilo kakve dodatne informacije, ili imate dodatnih pitanja, slobodno se obratite voditelju projekta ili njegovim suradnicima, kako slijedi:

Ime i prezime voditelja projekta: prof.dr.sc. Ljiljana Popović, dr.med.
Adresa voditelja projekta: Klaićeva 16, 10 000 Zagreb
Broj telefona voditelja projekta: +385914600155

Ime i prezime suradnika: dr.sc. Maja Peraica, dr.med., znanstvena savjetnica u drugom izboru
Adresa suradnika: Ksaverska cesta 2, 10 000 Zagreb
Broj telefona suradnika: +385 1 46 82 500

TKO ĆE JOŠ BITI OBAVIJEŠTEN O OVOM ISTRAŽIVANJU?

O Vašem sudjelovanju u ovom znanstvenom istraživanju biti će obaviješten i Vaš obiteljski liječnik.

O VAŠOJ PISANOJ SUGLASNOSTI ZA SUDJELOVANJE U OVOM ISTRAŽIVANJU

Preslik dokumenta (potpisne stranice) koji trebate potpisati ako pristajete sudjelovati u ovom istraživanju dobit ćete Vi i voditelj istraživanja. Izvorni primjerak dokumenta će zadržati i čuvati voditelj istraživanja.

Hvala Vam što ste pročitali ovaj dokument i razmotrili mogućnost Vašeg sudjelovanja u ovom znanstvenom istraživanju.

Oba obavijest je sastavljena u skladu s odredbama Zakona o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakona o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04).

PRILOG II

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

ETIČKO POVJERENSTVO

Prilog T2:
Suglasnost za sudjelovanje maloljetne osobe u znanstvenom istraživanju
„Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres“

Ako je ispitanik u znanstvenom istraživanju maloljetna osoba (osoba mlađa od 18 godina), pristanak za sudjelovanje u istraživanju treba dati roditelj ili zakonski zastupnik to jest skrbnik. Istraživači su dužni s djecom u dobi od 8 do 18 godina razgovarati o predloženom znanstvenom istraživanju i uzeti u obzir njihovu želju i odluku o sudjelovanju u istraživanju.

1. Potvrđujem da sam dana u Zagrebu pročitao/pročitala Obavijest za ispitanika za gore navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja.
2. Razumijem da je sudjelovanje mog djeteta/mog štićenika dragovoljno i da se iz sudjelovanja u istraživanju može povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica za svoje zdravstveno stanje ili pravni status.
3. Razumijem da medicinskoj dokumentaciji mog djeteta/mog štićenika pristup imaju samo odgovorne osobe, to jest voditelj istraživanja i njegovi suradnici te članovi Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje obavlja i Etičkog povjerenstva koje je odobrilo ovo znanstveno istraživanje. Tim osobama dajem dopuštenje za pristup medicinskoj dokumentaciji mog djeteta/mog štićenika.
4. Pristajem da obiteljski liječnik mog djeteta/mog štićenika bude upoznat s njegovim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju.
5. Želim i pristajem da moje dijete/moj štićenik sudjeluje u navedenom znanstvenom istraživanju.

Ime i prezime roditelja/zakonskog zastupnika/skrbnika:
Vlastoručni potpis:
Mjesto i datum:

Ime i prezime osobe koja je vodila postupak Obavijesti za ispitanika i Suglasnosti za sudjelovanje: SANDRA ALAVUK KUNDOVIĆ, DR.MED.

Ime i prezime voditelja projekta: PROF.DR.SC. LJILJANA POPOVIĆ, DR.MED.
Vlastoručni potpis:
Mjesto i datum:

PRILOG III

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

ETIČKO POVJERENSTVO

Prilog T3:
Suglasnost za sudjelovanje maloljetne osobe u znanstvenom istraživanju
„Usporedba učinka balansirane anestezije i anestezije vođene ciljanom koncentracijom lijeka u djece s hidronefrozom s obzirom na oksidacijski stres“

Ako je ispitanik u znanstvenom istraživanju maloljetna osoba (osoba mlađa od 18 godina), pristanak za sudjelovanje u istraživanju treba dati roditelj ili zakonski zastupnik to jest skrbnik. Istraživači su dužni s djecom u dobi od 8 do 18 godina razgovarati o predloženom znanstvenom istraživanju i uzeti u obzir njihovu želju i odluku o sudjelovanju u istraživanju.

1. Potvrđujem da sam dana u Zagrebu pročitao/pročitala Obavijest za ispitanika za gore navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja.
2. Razumijem da je sudjelovanje mog djeteta/mog štićenika dragovoljno i da se iz sudjelovanja u istraživanju može povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica za svoje zdravstveno stanje ili pravni status.
3. Razumijem da medicinskoj dokumentaciji mog djeteta/mog štićenika pristup imaju samo odgovorne osobe, to jest voditelj istraživanja i njegovi suradnici te članovi Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje obavlja i Etičkog povjerenstva koje je odobrilo ovo znanstveno istraživanje. Tim osobama dajem dopuštenje za pristup medicinskoj dokumentaciji mog djeteta/mog štićenika.
4. Pristajem da obiteljski liječnik mog djeteta/mog štićenika bude upoznat s njegovim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju.
5. Želim i pristajem da moje dijete/moj štićenik sudjeluje u navedenom znanstvenom istraživanju.

Ime i prezime roditelja/zakonskog zastupnika/skrbnika:
Vlastoručni potpis:
Mjesto i datum:

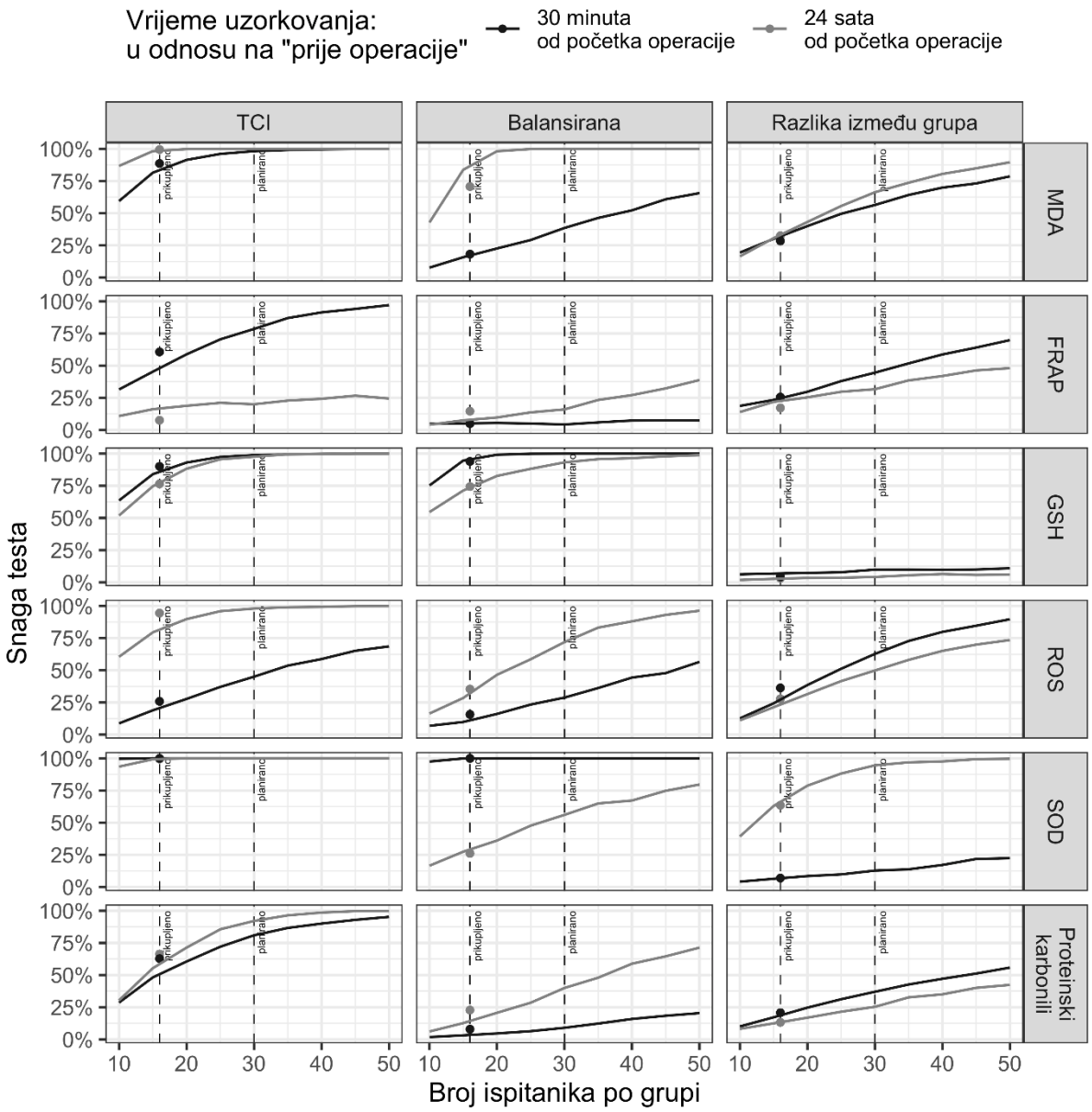
Ime i prezime ispitanika:
Vlastoručni potpis:
Mjesto i datum:

Ime i prezime osobe koja je vodila postupak Obavijesti za ispitanika i Suglasnosti za sudjelovanje: SANDRA ALAVUK KUNDOVIĆ, DR.MED.

Ime i prezime voditelja projekta: PROF.DR.SC. LJILJANA POPOVIĆ, DR.MED.
Vlastoručni potpis:
Mjesto i datum:

PRILOG IV

Post-hoc snaga testa izračunana je na temelju opažene veličine efekta, broja prikupljenih ispitanika i statističke značajnosti od 0,05. Uz opaženu snagu, procijenjena je i snaga metodom ponovnog uzorkovanja (engl. *bootstrap*) kojom su, uz ponavljanje, opetovano uzorkovani opaženi ispitanici u različitom broju (od 10 do 50) po skupini (TCI i balansirana) te je za svaku iteraciju (B = 2000) izračunana *p*-vrijednost svakog *post-hoc* testa na identičan način kao i u statističkoj obradi prikupljenih podataka. Udio *p*-vrijednosti manjih od 0,05 (snaga testa) prikazan je grafički u ovisnosti o broju ponovno uzorkovanih ispitanika po skupini.



Slika 1. *Grafički prikaz post-hoc snage testova u ovisnosti o broju ispitanika po skupini dobivena metodom ponovnog uzorkovanja. Opažena post-hoc snaga izračunana na temelju opažene veličine efekta, broja prikupljenih ispitanika i statističke značajnosti od 0,05 prikazana je točkom. Vertikalne iscrtane linije ističu broj prikupljenih ispitanika po skupini i broj ispitanika po skupini koji je bio planiran. Različite su varijable prikazane u različitim redovima, a stupci razvrstavaju post-hoc testove primijenjene modelom. Prva dva stupca prikazuju snagu za testove kojima je testirana promjena u varijablama između različitih vremenskih točaka za svaku od dviju skupina, dok treći stupac odražava snagu testova kojima je testirana razlika među promjenama u varijablama dviju promatranih skupina.*