

Usporedba farmakološke protekcije primjenom sevoflurana i isoflurana kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede presatka jetre

Paklar, Nataša

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:842235>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-01**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Nataša Paklar

**Usporedba farmakološke protekcije
primjenom sevoflurana i isoflurana
kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede
presatka jetre**

DISERTACIJA



Zagreb, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Nataša Paklar

**Usporedba farmakološke protekcije
primjenom sevoflurana i isoflurana
kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede
presatka jetre**

DISERTACIJA

Zagreb, 2024.

Disertacija je izrađena na Zavodu za anesteziologiju, intenzivnu medicinu i liječenje boli, Klinici za kirurgiju, Centru za transplantaciju solidnih organa, Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju i Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice „Merkur“.

Voditelj rada: izv.prof.dr.sc. Tajana Filipec Kanižaj, dr.med.

Zahvaljujem mentorici izv.prof.dr.sc.Tajani Filipec Kanižaj, dr.med. na golemom strpljenju, potpori, razumijevanju, korisnim savjetima i pomoći pri izradi ove disertacije.

Zahvaljujem svim kolegama i suradnicima na pomoći i pruženoj podršci prilikom provođenja ovog istraživanja. Posebnu zahvalu želim izraziti kolegici A.Š.

Ovu disertaciju, uz svu zahvalnost na strpljenju i pomoći, posvećujem svojim kćerkama Katji i Tari te suprugu Jurici.

SADRŽAJ

1	UVOD I SVRHA RADA	1
1.1	Transplantacija jetre.....	1
1.2	Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda.....	6
1.3	Inhalacijski anestetici.....	13
1.4	Sevofluran	14
1.5	Isofluran	17
1.6	Kondicioniranje ishemije	19
1.7	Dosadašnja istraživanja protekcije presatka jetre od ishemijsko-reperfuzijske ozljede 22	
2	HIPOTEZA	25
3	CILJ	26
3.1	Glavni cilj istraživanja:.....	26
3.2	Specifični ciljevi istraživanja	26
4.	METODE I MATERIJALI.....	27
4.1	Bolesnici.....	27
4.2	Anesteziološki protokol u istraživanju.....	29
4.3	Kirurški protokol u istraživanju.....	31
4.4	Histološka analiza	32
4.5	Statistička analiza	35
5	REZULTATI	36
5.1	Osnovne značajke primatelja i darivatelja i proceduralne karakteristike	36
5.2	Histološke karakteristike presatka i distribucija između ispitivanih skupina	42
5.3	Pojavnost i stupnjevi ishemijsko-reperfuzijske ozljede i morfoloških promjena kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede	45
5.4	Učestalost morfoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u ispitivanim skupinama.....	51
5.5	Pojavnost i stupanj histoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na proceduralne karakteristike i karakteristike darivatelja.....	53
5.6	Pojavnost i stupnjevanje histoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji	55
6	RASPRAVA.....	57
7	ZAKLJUČAK.....	63
8	KRATKI SADRŽAJ	64
9	SUMMARY	65
10	POPIS LITERATURE	68

11 ŽIVOTOPIS	90
---------------------------	-----------

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

°C – stupnjevi celzijusa - mjerna jedinica temperature

A1 fosfolipaza – fosfolipazni enzim koji uklanja 1-acil (engl. *phospholipase A1*)

A2 fosfolipaza – fosfolipazni enzim koji uklanja 2-acil (engl. *phospholipase A2*)

A2aR – A2A adenzinski receptor (engl. *A2A adenosine receptor*)

AC - adenilat ciklaza (engl. *adenine cyclase*)

Adora2B – adenzinski A2B receptor (engl. *adenosine A2B receptor*)

ADP – adenzin-difosfat (engl. *adenosine diphosphate*)

AMP – adenzin-monofosfat (engl. *adenosine monophosphate*)

AMPK – proteinska kinaza koju aktivira adenzin-monofosfat (engl. *5' adenosine monophosphate-activated kinase*)

Ang – angiotenzin (engl. *angiotensin*)

atm – standardna atmosfera - jedinica za tlak

ATP – adenzin-trifosfat (engl. *adenosine triphosphate*)

BAR – prognostički model izračuna rizika kod transplantacije jetre (engl. *balance of risk*)

Bcl-2 – protein obitelji B-limfoma-2 (engl. *B-cell leukemia/lymphoma-2*)

BIS – bispektralni indeks (engl. *bispectral index*)

BMI – indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)

Ca²⁺ ATPaza – kalcijeva adenzinska-trifosfataza (engl. *calcium adenosine triphosphatase*)

Ca²⁺ – ion kalcija (engl. *calcium ion*)

Ca²⁺ pumpa – kalcijaska pumpa (engl. *calcium pump*)

CAH – kronični aktivni hepatitis (engl. *chronic active hepatitis*)

CAM – molekule stanične adhezije (engl. *cell adhesion molecule*)

cAMP – ciklički adenzin monofosfat (engl. *3'-5'-cyclic adenosine monophosphate*)

CD4 + T-limfociti – pomoćnički CD4-pozitivni T-limfociti (engl. *T-lymphocyte CD4 positive*)

cGMP - ciklički gvanozin-monofosfat (engl. *cyclic guanylate monophosphate*)

CO₂ – ugljikov dioksid (engl. *carbon dioxide*)

D-MELD – prognostički model procjene ishoda transplantacije jetre (engl. *donor age and recipient model for End-stage Liver Failure*)

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

DRI – indeks rizika darivatelja (eng. *donor risk index*)

EEG – elektroencefalogram (engl. *electroencephalogram*)

ENE-78 – peptidi aktivacije neutrofilnih granulocita - 78 (engl. *epithelial neutrophil activating peptide - 78*)

eNOS - endotelna sintaza dušikova oksida (engl. *endothelial nitric oxide synthase*)

ER – endoplazmatski retikulum (engl. *endoplasmic reticulum*)

ERK – izvanstanična kinaza regulacije signalnog puta (engl. *extracellular signal-regulated kinase*)

ESAM - adhezivne molekule selektivne za endotelne stanice (engl. *endothelial selective adhesion molecule*)

ET-1 – endotelin 1 (engl. *endothelin 1*)

etCO₂ – ugljikov-dioksid na kraju izdaha (engl. *end-tidal carbon dioxide*)

ET-DRI – *Eurotransplant* indeks rizika darivatelja (eng. *Eurotransplant donor risk index*)

FBPase-1 – fruktoza 1,6-bifosfataza (engl. *fructose 1,6-bisphosphatase*)

G – mjerna jedinica promjera – Gauge

GK – glukokinaza (engl. *glucokinase*)

GM-CSF – citokin koji stimulira stvaranje granulocitno-makrofagne stanične linije (engl. *GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)

GSH - glutation (engl. *glutathione*)

H⁺ – vodikov ion (engl. *hydrogen ion*)

H₂O₂ – vodikov peroksid (engl. *hydrogen peroxide*)

HO-1 – hem oksigenaza -1 (engl. *heme oxygenase-1*)

HSC – zvjezdaste stanice jetre – Itoove stanice (engl. *hepatic stellate cell*)

HSPs – proteini toplinskog šoka (engl. *heat shock proteins*)

ICAM-1 – međustanična adhezijska molekula 1 (engl. *intercellular adhesion molecule-1*)

IFN- γ – interferon gama (engl. *interferon gamma*)

IL-1 – interleukin-1 (engl. *interleukin-1*)

IL-8 – interleukin-8 (engl. *interleukin-8*)

iNOS – inducibilna sintaza dušikova oksida (eng. *inducible nitric oxide synthase*)

IQR – interkvartilni raspon (engl. *interquartile range*)

K-ATP – ATP-osjetljivi kalijski kanali (engl. *ATP-sensitive potassium channel*)

KC – Kupfferova stanica (engl. *Kupffer cell*)

KLF2 – faktor nalik proteinu Kruppel 2 (engl. *Kruppel-like factor 2*)

kPa – kilopaskal (engl. *kilopascal*)

LSEC – sinusoidne endotelne stanice jetre (engl. *liver sinusoidal endothelial cell*)

MAC – minimalna alveolarna koncentracija (engl. *minimum alveolar concentration*)

Mac-1 receptori – receptori integrin leukocita α M β 2 (engl. *macrophage-1 antigen receptor*)

MAPK - protein kinaza aktivirana mitogenom (engl. *mitogen-activated protein kinase*)

mcg/kg = μ g/kg – mikrogram po kilogramu (engl. *microgram per kilogram*)

mcg/kg/min = μ g/kg/min – mikrogram po kilogramu u minuti (engl. *microgram per kilogram per minute*)

mcg/kg/sat = μ g/kg/sat – mikrogram po kilogramu u satu (engl. *microgram per kilogram per hour*)

mg – miligram (engl. *miligram*)

mg/kg – miligram po kilogramu (engl. *milligram per kilogram*)

mikroRNA – mikroribonukleinska kiselina (skraćeno miRNA, eng. *microribonucleic acid, miRNA*)

miR-9-5p – mikroribonukleinska kiselina-9-5-p (engl. *microribonucleic acid-9-5-p*)

mitoK ATP – mitohondrijski kalijev ATPkanal (engl. *mitochondrial ATP-sensitive potassium channel*)

mmHg – milimetar živina stupca (engl. *millimeters of mercury*)

mmol/l – milimol po litri (engl. *millimoles per liter*)

MMPs – metaloproteinaze (engl. *metalloproteinases*)

MODS – sindrom višeorganske disfunkcije (engl. *multiorgan dysfunction syndrome*)

MPO – mijeloperoksidaza (engl. *myeloperoxidase*)

Na⁺ – natrijev ion (engl. *sodium ion*)

Na⁺/H⁺ pumpa – natrij/vodikova pumpa (engl. *sodium/hydrogen pump*)

Na⁺/K⁺ pumpa – natrij/kalij pumpa (engl. *sodium/potassium pump*)

Na⁺-K⁺ ATPaza – natrij/kalij adenzin trifosfataza (engl. *sodium-potassium adenosine triphosphatase*)

NADH – reducirani nikotinamid adenin dinukleotid (engl. *reduced nicotinamide adenine dinucleotide*)

NF- κB – faktor jezgre κB (engl. *nuclear factor kappa B*)

NO – dušikov oksid (engl. *nitric oxide*)

Nrf2 – faktor jezgre (eritroidno 2-povezan čimbenik 2 (engl. *nuclear factor (erythroid-2-related factor)*)

O₂⁻ – ion kisika (engl. *oxygen ion*)

OAA – oksaloctena kiselina (engl. *oxaloacetic acid*)

OH⁻ – hidroksilni ion (engl. *hydroxyl*)

ONOO⁻ – peroksinitritni ion (engl. *peroxynitrite*)

PEEP – pozitivan tlak na kraju izdisaja (engl. *positive end-expiratory pressure*)

PEP – fosfoenolpiruvat (engl. *phosphoenolpyruvate*)

PFK – fosfofruktokinaza (engl. *phosphofructokinase*)

pH – logaritamska skala mjere kiselosti ili baznosti vodenih otopina (engl. *power of hydrogen*)

PK – protein kinaza (engl. *protein kinase*)

PMN – neutrofilni granulociti (engl. *polymorphonuclear neutrophils*)

QT_C – korigirani QT interval (engl. *corrected QT interval*)

RBP4 – retinol - vezni protein 4 (engl. *retinol-binding protein 4*)

RC – udaljeno kondicioniranje (engl. *remote conditioning*)

RIC – udaljeno ishemijsko kondicioniranje (engl. *remote ischemic conditioning*)

ROCK – Rho-povezana protein kinaza (engl. *Rho-associated coiled-coil containing kinases*)

ROS – reaktivni kisikovi radikali (engl. *reactive oxygen species*)

SD – standardna devijacija (engl. *standard deviation*)

SOD – superoksidna dismutaza (engl. *superoxide dismutase*)

SOFT – bodovanje preživljenja nakon transplantacije jetre (engl. *survival outcomes following liver transplant*)

TM – trombomodulin (engl. *thrombomodulin*)

TNF α – faktor tumorske nekroze α (engl. *tumor necrosis factor α*)

UPR – odgovor nesmatanja proteina (engl. *unfolded protein response*)

VT – dišni volumen (engl. *tidal volume*)

vWF – von Willebrandov faktor (engl. *von Willebrand factor*)

X/XOD – ksantinska oksidaza/ksantinska dehidrogenaza (engl. *xanthine/xanthine dehydrogen oxidasis*)

XD – ksantinska dehidrogenaza (engl. *xanthine dehydrogenase*)

XO – ksantinska oksidaza (engl. *xanthine oxidase*)

1 UVOD I SVRHA RADA

1.1 Transplantacija jetre

Otkad postoji svijest o bolestima i bolesnim organima, postoji i želja o zamjeni tih istih organa za zdrave ako se bolest ne može izliječiti. Iz toga se izrodila i ideja o transplantacijskoj medicini. Kroz povijest se spominju povremeni pokušaji, uspjesi, legende i mitovi. Iako su i prije toga postojali opisi autolognih transplantacija, za prvu dokumentiranu transplantaciju uzima se transplantacija cijele noge iz 3. stoljeća koju su izveli liječnici sveti Kuzma i Damjan, presadivši uspavanom bolesniku nogu tek preminuloga crnca (1). Ta je transplantacija uprizorena nizom slika i opisana kao „prva uspješna transplantacija“.



Slika 1. Majstor Los Balbasesa, sveti Kuzma i Damjan čudotvorno transplantiraju nogu, 1495., dostupno na: <https://www.wdl.org/en/item/3251/>

Početak 20. stoljeća počinje se ozbiljnije i sustavnije eksperimentirati s transplantacijama solidnih organa i tkiva. Gledajući prošlo stoljeće, impresivno je promatrati koliko je brzo transplantacija solidnih organa prešla put od eksperimenata do klinički uspješnog liječenja koje spašava ljudski život i financijski je isplativije od dotadašnjih načina liječenja. Ubrzani razvoj transplantacijske medicine traje zadnjih šezdesetak godina. Na tom se putu transplantacijska medicina morala suočiti s nizom prepreka: prihvaćanjem unutar kulture i civilizacije, zakonskim okvirima, političkim izazovima, imunološkim pitanjima, razvojem imunosupresije, liječenjem zaraznih bolesti, očuvanjem organa, napretkom kirurških tehnika te organizacijskim problemima u postupku eksplantacije i implantacije organa.

Veliki broj Nobelovih nagrada koje su dodijeljene medicini u 20. stoljeću posvećene su otkrićima u transplantacijskoj medicini (2). Kao i u svakom drugom području medicine i u transplantacijskoj medicini trebalo se iskristalizirati koje su prednosti, odnosno nedostaci takvog vida liječenja. S godinama i iskustvom, liječenje transplantacijom postaje sve uspješnije. Kroz dugi niz godina, zbog rezultata, transplantacijsko liječenje pokazalo se kao opcija liječenja s kratkoročno i dugoročno značajnom dobrobiti za preživljenje primatelja i značajno većom koristi u odnosu na neželjene posljedice takvog oblika liječenja. U zadnjih dvadesetak godina uočava se trend trostrukog povećanja ukupnog broja transplantacija solidnih organa na globalnoj razini (3).

Prve transplantacije jetre izveli su 1. ožujka 1963. Thomas Starzl u Denveru (Sjedinjene Američke Države) i svega nekoliko godina kasnije, 1968., Roy Calne u Cambridgeu (Velika Britanija) (4). Starzl je transplantaciju jetre izveo na trogodišnjem djetetu s bilijarnom atrezijom, a dijete je nažalost preminulo tijekom samog zahvata zbog nekontroliranog krvarenja. Nakon toga je Starzl 1967. izveo uspješnu transplantaciju na devetnaestogodišnjoj djevojci s hepatoblastomom. Poživjela je godinu dana, nakon čega je preminula zbog presadnica (5). Danas je transplantacija jetre standardni postupak liječenja završnih stadija bolesti jetre i akutnog jetrenog zatajenja. Sam zahvat pripada najsloženijim kirurškim zahvatima i oblicima transplantacije jer su pristup organu, hemodinamske promjene i kontrola krvarenja veliki izazov za anesteziologe i kirurge. Transplantacija jetre je vitalna transplantacija jer ne postoji adekvatna i dugotrajno prihvatljiva zamjena za jetru koja ne obavlja svoju funkciju. Napredak kirurške tehnike, zbrinjavanje bolesnika poslije transplantacije i imunosupresija doveli su do većeg broja preživjelih pacijenata nakon transplantacije jetre te je danas postotak preživjelih pacijenata s transplantiranom jetrom blizu 96% nakon godinu dana i 71% nakon 10 godina od transplantacije jetre (6). Ovi podaci pokazuju impresivnu ulogu

transplantacijskog liječenja u medicini. Gotovo 71% bolesnika, koji su zbog završne faze bolesti jetre bili osuđeni na smrt i imali predviđeno preživljenje do godinu dana, preživljava s novim organom više od 10 godina nakon zahvata.

Godišnje se u svijetu učini više od 80.000 postupaka, a u Republici Hrvatskoj više od 130. Transplantacija jetre danas je standardni postupak liječenja bolesnika u terminalnoj fazi akutnog ili kroničnog zatajenja jetre bilo koje etiologije. Kako se za sve veći broj bolesti postavlja indikacija za transplantaciju organa, a zbog izvrsnih rezultata, specijalisti gastroenterologije se sve češće odlučuju za postavljanje indikacije za transplantaciju zbog čega se javlja potreba za sve većim brojem darovanih organa, a to dovodi do povećanja lista čekanja i rezultira da 10 - 30% bolesnika umire čekajući organ (7). Kako bi se smanjila smrtnost bolesnika, ulažu se posebni naponi kako bi se bolje iskoristili postojeći presadci. Taj nesrazmjer između potrebe i potražnje za darovanim organima potencijalno otvara put ilegalnim i, u krajnjem slučaju, upitnim radnjama. Današnje ozračje, u kojem se očajnički traže novi organi kako bi se smanjila smrtnost na listama čekanja, dovodi do toga da se svaki organ koji je ponuđen za transplantaciju detaljno analizira od strane transplantacijskih organizacija i liječnika koji su uključeni u postupak prihvaćanja tog organa. Iz tih su se razloga proširili prijašnji strogi kriteriji za prihvaćanje organa. Idealni presadak jetre dobiva se od darivatelja koji je moždano mrtav, mlađi od 40 godina i koji je preminuo zbog traume. Nažalost, takvih idealnih darivatelja nema mnogo te se, uz kriterije za transplantaciju koji se kontinuirano šire, počelo pribjegavati darivateljima s takozvanim graničnim kriterijima za kvalitetu organa. Organizacija *Eurotransplant*, krovna udruga dijela zemalja Europe za transplantaciju solidnih organa, kojoj pripada i Republika Hrvatska, definirala je tzv. graničnog darivatelja, postojanjem jednog ili više od navedenih kriterija: dob darivatelja iznad 65 godina, mehanička ventilacija u Jedinici intenzivnog liječenja dulja od 7 dana, indeks tjelesne mase veći od 30, masna promjena jetre (steatoza) više od 40% jetrenog parenhima, koncentracija serumskog natrija iznad 165 mmol/l, jetrena alkalna fosfataza iznad 105 U/l, gama-glutamil transferaza iznad 90 U/l i koncentracija serumskog bilirubina iznad 3 mg/dl (1-5). Na kraju je iz definicije isključen kriterij steatoze presatka jer većina europskih transplantacijskih centara nema biopsiju presatka prije transplantacije jetre kojom bi ju odredili. Postoje istraživanja s kontradiktornim rezultatima vezanim uz ulogu dobi darivatelja za ishod transplantacije. Prema nekim istraživanjima, sama dob darivatelja ne utječe na preživljenje (ali primatelja da), a prema drugim istraživanjima značajna je za preživljenje (8, 9). Trenutna statistika pokazuje da su darivatelji najčešće pretili, stariji te u anamnezi imaju ranije liječenu malignu bolest (10).

Smatra se da je više od 50% presađaka jetre u području *Eurotransplanta* dobiveno od darivatelja koji se smatraju granične kvalitete (11). Organi granične kvalitete prihvatljivi su za postupak transplantacije jer osiguravaju zadovoljavajuće preživljenje presatka i primatelja, ali isključivo ako se primjenjuju uz nepostojanje drugih rizika za nepovoljan ishod transplantacije kao što su dugotrajna ishemija, infekcije, komplikacije kirurškog zahvata i komorbiditet primatelja. Trenutni kritični nedostatak darivanih organa dovodi do uključivanja u transplantaciju i darivatelja s graničnim kriterijima: starije osobe, osobe s masnim promjenama u jetri i darivatelji nakon kardiorespiratornog zastoja. Takvi organi su posebno osjetljivi na ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu (7). Istraživanja pokazuju da je poglavito jetreni parenhim starije osobe podložniji ishemijsko-reperfuzijskim ozljedama zbog relativno smanjenog broja hepatocita i sa smanjenim regenerativnim kapacitetom (12). Uz stalno traženje definicija idealnog darivatelja i onog koji nikako nije prihvatljiv za postupak transplantacije, paralelno se pojavljuju razne strategije za poboljšanje kvalitete presađaka. To je i jedan od razloga rasta industrije uređaja (tzv. prezervacijskih uređaja) koji omogućuju očuvanje darovanih organa izvan ljudskog tijela sa što manjim oštećenjima.

Osim primarno patohistološke kvalitete darovanih organa, za uspješnu transplantaciju bitna je što manja ishemijsko-reperfuzijska ozljeda i zato se teži kraćem vremenu hladne i tople ishemije. Postoje različita bodovanja koja predviđaju preživljenje. Većina bodovanja uključuje vrijednosti trajanja hladne ishemije i dob darivatelja, a neka bodovanja uključuju čak i obilježja alokacije organa (indeks rizika darivatelja (DRI; eng. *donor risk index*), *Eurotransplant* indeks rizika darivatelja (ET-DRI; eng. *Eurotransplant donor risk index*), bodovanje preživljenja nakon transplantacije jetre (SOFT; engl. *survival outcomes following liver transplant*), prognostički model procjene ishoda transplantacije jetre (D-MELD; engl. *donor age and recipient model for End-stage Liver Failure*) i prognostički model izračuna rizika kod transplantacije jetre (BAR; engl. *balance of risk*) (13, 14, 15, 16, 17)).

Jetrena ishemijsko-reperfuzijska ozljeda je poznati čimbenik koji utječe na ishod presatka uključujući odgođenu funkciju (10-25%) i primarnu afunkciju presađka (5-15%), ali i kasniju afunkciju presatka uzrokujući ishemijsku kolangiopatiju i potičući imunološku aloreakciju preko aktiviranja prirodene imunosti (18, 19). Osim toga, prisutan je porast broja kliničkih dokaza koji ukazuju na to da ishemijsko-reperfuzijska ozljeda ubrzava povrat karcinoma jetrenih stanica nakon transplantacije jetre (20). Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda može, osim na poslijetransplantacijsku funkciju presatka jetre, imati i globalne posljedice na cijeli organizam, utječući na udaljene organe kao što su pluća, crijeva, bubrezi, nadbubrežne žlijezde

i gušterača, a sve vodeći do sindroma višeorganske disfunkcije (MODS; engl. *multiorgan dysfunction syndrome*) (21).

1.2 Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda

Jetrom prolazi oko 25% potpunog srčanog izbačaja krvi, iako jetra čini samo oko 2-3% ukupne mase tijela. Jetra ima dvojnu krvnu opskrbu. Arterijska krv ulazi u organ kroz vlastitu jetrenu arteriju koja je grana zajedničke jetrene arterije, a ima izlazište u celijačnom dijelu trbušne aorte (22). S druge strane, preko portalne vene iz gornje mezenterične i splenhničnih vena, cijela venska drenaža splanhničnog sustava dovodi vensku krv u jetru. Jetrena arterija pridonosi s oko 25% cirkulacije, a portalna s oko 75% cirkulacije jetre, ali ako se gleda oksigeniranost, svaka od tih dviju krvnih opskrba pridonosi s oko polovicom zalihe kisika (23).

Ishemija je definirana kao nedostatna opskrba tkiva oksigeniranom krvlju, što uzrokuje manjak oksigenacije tkiva i dovodi do poremećaja metabolizma stanice. Reperfuzija označava ponovnu uspostavu protoka krvi. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda je stanično oštećenje tkiva nakon reperfuzije, koje je inicijalno bilo vijabilno nakon ishemije (24). Znači, paradoksalno dolazi do oštećenja nakon što se uspostavi ponovna krvna opskrba. Ova vrsta ozljede jetre bila je prepoznata kao klinički značajna još 1975. prilikom eksperimentalnih transplantacija jetre kod pasa (25). Sredinom osamdesetih, termin reperfuzijska ozljeda ustalio se u literaturi.

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda je kompleksan i specifičan proces unutar kojeg se isprepliće mnoštvo različitih čimbenika i procesa. U cjelovitom patogenetskom procesu nastanka ishemijsko-reperfuzijske ozljede prisutno je još mnogo nepoznanica. Do sada su definirane četiri faze procesa ozljede: hladna i topla ishemija te, rana i kasna reperfuzijska ozljeda. Prve dvije faze, hladna i topla ishemija, karakterizirane su nedostatkom kisika i nutrijenata, što u konačnici dovodi do nedostatka adenzin trifosfat (ATP; engl. *adenosine triphosphate*) sa svim njegovim posljedicama. U fazi hladne ishemije primarno dolazi do oštećenja endotelnih stanica sinusoida, a u fazi tople ishemije dolazi do oštećenja hepatocita (26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34). Ishemijska ozljeda kod hladne ishemije specifična je za transplantaciju, dok je ishemijska ozljeda kod tople ishemije klinički značajna kod transplantacije, traume, hipovolemičnog šoka, nekih vrsta toksičnih ozljeda jetre, veno-okluzivne bolesti, Budd-Chiarijeveg sindroma i elektivne kirurgije jetre kad je potrebno zaustaviti protok krvi kroz jetru kako bi se smanjilo krvarenje. Prema vremenu nastanka, reperfuzijska ozljeda se može podijeliti na ranu i kasnu. Kod svake od tih faza postoje specifični mehanizmi ozljede i elementi koji sudjeluju u njima, iako često dolazi do preklapanja mnogih i teško je odvojiti pojedinačne faze.

Hipotermija reducira metaboličke potrebe tkiva i zbog toga produžuje vrijeme u kojem stanica bez kisika može održati osnovne metaboličke funkcije te smanjuje učinkovitost unutarstaničnih enzima u razgradnji staničnih komponenti, ali ne sprječava metabolizam u potpunosti. Tijekom ishemije, nedostatak kisika i nutrijenata dovodi do niza biokemijskih promjena u stanici. Za mehanizam ishemijske ozljede, ključno je zaustavljanje procesa oksidativne fosforilacije u mitohondrijima, prebacivanje aerobnog u anaerobni metabolizam i deplecija ATP-a koji je najvažniji izvor energije za sve stanične funkcije (35). Zbog manjka ATP-a potiče se glukoliza. Glukolizom se pokušava dobiti ATP u anaerobnim uvjetima, ali dobivena smanjena količina ATP nije dovoljna za dugotrajnije normalno funkcioniranje stanica. Rezultat glukolize je nastanak mliječne kiseline čije nakupljanje pridonosi staničnoj acidozi. Još jedan čimbenik koji pridonosi staničnoj acidozi je prekid oksidacije reduciranog nikotinamid adenin dinukleotida (NADH; engl. *reduced nicotinamide adenine dinucleotide*) u mitohondrijima što potiče prijelaz piruvata u laktat. Nadalje, zbog nedostatka ATP-a posljedično dolazi do prekida staničnih transportnih procesa. Natrij-kalij adenzin trifosfataza ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaza; engl. *sodium-potassium adenosine triphosphatase*) ne može vršiti svoju funkciju te dolazi do nakupljanja iona natrija (Na^+ ; engl. *sodium ion*) u stanici, što zatim dovodi do zadržavanja i iona kalcija (Ca^{2+} ; engl. *calcium ion*) i vode te do unutarstaničnog edema. Porast koncentracije Ca^{2+} nastaje i zbog usporenja rada kalcijske pumpe (Ca^{2+} pumpe; engl. *calcium pump*) na staničnoj membrani i membrani endoplazmatske mrežice. Porast unutarstanične koncentracije kalcija i manjak energije značajni su čimbenici mitohondrijske permeabilitetne tranzicije – poremećaja funkcije mitohondrija koji nastaje zbog stvaranja pora na mitohondrijskoj membrani što dovodi do gubitka elektrokemijskog gradijenta vodikovog iona (H^+ ; engl. *hydrogen ion*) i, konačno, rasprezanja oksidativne fosforilacije (36). Porast unutarstanične koncentracije H^+ vodi do pojačane aktivnosti natrij-vodikove pumpe (Na^+/H^+ pumpa; engl. *sodium/hydrogen pump*) što zatim vodi do povećane koncentracije Na^+ u stanici. Isto tako, do povećane koncentracije Na^+ u stanici dovodi i smanjena aktivnost natrij-kalij pumpe (Na^+/K^+ pumpa; engl. *sodium/potassium pump*). Sve to vodi do unutarstaničnog edema – baloniranja i smrti (37). Zbog povećane propusnosti mitohondrijske membrane, iz mitohondrija izlaze Ca^{2+} i bjelančevine (od kojih citokrom c sudjeluje u apoptozi), a u mitohondrij ulazi voda (38). Porast unutarstanične koncentracije Ca^{2+} ima neželjene efekte:

- Ca^{2+} samostalno ili u kompleksu s kalmodulinom aktivira različite enzime (proteaze, nukleaze, aktivira i proteazu koja cijepa enzim ksantinska dehidrogenazu (XD; engl.

xanthine dehydrogenase) i pretvara ga u ksantin oksidazu (XO; engl. *xanthine oxidase*) što dovodi do stvaranja slobodnih kisikovih radikala);

- fosfolipazni enzim koji uklanja 1-acil (A1 fosfolipazu; engl. *phospholipase A1*) i fosfolipazni enzim koji uklanja 2-acil (A2 fosfolipazu; engl. *phospholipase A2*) što dovodi do oslobađanja arahidonske kiseline (koja je preteča prostaglandina i leukotrijena) i oštećenja stanične membrane;
- potiče aktivnost kalcijeve adenzin trifosfataze (Ca^{2+} -ATPaza; engl. *calcium adenosine triphosphatase*) vezanih uz Ca^{2+} pumpe što dovodi do još većeg nedostatka ATP-a;
- potiče aktivnost dušikov oksid (NO; engl. *nitric oxide*) sintetaze što dovodi do povećanog stvaranja NO koji sam ili prelaskom u peroksinitritni anion može djelovati citotoksično;
- aktivira fosfolipaze C što dovodi do pokretanja signalnog puta fosfoinozitola.

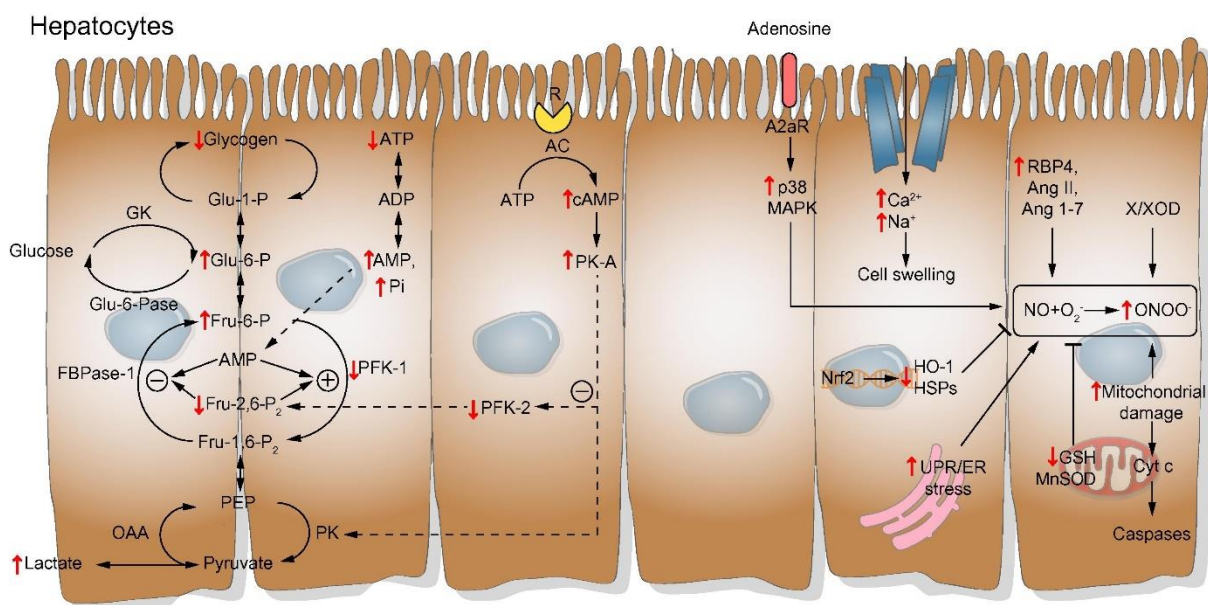
U uvjetima hipoksije, znatno se povećava nepotpuna redukcija kisika i nastajanje superoksidnog aniona u mitohondrijima. Iz superoksidnog aniona nastaju drugi slobodni kisikovi radikali. Oštećenju i mogućoj lizi stanice, pridonose i lizosomi koje hipoksija čini nestabilnim, a sniženje unutarstanične koncentracije vodikovih iona (pH; engl. *power of hydrogen*) aktivira njihove enzime. To pridonosi oštećenju stanične membrane, kao i jezgre gdje lizosomski enzimi razgrađuju kromatin. Kako zbog ishemije dolazi do prestanka citoplazmatskih procesa, stanice postaju okrugle zbog promjena u izvanstaničnom matriksu i citoskeletu. Endotelne stanice sinusoida odvajaju se i ulaze u lumen sinusoida, ali unatoč strukturalnim promjenama većina endotelnih stanica sinusoida ostaje vijabilna tijekom perioda ishemije (39, 40).

Potom slijedi reperfuzija. Činom reperfuzije počinje rana faza reperfuzijske ozljede koja traje otprilike dva sata. Još za vrijeme ishemije, potiče se aktivacija Kupfferovih stanica, aktivacija sustava komplementa i nakupljanje te aktivacija pomoćničkih CD4-pozitivnih T-limfocita (CD4+ T-limfocita; engl. *T-lymphocyte CD4 positive*) (41). Kupfferove stanice su specijalizirane stanice monocitno-makrofagnog sustava jetre koji inače otklanjaju tvari kao što su virusi, mikroorganizmi, tumorske stanice i limfocitotoksična protutijela iz portalne cirkulacije (42, 43, 44, 45, 46). Kupfferove stanice imaju glavni ulogu kao citotoksični tip stanica i predstavljaju glavni izvor mnogih upalnih stanica. Istraživanja koja su koristila

gadolinijum-klorid za inaktivaciju Kupfferovih stanica, pokazivala su manja oštećenja nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede (47). Aktivacija sustava komplementa ima važnu ulogu u reperfuzijskoj ozljedi. Hipoksija može potaknuti alternativni i klasični put aktivacije komplementa (48). Komplementi, kao što je C5a, potiču receptore integrin leukocita $\alpha M\beta 2$ (Mac-1 receptore; engl. *macrophage-1 antigen receptor*) na cirkulirajućim neutrofilnim granulocitima i regrutiraju ih u sinusoida (49). C5a priprema i aktivira neutrofilne granulocite i Kupfferove stanice za proizvodnju reaktivnih kisikovih radikala (ROS; engl. *reactive oxygen species*). Njih čine i drugi reaktivni produkti molekularnog kisika, osim slobodnih radikala. Općenito se vjeruje da je ROS najveći krivac za reperfuzijsku ozljedu (50). Aktivacija novopridošlih i postojećih CD4⁺ T-limfocita u jetri dovodi do produkcije faktora tumorske nekroze α (TNF- α ; engl. *tumor necrosis factor α*), interleukina-1 (IL-1; engl. *interleukin-1*), interferona gama (IFN- γ ; engl. *interferon gamma*) i citokin koji stimulira stvaranje granulocitno-makrofagne stanične linije (GM-CSF; engl. *GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) koji još dodatno pojačavaju aktivnost Kupfferovih stanica i pojačavaju nakupljanje neutrofila u jetri. Istraživanja su pokazala da miševi koji nemaju CD4⁺ T-limfocita imaju manje neutrofila u jetri nakon reperfuzije i manje izraženu ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu (51). TNF- α i IL-1 aktiviraju sintezu interleukina-8 (IL-8; engl. *interleukin-8*) i peptida aktivacije neutrofilnih granulocita - 78 (ENE-78; engl. *epithelial neutrophil activating peptide - 78*), a koji imaju presudnu ulogu u kemotaksiji i aktivaciji neutrofila (52,53). TNF α i IL-1 isto tako potiču ekspresiju adhezijskih molekula na epitelnim i endotelnim stanicama (54). U toj fazi, zbog aktivacije Kupfferovih stanica i endotelnih stanica sinusoida, dolazi do stvaranja ROS (41, 55, 56, 57, 58). ROS pokreće kompleksni put koji vodi do smrti hepatocita (59).

Kasna faza reperfuzijske ozljede traje 6 do 48 sati nakon reperfuzije organa (55, 60). Tada dolazi primarno do aktivacije postojećih neutrofilnih granulocita te regrutacije istih stanica u jetru iz cirkulacije. Upalni citokini, kemokini i aktivirani čimbenici sustava komplementa su odgovorni za aktivaciju i regrutaciju neutrofila. Osim toga, za akumulaciju neutrofila u jetri je odgovorno nekoliko tipova molekula stanične adhezije (CAM; engl. *cell adhesion molecule*) (61). Pomoću tih molekula dolazi do vezivanja neutrofila za hepatocite što dovodi do oslobađanja ROS-a i proteaza. Ti radikali i enzimi, uz ROS iz Kupfferovih stanica, dovode do smrti hepatocita. Nakon reperfuzije, smrt stanice nastaje uslijed unutarstaničnog oksidativnog stresa, izloženosti izvanstaničnim citotoksičnim medijatorima i produljenoj ishemiji. Zasnih

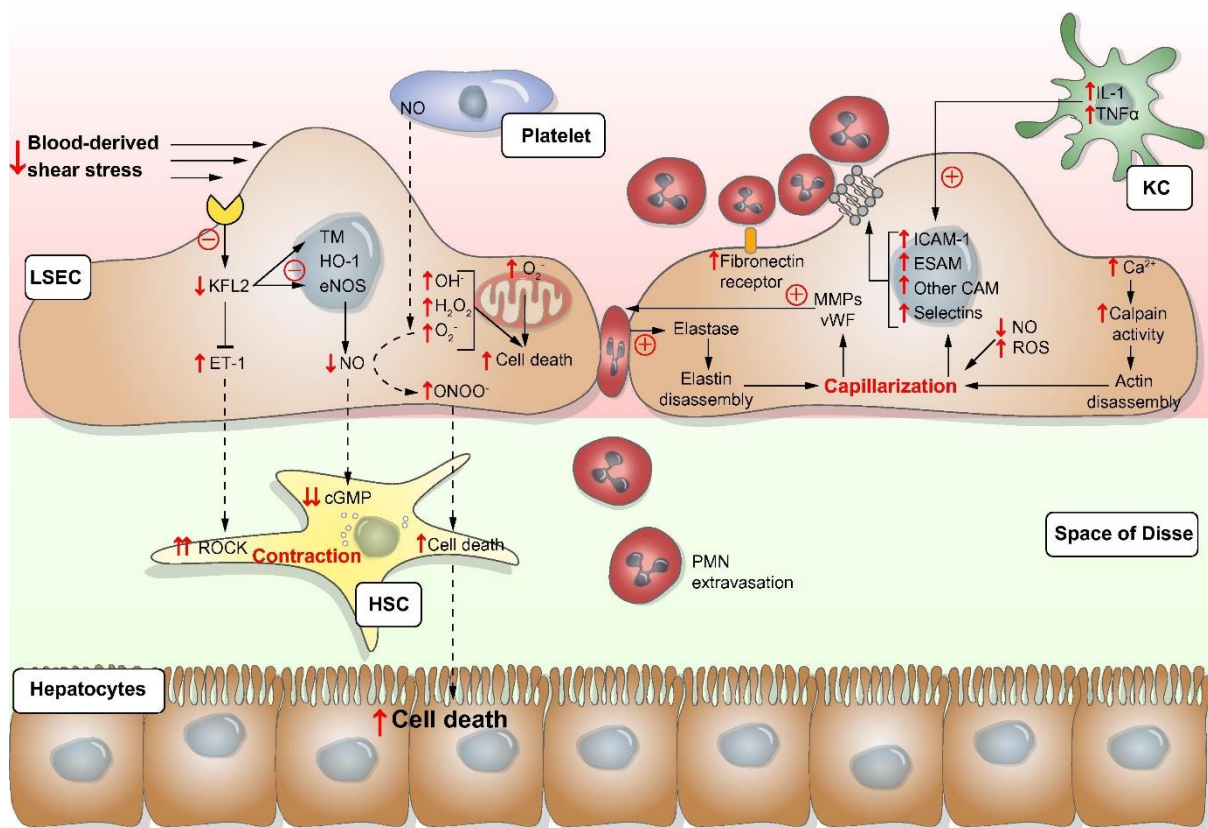
godina postoje prijepori oko vrste smrti hepatocita u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi. Postoje dvojbe radi li se o mehanizmu nekroze ili apoptoze. (29, 62, 63, 64).



Slika 2. Slikovni prikaz deregulacije fenotipa jetrenih stanica uslijed ishemijsko-reperfuzijske ozljede;

AC - adenilat ciklaza (engl. adenine cyclase); AMPK - 5' proteinska kinaza koju aktivira adenzin-monofosfat (engl. 5' adenosine monophosphate-activated kinase); ADP – adenzin-difosfat (engl. adenine diphosphate); ATP - adenzin-trifosfat (engl. adenosine triphosphate); A2aR – A2A adenzinski receptor (engl. A2A adenosine receptor); Ang – angiotenzin (engl. angiotensin); cAMP - ciklički adenzin-monofosfat (engl. 3'-5'-cyclic adenosine monophosphate); ER – endoplazmatski retikulum (engl. endoplasmic reticulum); FBPase-1 – fruktoza 1,6-bifosfataza (engl. fructose 1,6-bisphosphatase); GK - glukokinaza (engl. glucokinase); GSH - glutation (engl. glutathione); HO-1 - hem oksigenaza 1 (engl. heme oxygenase-1); HSPs - proteini toplinskog šoka (engl. heat shock proteins); MAPK - protein kinaze aktivirane mitogenom (engl. mitogen-activated protein kinase); NO - dušikov oksid (engl. nitric oxide); Nrf2 – faktor jezgre eritroid 2-povezan čimbenik 2 (engl. nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2); O₂⁻ - ion kisika; OAA - oksaloctena kiselina (engl. oxaloacetic acid); ONOO – peroksinitrit (engl. peroxyinitrite); PEP - fosfoenolpiruvat (engl. phosphoenolpyruvate); PFK - fosfofruktokinaza (engl. phosphofruktokinase); PK – protein kinaza (engl. protein kinase); RBP4 - retinol vezni protein 4 (engl. retinol-binding protein 4); SOD - superoksidna dismutaza (engl. superoxide dismutase); UPR - odgovor nesmatanja proteina (engl. unfolded protein response); X/XOD, – ksantinska/ksantinska dehidrogen oksidaza (engl. xanthine/xanthine dehydrogen oxidasis);

Preuzeto: Peralta C, Jiménez-Castro MB, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *Journal of hepatology*. 2013;59(5):1094-106.



Slika 3. Slikovni prikaz deregulacije jetrenog endotela i interakcija sa stelatnim jetrenim stanicama tijekom ishemijsko-reperfuzijske ozljede

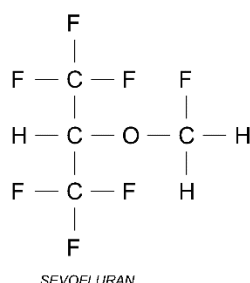
CAM - stanična adhezijska molekula (engl. cell adhesion molecule); cGMP - cikličkog gvanozin monofosfata (engl. cyclic guanylate monophosphate); eNOS - endotelna sintaza dušikova oksida (engl. endothelial nitric oxide synthase); ESAM - adhezivne molekule selektivne za endotelne stanice (engl. endothelial selective adhesion molecule); ET-1 – endotelin - 1 (engl. endothelin 1); H₂O₂ – vodikov peroksid (engl. hydrogen peroxide); HO-1 - hem oksigenaza 1 (engl. heme oxygenase-1); HSC - zvjezdaste stanice jetre-Itoove stanice (engl. hepatic stellate cell); IL-1 – interleukin 1 (engl.interleukin-1); ICAM-1 - međustanična adhezijska molekula 1 (engl. intercellular adhesion molecule-1); KLF2 –faktor nalik proteinu Kruppel- 2 (engl. Kruppel-like factor 2); KC – Kupfferove stanice (engl. Kupffer cell); LSEC - sinusoidne endotelne stanice jetre (engl. liver sinusoidal endothelial cell); MMPs - metaloproteinaze (engl. metalloproteinases); NO - dušikov oksid (engl. nitric oxide); O₂· - ion kisika; OH⁻ - hidroksid (engl. hydroxyl); ONOO⁻ – peroksinitrit (engl. peroxyne nitrite); PMN - polimorfonuklearni leukociti (engl. polymorphonuclear leukocytes); ROS - reaktivni kisikovi radikali (engl. reactive oxygen species); ROCK - Rho-povezana protein kinaza (engl. Rho-associated coiled-coil containing kinases); TM - trombomodulin (engl. thrombomodulin); vWF – von Willebrandov faktor (engl. von Willebrand factor)

Preuzeto: Peralta C, Jiménez-Castro MB, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *Journal of hepatology*. 2013;59(5):1094-106.

1.3 Inhalacijski anestetici

Inhalacijski anestetici odigrali su izuzetno važnu ulogu u povijesti anestezije. Još od samih početaka medicine, kirurgija je bila ograničena nepostojanjem adekvatne sedacije i analgezije bolesnika. Još 1540. godine, Valerius Cordus je sintetizirao dietil-eter i kroz povijest su primijećena njegova svojstva smanjenja boli. Začetak anestezije smatra se javna demonstracija iz 1846. godine, kada je mladi američki zubar William T. G. Morton (1819. – 1868.) primijenio dietil-eter za kirurški zahvat. Velika prednost inhalacijskih anestetika je da im se apsorpcija vrši preko alveolo-kapilarne membrane i eliminacija je u većoj mjeri istim putem. To je velika prednost pred intravenskim anesticima jer ne postoji varijabla biotransformacije kod uklanjanja iz tijela. Od Mortonove anestezije razvili su se mnogi inhalacijski anestetici sa sve boljim svojstvima i s manje nuspojava. Danas se inhalacijski anestetici uglavnom koriste za održavanje anestezije, ali i za uvod u anesteziju u posebnim slučajevima (npr. kod djece). Osim anestezioloških osobina inhalacijskih anestetika, u zadnje vrijeme se sve više istražuju i neanesteziološke osobine, osobito protektivne osobine kod ishemijskih epizoda (65).

1.4 Sevofluran



Slika 4. Kemijska struktura sevoflurana

Sevofluran (1,1,1,3,3,3- heksafluoro-2-(fluorometoksi)propan, $\text{CH}_2\text{F}-\text{O}-\text{CH}(\text{CF}_3)_2$) je bezbojna, plinovita i nezapaljiva tekućina s karakterističnim mirisom. Sintetiziran je 1971. godine, ali se zbog skupe sinteze i zabrinutosti oko toksičnosti, klinički počeo koristiti tek u ranim devedesetim (66). Sevofluran je stabilan pri sobnoj temperaturi. Temperatura vrenja mu je $58,6^\circ\text{C}$, a tlak u isparivaču pri 20°C 157 mmHg. Minimalna alveolarna koncentracija (MAC; engl. *minimum alveolar concentration*) iznosi prosječno 2,05% (67). Zbog ugodnog mirisa i s obzirom na to da nije iritabilan, pogodan je za indukciju. 95% sevoflurana eliminira se izdisanjem plućima, a ostatak se metabolizira u jetri putem citokroma P450 (CYP)2E1 do neorganskog florida i organskog metabolita florida heksafluoroisopropanola, a oni se zatim izlučuju bubrezima (68). Prilikom dodira s alkalnim apsorberom ugljikovog dioksida, dolazi do degradacije sevoflurana do fluorometil-2,2-difluoro-1- (trifluorometil) vinil etera, poznatijeg kao komponenta A. Danas postoje neslaganja oko nefrotoksičnosti toga spoja (69).

Sevofluran je siguran i pouzdan anestetik, modulator koji smanjuje bazalnu funkciju vitalnih organa (deprivira).

Na respiratorni sustav djeluje kao snažan bronhodilatator, osobito kod zdravih pojedinaca (70, 71). Sevofluran uzrokuje depresiju disanja, povećava frekvenciju disanja s dubinom anestezije, ali pri MACu 1,5 do 2 može dovesti i do apneje (72,73). Gubi se funkcija intrakostalnih mišića i dijafragme (74). Povećava prag odgovora disanja na porast koncentracije

ugljkovog dioksida (CO₂; engl. *carbon dioxide*), smanjuje otpor u dišnim putevima i inhibira trahealno mukocilijarno gibanje, ali najmanje od svih inhalacijskih anestetika (72, 75, 76). Sevofluran je siguran za bolesnike koji boluju od astme (77).

Smanjuje krvni tlak preko smanjenja sistemskog vaskularnog otpora, ovisno o dozi, dok je srčani izbačaj u kliničkim slučajevima održan (60, 85). Sevofluran može prolazno smanjiti srčani izbačaj kod MACa 1 i 1,5, ali se on zatim oporavlja (78). Frekvencija rada srca je održana ili smanjena, s tim da iznad MACa 1,5 povisuje frekvenciju rada srca (78). Postoje prijavljeni slučajevi produženja QT i korigirani QT interval (QTc intervala; engl. *corrected QT interval*) (79) i kod pojedinaca koji imaju idiopatski produžen QTc interval, ali se općenito smatra sigurnim za elektrofiziološke zahvate (80). Protok krvi kroz koronarne žile je održan, ali nema učinak koronarne vazodilatacije (81, 82). Izaziva depresiju miokarda (83). Ne smanjuje centralni venski tlak kod zdravih pojedinaca (50, 79).

Na središnji živčani sustav također djeluje tako da smanjuje metaboličke potrebe i funkciju (depresivan utjecaj): dovodi do cerebralne vazodilatacije, neepileptiformnog oblika elektroencefalograma (EEG; engl. *electroencephalogram*) i ne povećava intrakranijalni tlak te smanjuje metaboličku potrošnju kisika u moždanom tkivu (72, 84, 85). Međutim, postoje radovi koji ukazuju da kod pedijatrijskih bolesnika s anamnezom epilepsije, ali i zdravih odraslih bolesnika, prilikom anestezije provedene sevofluranom može doći do epileptičkih napada (86,87). Isto tako, postoje radovi koji ukazuju da sevofluran može smiriti epileptički napad uzrokovan lidokainom (88). Ne uzrokuje retrogradnu amneziju i ne postoje značajni dokazi da uzrokuje produženo oštećenje intelektualnih funkcija (72). Pri manjim koncentracijama, održana je autoregulacija krvnih žila mozga (89). Može potaknuti malignu hipertermiju (90). Ovisno o dozi, pojačava učinak neuromuskularnih relaksansa (91).

Smanjuje kontraktilnost maternice i protok krvi kroz nju (72, 92).

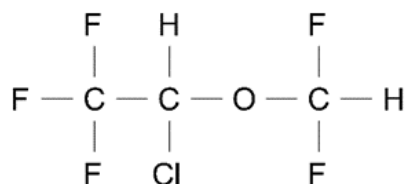
Pokazalo se da sevofluran utječe i na rad gušterače jer je uočeno da najbolje održava inzulinsku razinu na preanestetičkim vrijednostima (93). Sevofluran ima pozitivan učinak na dostavu kisika u jetru povećavajući protok kroz venu portu (94). Smanjuje protok krvi kroz bubreg, udio glomerularne filtracije i stvorenog urina ovisno o dozi (95). Čini se da sevofluran ima učinak prolaznog, ali ne i signifikantnog bubrežnog oštećenja (96). Isto tako, nije dokazano da zbog komponente A može doći do smanjenja bubrežne funkcije (97).

Nefrotoksičnost se pripisuje dvama uzrocima: ranije navedenoj flourooctenoj kiselini te komponenti A. Postoje neke studije koje ukazuju na neurotoksičnost preko manipulacije

mikroribonukleinske kiseline (mikroRNA, skraćeno miRNA; eng. *microribonucleic acid, miRNA*) (98, 99). Nefrotoksičnost je dokazana kod štakora, ali ne i kod ljudi (100, 101).

Postoji nekoliko teorija hepatotoksičnosti sevoflurana: ishemijski hepatitis, smanjenje hepatalne perfuzije ili intrahepatalna kolestaza. Neka novija istraživanja ukazuju da bi se moglo raditi o imunološkom odgovoru (102). Naime, razgradni produkt, fluorooctena kiselina, dokazano mijenja jetrene mikrosomalne enzime što u konačnici dovodi do imunološkog odgovora. Kako se mali postotak sevoflurana metabolizira, imunološki odgovor je rijedak, ali teoretski prisutan.

1.5 Isofluran



ISOFLURAN

Slika 5. Kemijska struktura isoflurana

Isofluran (2-kloro-2-(difluorometoksi)-1,1,1-trifluoroetan, $\text{CHF}_2\text{-O-CHCl-CF}_3$), nezapaljiva je hlapiva tekućina na sobnoj temperaturi. Temperatura vrenja je $48,5^\circ\text{C}$ i tlak u isparivaču 240 mmHg pri 20°C . MAC je 1,15% (103). Procjenjuje se da 0,2% isoflurana prolazi kroz oksidativni metabolizam putem enzima citokrom P-450 (104). Reduktivni metabolizam kod isoflurana ne postoji (72).

Dr. Ross Terrell, u potrazi za boljim inhalacijskim anestetikom, sintetizirao je 1965. godine niz spojeva, a 469. po redu bio je isofluran (105). Trebao je biti predstavljen 1975., ali se odustalo zbog hepatotoksičnosti, na što su ukazala pojedina istraživanja (106). Ponovljene studije to nisu uspjele dokazati, no još uvijek su prisutne kontroverze oko „krađe kisika“ u koronarnim krvnim žilama (engl. *coronary steal syndrome*) (107, 108).

Kao i sevofluran, isofluran je deprivator većine vitalnih sustava.

Deprivira respiraciju, povećava otpor krvnih žila u plućima (109). Za razliku od sevoflurana, ne povećava frekvenciju disanja s dubinom anestezije, ali se gubi funkcija intrakostalnih mišića i dijafragme (110). Ima prodoran miris i može uzrokovati nadražaj dišnih puteva. Kao i sevofluran, izaziva depresiju odgovora na porast koncentracije CO_2 i trahealnog mukocilijarnog gibanja (75, 76). Isofluran privremeno smanjuje sintezu surfaktanta (111).

Smanjuje kontraktilnost srca depresijom srčanog mišića (83, 112). Očuvan je srčani izbačaj (83). Smanjuje krvni tlak, ovisno o dozi, te sistemski vaskularni otpor (78, 113). Povećava centralni venski tlak (78). Povećava frekvenciju srca već i kod nižih MACova (78). Isofluran usporava izbijanje sinus-atrijskog čvora i produžuje vrijeme provođenja His-Purkinijevih niti i kroz provodni sustav ventrikula (114). Produžuje QTc intervala, ali ne kod pojedinaca koji imaju idiopatski produženi QTc interval (115). Očuvana je kardijalna kondukcija normalnim putem (116). Isofluran uzrokuje najveće povećanje krvnog protoka kroz mišić te antagonizira α -adrenergičku vazokonstrikciju (117). Isofluran snažan je koronarni vazodilatator koji može skrenuti krv iz ishemičkih zona srčanog mišića u dio srčanog mišića koji nije zahvaćen ishemijom. To je izvor još uvijek prisutne dileme oko „krađe kisika“ u koronarnim žilama. Isofluran ima učinak β -agonista na glatke mišiće krvnih žila poprečno prugastih mišića (113). Uzrokuje arterijsku vazodilataciju u jetri, očuvana je krvna dostava kisika, a to dovodi do pozitivnog omjera između opskrbe i potrošnje kisika (118). Neki radovi pokazuju da se taj pozitivan učinak prvenstveno odnosi na povećanje protoka kroz venu portu (118). Može poboljšati protok krvi kroz splahnhičnu i bubrežnu regiju zbog somatske i visceralne živčane stimulacije (72).

Deprimira središnji živčani sustav (119). Nema evidentno svojstvo dugotrajnog oštećenja intelektualnih funkcija, kao ni efekt retrogradne amnezije (120). Smanjuje metabolizam mozga i tijekom primjene moguće je postići izoelektrični EEG pri MAC 2 (121, 122). Ne uzrokuje epileptičke napade, čak ima protektivna svojstva (123). Isofluranom uzrokovana hipotenzija, može izazvati suficijentnu moždanu vazodilataciju koja će održati protok krvi kroz mozak na razinama prije nastanka hipotenzije (124). Uglavnom pruža zadovoljavajući omjer protoka krvi kroz mozak i potrošnju kisika u mozgu, tako da ga karakterizira svojstvo protekcije mozga. Isofluran povećava tlak likvora ne mijenjajući količinu njegove produkcije, ali smanjuje njegovu reapsorpciju (125). Može potaknuti malignu hipertermiju (126). Ovisno o dozi, pojačava učinak neuromuskularnih relaksansa kao i sevofluran (127).

Relaksira glatke mišiće maternice i uzrokuje pad krvnog protoka kroz nju (92, 128).

1.6 Kondicioniranje ishemije

Kondicioniranje kod ishemije je primjena podražaja (farmakološkog, kirurškog...) kako bi se smanjila ishemijsko-reperfuzijska ozljeda. Kondicijski se podražaj može primijeniti prije ishemijske epizode i tada se naziva prekondicioniranje, može se provesti nakon ishemijske epizode te se tada naziva postkondicioniranje ili se provodi tijekom cijelog kirurškog postupka i u tom slučaju se naziva kondicioniranje. Podražaj može biti ujedno primijenjen izravno na organ ili tkivo koje ima ishemijsku epizodu, no može biti primijenjen i na nekom drugom organu ili tkivu te na taj način imati utjecaj na ciljni organ smanjujući razmjere štete koji nastaju nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Takva se primjena naziva udaljeno kondicioniranje (RC; engl. *remote conditioning*). Kondicioniranje se može vršiti farmakološki, te poznatije, kirurški odnosno ishemijom.

O ishemijskom kondicioniranju počelo se raspravljati još 1986. godine, kada je Murry sa suradnicima primijetio da primjena više kratkotrajnih ne letalnih epizoda ishemije na srce pasa smanjuje posljedičnu veličinu akutnog infarkta miokarda (129). Od tada se taj protektivni mehanizam pokazao uspješnim kod skoro svih vrsta (miševi, štakori, zečevi, zamorci, psi i ljudi) (130). Zhao i suradnici su 2003. pokušali primijeniti ishemijsko postkondicioniranje, pri čemu su reperfuziju prekidali nizom kraćih epizoda ishemije (131). Eksperiment je pokazao da ishemijsko postkondicioniranje može biti jednako uspješno kao i prekondicioniranje, s tim da je postkondicioniranje klinički praktičnije primijeniti. Godine 1993. McClanahan je proveo eksperiment na zečevima i pokazao da ukoliko se zaustavi protok krvi i zatim pusti kroz bubrežnu arteriju, to dovodi do smanjenja veličine infarkta miokarda (132). Taj je eksperiment označio početak nove primjene kondicijskog podražaja - udaljenog ishemijskog kondicioniranja (RIC; engl. *remote ischemic conditioning*).

Budući da točan mehanizam kondicioniranja još nije u potpunosti utvrđen, postoji niz teorija te je stoga tema mnogih istraživanja. Danas su najdalje otišla istraživanja ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda miokarda i ishemijskog kondicioniranja miokarda, tako da u literaturi postoji niz članaka na tu temu.

Već neko vrijeme postoje podaci iz *in vivo* i *in vitro* eksperimenata, koji ukazuju da inhalacijski anestetici, kao što su sevofluran i isofluran, imaju zaštitni efekt na različite organe od ishemijsko-reperfuzijske ozljede (133, 134, 135, 136, 137). Protuishemijski učinci

inhalacijskih anestetika otkriveni su još prije skoro 40 godina. Lowenstein i suradnici pokazali su da halotan smanjuje porast ST segmenta kod pasa nakon kratkotrajne okluzije koronarne arterije (138). Iako je nejasan mehanizam zaštite organa s inhalacijskim anestheticima, neke studije sugeriraju da se to događa kod srca preko aktivacije mitohondrijskih kalijevih kanala ovisnih o adenzin-trifosfatima (139, 140). Druge studije sugeriraju zaštitu srca i pluća od ishemijsko-reperfuzijske ozljede kroz protuupalne puteve i bubrega preko uplitanja u upalne puteve (133, 141, 142). Nadalje, neki sugeriraju da kondicioniranje djeluje stimulirajući adenzinske receptore koji aktiviraju protein C kinazu i povećavaju proizvodnju dušikovog oksida i slobodnih kisikovih radikala (143).

Aktiviranje ATP osjetljivih kalijevih kanala dugo se smatralo glavnom komponentom kardioprotekcije kod ishemijskog i farmakološkog prekondicioniranja (144, 145). Reperfuzija ishemijskog srca praćena je porastom unutarstaničnog kalcija. Porast unutarstaničnog kalcija ekvivalentan je težini i dužini ishemije (146, 147). Otvaranje ATP-osjetljivih kalijevih kanala (K-ATP kanala; engl. *ATP-sensitive potassium channel*) možda pridonosi održanju normalne koncentracije unutarstaničnog kalcija i sprječava ozljedu staničnih organela zbog prevelike koncentracije kalcija. Neka istraživanja pokazuju da egzogeno primijenjen adenzin pridonosi funkcijski i metabolički boljem oporavku *in vivo* i *in vitro* (148, 149). Svi inhalacijski anestetici iskazuju protektivni učinak tijekom ishemije miokarda, ali isto tako pokazuju različiti stupanj smanjenja oštećenja i funkcionalnog oporavka, što bi ukazivalo na različite mehanizme protekcije (135, 150, 151, 152, 153, 154). Istraživanjima su dokazani protektivni učinci inhalacijskih anestetika i, još važnije, jednostavnost ovog farmakološkog prekondicioniranja kod kardijalnih operacija (155). Dokazano je kako isofluran sprječava smanjenje sistoličkog skraćenja koje nastaje kod multiplih epizoda ishemije i reperfuzije. Na taj se način može poboljšati oporavak postishemičnog, reperfuzijskog miokarda, a potaknut je aktivacijom K-ATP kanala uzrokovanom isofluranom (156). Polimorfonuklearni leukociti (PMN; engl. *polymorphonuclear leukocytes*) doprinose ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi, a učinak halotana, sevoflurana i isoflurana na inhibiciju adhezije PMN na vaskularni endotel koronarnih žila može imati povoljan učinak tijekom opće anestezije (141).

Isto tako, u nizu istraživanja proučavalo se kondicioniranje živčanog sustava. Postoje dokazi koji upućuju da mitohondriji igraju odlučujuću ulogu u posredovanju nekroze ili apoptoze živčanih stanica zbog ishemijsko-reperfuzijske ozljede (157). Brojne promjene mitohondrija uključuju poremećaj permeabilnosti membrane i promjenu njezinog električnog potencijala koji dovodi do otpuštanja intramitohondralnih proteina, od kojih je najpoznatiji citokrom c. Kada

citokrom c iziđe u citosol, spoji se s Apaf 1 (engl. *apoptotic protease activating factor 1*) i kaspazom 9 tvori apoptosome koji u konačnici dovode do razgradnje stanice procesom apoptoze (158, 159). Nadalje, u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi mitohondriji mogu proizvesti ROS koji mogu dovesti do oštećenja lipida, proteina, deoksiribonukleinskih kiselina (DNA; engl. *deoxyribonucleic acid*) i drugih važnih komponenti stanice, uključujući mnoge respiratorne enzime, što dovodi do narušavanja oksidativne fosforilacije, disfunkcije prometa protona i narušavanja električnog potencijala (160). U konačnici, stvaraju se slobodni radikali što može uzrokovati smrt stanice. Prekondicioniranje i rano postkondicioniranje pruža neuroprotekciju preko mitohondrijski kalijev ATP osjetljivih kanala (mitoK ATPkanala; engl. *mitochondrial ATP-sensitive potassium channel*) u modelima štakora pri žarišnoj moždanoj ishemiji (161). Inhalacijski anestetici, kao što su halotan, isofluran i desfluran, pokazuju neka neuroprotektivna svojstva na eksperimentalnim modelima moždane ishemije (162, 163, 164, 165, 166, 167, 168). Istraživanje je pokazalo da prekondicioniranje sevofluranom potiče toleranciju kralježničke moždine prema ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi preko aktivacije kinaza koje se reguliraju preko izvanstaničnog signalnog puta (*ERK*; engl. *extracellular signal-regulated kinase*), a koji se aktiviraju u procesu ozljede (169).

Inhalacijski anestetici imaju protektivni učinak na bubreg (133). Istraživanja koja su proučavala protekciju bubrega sevofluranom od ishemijsko-reperfuzijske ozljede, ukazuju da se ona ne provodi preko K-ATP kanala, za razliku od sevofluranske protekcije miokarda, već da ima neke druge još neotkrivene mehanizme (141).

Brojnim strategijama se pristupalo istraživanju protekcije jetre pri ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi, ali mali broj njih je našao svoje mjesto u kliničkoj praksi. Princip protektivne strategije prekondicioniranja leži u ograničenom izlaganju jetre stresu koje dovodi do pokretanja prirodnih obrambenih mehanizama protiv predstojeće ishemijske epizode (170). Postoji snažno uvjerenje u anesteziji da je isofluran bolji za anesteziju kod kirurgije jetre jer se u postotku manje metabolizira u jetri od sevoflurana. Međutim, neka istraživanja su pokazala da isofluran češće dovodi do porasta jetrenih transaminaza nego sevofluran (171, 172). S druge strane, neka istraživanja na modelima štakora pokazuju da prekondicioniranje isofluranom ima protektivni učinak (173).

1.7 Dosadašnja istraživanja protekcije presatka jetre od ishemijsko-reperfuzijske ozljede

Opća anestezija se tijekom transplantacije jetre rutinski održava inhalacijskim anestetima i to potencijalno omogućuje korištenje njihovih različitih protektivnih učinaka. Ipak, protektivan učinak ovih anestetika je još kontroverzan i upitan, i predmet istraživanja dugi niz godina. Način protektivnog učinka je objašnjavan protuupalnim učinkom, antioksidativnim učinkom ili aktivacijom kalijevih kanala ovisnih o ATP-u. Današnja istraživanja provode se na molekularnoj razini istražujući patogenetske mehanizme i moguće povoljne učinke anestetika.

Dosadašnje studije pokazale su da sevofluran poboljšava ishod ishemijsko-reperfuzijske ozljede preko moduliranja oksidativnog stresa, upalnog odgovora i apoptoze (174). Većina istraživanja provedena je na životinjskim modelima koji su pokušali imitirati uvjete ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Figueira i suradnici dokazali su da prekondicioniranje sevofluranom smanjuje oštećenje jetrenih stanica i acidobaznu neravnotežu, a postkondicioniranje poboljšava hemodinamski oporavak i smanjuje upalni odgovor (175). Neke su studije pokazale da protuupalni učinak nastaje suprimiranjem microRNA-142 i mikroribonukleinske kiseline-9-5-p (miR-9-5p; engl. *microribonucleic acid-9-5-p*) (174, 176) koji sudjeluju u signalnom putu faktora jezgre κB (NF- κB ; engl. *nuclear factor kappa B*). Granja i suradnici pokazali su da sevofluran ima protuupalni učinak preko adenozijski A2B receptor (Adora2b; engl. *adenosine A2B receptor*), a adenzin može inhibirati trombocite i neutrofile i time smanjiti ozljedu (177). Druge studije su dokazale imunološki učinak sevoflurana preko ekspresije ICAM₁ molekule (engl. *intercellular adhesion molecule-1*) i suprimiranja komponentu komplekta C3 (178). Suprotno tome, postoje studije koje ne ukazuju da protektivni učinak ide preko upalnih parametara, već da ide preko očuvanja mitohondrijske funkcije (179). Jedno istraživanje ukazuje na molekularne mehanizme regulacije inhibicijom microRNA-200c, dok druge studije ukazuju da su u protektivne učinke uključeni hem oksigenaza – 1 (HO-1; engl. *heme oxygenase-1*) i očuvanje endotelnog glikokaliksa (180, 181, 182, 183). Jedno od istraživanje pokazuje da sevofluran ne smanjuje razine upalnih čimbenika što vodi do zaključka da ne djeluje na oslobađanje proupalnih čimbenika iz Kupfferovih stanica jetre, ali se čini da je prisutno manje neutrofila te da su prisutne niže vrijednosti ROSa (184).

Klinička istraživanja nisu tako uvjerljiva. Autorica Beck-Schimmer i suradnici su u nizu istraživanja proučavali učinke kondicioniranja različitim farmakološkim tvarima, prvenstveno anestetima na ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu. Jedno istraživanje, koje je provela nad

bolesnicima podvrgnutima operativnom zahvatu na jetri prekondicioniranjem sevofluranom, pokazalo je pozitivniji klinički ishod i povišenu ekspresiju inducibilnih sintaza dušikova oksida (iNOS; eng. *inducible nitric oxide synthase*) mRNA kod sevofluran grupe (185). U drugom istraživanju, u kojem su proveli postkondicioniranje bolesnika s operativnim zahvatom, utvrdili su da postkondicioniranje dovodi do smanjenja apoptoze vjerojatno preko interakcije s jetrenim stelatnim stanicama (186). U multicentričnoj studiji (187) objavljenoj 2015. godine u transplantiranih bolesnika, usporedbom kondicioniranja sa sevofluranom i propofolom, zaključeno je da nema povoljnijeg učinka u bolesnika koji su bili u sevofluranskom protokolu, u odnosu na one u propofolskom protokolu kondicioniranja. Do sličnih zaključaka su došli i u retrospektivnoj studiji kod bolesnika tijekom kirurškog zahvata na jetri usporedbom sevoflurana s propofolom (188). Minou i suradnici proučavali su prekondicioniranje sevofluranom prilikom eksplantacije i zaključili da sevofluran ima povoljan učinak i to posebno kod masno promijenjene jetre (189).

Slične okolnosti su i s isofluranom. Postoji dosta eksperimentalnih modela na životinjama, ali relativno malo kliničkih istraživanja. Mnoga istraživanja na životinjama posvetila su pažnju istraživanju utjecaja isoflurana na jetrene HO-1. Utvrđen je povoljan učinak isoflurana kod kondicioniranja i prekondicioniranja inducirajući HO-1 (173, 190). Međutim, istraživanje prekondicioniranjem isofluranom, koje su proveli Strowitzki i suradnici na moždano mrtvim štakorima, nije utvrdilo protektivni učinak anestetika (191). Nedostatak studije leži u činjenici da je hladna ishemija trajala 24 sata, što u kliničkim okvirima nije realno. Studije na štakorima upućuju na protekciju isofluranom smanjujući infiltraciju neutrofila tijekom ishemijsko-reperfuzijske ozljede, inhibirajući ekspresiju ICAM-1 – međustanična adhezijska molekula 1 (engl. *intercellular adhesion molecule-1*) i potičući mijeloperoksidazu (MPO; engl. *myeloperoxidase*) koja ima utjecaj na infiltraciju neutrofila (192, 193). U radu Samuta i suradnika utvrđeno je da isofluran ima učinak na inhibiranje stvaranja adenozin monofosfat (AMPa; engl. *adenosine monophosphate*) i na taj način regulira energetska neravnotežu, a Zhang i suradnici zaključili su u svom radu da emulziran isofluran ima protektivni učinak na jetru i pluća te da potiče antioksidaciju u mitohondrijima (137, 194).

U kliničkom retrospektivnom istraživanju provedenom u živih darivatelja jetre, uspoređivani su poslijeoperativni ishodi nakon anestezije provedene isofluranom i desfluranom pri čemu je ishod u parametrima jetrene i bubrežne funkcije bio povoljniji kod isofluranske skupine (195). Istraživanje u bolesnika oboljelih od ciroze jetre kojima je rađena parcijalna resekcija jetre, a

anestezija provedena isofluranom ili propofolom, pokazalo je manji upalni odgovor i manje jetreno oštećenje nakon anestezije provedene isofluranom (196).

Rezultati istraživanja provedenih usporedbom učinaka sevoflurana i isoflurana su neuvjerljiva. Dok jedni istraživači zagovaraju bolji učinak sevoflurana preko protuupalnih puteva ili antioksidativnog učinka, drugi prikazuju bolje rezultate isoflurana, ali samo ako se primjenjuje u fazi reperfuzije (184, 197, 198, 199). Treći prikazuju identični učinak sevoflurana i isoflurana na modelu svinja i štakora i to preko smanjenja otpuštanja kisikovih radikala i inhibiranjem lipidnu peroksidazu te regulacijom proteina obitelji B-limfoma-2 (Bcl-2; engl. *B-cell leukemia/lymphoma-2*) koji regulira smrt stanice (200, 201).

Kliničke studije u kojima su uspoređivane farmakološka protekcija isoflurana i sevoflurana u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi temeljile su se na inhalacijskom anestetiku kojim se provodi anestezija, odnosno kondicioniranju. Do sada su objavljene samo tri studije na tu temu. Jedna od njih ne daje prednost niti jednom inhalacijskom anestetiku, a retrospektivno je provedena na 1291 transplantaciji jetre (202). Glavni nedostatak te studije je što je provedena retrospektivno i zbog toga ne postoji ujednačenost protokola te je pratila biokemijske markere i epidemiološki grupe nisu bile uniformne. Druge dvije, provedene na bolesnicima podvrgnutim jetrenoj resekciji, daju prednost sevofluranu (203, 204). U obje studije praćeni su biokemijski markeri, ali kao što su i autori naveli kao nedostatak je utjecaj mnogih dodatnih faktora na razinu biokemijskih markera u dužem periodu („antibiotici, hemodinamske promjene, balans tekućina i epiduralni blok“). Studija Nishiyama i suradnici provedena je na bolesnicima s cirozom jetre te su utvrdili povoljniji učinak sevoflurana pri hepatektomiji na jetre kod koje je prisutna ciroza u određenom stupnju (203). Zbog toga što se jetre s prisutnom cirozom ne transplantiraju, ova studija ne može se u potpunosti primijeniti na presatke jetre.

2 HIPOTEZA

Postkondicionirano korištenje sevoflurana uzrokuje manju pojavnost i niži stupanj morfoloških promjena koje se povezuju s ishemijsko-reperfuzijskim oštećenjem presatka jetre u odnosu na postkondicionirano korištenje isofurana pri transplantaciji jetre.

3 CILJ

3.1 Glavni cilj istraživanja:

- 1) Odrediti utjecaj postkondicioniranog korištenja sevoflurana i isoflurana pri transplantaciji jetre na morfološke promjene ishemijsko-reperfuzijske ozljede parenhima jetre.

3.2 Specifični ciljevi istraživanja

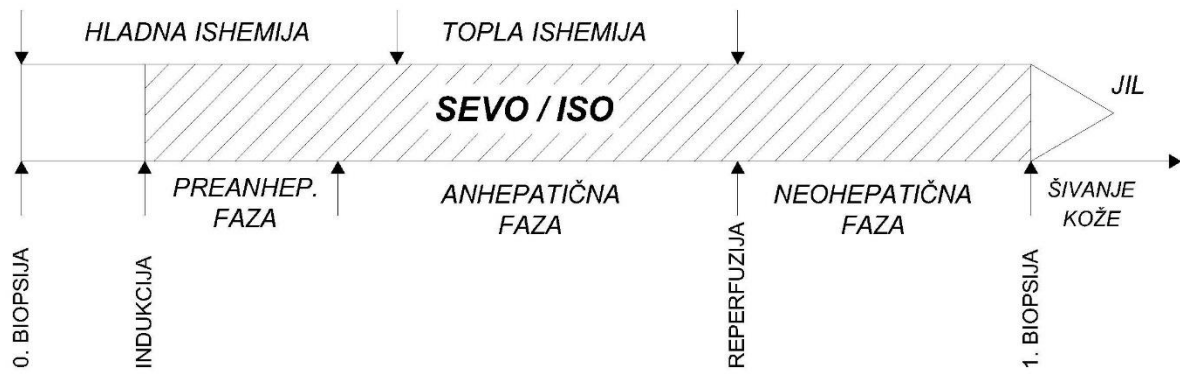
- 1) Odrediti pojavnost i stupanj morfoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u presadcima jetre u odnosu na vremensku duljinu trajanja hladne i tople ishemije te obilježja darivatelja - ET-DRI (*Eurotransplant* indeks rizika darivatelja).
- 2) Usporediti pojavnost i stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede s pojavnošću i stupnjem mikrovezikularne i makrovezikularne steatoze, aktivnosti kroničnog hepatitisa te stadijem fibroze u presatku jetre.

4. METODE I MATERIJALI

4.1 Bolesnici

Nakon odobrenja Etičkog povjerenstava Kliničke bolnice „Mercur“ (Ur. br.–03/1-451) i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Zagrebu, na sjednici održanoj 17.11.2016., provedeno je istraživanje u periodu od 25. prosinca 2016. do 6. ožujka 2021. Svi sudionici potpisali su informirani pristanak nakon razgovora s glavnim istraživačem u kojem su upoznati s ciljevima i metodologijom istraživanja. U ovo prospektivno istraživanje bilo je uključeno 60 ispitanika oba spola, starijih od 18 godina, kojima je planirana transplantacija jetre moždano mrtvog darivatelja u transplantacijskom centru Kliničke bolnice „Mercur“. Potpisani informirani pristanak pribavio se od primatelja prije postupka transplantacije jetre. Također je pribavljen i pristanak obitelji darivatelja za korištenje organa njihovog bližnjeg pri čemu se, kao standardni postupak pred implantaciju organa, uzimala biopsija organa kako bi se procijenilo je li organ pogodan za transplantaciju. Identitet darivatelja i primatelja uključenih u istraživanje zaštićeni su korištenjem broja protokola za identifikaciju. Slučajnim odabirom, ispitanici su pomoću mrežne stranice (www.randomizer.at) podijeljeni u dvije grupe (prva grupa inhalacijska anestezija sevofluranom, druga grupa inhalacijska anestezija isofluranom). Svi drugi lijekovi i kirurški zahvat bili su isti za obje grupe i određeni standardnim protokolom Kliničke bolnice „Mercur“. Ukoliko je zbog bilo kojeg razloga bolesnik zahtijevao određeni inhalacijski anestetik ili promjene od standardnih procedura u Kliničkoj bolnici „Mercur“, isključen je iz istraživanja. Osim toga, kriteriji isključenja iz studije bili su prijeoperacijska potreba za vazoaktivnom potporom, klinički status bolesnika po kojem je postavljena sumnja da će biti produžena potreba za vazoaktivnom potporom (to je prepušteno uobičajenoj kliničkoj procjeni anesteziologa koji je bolesnika pripremao za transplantaciju), zatim potreba za vazoaktivnom potporom tijekom transplantacije dužom od 30 minuta, te smanjivanje MAC (minimalne alveolarne koncentracije) plina ispod 0,5 na duži period od 15 minuta. MAC od 1,0 je koncentracija inhalacijskog anestetika u plućima koja omogućuje da se 50% ispitanika ne pomakne prilikom kirurškoga reza, a određen je godinama bolesnika i tjelesnom temperaturom.

Svi bolesnici su nakon zahvata bili smješteni na odjel Jedinice za intenzivno liječenje, gdje se u svih bolesnika primjenjivala istovjetna i uobičajena poslijeoperacijska skrb sukladno standardnim postupcima pri transplantaciji jetre u Kliničkoj bolnici „Mercur“.



Slika 6. Dizajn protokola istraživanja

4.2 Anesteziološki protokol u istraživanju

Kod svih ispitanica oralno je primijenjen midazolam (7,5 mg) kao premedikacija. Nakon identifikacije bolesnika u operacijskoj sali, postavljen je monitoring elektrokardiograma, neinvazivno mjerenje arterijskog krvnog tlaka, pulsni oksimetar, kapnograf, temperaturna sonda (Infinity Delta XL, *Draegerwerk AG & Co.*, Lubeck, Njemačka) i mjerenje bispektralnog indeksa (BIS; engl. *bispectral index*) elektroencefalograma (*Masimo*® Corporation; California; SAD). Zatim je osiguran periferni venski pristup intravenskom kanilom (ukoliko je moguće najmanje 14G). Prije uvoda u anesteziju, primijenjena je preoksigenacija sa 100% kisika. Uvod u anesteziju učinjen je midazolamom (*AS KALCEKS*, Riga, Latvija) 1-2 mg, etomidatom (*Piramil Critical Care B.V.*, Voorschoten, Nizozemska) 0,3 mg/kg, fentanilom (*Piramil Critical Care B.V.*, Voorschoten, Nizozemska) 1-1,5 mcg/kg i rokuronijem (*Siegerfried Hameln GmbH*, Hameln, Njemačka) 0,8 mg/kg. Nakon što se bolesniku postavi endotrahealni tubus potvrđuje se položaj istog. Održavanje anestezije se vršilo kontinuirano fentanilom (2-5 mcg/kg/sat) i rokuronijem (3-12 mcg/kg/min) te inhalacijskim anestetikom – isofluranom (*Piramal Healthcare*; Morpeth; Velika Britanija) ili sevofluranom (*AbbVie S.r.l.*, Campoverde; Italija), ovisno o randomizaciji. Mehanička ventilacija (*Perseus A500, Draegerwerk AG & Co.*, Lubeck, Njemačka) održavana je kisikom u smjesi sa zrakom (inspiracijska frakcija kisika 50%) uz ukupni protok smjese plinova 2 L/min, isofluranska grupa održavan je s isofluranom 1-2% (ovisno o MACu), a sevofluranska s 1-2,5% sevoflurana (ovisno o MACu). Parametri ventilacije su održavani na 7-10 ml/kg dišnog volumena (VT; engl. *tidal volume*) s 3-5 mmHg pozitivnog tlaka na kraju izdaha (PEEP; engl. *positive end-expiratory pressure*) i respiratorne frekvencije 10-16/minuti kako bi se ugljikov dioksid na kraju izdaha (etCO₂; engl. *end-tidal carbon dioxide*) održavao oko 4,7 kPa. Zatim su se postavile arterijske kanile, četvero-luminalni centralni venski kateter (*Teleflex Medica, Athlone, Co.* Westmeath, Irska), prekrivač grijan toplim zrakom (*BairHugger*™, *3M Company*, St Paul, Njemačka), nazogastrična sonda (tubeCH: 14, *TIK d.o.o.*, Kobarid, Slovenija) te po potrebi drugi nadzor vitalnih funkcija. Kristaloidne otopine, koloidne otopine te krvni derivati nadoknađivani su ovisno o potrebi prema standardnoj kliničkoj proceduri. Laboratorijski nalazi su se određivali svakih trideset minuta ili češće prema standardnoj kliničkoj proceduri.

Eventualna hemodinamska nestabilnost, definirana kao pad srednjeg arterijskog tlaka ispod 60 mmHg, nije rijetka nakon reperfuzije te se volumna nadoknada zbrinjava vazoaktivnim lijekovima, prvo intravenski u bolusima te po potrebi kontinuirano, također prema standardnoj kliničkoj proceduri.

Svi bolesnici su prije reperfuzije dobili bolus dozu metilprednizolona (*Pfizer Manufacturing Belgium NV; Puurs; Belgija*) od 500 mg.

Nakon transplantacije jetre, svi su bolesnici rutinski premješteni na Odjel intenzivnog liječenja, gdje je učinjena ekstubacija i nastavljeno je intenzivno liječenje prema standardnoj kliničkoj proceduri za postupak transplantacije jetre u Kliničkoj bolnici „Merkur“.

4.3 Kirurški protokol u istraživanju

Eksplantacija presatka jetre iz darivatelja učinjena je po standardiziranom protokolu od strane četiri iskusna transplantacijsko-eksplantacijska kirurga koji nisu bili upućeni u postupak randomizacije. Nakon laparatomije i odmah nakon isključenja presatka iz cirkulacije darivatelja, uzorkovan je histološki uzorak presatka jetre koji se i inače rutinski evaluira zbog kvalitete presatka. Ta biopsija je označena kao „0.“ (nulta) biopsija.

Transplantaciju presatka jetre u primatelja proveo je tim od četiri iskusna transplantacijska kirurga po standardiziranim protokolima. Prilikom transplantacije jetre, trebalo je izdvojiti i staviti vaskularnu hvataljku na retrohepatičnu donju šuplju venu te strukture hepatoduodenalnog ligamenta (jetrenu arteriju, portalnu venu i glavni žučni vod). U Kliničkoj bolnici „Merkur“ manipulacija retrohepatičnom šupljom venom radi se takozvanom „piggyback“ tehnikom (ostavlja donju šuplju venu primatelja intaktnom, a donja šuplja vena presatka jetre se oralnim dijelom spaja s donjom šupljom venom primatelja te se aboralni kraj slijepo zatvara). Reperfuzija počinje puštanjem krvi iz donje šuplje vene u presadak. Nakon anastomoze jetrenih arterija primatelja i darivatelja, pristupa se rekonstrukciji bilijarnih vodova koja može biti terminoterminalna ili anastomozom zajedničkoga jetrenog kanala i vijuge jejunuma izolirane prema Rouxu (205). Nakon toga slijedila je hemostaza. Prije zatvaranja šivanja operativnog polja uzorkovao se histološki uzorak presatka jetre koji je označen kao „1.“ (prva) biopsija.

4.4 Histološka analiza

Analizirale su se dvije biopsije darivateljeve jetre označene kao:

- „0.“ biopsija koja odgovara subkapsularnom klinastom isječku jetre dobivene neposredno nakon hladnog propiranja presatka u darivatelju,
- „1.“ biopsija koja odgovara klinastom subkapsularnom isječku jetre darivatelja dobivene otprilike dva sata nakon propiranja presatka u primatelju.

Uzorci u kojima je bilo manje od četiri portalna prostora smatrali su se neadekvatnim i nisu bili uključeni u studiju. Mikroskopska analiza uzoraka izvršena je na arhiviranom materijalu Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju Kliničke bolnice „Merkur“ od strane patologa iskusnog u histološkim promjenama u transplantaciji jetre, a koji nije bio upoznat s ishodom postupka randomizacije ispitanika u pojedinim grupama.

Materijal je bio obrađen standardnim postupkom za dobivanje histoloških preparata koji uključuje fiksaciju tkiva u 10% puferiranom formalinu, uklapanje u parafinske kocke, rezanje rezova debljine 4 μm , deparafiniranje i bojanje standardnom metodom hematoksilin eozin, Gomori reakcijom srebrom za prikaz retikulinskih vlakana, Masson trikromnom metodom za prikaz kolagenih vlakana i metodom Berlinskog modrila za prikaz ekstrahemoglobinskog željeza.

U nultoj biopsiji određivao se stupanj mikrovezikularne i makrovezikularne steatoze, stupanj aktivnosti kroničnog hepatitisa i stadij fibroze (206).

Mikrovezikularna steatoza određivala se semikvantitativno:

0 = nije prisutna,

1 = 1 - 10% stanica,

2 = više od 10% stanica.

Makrovezikularna steatoza se određivala semikvantitativno:

0 = manje od 5% stanica,

1 = 5 - 30% stanica,

2 = 31 - 50% stanica,

3 = više od 50% stanica.

Stupanj aktivnosti kroničnog hepatitisa određivao se prema Ishak modificiranom indeksu aktivnosti hepatitisa (mHAI) (207, 208).

Stadij fibroze određivao se prema Ishak sustavu određivanja stadija fibroze.

Stupanj ishemijsko-reperfuzijskih promjena parenhima određivao se u 1. biopsiji jetrenog presatka semikvantitativno kao blagi, umjereni, teški stupanj ozljede (209):

0 = ishemijsko-reperfuzijska ozljeda nije prisutna,

1 = blaga ishemijsko-reperfuzijska ozljeda karakterizirana je diskretno ili pojedinačno baloniranim degeneriranim hepatocitima, mikrovezikularnom i makrovezikularnom steatozom do 5%, diskretnom kolangiolarnom proliferacijom u portalnim prostorima, diskretnom kolestazom hepatocelularnog i/ili kanalikularnog tipa u zoni 3 jetrenih režnjića i infiltracijom tek pokojeg neutrofilnog granulocita,

2 = umjerena ishemijsko-reperfuzijska ozljeda pokazuje brojnije nakupine baloniranih, degeneriranih hepatocita, veći postotak mikrovezikularne i makrovezikularne steatoze i umjereno izraženi kolangiolarnu proliferaciju u portalnim prostorima, umjereno izraženu kolestazu hepatocelularnog i kanalikularnog tipa koji može zahvatiti ne samo zonu 3, nego i zonu 2 jetrenih režnjića, umjereni infiltrat neutrofilnih granulocita, rijetka apoptotička tjelešca i pojedinačne nekroze hepatocita,

3 = teška ishemijsko-reperfuzijska ozljeda ima pericentralnu konfluentnu nekrozu hepatocita (zonu 3 jetrenih režnjića) s infiltracijom neutrofilnih granulocita uz izražena već prethodno opisana obilježja.

Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede određen je na temelju osam morfoloških obilježja jetrenog parenhima: balonirana degeneracija hepatocita, mikrovezikularna i makrovezikularna steatoza, kolangiolarna proliferacija, kolestaza, apoptotička tjelešca, infiltrat neutrofilnih granulocita te pericentralna konfluentna nekroza.

Mikrovezikularna i makrovezikularna steatoza određivale su se ranije navedenom podjelom.

Balonirana degeneracija hepatocita određivala se semikvanitativno primjenjujući kriterije NASH hepatitisa (210):

0 = nije prisutna,

1 = blaga,

2 = umjerena,

3 = izražena.

Kolangiolarna proliferacija određivana je kao odsutna ili prisutna.

Kolestaza se određivala semikvantitativno prisutnošću jednog od navedenih kriterija:

0 = nije prisutna,

1 = hepatocelularni zastoj,

2 = kanalikularni zastoj,

3 = duktani zastoj.

Apoptička tjelešca određivala su se morfološki i semikvantitativno (211, 212):

0 = nije prisutna,

1 = jedno apoptotičko tjelešce na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (x400),

2 = više od jednog apoptotičkog tjelešca na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (x400).

Infiltracija neutrofilnih granulocita (više od 3 neutrofilna granulocita u nakupini) određivana je semikvantitativno:

0 = nije prisutna,

1 = jedna nakupina neutrofilnih granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (x400),

2 = više od jedne nakupine neutrofilnih granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (x400).

Pericentralna konfluentna nekroza određena je kao odsutna ili prisutna.

4.5 Statistička analiza

Podaci su prikazani tablično i grafički. Prikupljeni podaci obrađeni su metodama deskriptivne i inferencijalne statistike. Distribucija podataka testirana je *D'Agostino-Pearson* testom. Podaci asimetrične distribucije prikazani su kao medijan, raspon i interkvartilni raspon. Podaci simetrične distribucije prikazani su kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD; engl. *standard deviation*) i raspon. Za usporedbu kontinuiranih varijabli s normalnom raspodjelom između skupina, korišten je *Studentov t-test* za nezavisne uzorke, a usporedbu kontinuiranih varijabli koje ne slijede normalnu raspodjelu je korišten *Mann Whitney* test za nezavisne uzorke. Za kategorijske varijable između skupina korišten je X^2 test, odnosno Fisherov egzaktni test. Razlike u ekspresiji stupnja ishemijsko-reperfuzijske ozljede između kvalitete presatka i darivateljevih karakteristika, analizirane su *Kruskal Wallis* testom.

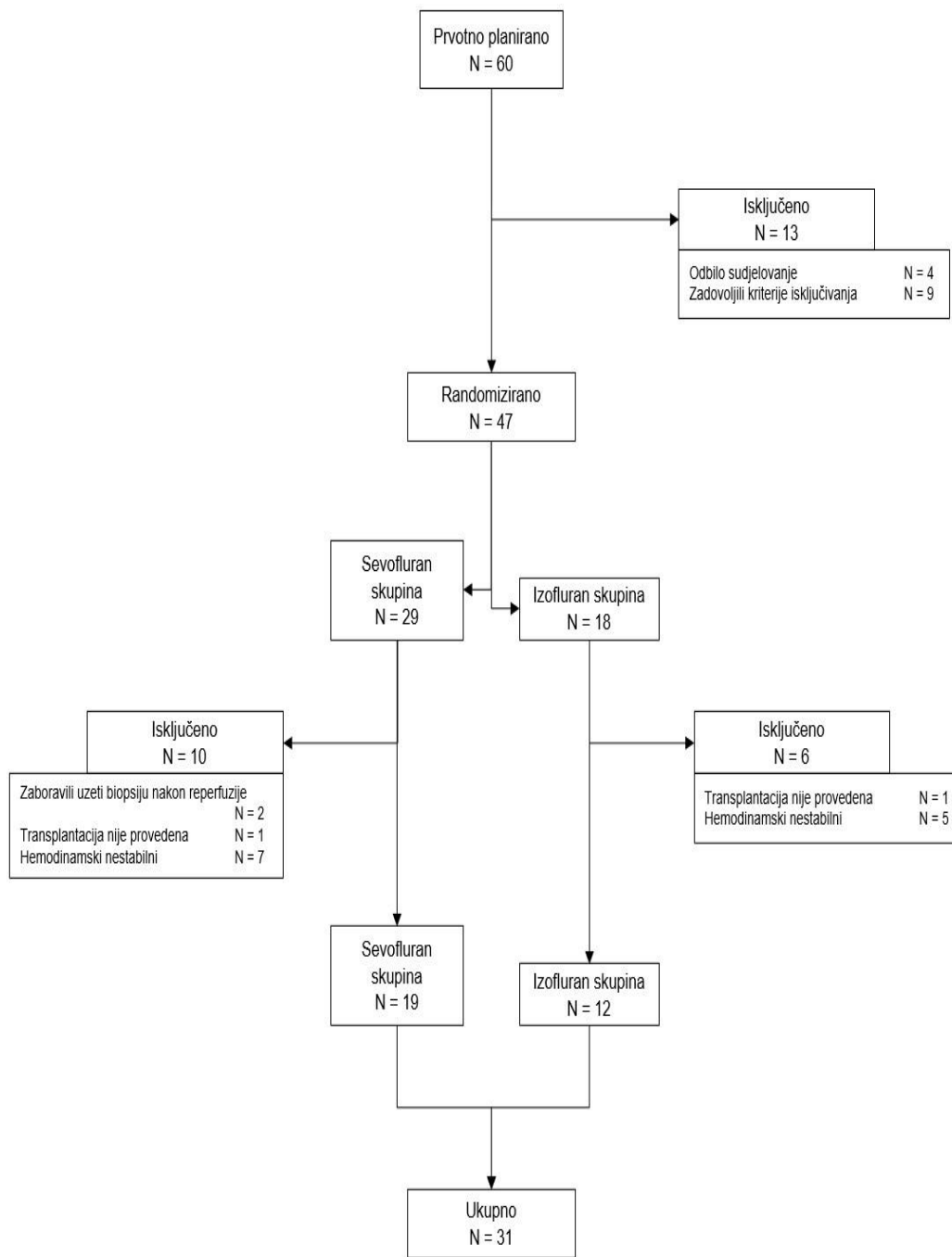
Sve P vrijednosti manje od 0,05 smatrane su statistički značajnima, osim ako nije drugačije istaknuto.

Za sve statističke analize korišten je program *IBM SPSS Statistics, Version 21*.

5 REZULTATI

5.1 Osnovne značajke primatelja i darivatelja i proceduralne karakteristike

Za uključivanje u studiju razmatrano je 60 pacijenata planiranih za ortotopičnu transplantaciju jetre u periodu od 2016. do 2021. godine. Proces tijeka istraživanja prikazan je na Slici 1. Zbog strogih isključnih kriterija, u studiju nije uključeno 29 (48%) od 60 pacijenata koji su razmatrani za ovu studiju. Najveći broj bolesnika isključen je iz istraživanja zbog hemodinamske nestabilnosti tijekom postupka transplantacije. Odlučeno je isključiti takve bolesnike zbog činjenice da sama hemodinamska nestabilnost i korištenje vazoaktivne potpore mogu pojačati ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu i tako utjecati na rezultat procjene učinaka anestetika na taj proces. Hemodinamska nestabilnost često se javlja nakon reperfuzije i u našim uključnim kriterijima smo dopuštali hemodinamsku nestabilnost do 30 minuta, čak i ako je zahtijevala vazoaktivnu potporu. Iz navedenih razloga, veličina sevofluranske i isofluranske skupine je različita (Tablica 1.).



Slika 7. Slikovni prikaz toka istraživanja

Tablica 1 Podjela pacijenata po ispitivanim skupinama

	Sevofluran	Isofluran
Broj pacijenata	19 (61,3%)	12 (38,7%)

Demografska obilježja primatelja i darivatelja u ispitivanim skupinama prikazana su u tablicama (Tablica 2, Tablica 3). Učinjenom statističkom analizom nisu nađene statistički značajne razlike u demografskim karakteristikama darivatelja i primatelja te karakteristikama kirurške procedure između dvije ispitivane skupine.

Tablica 2. Raspodjela spola darivatelja i primatelja u ispitivanim skupinama

Bolesnici	Skupine, N (%)			P*
	Ukupno	Sevofluran	Isofluran	
Darivatelji				
Ženski	20 (65)	11 (58)	9 (75)	0.452
Muški	11 (35)	8 (42)	3 (25)	
Primatelji				
Ženski	7 (23)	5 (26)	2 (17)	0.676
Muški	24 (77)	14 (74)	10 (83)	

* Fisher egzaktni test

Tablica 3. Demografska obilježja darivatelja i primatelja i proceduralne karakteristike

Obilježja	Medijan, raspon (IQR)*			P (U-vrijednost)†
	Svi (N=31)	Sevofluran (N=19)	Isofluran (N=12)	
Dob (godine)				
Darivatelja	65, 16-79 (16)	59, 16-77 (16)	66, 16-79 (12)	0.130 (152)
Primatelj	59, 30-71 (13)	57, 31-71 (14)	64, 30-66 (12)	0.395 (93)
ET-DRI#	2.144, 1.325-2.507 (0,39)	2.122, 1.325-2.507 (0.486)	2.245, 1.869-2.382 (0.154)	0.306 (140)
Vrijeme ishemije (minute)				
Topla	28, 18-72 (9)	28, 18-72 (9)	28, 19-55 (10)	0.887 (110)
Aritmetička sredina ± SD§ (raspon)				
Hladna	385 ± 134 (140-638)	381 ± 150 (163-638)	390 ± 110 (140-547)	0.873‡ (t=0.161, DF=29)

* IQR – interkvartilni raspon

† Usporedba skupina sevofluran i isofluran, *Mann-Whintey* test

§ SD – standardna devijacija

‡ Usporedba skupina sevofluran i isofluran, Studentov t-test

ET-DRI – *Eurotransplant* indeks rizika darivatelja

Većina primatelja jetre uključenih u studiju su muškarci srednje dobi kod kojih je najčešća indikacija za transplantaciju jetre bila alkoholna ciroza jetre (26%). Analizom demografskih podataka o darivateljima, uočava se da se radi o darivateljima nešto starije dobi i viših ET-DRI bodova. Ono što je zanimljivo (i to prati globalne podatke) jest da su darivatelji češće ženskog spola, starije životne dobi, najčešći uzrok moždane smrti je cerebrovaskularni incident, srednje su osteomuskularne konstitucije, pri čemu je većina presadaka jetre iz Hrvatske, i u visokom postotku radi se o bolesnicima liječenim u bolnicama Zagreba (Tablica 4.) (213). ET-DRI bodovanje izračunato je po formuli Braat i suradnika u koju su uključeni rizični čimbenici koji pridonose lošijim rezultatima preživljena presatka (14). Rizična obilježja (Tablica 3.) uključuju dob, uzrok smrti, rasu, darovanje nakon kardijalnog aresta, parcijalno ili „split“ darovanje organa, visinu, lokaciju organa i vrijeme hladne ishemije. Medijan ET-DRI bodovanja u darivatelja organa našeg istraživanja je visok.

Statističkom analizom Mann Whitney U testom, utvrdili smo jednoliku distribuciju rizičnih čimbenika darivatelja između dvije ispitivane skupine (Tablica 4.). Iako je vidljivo (Tablica 4) da su u sevofluranskoj skupini darivatelji nešto mlađe dobi i jače osteomuskularne građe te da su dva jetrena presatka dobivena nakon kardijalnog aresta (nešto su češće iz Zagreba, ali i iz drugih članica *Eurotransplanta*), statističkom analizom sve te razlike nisu se pokazale značajnima.

Karakteristike kirurške procedure: vrijeme hladne i tople ishemije su kratke i nema statistički značajne razlike između ispitivanih skupina. Uzrok tome su zemljopisne karakteristike naše zemlje i iskustvo kirurškog tima.

Tablica 4. Rizični čimbenici darivatelja u ispitivanim skupinama

Rizični čimbenik	Skupina (N)			P	
	Svi (31)	Sevofluran (19)	Isofluran (12)		
	Aritmetička sredina ± SD* (raspon)			t-test	
Visina darivatelja (cm)	177 ± 8 (157-190)	175 ± 9 (157- 190)	180 ± 6 (170-190)	0.101	t=1.692, DF 29
BMI# darivatelja (kg/m ²)	27 ± 3 (21- 32)	27 ± 3 (22- 31)	26 ± 3 (21-32)	0.836	t= -0.209, DF 29
	Medijan, raspon (IQR) [§]			Mann-Whitney test	
Dob darivatelja (godine)	65, 16-79 (16)	59, 16-77 (16)	66, 16-79 (12)	0.130	U=152
	N (%)			X ² -test	
Uzrok smrti (CVI/trauma/anoksija)	24/4/3 (77/13/10)	14/2/3 74/10/16	10/2/0 83/17/0	0.283	DF=1
Lokacija organa (lokalno/regionalno/nacionalno)	11/19/1 (36/61/3)	7/11/1 (37/58/5)	4/8/0 (33/67/0)	0.929	DF=1
Darovanje organa nakon kardiovaskularne smrti (ne/da)	29/2 (94/6)	17/2 (90/10)	12/0 (100/0)	0,646	102
Parcijalni/split presadak (da/ne) (%)	0/100	0/100	0/100	1.000	–
Rasa (crnci/bijelci/drugo) (%)	0/100/0	0/100/0	0/100/0	1.000	–

* SD – standardna devijacija

§ IQR – interkvartilni raspon

BMI - indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)

5.2 Histološke karakteristike presatka i distribucija između ispitivanih skupina

Bioptički materijal uzet nakon isključenja presatka iz krvotoka darivatelja, označen je kao „0.“ (nulta) biopsija. U tkivu je analizirana prisutnost i stupanj mikrovezikularne i makrovezikularne steatoze, prisutnost i stupanj aktivnosti kroničnog hepatitisa te prisutnost i stadij fibroze. Nulta biopsija određuje kvalitetu presatka prije kirurškog zahvata. Statistička analiza pokazuje jednoliku distribuciju kvalitete presatka utvrđene u nultoj biopsiji između dvije ispitivane skupine.

U tablici (Tablica 5) prikazana je distribucija kvalitete presatka između dvije ispitivane skupine. Fisherovim egzaktnim testom utvrđeno je da se presatci randomizirani u dvije ispitivane skupine ne razlikuju prema histoloških parametara kvalitete presatka. Iako se makrovezikularna steatoza pojavljuje nešto učestalije u sevofluranskoj skupini, nije se pokazala kao statistički značajna razlika između dviju skupina. Kako se fibroza te viši stupnjevi aktivnosti kroničnog hepatitisa, kao i mikrovezikularne i makrovezikularne steatoze ne pojavljuju, nisu prikazani u tablici.

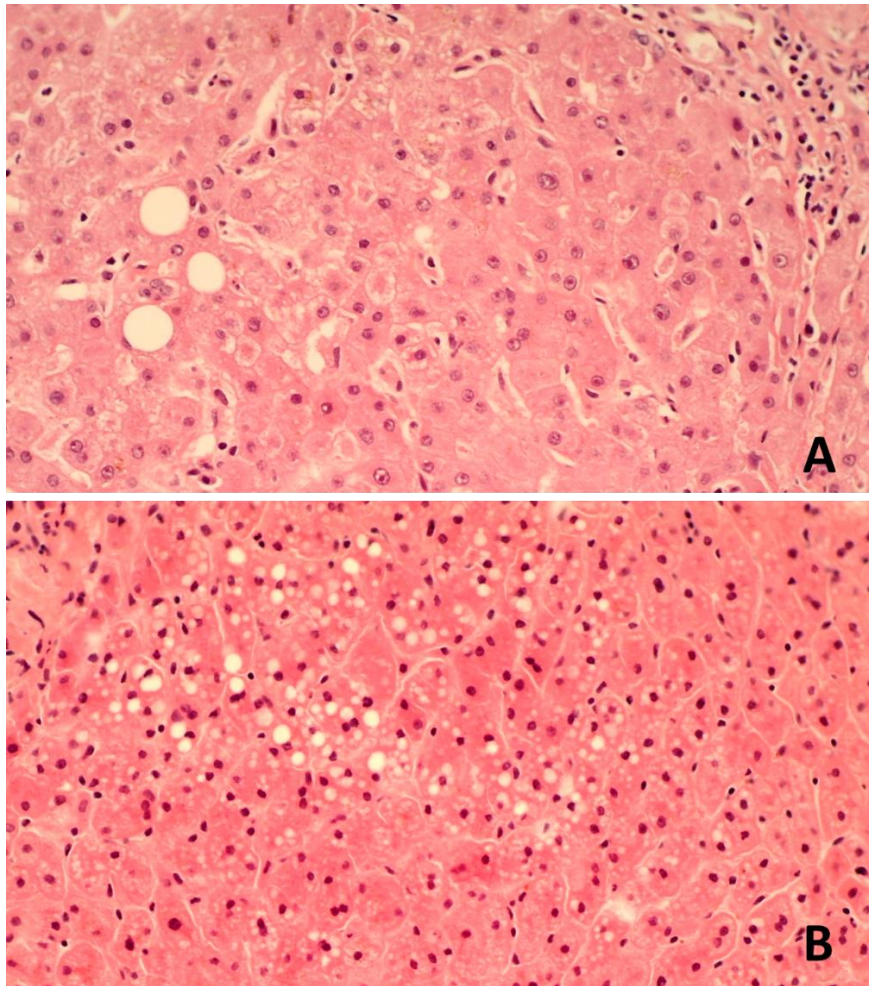
Tablica 5. Morfološke karakteristike presatka u „0.“ biopsiji presatka jetre

	Stupanj	Skupina, N (%)			P*
		Svi	Sevofluran	Isofluran	
CAH [†]	0	29 (94)	18 (95)	11 (92)	1.000
	1	2 (6)	1 (5)	1 (8)	
Mikrovezikularna steatoza	0	30 (97)	18 (95)	12 (100)	1.000
	1	1 (3)	1 (5)	0	
Makrovezikularna steatoza	0	19 (61)	11 (58)	8 (67)	1.000
	1	12 (39)	8 (42)	4 (33)	
Fibroza	0	31 (100)	19 (100)	12 (100)	–
	1	0	0	0	

* Usporedba skupina sevofluran i isofluran, Fisherov egzakti test

† CAH – kronični aktivni hepatitis

(Mikrovezikularna steatoza: 0 - nije prisutna, 1 - 1-10% stanica; Makrovezikularna steatoza: 0 - 0 - manje od 5% stanica, 1 - 5 - 30% stanica; kronični aktivni hepatitis; CAH: 0 - minimalan, 1 - blagi; Fibroza: 0 - bez fibroze)



Slika 8. Makrovezikularna steatoza jetrenog parenhima. A. manje od 3% hepatocita makrovezikularno steatozno promijenjenih citoplazmi; PHD#4. B. manje od 10% hepatocita makrovezikularno steatozno promijenjenih citoplazmi; PHD#23 (HE bojenje; povećanje 200x).

5.3 Pojavnost i stupnjevi ishemijsko-reperfuzijske ozljede i morfoloških promjena kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede

Histološkom analizom bioptata presatka nakon reperfuzije, neposredno nakon presađivanja, a prije samog zatvaranja operacijskog polja, utvrđena je pojavnost histoloških promjena koje se povezuju s ishemijsko-reperfuzijskom ozljedom presatka.

Promjene povezane s ishemijsko-reperfuzijskom ozljedom prisutne su u većini presadaka (87%, Tablica 6.). U gotovo polovici presadaka radi se o blažem obliku promjena, dok je teški stupanj promjena prisutan u 13% organa. U ukupnom broju ispitanika, svi stupnjevi ishemijsko-reperfuzijske ozljede ravnomjerno su zastupljeni u obje skupine uzoraka ($P= 0.241$, $DF=3$, X^2 -test).

U tablici (Tablica 6.) prikazana je učestalost stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede između dviju ispitivanih skupina. U najvišem broju uzoraka pojavljuje se blagi stupanj ozljede. U nešto većem broju bolesnika, teško oštećenje bilo je u sevofluranskoj skupini, no bez statistički značajne razlike.

Tablica 6. Pojavnost i stupnjevanje ishemijsko-reperfuzijske ozljede u „I.“ biopsiji presatka jetre

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda (stupanj)	Skupina, N (%)			P* (DF)
	Svi	Sevofluran	Isofluran	
Nije prisutno (0)	4 (13)	3 (16)	1 (8)	0.317 (1)
Blago (1)	15 (48)	7 (37)	8 (67)	0.796 (1)
Umjereno (2)	8 (26)	5 (26)	3 (25)	0.480 (1)
Teško (3)	4 (13)	4 (21)	0	

* Usporedba skupina sevofluran i isofluran, X^2 -test, uz Bonfferonijevu korekciju granice značajne P vrijednosti na 0.017

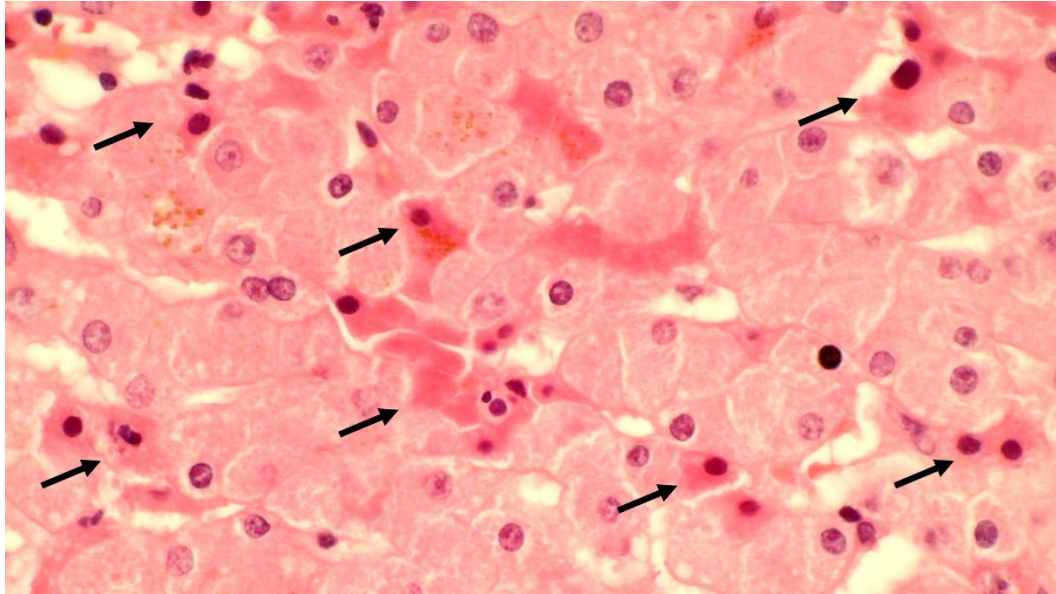
U tablici (Tablica 7) prikazana je pojavnost histoloških promjena prema stupnjevima ishemijsko-reperfuzijske ozljede. U našem istraživanju značajno su učestalije histološke promjene baloniranja, apoptoze, infiltracije neutrofilnih granulocita i nekroze u višim stupnjevima ishemijsko-reperfuzijske ozljede, a ostale histološke promjene nisu postigle statističku značajnost. To se može interpretirati malim uzorkom na veći broj stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede.

Tablica 7. Učestalost histoloških obilježja ishemijsko-reperfuzijske ozljede u „1. biopsiji presatka jetre u različitim stupnjevima ishemijsko-reperfuzijske ozljede

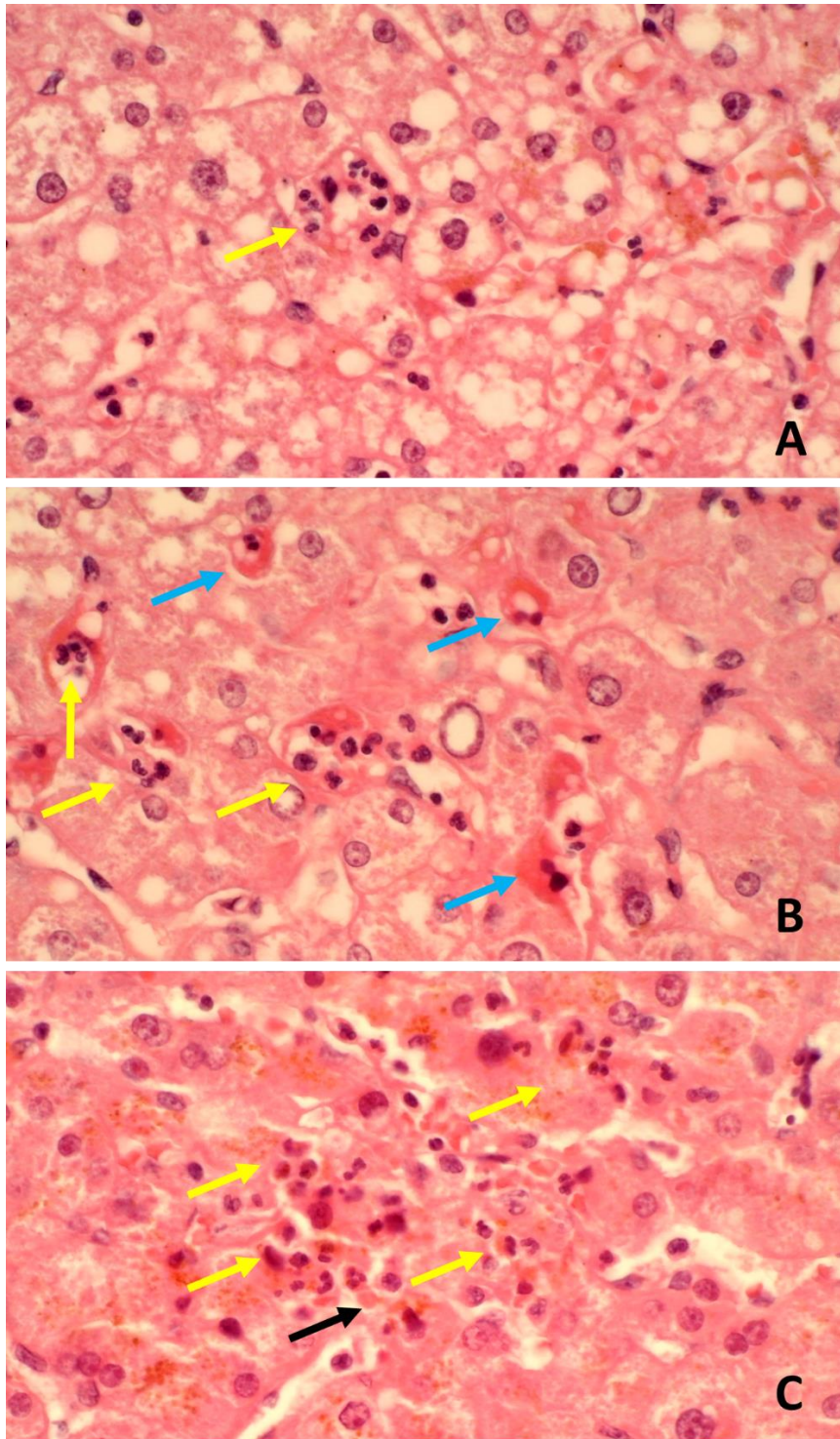
Histološko obilježje		Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede, N (%)				P* (DF)
ishemijsko-reperfuzijske ozljede	Stupanj	0	1	2	3	
Mikrovezikularna steatoza	0	4 (13)	15 (48)	8 (26)	4 (13)	-
	1	0	0	0	0	
Makrovezikularna steatoza	0	4 (23)	9 (53)	3 (18)	1 (6)	0.118 (3)
	1	0	6 (43)	5 (36)	3 (21)	
Baloniranje	0	3 (15)	13 (65)	4 (20)	0	< 0.001 (6)
	1	1 (12)	2 (25)	4 (50)	1 (12)	
	2	0	0	0	3 (100)	
Kolangiolarna proliferacija	0	4 (13)	15 (50)	7 (23)	4 (13)	0.396. (3)
	1	0	0	1 (100)	0	
Kolestaza	0	4 (15)	15 (58)	5 (19)	2 (8)	0.021 (3)
	1	0	0	3 (60)	2 (40)	
Apoptoza	0	4 (67)	2 (33)	0	0	< 0.001 (6)
	1	0	13 (93)	1 (7)	0	
	2	0	0	7 (64)	4 (36)	
Infiltracija neutrofilnih granulocita	0	1 (50)	0	1 (50)	0	0.036 (6)
	1	3 (25)	8 (67)	0	1 (8)	
	2	0	7 (41)	7 (41)	3 (18)	
Nekroza	0	4 (15)	15 (55)	8 (30)	0	< 0.001 (3)
	1	0	0	0	4 (100)	

* χ^2 -test

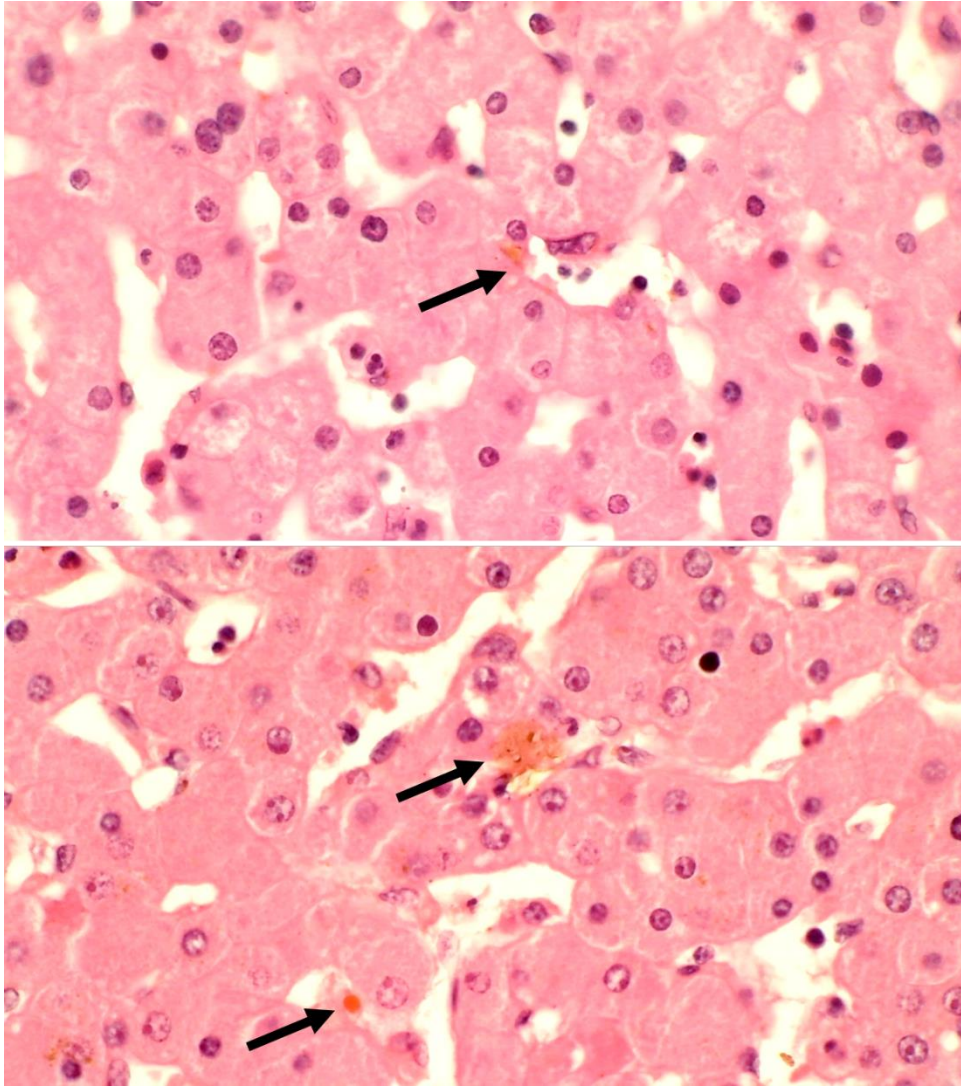
(Mikrovezikularna steatoza: 0 - nije prisutna; Makrovezikularna steatoza: 0 – 0 - manje od 5% stanica, 1 – 5 - 30% stanica; Baloniranje: 0 - nije prisutna, 1 - blaga, 2 - umjerena; Kolangiolarna proliferacija: 0 - odsutna, 1 - prisutna; Kolestaza: 0 - nije prisutna, 1 - hepatocelularni zastoj; Apoptoza: 0 - nije prisutna, 1 - jedno apoptotičko tjelešce na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (400x), 2 - više od jednog apoptotičkog tjelešca na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (400x); Infiltracija neutrofilnih granulocita: 0 - nije prisutna, 1 - jedna nakupina granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (400x), 2 - više od jedne nakupine granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa (400x); Nekroza: 0 - odsutna; 1 - prisutna; Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede: 0 – ishemijsko-reperfuzijska ozljeda nije prisutna, 1 – blaga ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 2 – umjerena ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 3 - teška ishemijsko-reperfuzijska ozljeda)



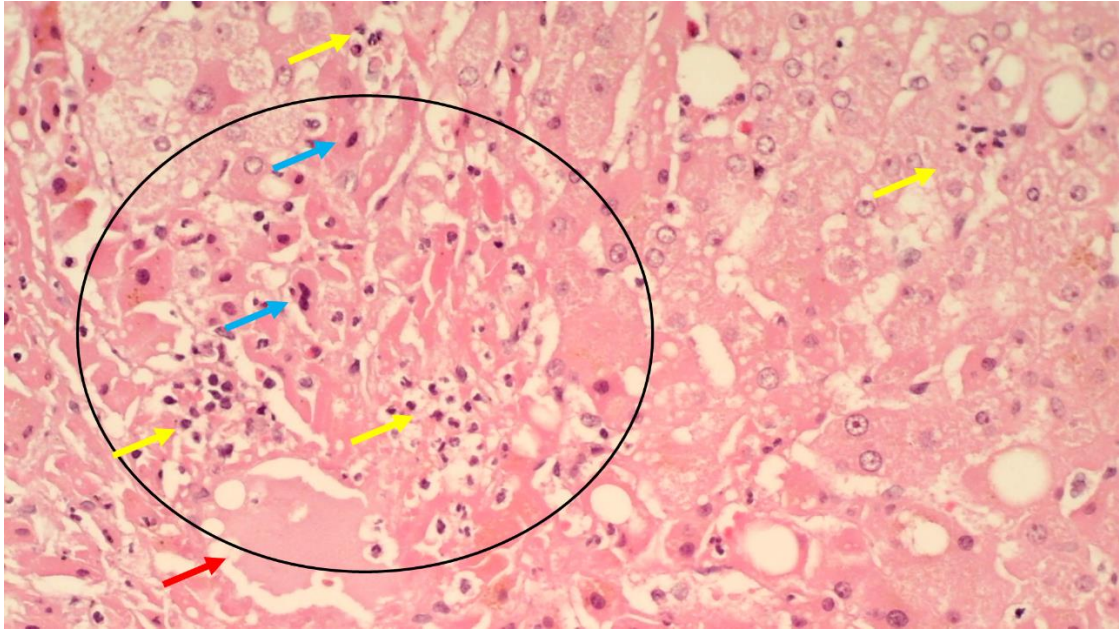
Slika 9. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Brojna apoptotička tjelešca; PHD#2 (označene strelicama; HE bojenje; povećanje 400x).



Slika 10. Patohistološka obilježja ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja; infiltrat neutrofilnih granulocita, apoptotička tjelešca i kolestaza hepatocelularnog tipa. A. jedna nakupina neutrofilnih granulocita (označeno žutom strelicom); PHD#17. B. više nakupina neutrofilnih granulocita i apoptotička tjelešca (označeno plavom strelicom); PHD#30. C. više nakupina neutrofilnih granulocita i apoptotička tjelešca i kolestaza hepatocelularnog tipa (označene crnim strelicama); PHD#13. (HE bojenje; povećanje 400x).



Slika 11. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Kolestaza hepatocelularnog tipa; PHD#3 (označena crnim strelicama; HE bojenje; povećanje 400x).



Slika 12. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Konfluentna nekroza zone 3 jetrenog režnjača (označena kružnicom) s više nakupina neutrofilnih granulocita (žuta strelica) i apoptotičkih tjelešaca (plava strelica); centralna vena (crvena strelica); PHD#8 (HE bojenje; povećanje 200x).

5.4 Učestalost morfoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u ispitivanim skupinama

U tablici (Tablica 8.) detaljnije su analizirane razlike učestalosti osam histoloških obilježja ishemijsko-reperfuzijske ozljede između ispitivanih skupina. Iako općenito nismo utvrdili statistički značajnu razliku pojavnosti pojedinih stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede (Tablica 6.), detaljnijom analizom pojedinačnih parametara nađene su zanimljive razlike. U sevofluranskoj skupini, češća je pojava baloniranja hepatocita te se u istoj skupini baloniranje hepatocita nalazi u višem stupnju ishemijsko-reperfuzijske ozljede ($P=0.040$, DF 2, χ^2 -test). I nekroza se češće pojavljuje u visokom stupnju ishemijsko-reperfuzijske ozljede u sevofluranskoj skupini ($P=0.094$, DF 1, χ^2 -test), no nije bila statistički značajna u odnosu na isofluransku skupinu. Pitanje je bi li se dosegla statistička značajnost da imamo više bolesnika u skupinama.

Tablica 8. Pojavnost morfoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede između ispitivanih skupina

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda	Stupanj	Skupina, N (%)		P* (DF)
		Vrsta	Sevofluran	
Mikrovezikularna steatoza	0	19 (100)	12 (100)	–
	1	–	–	
Makrovezikularna steatoza	0	9 (47)	8 (67)	0.301 (1)
	1	10 (53)	4 (33)	
Baloniranje	0	9 (47)	11 (92)	0.040 (2)
	1	7 (37)	1 (8)	
	2	3 (16)	0	
Kolangiolarna proliferacija	0	18 (95)	12 (100)	0.427 (1)
	1	1 (5)	0	
Kolestaza	0	16 (84)	10 (83)	0.949 (1)
	1	3 (16)	2 (17)	
Apoptoza	0	4 (21)	2 (17)	0.489 (2)
	1	7 (37)	7 (58)	
	2	8 (42)	3 (25)	
Infiltracija neutrofilnih granulocita	0	2 (10)	0	0.369 (2)
	1	6 (32)	6 (50)	
	2	11 (58)	6 (50)	
Nekroza	0	15 (79)	12 (100)	0.094 (1)
	1	4 (21)	0	

* χ^2 -test

(Mikrovezikularna steatoza: 0 - nije prisutna; Makrovezikularna steatoza: 0 - 0- manje od 5% stanica, 1 - 5-30% stanica; Baloniranje: 0 - nije prisutna, 1 - blaga, 2 - umjerena; Kolangiolarna proliferacija: 0 - odsutna, 1 - prisutna; Kolestaza: 0 - nije prisutna, 1 - hepatocelularni zastoj; Apoptoza: 0 - nije prisutna, 1 - jedno apoptotičko tjelešce na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa, 2 - više od jednog apoptotičkog tjelešca na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa; Infiltracija neutrofilnih granulocita: 0 - nije prisutna, 1 - jedna nakupina granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa, 2 - više od jedne nakupine granulocita u jetrenom režnjiću na 10 polja velikog vidnog povećanja mikroskopa; Nekroza: 0 - odsutna; 1 - prisutna)

5.5 Pojavnost i stupanj histoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na proceduralne karakteristike i karakteristike darivatelja

U specifičnim ciljevima pokušali smo utvrditi postoji li povezanost između proceduralnih karakteristika i karakteristika darivatelja na pojavnost ishemijsko-reperfuzijske ozljede (Tablica 9), odnosno na stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede (Tablica 10).

Analiza pojavnosti ishemijsko-reperfuzijske ozljede (Mann Whitney U testom) i stupnja ishemijsko-reperfuzijske ozljede (Kruskal Wallisovim testom,) u odnosu na proceduralne karakteristike i karakteristike darivatelja, uočili smo da su samo više vrijednosti ET-DRI statistički značajno češće povezane s višim stupnjem ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Iako se smatra da su duljina hladne i tople ishemije kao parametri kirurške procedure značajno povezani s pojavnošću i stupnjem ishemijsko-reperfuzijske ozljede, u našem istraživanju to se nije pokazalo točnim. Mišljenja smo da je razlog tome u prvom redu činjenica kako su ostala obilježja primatelja i darivatelja između ispitivanih skupina dosta uniformna te se uglavnom radi o kratkim vremenima tople i hladne ishemije. Isto tako, vrijeme hladne ishemije je relativno kratko zbog zemljopisnih karakteristike naše zemlje pa je vrijeme transporta, odnosno vrijeme od eksplantacije do transplantacije, kratko. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da se ishemijsko-reperfuzijska ozljeda javlja nešto učestalije kod presađaka kod kojih je darivatelj imao niži ET-DRI. ET-DRI je kod viših stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede nešto niži.

Tablica 9. Pojavnost morfoloških promjena u odnosu na proceduralne karakteristike i obilježja darivatelja (ET-DRI bodovanje)

Obilježje	Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda		P* (U)
	Medijan, raspon (IQR) [†]		
	Ne (N=4)	Da (N=27)	
Vrijeme hladne ishemije (minute)	301, 163-444 (243)	394, 140-638 (173)	0.346 (38)
Vrijeme tople ishemije (minute)	27, 23-33 (7)	28, 18-72 (10)	0.860 (51)
ET-DRI [#]	2.316, 2.290-2.420 (0.084)	2.122, 1.330-2.510 (0.336)	0.045 (20)

* *Mann-Whitney* test

† SD – standardna devijacija

‡ IQR – interkvartilni raspon

ET-DRI – *Eurotransplant* indeks rizika darivatelja

Tablica 10. Stupanj morfoloških promjena u odnosu na proceduralne karakteristike i karakteristike darivatelja

Obilježje	Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede				P* (Ht, DF)
	Medijan, raspon (IQR) [†]				
	0 (N=4)	1 (N=15)	2 (N=8)	3 (N=4)	
Vrijeme hladne ishemije (minute)	301, 163-444 (243)	383, 174-614 (145)	397, 140-547 (107)	383, 306-638 (77)	0.803 (0.992, 3)
Vrijeme tople ishemije (minute)	27, 23-33 (7)	30, 19-55 (10)	27, 18-52 (11)	28, 19-72 (30)	0.922 (0.486, 3)
ET-DRI [#]	2.316, 2.290-2.420 (0.084)	2.115, 1.325-2.367 (0.370)	2.133, 1.653-2.404 (0.359)	2.360, 2.104-2.507 (2.397)	0.047 (7.979, 3)

* *Kruskal-Wallis* test

† IQR – interkvartilni raspon

ET-DRI – *Eurotransplant* indeks rizika darivatelja

(Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede: 0 – ishemijsko-reperfuzijska ozljeda nije prisutna, 1 – blaga ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 2 – umjerena ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 3 - teška ishemijsko-reperfuzijska ozljeda)

5.6 Pojavnost i stupnjevanje histoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji

Drugim specifičnim ciljem smo pokušali utvrditi koliko kvaliteta presatka, koja se definira biopsijom odmah nakon početka hladne ishemijske – „0“ biopsijom, utječe na pojavnost (Tablica 11.) i stupanj (Tablica 12.) ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Mann Whitney U testom za pojavnost i Kruskal Wallis testom za usporedbu stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede, nismo utvrdili statistički značajne razlike u distribuciji stupnjeva pojedinih histoloških promjena nulte biopsije presatka.

Mišljenja smo da je uzrok tome i činjenica da su prisutne vrlo male razlike među skupinama u ostalim, uglavnom povoljnim, obilježjima darivatelja, primatelja i transplantacijske procedure. Presadci iznimno loše kvalitete i duge hlade ishemijske u našem se centru ne prihvaćaju za transplantacijsku proceduru. Stoga, u istraživanju nisu uopće prisutni presadci s fibrozom i višim stupnjevima CAHa, mikrovezikularnom i makrovezikularnom steatozom.

Tablica 11. Pojavnost ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji

Kvaliteta presatka		Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda,		P*
		N (%)		
Histološko obilježje presatka		Ne	Da	
Mikrovezikularna steatoza	0	4 (13)	26 (87)	1.000
	1	0	1 (100)	
Makrovezikularna steatoza	0	3 (16)	16 (84)	1.000
	1	1 (8)	11 (92)	
CAH	0	3 (10)	26 (90)	0.245
	1	1 (50)	1 (50)	
Fibroza	0	4 (13)	27 (87)	–
	1	0	0	

* Fisherov egzatni test

(Mikrovezikularna steatoza: 0 - nije prisutna, 1 - 1 - 10% stanica; Makrovezikularna steatoza: 0 = 0 - manje od 5% stanica, 1 - 5 - 30% stanica; CAH: 0 - minimalan, 1 - blagi; Fibroza: 0 - bez fibroze; Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda: 0 - odsutno, 1 - prisutno)

Tablica 12. Stupnjevanje ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji

Histološko obilježje presatka	Stupanj	Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede				P* (DF)
		0	1	2	3	
Mikrovezikularna steatoza	0	4 (13)	15 (50)	8 (27)	3 (10)	0.015 (3)
	1	0	0	0	1 (100)	
Makrovezikularna steatoza	0	3 (16)	11 (58)	4 (21)	1 (5)	0.118 (3)
	1	1 (8)	4 (33)	4 (33)	3 (25)	
CAH	0	3 (10)	15 (52)	7 (24)	4 (14)	0.253 (3)
	1	1 (50)	0	1 (50)	0	
Fibroza	0	4 (13)	15(48)	8(26)	4(13)	-
	1	0	0	0	0	

* χ^2 -test

(Mikrovezikularna steatoza: 0 - nije prisutna, 1 - 1-10% stanica; Makrovezikularna steatoza: 0 - 0- manje od 5% stanica, 1 - 5- 30% stanica; CAH: 0 - minimalan, 1 - blagi;Fibroza:0 - bez fibroze; Stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede: 0 – ishemijsko-reperfuzijska ozljeda nije prisutna, 1 - blaga ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 2 - umjerena ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, 3 - teška ishemijsko-reperfuzijska ozljeda)

6 RASPRAVA

Transplantacija jetre optimalan je način liječenja terminalnog zatajenja jetre bilo koje etiologije i selekcioniranih tumora jetre. Zbog porasta prevalencije rizičnih čimbenika za akutne i kronične bolesti jetre i produljenja životnog vijeka stanovništva sve je veći broj bolesnika u potrebi za postupkom. Kronični nedostatak organa glavni je razlog što se samo 50% bolesnika na listi, odnosno 20 - 25% svih potencijalnih primatelja, uistinu transplantira (7). Kako bi se riješio problem nedostatka organa sve više centara za transplantaciju jetre koristi organe tzv. marginalne kvalitete. Napretkom imunosupresivnog liječenja, anestezioloških, kirurških i internističkih postupaka uz bolje prepoznavanje poslijetransplantacijskih komplikacija, postignuta su značajna poboljšanja u preživljenju bolesnika i presadaka. Prosječno jednogodišnje i petogodišnje preživljenje primatelja iznosi 84 - 96%, odnosno 72 - 78%, a presadaka 72% odnosno 66% (6). Međutim, kombinacija nepovoljnih obilježja primatelja, darovanih organa i transplantacijskog postupka, potencijalni je razlog lošijeg ishoda preživljenja primatelja i presatka uz potencijalnu potrebu za retransplantacijom. Zbog toga su velikim dijelom sadašnje aktivnosti u transplantacijskoj medicini usmjerene prema postupcima koji mogu dovesti do povećanja broja dostupnih organa i prevenciji neželjenih ishoda transplantacijskog postupka, a sve s ciljem poboljšanja preživljenja presatka i primatelja nakon transplantacije jetre.

U neposrednom perioperativnom razdoblju, ishemijsko-reperfuzijska ozljeda jetre navedena je kao vodeći uzrok primarne neadekvatne funkcije presatka. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda povezana je s neposrednim i dugoročnim komplikacijama koje uključuju poslijereperfuzijski sindrom, odgođenu funkciju presatka i imunološku aktivaciju s posljedičnim odbacivanjem presatka. Korištenje takozvanih marginalnih organa, povezano je s višim rizikom ishemijsko-reperfuzijske ozljede, što u kontekstu kritičnog nedostatka organa kontinuirano potiče dodatna istraživanja mehanizama protekcije jetre od njezinih posljedica. Prateći literaturu, izneseni su i opisani razni postupci i lijekovi koji kroz prekondicioniranje, postkondicioniranje ili kondicioniranje, smanjuju opseg ozljede i poboljšavaju ishod (214, 215). Značajno unapređenje kirurške tehnike i poslijeoperacijskog zbrinjavanja nakon transplantacije jetre, dovelo je anesteziologe pred pitanje može li se još nekako unaprijediti postupanje tijekom transplantacije jetre, a sve sa svrhom boljih kliničkih rezultata i, naravno, smanjenja ukupnih troškova. Bolje korigiranje transfuzijskog liječenja, adekvatni balans tekućina, kontrola poslijeoperacijske boli i smanjenja stresa te prekondicioniranje korištenjem određenih opioda i inhalacijskih anestetika, primjeri su situacija u kojima anesteziološkim tehnikama i postupcima možemo

pridonijeti boljim rezultatima transplantacije jetre (216, 217). Iako se intraoperativna ishemijsko-reperfuzijska ozljeda jetre generalno događa za vrijeme opće anestezije, tek su se nedavno počeli istraživati efekti različitih postupaka anestezije na takvu vrstu ozljede. Inhalacijski anestetici, osim svojih anestetskih učinaka, imaju niz značajnih ne anestezioloških fizioloških učinaka koji su dokazani kroz godine. Kroz povijest se vjerovalo da inhalacijski anestetici imaju toksičan učinak na jetru. Taj rudiment je ostao kao posljedica „halotanskog hepatitisa“ (218). Stoga, svaki se inhalacijski anestetik dodatno testirao te se na najmanju naznaku toksičnosti povlačio iz primjene. Posljedica toga osjetila se i u primjeni sevoflurana i isoflurana čija je komercijalna upotreba značajno kasnila. Međutim, rezultati niza današnjih istraživanja ukazuju na povoljan učinak inhalacijskih anestetika na funkciju jetre (81). Još od 1983. godine istražuju se protektivni učinci kod ishemije inhalacijskih anestetika kao dodatni efekt uz sedaciju (65). Dok kirurško ishemijsko prekondicioniranje zahtjeva vrijeme i može biti komplicirano te je ponekad teško provedivo u pravom trenutku, farmakološka protekcija tijekom anestezije je lako primjenjiva i neinvazivna te predstavlja atraktivnu alternativu ishemijskom kondicioniranju. To zvuči kao idealno sredstvo koje bi bar donekle moglo smanjiti ozljedu nakon ishemije. Tijekom zadnjih par desetljeća, opsežno su se istraživali protektivni učinci inhalacijskih anestetika. Najznačajniji su radovi na miokardu te su se posljedično tome i modeli protekcije na miokardu najviše istraživali (219). Donekle se ti modeli mogu preslikati i na druga tkiva, ali ne u potpunosti. Protektivni mehanizmi inhalacijskih anestetika nisu u potpunosti razjašnjeni, ali čini se da uključuju različite puteve koji mogu početi prije, tijekom ili poslije ishemije. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda je zanimljiv, multifaktorijalan događaj, tako da je naivno očekivati da protektivni učinci idu samo preko jednog signalnog puta.

U transplantaciji jetre, dokazi o prednosti jednog anestetika nad drugim u svrhu smanjenja incidencije i težine ishemijsko-reperfuzijske ozljede, nisu uvjerljivi. Ta nedosljednost može biti posljedica različitih anestezioloških protokola, ali i mnoštva drugih čimbenika koji utječu na ishod postupka transplantacije jetre, a na koje je teško utjecati u kliničkim istraživanjima (npr. vremena ishemije, obilježja darivatelja i primatelja...). Naše istraživanje je usmjereno prema najjednostavnijoj primjeni inhalacijskih anestetika u kliničkoj praksi, koje ne bi uključivalo dodatne intervencije izvan standardnih procedura, pa je realno očekivati mogućnost njihove rutinske upotrebe u kliničkoj praksi.

Ovo istraživanje uključuje procjenu uloge dva protokola postkondicioniranja inhalacijskim anestetikom nakon reperfuzije do zatvaranja kože.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi postojanje povoljnijeg učinka sevoflurana u odnosu na isofluran, na ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu analizirajući patohistološke uzorke bioptata presatka jetre.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je ishemijsko-reperfuzijska ozljeda iznimno česta i prisutna u 87,1% presadaka. U polovici slučajeva radi se o blagim histološkim promjenama, u trećini umjerenom, a u preostalih 15%, teškom stupnju ozljede. Od svih promatranih histoloških obilježja ishemijsko-reperfuzijske ozljede, statistički su značajno učestalije histološke promjene baloniranja hepatocita, apoptoze, infiltracije neutrofilnih granulocita i nekroze jetrenog parenhima u višim stupnjevima ishemijsko-reperfuzijske ozljede, dok mikrovezikularnu i makrovezikularna steatoza, kolangiolarna proliferacija i kolestaza ne pokazuju značajne razlike u distribuciji ovisno o stupnju ishemijsko-reperfuzijske ozljede.

Unatoč činjenici da su neka ranija istraživanja pokazala da bi eventualno sevofluran imao prednosti kod transplantacije jetre jer je u nekim istraživanjima pokazao protektivne karakteristike, rezultati našeg istraživanja nisu to potvrdili. Izbor inhalacijskog anestetika ne utječe na pojavnost i stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Jedino detaljnijom analizom histoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede, pokazalo se da je baloniranje hepatocita statistički češće u težem stupnju ozljede kod bolesnika kod kojih je korišten sevofluran u odnosu na isofluran. Iako distribucija nije postigla statistički značajnu razliku, postoji tendencija češće pojavnosti nekroze presatka u bolesnika liječenih sevofluranom. Slijedom navedenog, dostupni podaci koji su dobiveni u našem istraživanju ne podržavaju našu hipotezu da bi sevofluran imao protektivni učinak u odnosu na isofluran. Naprotiv, u našem istraživanju isofluran pruža određeni protektivan učinak na jetru od ishemijske-reperfuzijske ozljede u vidu manje pojavnosti baloniranja hepatocita. U našem istraživanju protekcija organa evidentirana je kao povoljniji histološki nalaz. Iako je teško bez detaljnijeg istraživanja kliničkih ishoda donijeti definitivne zaključke, postoje naznake da je primjena isoflurana za održavanje anestezije tijekom transplantacije preporučljiva kao nešto što je lako primjenjivo. Baloniranje, odnosno jače izraženi edem stanica, jedna je od osnovnih histološka promjena koja se pojavljuje kod ozljeda jetrenih stanica. Ono se može naći u većini presadaka nakon transplantacije jetre (220). Baloniranje je rezultat teških ozljeda hepatocita uzrokovano nedostatkom ATPa i porastom unutarstanične koncentracije kalcija i zatim poremećaja citoskeleta (221). Ako je baloniranje izrazito teško, može dovesti do smrti stanice. Ostale histološke promjene nisu pokazale statistički značajnu pojavnost u ispitivanim skupinama.

Velika prednost našeg istraživanja je ta što se radi o randomiziranoj studiji s vrlo strogo definiranim kriterijima za uključivanje u studiju. Takvim definiranjem smo izbjegli utjecaj drugih potencijalnih parametara koji bi mogli doprinijeti ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi, ali s druge strane, iz istraživanja smo morali isključiti veliki broj bolesnika. Ono što iznenađuje jest da rezultati istraživanja nisu pokazali statistički značajnu povezanost stupnja ozljede te duljine hladne i tople ishemije. Mišljenja smo da je sveukupno kratko trajanje hladne i tople ishemije glavni razlog što nije bilo statistički značajne povezanosti stupnja ozljede te duljine hladne i tople ishemije. Budući da je naša zemlja mala, vrijeme hladne ishemije je ukupno kraće nego što je prikazano u drugim svjetskim istraživanjima. Udio organa darivatelja iz područja *Eurotransplanta* koji se koriste u transplantaciji jetre u Hrvatskoj je relativno mali – 3,2%. To možemo zahvaliti kulturi darovanja organa u našoj zemlji koja je na zavidnoj razini. Jedina statistički značajna povezanost koju smo uspjeli dokazati jest učestalost višeg stupnja ishemijsko-reperfuzijske ozljede kod nižih vrijednosti ET-DRI. Dosadašnja istraživanja pokazuju da preživljenje presatka kod darivatelja s višim ET-DRI je niža sukcesivno kroz vremenska razdoblja. Indirektno je za očekivati i viši stupanj ishemijsko-reperfuzijske ozljede kod darivatelja s višim ET-DRI što onda ne odgovara našim rezultatima. Razlog navedenom nije jednostavno objasniti jer bi se moglo očekivati da darivatelji lošije kvalitete nepovoljno utječu na pojavnost ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Ipak, moguće je da se u postupku alokacije koje je u Republici Hrvatskoj „center-oriented“, odabrao presadak lošije kvalitete za primatelja povoljnijih kliničkih i/ili laboratorijskih obilježja koji imaju protektivni učinak presatka u razvoju ishemijsko-reperfuzijske ozljede. „Center-oriented“ alokacija označava da se presadak dodjeljuje transplantacijskom centru čiji je pacijent prvi na listi čekanja organa, a koordinatori u centru imaju pravo alokacije presatka pacijentu za kojeg postoje objektivni pokazatelji da bi mu karakteristikama organ najbolje odgovarao. Individualna odluka kliničara pri sparivanju darivatelja i primatelja, temeljena je na znanju, iskustvu i kliničkoj procijeni, a predstavlja subjektivni čimbenik na koji je teško utjecati. Svakako ove rezultate treba dodatno istražiti.

Uzimanje „0.“ - biopsije nije standard u protokolima pri transplantaciji jetre. U našoj ustanovi uzimanje „0.“ - biopsije neposredno nakon početka hladne ishemije dio je protokola transplantacije jetre kako bi se mogla procijeniti kvaliteta presatka. Značajna prednost našeg istraživanja odnosi se i na činjenicu da je svim primateljima utvrđeno postojanje eventualnog početnog histološkog oštećenja jetre kako bi se ona jasno razlučila od ishemijsko-reperfuzijske ozljede koja se povezuje s učincima transplantacijskog postupka. Mi smo mogli procijeniti

kvalitetu presatka i njihovu distribuciju između dviju ispitivanih skupina. Kvaliteta presadaka nije se razlikovala između dvije ispitivane skupine. U našem istraživanju kvaliteta presatka temeljena na histološkim parametrima je ocijenjena kao dobra, odnosno adekvatna za transplantaciju prema kriterijima (209). U literaturi se opisuje da se mikrovezikularna steatoza pojavljuje do 20%, dok je u našem istraživanju pojavljuje u puno manjem postotku (3,2%) (222). Podjednako je kronični aktivni hepatitis prisutan u tek 6,5% presadaka. Zbog prosječno starije dobi darivatelja i visoke prevalencije pretilosti u općoj populaciji, očekivano je makrovezikularna steatoza prvog stupnja (steatoza 5 - 30%) česta i prisutna u 38,7% presadaka. Usporedbom pojavnosti i distribucije stupnjeva pojedinih histoloških promjena „0.“ - biopsije i stupnjeva ishemijsko-reperfuzijske ozljede nismo utvrdili statistički značajne razlike. Može se zaključiti da je zbog visoke kulture darovanja, kvaliteta presadaka koji se koriste u našoj ustanovi dobra.

Sljedeća biopsija presatka uzorkovana je u trenutku prije zatvaranja kože jer se u tom trenutku u bioptatu jetre ne očekuju druga eventualna oštećenja osim onih povezanih s ishemijsko-reperfuzijskom ozljedom, a za samog bolesnika nema dodatne traume, odnosno eventualni rizik krvarenja kontrolira se tijekom kirurške procedure. Takvo je uzorkovanje uzoraka tada pod kontrolom oka i bilo kakvo krvarenje je izrazito lako zbrinuti. Kasnije uzimanje kod bolesnika kod kojih još najčešće nije uspostavljena adekvatna koagulacija, može ugroziti bolesnika. Osim ishemijsko-reperfuzijske ozljede, na ozljedu presatka i s njom povezanih histoloških oštećenja utječu još antibiotici i drugi razni lijekovi koji se primjenjuju u poslijeoperacijskom periodu, hemodinamska nestabilnost, odnosno hipotenzija i potreba za vazoaktivnom potporom, metabolizam imunosupresivne terapije i potencijalno odbacivanje, infekcija, komorbiditet primatelja i još mnogi drugi. U transplantacijskom postupku nemoguće je kontrolirati sve te parametre. Stoga smo za ovu studiju odabrali neposredni period tijekom anestezije, kao razdoblje u kojem je relativno lako kontrolirati dodatne parametre koji bi mogli utjecati na ozljedu presatka i bioptički uzorak tkiva presatka. Koliko god je to prednost ove studije, ono je ujedno i potencijalni nedostatak jer se radi o relativno kratkom periodu promatranja. Ono što se pokazalo zanimljivim u našem istraživanju jest da unatoč pojavi ishemijsko-reperfuzijske ozljede u visokom postotku slučajeva i često višeg stupnja ozljede presatka, posljedični utjecaj iste na preživljenje presatka ili bolesnika se ne nalazi. U našem istraživanju, jednomjesečno preživljenje bolesnika je bilo 100%, dok je samo kod jednog bolesnika u tom periodu bila potrebna retransplantacija i to zbog vaskularnih komplikacija (tromboze jetrene arterije).

Istraživanje ima niz ograničenja:

- Mali broj ispitanika u pojedinim ispitivanim skupinama. Zbog strogih isključujućih kriterija veličina ispitivanog uzroka je ograničena na manji broj bolesnika koji su zadovoljili kriterije za analizu učinka terapije na ishode ishemijsko-reperfuzijske ozljede.
- Zbog veličine uzorka i analiza unutar pojedine grupe po pojedinim histološkim parametrima, također je ograničena.
- Kratki vremenski period od reperfuzije do uzorkovanja tkiva presatka jetre jednako je tako ograničavajući čimbenik, ali kao što je navedeno ranije, taj period je uzet jer smo time smanjili broj drugih čimbenika na minimum, a koji bi mogli utjecati na rezultate istraživanja. Nažalost, to je dovelo do toga da se analiziraju samo efekti akutne faze reperfuzije. Osim toga, klinički ishod bi trebao biti najvažniji parametar, jer svi drugi parametri, od kojih neki nisu uključeni u ovu studiju, samo pomažu odrediti najbolji put prema povoljnom kliničkom ishodu.

7 ZAKLJUČAK

U istraživanju smo pokazali da isofluran pruža određeni protektivan učinak na jetru u potencijalnom razvoju ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Iako je teško bez opsežnijih i detaljnijih istraživanja preporučiti, postoje naznake kako je primjena isoflurana za održavanje anestezije tijekom transplantacije preporučljiva u smislu lake primjene farmakološkog sredstva. U ovom istraživanju je protekcija organa evidentirana kao povoljniji histološki nalaz.

Zbog potencijalno protektivnog učinka isoflurana, možemo zaključiti da su potrebna daljnja istraživanja kako bi se potvrdila hepatoprotektivna uloga inhalacijskih anestetika i optimizirala njihova upotreba u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi presatka jetre.

8 KRATKI SADRŽAJ

Uvod. Period tople i hladne ishemije tijekom transplantacije jetre nosi rizik oštećenje presatka jetre u vidu oštećenja funkcije presatka nakon transplantacije. Sve veće potrebe za transplantacijama jetre pridonose većem broju potrebnih presadaka jetre. Jedna od metoda je postkondicioniranje inhalacijskim anestheticima - sevofluranom i isofluranom.

Materijal i metode. Provedeno je prospektivno, randomizirano istraživanje za koje je razmatrano 60 bolesnika starijih od 18 godina planiranih za ortotopičnu transplantaciju jetre u periodu od 2016. do 2021. godine koji intraoperativno nisu bili hemodinamski nestabilni. Zbog strogih uključnih parametara, biopsija nakon reperfuzije uzeta je kod 31 bolesnika. Procjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede provedena je na histološkim materijalima uzetim intraoperativno, neposredno nakon početka hladne ishemije (nulta biopsija) i druga nakon reperfuzije, a neposredno prije šivanja kože (prva biopsija).

Rezultati. Histološkom analizom utvrđeno je da nema razlike između skupina u pojavnosti i stupanju ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Detaljnom analizom 8 histoloških parametara koji se javljaju kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede nađeno je statistički značajno učestalije baloniranje u sevofluranskoj skupini. Iako se nekroza javlja češće u sevofluranskoj skupini, ni ona ni drugi parametri nisu postigli statistički značajniju pojavnost ni u jednoj skupini. Kvaliteta presatka i parametri kirurške procedure nemaju statistički značajan utjecaj na pojavu ishemijsko-reperfuzijske ozljede.

Zaključak. U istraživanju smo demonstrirali da isofluran pruža određeni protektivan učinak na jetru od ishemijsko-reperfuzijske ozljede, iako ga je teško bez detaljnijeg istraživanja preporučiti.

Ključne riječi. transplantacija jetre, sevofluran, isofluran, ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, postkondicioniranje

9 SUMMARY

COMPARISON OF PHARMACOLOGICAL PROTECTION USING SEVOFLURANE AND ISOFLURANE IN ISCHEMIC/REPERFUSION GRAFT LIVER INJURY

Nataša Paklar; 2024.

Introduction. During an orthotopic liver transplantation (OLT), there is a risk of damage to the liver graft due to both warm and cold ischemia periods. As the demand for liver transplants increases, new challenges arise in protecting the graft. One proposed method is postconditioning with volatile anesthetics such as sevoflurane and isoflurane.

Material and methods. A prospective, randomized study was conducted from 2016 to 2021, which included 31 hemodynamically stable adult patients undergoing OLT. The anaesthesia was maintained using either sevoflurane or isoflurane. The study assessed the ischemic/reperfusion injury, which was evaluated on histological material sampled intraoperatively. The samples were taken immediately after the onset of cold ischemia, immediately after reperfusion, and just before suturing the skin.

Results. We found no significant difference in the incidence or degree of ischemic/reperfusion injury between the two groups. However, a detailed analysis of eight parameters occurring in ischemic/reperfusion injury showed that ballooning was more frequent in the sevoflurane group. Although necrosis occurred more frequently, neither it nor any other parameters showed a statistically significant incidence in either group. The quality of the graft and surgical procedure parameters did not have a statistically significant effect on ischemic/reperfusion injury.

Conclusion. Although isoflurane has been shown to provide some protection against ischemic/reperfusion injury during OLT, further research is required to recommend one volatile anesthetic over another.

Keywords. liver transplantation, sevoflurane, isoflurane, ischemic/reperfusion injury, postconditioning

POPIS SLIKA

Slika 1. Majstor Los Balbasesa, sveti Kuzma i Damjan čudotvorno transplantiraju nogu, 1495.,.....	1
Slika 2. Slikovni prikaz deregulacije fenotipa jetrenih stanica uslijed ishemijsko-reperfuzijske ozljede.....	11
Slika 3. Slikovni prikaz deregulacije jetrenog endotela i interakcija sa stelatnim jetrenim stanicama tijekom ishemijsko-reperfuzijske ozljede.....	12
Slika 4. Kemijska struktura sevoflurana.....	14
Slika 5. Kemijska struktura isoflurana.....	17
Slika 6. Dizajn protokola istraživanja.....	28
Slika 7. Slikovni prikaz toka istraživanja.....	37
Slika 8. Makrovezikularna steatoza jetrenog parenhima.....	44
Slika 9. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Brojna apoptotička tjelešca.....	47
Slika 10. Patohistološka obilježja ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja; infiltrat neutrofilnih granulocita, apoptotička tjelešca i kolestaza hepatocelularnog tipa.....	48
Slika 11. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Kolestaza hepatocelularnog tipa;.....	49
Slika 12. Patohistološko obilježje ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja. Konfluentna nekroza zone 3 jetrenog režnja s više nakupina neutrofilnih granulocita i apoptotičkih tjelešaca.....	50

POPIS TABLICA

Tablica 1 Podjela pacijenata po ispitivanim skupinama.....	38
Tablica 2. Raspodjela spola darivatelja i primatelja u ispitivanim skupinama.....	38
Tablica 3. Demografske obilježja darivatelja i primatelja i proceduralnih karakteristika.....	39
Tablica 4. Rizični čimbenici darivatelja u ispitivanim skupinama	41
Tablica 5. Morfološke karakteristike presatka u „0.“ biopsiji presatka jetre.....	43
Tablica 6. Pojavnost i stupnjevanje ishemijsko-reperfuzijske ozljede u „1.“ biopsiji presatka jetre	45
Tablica 7. Učestalost histoloških obilježja ishemijsko-reperfuzijske ozljede u „1.“ biopsiji presatka jetre u različitim stupnjevima ishemijsko-reperfuzijske ozljede.....	46
Tablica 8. Pojavnost morfoloških promjena ishemijsko-reperfuzijske ozljede između ispitivanih skupina.....	52
Tablica 9. Pojavnost morfoloških promjena u odnosu na proceduralne karakteristike i obilježja darivatelja (ET-DRI bodovanje)	54
Tablica 10. Stupanj morfoloških promjena u odnosu na proceduralne karakteristike i karakteristike darivatelja.....	54
Tablica 11. Pojavnost ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji.....	55
Tablica 12. Stupnjevanje ishemijsko-reperfuzijske ozljede u odnosu na kvalitetu presatka određenu u „0.“ biopsiji.....	56

10 POPIS LITERATURE

¹Zimmerman KW. One leg in the grave: the miracle of the transplantation of the black leg by the saints Cosmas and Damian. 1998.

²Nobelprize.org [Internet]. Službena stranica Nobel prize® Stockholm, Švedska; [pristupljeno 10.04.2019.]. Dostupno na: <https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-laureates-in-physiology-or-medicine/>

³Podaci WHO-ONT Global Observatory on Donation and Transplantation [Internet]. Službena stranica The Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT); [pristupljeno 10.04.2019.]. Dostupno na: <http://www.transplant-observatory.org/data-charts-and-tables/chart/>

⁴Hurst J. A modern Cosmas and Damian: Sir Roy Calne and Thomas Starzl receive the 2012 Lasker~ DeBakey Clinical Medical Research Award. JCI Insight. 2012;1;122(10):3378-82.

⁵Meirelles RF, Salvalaggio P, Rezende MB, Evangelista AS, Guardia BD, Matiello CE i sur. Liver transplantation: history, outcomes and perspectives. Einstein (Sao Paulo). 2015;13:149-52.

⁶Adam R, Karam V, Delvart V, O'Grady J, Mirza D, Klempnauer J i sur. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). Journal of hepatology. 2012;57(3):675-88.

⁷Busuttil RW, Tanaka K. The utility of marginal donors in liver transplantation. Liver Transpl. 2003; 9(7):651-63.

⁸Pischke S, Lege MC, von Wulffen M, Galante A, Otto B, Wehmeyer MH i sur. Factors associated with long-term survival after liver transplantation: A retrospective cohort study. World J Hepatol. 2017;9(8):427.

⁹Dayoub JC, Cortese F, Anžič A, Grum T, de Magalhães JP. The effects of donor age on organ transplants: A review and implications for aging research. Exp Gerontol. 2018;110:230-40.

¹⁰Desai R, Collett D, Watson CJ, Johnson P, Evans T, Neuberger J. Cancer transmission from organ donors—unavoidable but low risk. *Transplantation*. 2012;94(12):1200-7.

¹¹ Eurotransplant International Foundation [Internet]. [pristupljeno 15.09.2011.]. Dostupno na: <http://www.eurotransplant.org>.

¹²Schmucker DL. Aging and the liver: an update. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 1998;53(5):B315-21.

¹³Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, DeRoy MA i sur. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant*. 2006;6(4):783-90.

¹⁴Braat AE, Blok JJ, Putter H, Adam R, Burroughs AK, Rahmel AO i sur. The Eurotransplant donor risk index in liver transplantation: ET-DRI. *Am J Transplant*. 2012;12(10):2789-96.

¹⁵Rana A, Hardy MA, Halazun KJ, Woodland DC, Ratner LE, Samstein B i sur. Survival outcomes following liver transplantation (SOFT) score: a novel method to predict patient survival following liver transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8(12):2537-46.

¹⁶Halldorson JB, Bakthavatsalam R, Fix O, Reyes JD, Perkins JD. D-MELD, a simple predictor of post liver transplant mortality for optimization of donor/recipient matching. *Am J Transplant*. 2009;9(2):318-26.

¹⁷Dutkowski P, Oberkofler CE, Slankamenac K, Puhan MA, Schadde E, Müllhaupt B i sur. Are there better guidelines for allocation in liver transplantation?: A novel score targeting justice and utility in the model for end-stage liver disease era. *Ann Surg*. 2011;254(5):745-54.

¹⁸Zhang J, Hu W, Xing W, You T, Xu J, Qin X i sur. The protective role of CD59 and pathogenic role of complement in hepatic ischemia and reperfusion injury. *Am J Pathol*. 2011;179(6):2876-84.

¹⁹Fondevila C, Shen XD, Tsuchihashi S, Uchida Y, Freitas MC, Ke B i sur. The membrane attack complex (C5b-9) in liver cold ischemia and reperfusion injury. *Liver Transpl*. 2008;14(8):1133-41.

-
- ²⁰Nagai S, Yoshida A, Facciuto M, Moonka D, Abouljoud MS, Schwartz ME i sur. Ischemia time impacts recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Hepatology*. 2015;61(3):895-904.
- ²¹Nastos C, Kalimeris K, Papoutsidakis N, Tasoulis MK, Lykoudis PM, Theodoraki K i sur. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;1;2014.
- ²² Gelman S, Mushlin PS, Weiskopf RB. Catecholamine-induced changes in the splanchnic circulation affecting systemic hemodynamics. *Anesthesiology*. 2004;100(2):434-9.
- ²³Mackay JH, Feerick AE, Woodson LC, Lin CY, Deyo DJ, Uchida T i sur. Increasing organ blood flow during cardiopulmonary bypass in pigs: comparison of dopamine and perfusion pressure. *Crit Care Med*. 1995;23(6):1090-8.
- ²⁴Froghi, F, Froghi, S, Davidson, BR. Liver Ischaemia-Reperfusion Injury. In: Radu-Ionita, F, Pырsopoulos, N, Jinga, M, Tintoiu, I, Sun, Z, Bontas, E. (eds). *Liver Diseases*. Springer, Cham. (2020). str. 129-141.
- ²⁵Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. *Am J Surg*. 1975;129(5):513-7.
- ²⁶Otto G, Wolff H, Uerlings I, Gellert K. Preservation damage in liver transplantation. Influence of rapid cooling. *Transplantation*. 1986;42(2):122-4.
- ²⁷McKeown CM, Edwards V, Phillips MJ, Harvey PR, Petrunka CN, Strasberg SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation*. 1988;46(2):178-91.
- ²⁸Momii S, Koga A. Time-related morphological changes in cold-stored rat livers. A comparison of Euro-Collins solution with UW solution. *Transplantation*. 1990;50(5):745-50.
- ²⁹Caldwell-Kenkel JC, Thurman RG, Lemasters JJ. Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers. *Transplantation*. 1988;45(4):834-7.
- ³⁰Gao W, Bentley RC, Madden JF, Clavien PA. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. *Hepatology*. 1998;27(6):1652-60.

-
- ³¹Natori S, Selzner M, Valentino KL, Fritz LC, Srinivasan A, Clavien PA i sur. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells occurs during liver preservation injury by A Caspase-dependent Mechanism1. *Transplantation*. 1999;68(1):89-96.
- ³²Sindram D, Kohli V, Madden JF, Clavien PA. Calpain inhibition prevents sinusoidal endothelial cell apoptosis in the cold ischemic rat liver. *Transplantation*. 1999;68(1):136-40.
- ³³Gujral JS, Bucci TJ, Farhood A, Jaeschke H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis?. *Hepatology*. 2001;33(2):397-405.
- ³⁴Kohli V, Madden JF, Bentley RC, Clavien PA. Calpain mediates ischemic injury of the liver through modulation of apoptosis and necrosis. *Gastroenterology*. 1999;116(1):168-78.
- ³⁵Selzner M, Selzner N, Jochum W, Graf R, Clavien PA. Increased ischemic injury in old mouse liver: an ATP-dependent mechanism. *Liver Transpl*. 2007;13(3):382-90.
- ³⁶Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, Fuller B, Davidson B, Seifalian A. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review. *Liver Transpl*. 2010;16(9):1016-32.
- ³⁷Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Bagnati M, Bellomo G, Albano E. Alterations of Na⁺ homeostasis in hepatocyte reoxygenation injury. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2000;1500(3):297-305.
- ³⁸Zhao K, Zhao GM, Wu D, Soong Y, Birk AV, Schiller PW, Szeto HH. Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(33):34682-90.
- ³⁹Imamura H, Brault A, Huet PM. Effects of extended cold preservation and transplantation on the rat liver microcirculation. *Hepatology*. 1997;25(3):664-71.
- ⁴⁰Miyagawa Y, Imamura H, Soeda J, Matsunaga K, Mochida S, Fujiwara K i sur. Fate of hepatocyte and sinusoidal lining cell function and kinetics after extended cold preservation and transplantation of the rat liver. *Liver Transpl*. 2002;8(4):370-81.

-
- ⁴¹Jaeschke HA, Farhood AN. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1991;260(3):G355-62.
- ⁴²Callery MP, Kamei T, Flye MW. Kupffer cell blockade increases mortality during intra-abdominal sepsis despite improving systemic immunity. *Archives of Surgery*. 1990;125(1):36-41.
- ⁴³Roos E, Dingemans KP, Van de Pavert IV, Van den Bergh-Weerman MA. Mammary-carcinoma cells in mouse liver: infiltration of liver tissue and interaction with Kupffer cells. *Br J Cancer*. 1978;38(1):88-99.
- ⁴⁴Holper K, Olcay I, Kitahama A, Miller RH, Brettschneider L, Drapanas T i sur. Effect of ischemia on hepatic parenchymal and reticuloendothelial function in the baboon. *Surgery*. 1974;76 (3):423-32.
- ⁴⁵Gugenheim J, Le Thai B, Rouger P, Gigou M, Gane P, Vial MC i sur. Relationship between the liver and lymphocytotoxic alloantibodies in inbred rats. Specific absorption by nonparenchymal liver cells. *Transplantation*. 1988;45(2):474-8.
- ⁴⁶Callery MP, Kamei T, Flye MW. Kupffer cell blockade inhibits induction of tolerance by the portal venous route. *Transplantation*. 1989;47(6):1092-4.
- ⁴⁷Kukan M, Vajdova K, Horecky J, Nagyova A, Mehendale HM, Trnovec T. Effects of blockade of Kupffer cells by gadolinium chloride on hepatobiliary function in cold ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Hepatology*. 1997;26(5):1250-7.
- ⁴⁸Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y i sur. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2000;105(10):1363-71.
- ⁴⁹Witthaut R, Farhood A, Smith CW, Jaeschke H. Complement and tumor necrosis factor- α contribute to Mac-1 (CD11b/CD18) up-regulation and systemic neutrophil activation during endotoxemia in vivo. *J Leukoc Biol*. 1994;55(1):105-11.
- ⁵⁰Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*. 1981;81(1):22-9.

-
- ⁵¹Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, Schlossberg H, Dudus L, Engelhardt JF. CD4 (+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest.* 1997;100 (2):279-89.
- ⁵²Thornton AJ, Strieter RM, Lindley I, Baggiolini M, Kunkel SL. Cytokine-induced gene expression of a neutrophil chemotactic factor/IL-8 in human hepatocytes. *The Journal of Immunology.* 1990;144(7):2609-13.
- ⁵³Chang MS, McNinch J, Basu R, Simonet S. Cloning and characterization of the human neutrophil-activating peptide (ENA-78) gene. *Journal of Biological Chemistry.* 1994;269(41):25277-82.
- ⁵⁴Pober JS. Warner-Lambert/Parke-Davis award lecture. Cytokine-mediated activation of vascular endothelium. *Physiology and pathology. Am J Pathol.* 1988;133(3):426.
- ⁵⁵Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y, Darby CJ, Dudus L, Halldorson J i sur. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF- κ B activation. *Nat Med.* 1998;4(6):698-704.
- ⁵⁶Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003;18(8):891-902.
- ⁵⁷Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Free Radic Res Commun.* 1991;15(5):277-84.
- ⁵⁸Rymasa BE, Wang JF, de Groot HE. O₂⁻ release by activated Kupffer cells upon hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1991;261(4):G602-7.
- ⁵⁹Rüdiger HA, Clavien PA. Tumor necrosis factor α , but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology.* 2002;122(1):202-10.
- ⁶⁰Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med.* 1999;77(8):577-92.
- ⁶¹Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol.* 1994;55(5):662-75.

-
- ⁶²Jaeschke H. Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 1998;5(4):402-8.
- ⁶³Cursio R, Gugenheim J, Ricci JE, Crenesse D, Rostagno P, Maulon L i sur. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis. *FASEB J.* 1999;13(2):253-61.
- ⁶⁴Kohli V, Selzner M, Madden JF, Bentley RC, Clavien PA. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Transplantation.* 1999;67(8):1099-105.
- ⁶⁵Newberg LA, Michenfelder JD. Cerebral protection by isoflurane during hypoxemia or ischemia. *Anesthesiology.* 1983;59(1):29-35.
- ⁶⁶Wallin RF, Regan BM, Napoli MD, Stern IJ. Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth Analg.* 1975;54(6):758-66.
- ⁶⁷Katoh T, Ikeda K. The minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in humans. *Anesthesiology.* 1987;66(3):301-3.
- ⁶⁸Kharasch ED, Karol MD, Lanni C, Sawchuk R. Clinical sevoflurane metabolism and disposition: I. Sevoflurane and metabolite pharmacokinetics. *Anesthesiology.* 1995;82(6):1369-78.
- ⁶⁹Tsukamoto N, Hirabayashi Y, Shimizu R, Mitsuata H. The effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia on renal tubular function in patients with moderately impaired renal function. *Anesth Analg.* 1996;82(5):909-13.
- ⁷⁰Eger 2nd EI. New inhaled anesthetics. *Anesthesiology.* 1994;80(4):906-22.
- ⁷¹Rooke GA, Choi JH, Bishop MJ. The effect of isoflurane, halothane, sevoflurane, and thiopental/nitrous oxide on respiratory system resistance after tracheal intubation. *Anesthesiology.* 1997;86(6):1294-9.
- ⁷²De Hert S, Moerman A. Sevoflurane. *F1000Research.* 2015;4(F1000 Faculty Rev).
- ⁷³Stoelting RK, Hillier SC. *Pharmacology and physiology in anesthetic practice.* Lippincott Williams & Wilkins; izd 4.

⁷⁴Ide T, Kochi T, Isono S, Mizuguchi T. Diaphragmatic function during sevoflurane anaesthesia in dogs. *Can J Anaesth.* 1991;38(1):116-20.

⁷⁵Eger EI. Desflurane (Suprane®): A Compendium and Reference. Anaquest; 1993.

⁷⁶Matsuura S, Shirakami G, Iida H, Tanimoto K, Fukuda K. The effect of sevoflurane on ciliary motility in rat cultured tracheal epithelial cells: a comparison with isoflurane and halothane. *Anesth Analg.* 2006;102(6):1703-8.

⁷⁷Fujibayashi T, Mizogami M, Niwa M. About the merits of use of laryngeal mask airway and sevoflurane in five cases of bronchial asthma. *Hiroshima J Anaesth.* 1991;27(4):383-6.

⁷⁸ Cahalan MK. Hemodynamic effects of inhaled anesthetics. Cleveland. Intern Anesth Research Society. 1996:14-8.

⁷⁹ Kleinsasser A, Kuenszberg E, Loeckinger A, Keller C, Hoermann C, Lindner KH i sur. Sevoflurane, but not propofol, significantly prolongs the QT interval. *Anesth Analg.* 2000;90(1):25-7.

⁸⁰Gallagher JD, Weindling SN, Anderson GC, Fillinger MP. Effects of sevoflurane on QT interval in a patient with congenital long QT syndrome. *Anesthesiology.* 1998;89(6):1569-73.

⁸¹Johnstone M. The human cardiovascular response to fluothane anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1956;28(9):392-410.

⁸² Miller R. Anesthesia, izd 6. New York: Churchill Livingstone. 2005:2009–229.

⁸³Kazama T, Ikeda K. The comparative cardiovascular effects of sevoflurane with halothane and isoflurane. *J Anesth.* 1988;2(1):63-8.

⁸⁴Eger EI. Isoflurane (Forane): A compendium and reference. Ohio Medical Products; 1981.

⁸⁵Artru AA, Lam AM, Johnson JO, Sperry RJ. Intracranial pressure, middle cerebral artery flow velocity, and plasma inorganic fluoride concentrations in neurosurgical patients receiving sevoflurane or isoflurane. *Anesth Analg.* 1997;85(3):587-92.

-
- ⁸⁶Kaisti KK, Jääskeläinen SK, Rinne JO, Metsähonkala L, Scheinin H. Epileptiform discharges during 2 MAC sevoflurane anesthesia in two healthy volunteers. *Anesthesiology*. 1999;91(6):1952-1952.
- ⁸⁷Komatsu H, Taie S, Endo S, Fukuda K, Ueki M, Nogaya J i sur. Electrical seizures during sevoflurane anesthesia in two pediatric patients with epilepsy. *Anesthesiology*. 1994;81(6):1535-7.
- ⁸⁸Murao K, Shingu K, Tsushima K, Takahira K, Ikeda S, Nakao SI. The anticonvulsant effects of volatile anesthetics on lidocaine-induced seizures in cats. *Anesth Analg*. 2000;90(1):148-55.
- ⁸⁹Kitaguchi K, Ohsumi H, Kuro M, Nakajima T, Hayashi Y. Effects of sevoflurane on cerebral circulation and metabolism in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Anesthesiology*. 1993;79(4):704-9.
- ⁹⁰Migita T, Mukaida K, Kobayashi M, Hamada H, Kawamoto M. The severity of sevoflurane-induced malignant hyperthermia. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2012;56(3):351-6.
- ⁹¹Kobayashi O, Ohta Y, Kosaka F. Interaction of sevoflurane, isoflurane, enflurane and halothane with non-depolarizing muscle relaxants and their prejunctional effects at the neuromuscular junction. *Acta Med Okayama*. 1990;44(4):209-15.
- ⁹²Okutomi T, Whittington RA, Stein DJ, Morishima HO. Comparison of the effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia on the maternal-fetal unit in sheep. *J Anesth*. 2009;23(3):392-8.
- ⁹³Jukić M, Kogler VM, Husedžinović I, Sekulić A, Žunić J i sur. *Klinička anesteziologija*. Zagreb. Medicinska naklada; 2005.
- ⁹⁴Frink Jr EJ, Morgan SE, Coetzee A, Conzen PF, Brown Jr BR. The effects of sevoflurane, halothane, enflurane, and isoflurane on hepatic blood flow and oxygenation in chronically instrumented greyhound dogs. *Anesthesiology*. 1992;76(1):85-90.
- ⁹⁵Conzen PF, Vollmar B, Habazettl H, Frink EJ, Peter K, Messmer K. Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats. *Anesth Analg*. 1992;74(1):79-88.

-
- ⁹⁶Higuchi H, Sumikura H, Sumita S, Arimura S, Takamatsu F, Kanno M i sur. Renal function in patients with high serum fluoride concentrations after prolonged sevoflurane anesthesia. *Anesthesiology*. 1995;83(3):449-58.
- ⁹⁷Bito H, Ikeda K. Closed-circuit anesthesia with sevoflurane in humans effects on renal and hepatic function and concentrations of breakdown products with soda lime in the circuit. *Anesthesiology*. 1994;80(1):71-6.
- ⁹⁸Yang L, Shen Q, Xia Y, Lei X, Peng J. Sevoflurane-induced neurotoxicity is driven by OXR1 post-transcriptional downregulation involving hsa-miR-302e. *Mol Med Rep*. 2018;18(5):4657-65.
- ⁹⁹Shao CZ, Xia KP. Sevoflurane anesthesia represses neurogenesis of hippocampus neural stem cells via regulating microRNA-183-mediated NR4A2 in newborn rats. *J Cell Physiol*. 2019;234(4):3864-73.
- ¹⁰⁰ Keller KA, Callan C, Prokocimer P, Delgado-Herrera L, Friedman MB, Hoffman GM i sur. Inhalation toxicity study of a haloalkene degradant of sevoflurane, Compound A (PIFE), in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology*. 1995;83(6):1220-32.
- ¹⁰¹ Frink Jr EJ, Malan Jr TP, Isner RJ, Brown EA, Morgan SE, Brown Jr BR. Renal concentrating function with prolonged sevoflurane or enflurane anesthesia in volunteers. *Anesthesiology*. 1994; 80(5):1019-25.
- ¹⁰² Frink EJ. The hepatic effects of sevoflurane. *Anesth Analg*. 1995;81(6S):46S-50S.
- ¹⁰³Stevens WC, Dolan WM, Gibbons RT, White A, Eger EI, Miller RD i sur. Minimum alveolar concentrations (MAC) of isoflurane with and without nitrous oxide in patients of various ages. *Anesthesiology*. 1975;42(2):197-200.
- ¹⁰⁴Holaday DA, Fisarova-Bergerova V, Latto IP, Zumbiel MA. Resistance of isoflurane to biotransformation in man. *Anesthesiology*. 1975;43(3):325-32.
- ¹⁰⁵Vitcha JF. A history of Forane. *Anesthesiology*. 1971;35(1):4-6.
- ¹⁰⁶Corbett TH. Cancer and congenital anomalies associated with anesthetics. *Ann N Y Acad Sci*. 1976;271(1):58-66.

-
- ¹⁰⁷ Eger 2nd EI, White AE, Brown CL, Biava CG, Corbett TH, Stevens WC. A test of the carcinogenicity of enflurane, isoflurane, halothane, methoxyflurane, and nitrous oxide in mice. *Anesth Analg.* 1978;57(6):678-94.
- ¹⁰⁸ Crystal GJ. Isoflurane and the coronary steal controversy of the 1980s: origin, resolution, and legacy. *J Anesth History.* 2017;3(2):56-62.
- ¹⁰⁹ Nunn JF. *Applied respiratory physiology* (Butterworth and Co. Publishers) Ltd 1969:306.
- ¹¹⁰ Fourcade H, Stevens W, Larson C, Cromwell T, Bahlman S, Hickey R i sur. The ventilatory effects of Forane, a new inhaled anesthetic. *Anesthesiology.* 1971;35(1):26-31.
- ¹¹¹ Yang T, Li Y, Liu Q, Tao J, Wu W, Huang H. Isoflurane aggravates the decrease of phosphatidylcholine synthesis in alveolar type II cells induced by hydrogen peroxide. *Drug Metabol Drug Interact.* 2001;18(3-4):243-50.
- ¹¹² Kemmotsu O, Hashimoto Y, Shimosato S. Inotropic effects of isoflurane on mechanics of contraction in isolated cat papillary muscles from normal and failing hearts. *Anesthesiology.* 1973; 39(5):470-7.
- ¹¹³ Stevens W, Cromwell T, Halsey M, Eger E, Shakespeare T, Bahlman S. The cardiovascular effects of a new inhalation anesthetic, Forane, in human volunteers at constant arterial carbon dioxide tension. *Anesthesiology.* 1971; 35 (1):8-15.
- ¹¹⁴ Atlee III JL, Bosnjak ZJ. Mechanisms for cardiac dysrhythmias during anesthesia. *Anesthesiology.* 1990;72(2):347-74.
- ¹¹⁵ Schmeling WT, Warltier DC, McDonald DJ, Madsen KE, Atlee JL, Kampine JP. Prolongation of the QT interval by enflurane, isoflurane, and halothane in humans. *Anesth Analg.* 1991;72(2):137-44.
- ¹¹⁶ Chang RK, Stevenson WG, Wetzel GT, Shannon K, Baum VC, Klitzner TS. Effects of isoflurane on electrophysiological measurements in children with the Wolff-Parkinson-White syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol.* 1996;19(7):1082-8.

-
- ¹¹⁷Conzen PF, Habazettl H, Vollmar B, Christ M, Baier H, Peter K. Coronary microcirculation during halothane, enflurane, isoflurane, and adenosine in dogs. *Anesthesiology*. 1992;76(2):261-70.
- ¹¹⁸Gatecel C, Losser MR, Payen D. The postoperative effects of halothane versus isoflurane on hepatic artery and portal vein blood flow in humans. *Anesth Analg*. 2003;96(3):740-5.
- ¹¹⁹Eger EI. Isoflurane: a review. *Anesthesiology*. 1981;55(5):559-76
- ¹²⁰Davison LA, Steinhelber JC, Eger II, Stevens WC. Psychological effects of halothane and isoflurane anesthesia. *Anesthesiology*. 1975;43(3):313-24.
- ¹²¹Todd MM, Drummond JC. A comparison of the cerebrovascular and metabolic effects of halothane and isoflurane in the cat. *Anesthesiology*. 1984;60(4):276-82.
- ¹²²Eger E, Stevens W, Cromwell T. The electroencephalogram in man anesthetized with Forane. *Anesthesiology*. 1971;35(5):504-8.
- ¹²³Koblin DD, Eger 2nd EI, Johnson BH, Collins P, Terrell RC, Speers L. Are convulsant gases also anesthetics?. *Anesth Analg*. 1981;60(7):464-70.
- ¹²⁴ Drummond JC, Todd MM, Shapiro HM. CO₂ responsiveness of the cerebral circulation during isoflurane anesthesia and N₂O sedation in cats. *In Anesthesiology*. 1982;57(3),333-A333.
- ¹²⁵Artru AA. Isoflurane does not increase the rate of CSF production in the dog. *Anesthesiology*. 1984;60(3):193-7.
- ¹²⁶Reed SB, Strobel Jr GE. An in-vitro model of malignant hyperthermia: differential effects of inhalation anesthetics on caffeine-induced muscle contractures. *Anesthesiology*. 1978;48(4):254-9.
- ¹²⁷Vitez T, Miller R, Eger E, Van Nyhuis L, Way W. Comparison in vitro of isoflurane and halothane potentiation of d-tubocurarine and succinylcholine neuromuscular blockades. *Anesthesiology*. 1974;41(1):53-5.
- ¹²⁸Munson ES, Embro WJ. Enflurane, isoflurane, and halothane and isolated human uterine muscle. *Anesthesiology*. 1977;46(1):11-4.

-
- ¹²⁹Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
- ¹³⁰Przyklenk K, Kloner RA. Ischemic preconditioning: exploring the paradox. *Prog Cardiovasc Dis*. 1998;40(6):517-47.
- ¹³¹Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA i sur. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285(2):H579-88.
- ¹³²McClanahan TB, Nao BS, Wolke LJ, Martin BJ, Mertz TE, Gallagher KP. Brief renal occlusion and reperfusion reduces myocardial infarct size in rabbits. *FASEB J*; 1993;7(3),A118-A118.
- ¹³³Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology*. 1999;91(2):521-30.
- ¹³⁴Liu R, Ishibe Y, Ueda M. Isoflurane–sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia–reperfusion-induced injury in isolated rat lungs. *Anesthesiology*. 2000;92(3):833-40.
- ¹³⁵Schlack W, Preckel B, Stunneck D, Thämer V. Effects of halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth*. 1998;81(6):913-9.
- ¹³⁶Pape M, Engelhard K, Eberspächer E, Hollweck R, Kellermann K, Zintner S i sur. The long-term effect of sevoflurane on neuronal cell damage and expression of apoptotic factors after cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg*. 2006;103(1):173-9.
- ¹³⁷Samuta T, Becker GL, Pohorecki R, Armstrong K, Landers DF. Effects of isoflurane dose, duration of anoxia, and reoxygenation on isoflurane's preservation of energy balance in anoxic isolated hepatocytes. *Anesth Analg*. 1993;77(1):38-43.
- ¹³⁸L Bland JH, Lowenstein E. Halothane-induced decrease in experimental myocardial ischemia in the non-failing canine heart. In *Anesthesiology* 1976;45(3):287-292.

-
- ¹³⁹Masui K, Kashimoto S, Furuya A, Oguchi T. Isoflurane and sevoflurane during reperfusion prevent recovery from ischaemia in mitochondrial KATP channel blocker pretreated hearts. *Eur J Anaesthesiol.* 2006;23(2):123-9.
- ¹⁴⁰Kaneda K, Miyamae M, Sugioka S, Okusa C, Inamura Y, Domae N i sur. Sevoflurane enhances ethanol-induced cardiac preconditioning through modulation of protein kinase C, mitochondrial KATP channels, and nitric oxide synthase, in guinea pig hearts. *Anesth Analg.* 2008;106(1):9-16.
- ¹⁴¹Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E i sur. Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. *Anesthesiology.* 1997;86(1):188-95.
- ¹⁴²Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, Nasr SH, Emala CW. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia–reperfusion injury in vivo. *Anesthesiology.* 2004;101(6):1313-24.
- ¹⁴³Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms. *Br J Anaesth.* 2003;91(4):551-65.
- ¹⁴⁴Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res.* 1992;70(2):223-33.
- ¹⁴⁵Gross GJ, Peart JN. KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(3):H921-30.
- ¹⁴⁶Henry PD, Schuchleib R, Davis JA, Weiss ES, Sobel BE. Myocardial contracture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1977;233(6):H677-84.
- ¹⁴⁷Bourdillon PD, Poole-Wilson PA. Effects of ischaemia and reperfusion on calcium exchange and mechanical function in isolated rabbit myocardium. *Cardiovasc Res.* 1981;15(3):121-30.
- ¹⁴⁸Olafsson BJ, Forman MB, Puett DW, Pou AD, Cates CU, Friesinger GC i sur. Reduction of reperfusion injury in the canine preparation by intracoronary adenosine: importance of the endothelium and the no-reflow phenomenon. *Circulation.* 1987;76(5):1135-45.

-
- ¹⁴⁹Ely SW, Mentzer Jr RM, Lasley RD, Lee BK, Berne RM. Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985;90(4):549-56.
- ¹⁵⁰Buljubasic N, Marijic J, Stowe DF, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Halothane reduces dysrhythmias and improves contractile function after global hypoperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1992;74(3):384-94.
- ¹⁵¹Buljubasic N, Stowe DF, Marijic J, Roerig DL, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Halothane reduces release of adenosine, inosine, and lactate with ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1993;76(1):54-62.
- ¹⁵²Coetzee A, Brits W, Genade S, Lochner A. Halothane does have protective properties in the isolated ischemic rat heart. *Anesth Analg.* 1991;73(6):711-9.
- ¹⁵³Oguchi T, Kashimoto S, Yamaguchi T, Nakamura T, Kumazawa T. Comparative effects of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane on function and metabolism in the ischaemic rat heart. *Br J Anaesth.* 1995;74(5):569-75.
- ¹⁵⁴Kanaya N, Kobayashi I, Nakayama M, Fujita S, Namiki A. ATP sparing effect of isoflurane during ischaemia and reperfusion of the canine heart. *Br J Anaesth.* 1995;74(5):563-8.
- ¹⁵⁵Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasché P. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation.* 1999;100(2):II-340.
- ¹⁵⁶Kersten JR, Schmeling TJ, Hettrick DA, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Mechanism of myocardial protection by isoflurane: role of adenosine triphosphate-regulated potassium (KATP) channels. *Anesthesiology.* 1996;85(4):794-807.
- ¹⁵⁷Martinou JC, Green DR. Breaking the mitochondrial barrier. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2(1):63-7.
- ¹⁵⁸Desagher S, Martinou JC. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol.* 2000;10(9):369-77.

-
- ¹⁵⁹Yoshida H, Kong YY, Yoshida R, Elia AJ, Hakem A, Hakem R i sur. Apaf1 is required for mitochondrial pathways of apoptosis and brain development. *Cell*. 1998;94(6):739-50.
- ¹⁶⁰Karbowski M, Kurono C, Wozniak M, Ostrowski M, Teranishi M, Nishizawa Y i sur. Free radical-induced megamitochondria formation and apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(3-4):396-409.
- ¹⁶¹Adamczyk S, Robin E, Simerabet M, Kipnis E, Tavernier B, Vallet B i sur. Sevoflurane pre- and post-conditioning protect the brain via the mitochondrial KATP channel. *Br J Anaesth*. 2010;104(2):191-200.
- ¹⁶²Warner DS, Ludwig PS, Pearlstein R, Brinkhous AD. Halothane reduces focal ischemic injury in the rat when brain temperature is controlled. *Anesthesiology*. 1995;82(5):1237-45.
- ¹⁶³Hoffman WE, Thomas C, Albrecht RF. The effect of halothane and isoflurane on neurologic outcome following incomplete cerebral ischemia in the rat. *Anesth Analg*. 1993;76(2):279-83.
- ¹⁶⁴Haelewyn B, Yvon A, Hanouz JL, MacKenzie ET, Ducouret P, Gerard JL i sur. Desflurane affords greater protection than halothane against focal cerebral ischaemia in the rat. *Br J Anaesth*. 2003;91(3):390-6.
- ¹⁶⁵Xiong L, Zheng Y, Wu M, Hou L, Zhu Z, Zhang X i sur. Preconditioning with isoflurane produces dose-dependent neuroprotection via activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels after focal cerebral ischemia in rats. *Anesth Analg*. 2003;96(1):233-7.
- ¹⁶⁶Sakai H, Sheng H, Yates RB, Ishida K, Pearlstein RD, Warner DS. Isoflurane provides long-term protection against focal cerebral ischemia in the rat. *Anesthesiology*. 2007;106(1):92-9.
- ¹⁶⁷Kim H, Yi JW, Sung YH, Kim CJ, Kim CS, Kang JM. Delayed preconditioning effect of isoflurane on spinal cord ischemia in rats. *Neurosci Lett*. 2008;440(3):211-6.
- ¹⁶⁸Zhang B, Wei X, Cui X, Zhou H, Ding W, Li W. Desflurane affords greater protection than halothane in the function of mitochondria against forebrain ischemia reperfusion injury in rats. *Anesth Analg*. 2008;106(4):1242-9.

-
- ¹⁶⁹Ding Q, Wang Q, Deng J, Gu Q, Hu S, Li Y i sur. Sevoflurane preconditioning induces rapid ischemic tolerance against spinal cord ischemia/reperfusion through activation of extracellular signal-regulated kinase in rabbits. *Anesth Analg*. 2009;109(4):1263-72.
- ¹⁷⁰Peralta C, Bulbena O, Xaus C, Prats N, Cutrin JC, Poli G i sur. Ischemic preconditioning: a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion1. *Transplantation*. 2002;73(8):1203-11.
- ¹⁷¹Nishiyama T, Yokoyama T, Hanaoka K. Effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia on arterial ketone body ratio and liver function. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1999;43(3):347-51.
- ¹⁷²Nishiyama T, Yokoyama T, Hanaoka K. Liver function after sevoflurane or isoflurane anaesthesia in neurosurgical patients. *Can J Anaesth*. 1998;45(8):753-6.
- ¹⁷³Schmidt R, Tritschler E, Hoetzel A, Loop T, Humar M, Halverscheid L i sur. Heme oxygenase-1 induction by the clinically used anesthetic isoflurane protects rat livers from ischemia/reperfusion injury. *Ann Surg*. 2007;245(6):931.
- ¹⁷⁴Xu L, Ge F, Hu Y, Yu Y, Guo K, Miao C. Sevoflurane postconditioning attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury by limiting HMGB1/TLR4/NF- κ B Pathway via modulating microRNA-142 in vivo and in vitro. *Front Pharmacol*. 2021;12:815.
- ¹⁷⁵Figueira ER, Rocha-Filho JA, Lanchotte C, Coelho AM, Nakatani M, Tatebe ER i sur. Sevoflurane preconditioning plus postconditioning decreases inflammatory response with hemodynamic recovery in experimental liver ischemia reperfusion. *Gastroenterol Res Pract*. 2019.
- ¹⁷⁶Liao X, Zhou S, Zong J, Wang Z. Sevoflurane exerts protective effects on liver ischemia/reperfusion injury by regulating NFKB3 expression via miR-9-5p. *Exp Ther Med*. 2019;17(4):2632-40.
- ¹⁷⁷ Granja TF, Köhler D, Schad J, de Oliveira Franz CB, Konrad F, Hoch-Gutbrod M i sur. Adenosine receptor adora2b plays a mechanistic role in the protective effect of the volatile anesthetic sevoflurane during liver ischemia/reperfusion. *Anesthesiology*. 2016;125(3):547-60.

-
- ¹⁷⁸Mikrou A, Kalimeris KA, Lilis I, Papoutsidakis N, Nastos K, Papadaki H i sur. Molecular studies of the immunological effects of the sevoflurane preconditioning in the liver and lung in a rat model of liver ischemia/reperfusion injury. *Mol Immunol.* 2016;72:1-8.
- ¹⁷⁹Cavalcante FP, Coelho AM, Machado MC, Sampietre SN, Patzina RA, Diniz MA i sur. Mechanisms of the beneficial effect of sevoflurane in liver ischemia/reperfusion injury. *Acta Cir Bras.* 2015;30(11):749-55.
- ¹⁸⁰Wu Y, Gu C, Huang X. Sevoflurane protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by modulating microRNA-200c regulation in mice. *Biomed Pharmacother.* 2016;84:1126-36.
- ¹⁸¹Ma H, Yang B, Yu L, Gao Y, Ye X, Liu Y i sur. Sevoflurane protects the liver from ischemia-reperfusion injury by regulating Nrf2/HO-1 pathway. *Eur J Pharmacol.* 2021;898:173932.
- ¹⁸²Shiraishi S, Cho S, Akiyama D, Ichinomiya T, Shibata I, Yoshitomi O i sur. Sevoflurane has postconditioning as well as preconditioning properties against hepatic warm ischemia–reperfusion injury in rats. *J Anesth.* 2019;33(3):390-8.
- ¹⁸³Li J, Yuan T, Zhao X, Lv GY, Liu HQ. Protective effects of sevoflurane in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2016;29(2):300-7.
- ¹⁸⁴Bedirli N, Ofluoglu E, Kerem M, Utebey G, Alper M, Yilmazer D i sur. Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Anesth Analg.* 2008;106(3):830-7.
- ¹⁸⁵Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Urech S, De Conno E, Wittlinger M, Puhan M i sur. A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic. *Ann Surg.* 2008;248(6):909-18.
- ¹⁸⁶Beck-Schimmer B, Z'graggen BR, Booy C, Köppel S, Spahn DR, Schläpfer M i sur. Sevoflurane protects hepatocytes from ischemic injury by reducing reactive oxygen species signaling of hepatic stellate cells: translational findings based on a clinical trial. *Anesth Analg.* 2018;127(4):1058-65.
- ¹⁸⁷Beck-Schimmer B, Bonvini JM, Schadde E, Dutkowski P, Oberkofler CE, Lesurtel M i sur. Conditioning with sevoflurane in liver transplantation: results of a multicenter randomized controlled trial. *Transplantation.* 2015;99(8):1606-12.

¹⁸⁸Slankamenac K, Breitenstein S, Beck-Schimmer B, Graf R, Puhan MA, Clavien PA. Does pharmacological conditioning with the volatile anaesthetic sevoflurane offer protection in liver surgery?. *HPB*. 2012;14(12):854-62.

¹⁸⁹Minou AF, Dzyadzko AM, Shcherba AE, Rummo OO. The influence of pharmacological preconditioning with sevoflurane on incidence of early allograft dysfunction in liver transplant recipients. *Anesthesiol Res Pract*. 2012.

¹⁹⁰Hoetzel A, Leitz D, Schmidt R, Tritschler E, Bauer I, Loop T i sur. Mechanism of hepatic heme oxygenase-1 induction by isoflurane. *Anesthesiology*. 2006;104(1):101-9.

¹⁹¹Strowitzki MJ, Moussavian MR, Keppler U, Schilling MK, Menger MD, von Heesen M. Isoflurane does not protect from brain death-associated aggravation of cold hepatic ischemia-reperfusion injury. *Ann Transplant*. 2015;20:36-43.

¹⁹²Kon S, Imai M, Inaba H. Isoflurane attenuates early neutrophil-independent hypoxia-reoxygenation injuries in the reperfused liver in fasted rats. *Anesthesiology*. 1997;86(1):128-36.

¹⁹³Xu GM, Tao GC, Yi B. Effects of Isoflurane on ICAM-1 expression and the infiltration of neutrophils in rats with liver ischemia and reperfusion injury. *The Journal of Clinical Anesthesiology*. 2010:11.

¹⁹⁴Zhang L, Luo N, Liu J, Duan Z, Du G, Cheng J i sur. Emulsified isoflurane preconditioning protects against liver and lung injury in rat model of hemorrhagic shock. *J Surg Res*. 2011;171(2):783-90.

¹⁹⁵Ko JS, Gwak MS, Choi SJ, Yang M, Kim MJ, Lee JY i sur. The effects of desflurane and sevoflurane on hepatic and renal functions after right hepatectomy in living donors. *Transpl Int*. 2010;23(7):736-44.

¹⁹⁶Yang LQ, Tao KM, Cheung CW, Liu YT, Tao Y, Wu FX i sur. The effect of isoflurane or propofol anaesthesia on liver injury after partial hepatectomy in cirrhotic patients. *Anaesthesia*. 2010;65(11):1094-100.

¹⁹⁷Yang P, Du Y, Zeng H, Xing H, Tian C, Zou X. Comparison of inflammatory markers between the sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat model of liver ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc.* 2019;51(6):2071-2075.

¹⁹⁸Dal Molin SZ, Krueel CR, 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.

¹⁹⁹Imai M, Kon S, Inaba H. Effects of halothane, isoflurane and sevoflurane on ischemiareperfusion injury in the perfused liver of fasted rats. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996;40(10):1242-8.

²⁰⁰Ishida H, Kadota Y, Sameshima T, Nishiyama A, Oda T, Kanmura Y. Comparison between sevoflurane and isoflurane anesthesia in pig hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Anesth.* 2002;16(1):44-50.

²⁰¹Jeong JS, Kim D, Kim KY, Ryu S, Han S, Shin BS i sur. Ischemic preconditioning produces comparable protection against hepatic ischemia/reperfusion injury under isoflurane and sevoflurane anesthesia in rats. *Transplant Proc.* 2017;49(9):2188-2193.

²⁰²Mangus RS, Kinsella SB, Farar DT, Fridell JA, Woolf LT, Kubal CA. Impact of volatile anesthetic agents on early clinical outcomes in liver transplantation. *Transplant Proc.* 2018;50(5):1372-1377.

²⁰³Nishiyama T, Fujimoto T, Hanaoka K. A comparison of liver function after hepatectomy in cirrhotic patients between sevoflurane and isoflurane in anesthesia with nitrous oxide and epidural block. *Anesth Analg.* 2004;98(4):990-3.

²⁰⁴Gong Y, Li Y, Fang Y, Ma Y. Effect of sevoflurane maintenance anesthesia on liver ischemia-reperfusion injury in patients undergoing partial hepatectomy. *Zhongguo Yi Shi Za Zhi.* 2019:1829-32.

²⁰⁵Kocman B, Jemendžić D, Jadrijević S, Filipec-Kanižaj T, Mikulić D, Poljak M. Kirurški aspekti transplantacije jetre. *Medix.* 2011;17(92/93):172-5.

²⁰⁶Odze RD, Goldblum JR. *Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas; E-Book.* Elsevier; 2014.

-
- ²⁰⁷Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;24(2):289-93.
- ²⁰⁸Ishak K. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J hepatol*. 1995; 22:696-9.
- ²⁰⁹ Burt AD, Ferrell LD, Hubscher SG. *MacSween's Pathology of the Liver E-Book*. Elsevier; 2017.
- ²¹⁰Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *WJG*. 2010;16(42):5286.
- ²¹¹Liu TC, Nguyen TT, Torbenson MS. Concurrent increase in mitosis and apoptosis: a histological pattern of hepatic arterial flow abnormalities in post-transplant liver biopsies. *Mod Pathol*. 2012;25(12):1594-8.
- ²¹²Dhingra S, Ward SC, Thung SN. Liver pathology of hepatitis C, beyond grading and staging of the disease. *WJG*. 2016;22(4):1357.
- ²¹³ Ge F, Huang T, Yuan S, Zhou Y, Gong W. Gender issues in solid organ donation and transplantation. *Ann Transplant*. 2013;18:508-14.
- ²¹⁴Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology*. 2003;125(3):917-36.
- ²¹⁵de Rougemont O, Lehmann K, Clavien PA. Preconditioning, organ preservation, and postconditioning to prevent ischemia-reperfusion injury to the liver. *Liver Transpl*. 2009;15(10):1172-82.
- ²¹⁶Yang LQ, Tao KM, Liu YT, Cheung CW, Irwin MG, Wong GT i sur. Remifentanil preconditioning reduces hepatic ischemia–reperfusion injury in rats via inducible nitric oxide synthase expression. *Anesthesiology*. 2011;114(5):1036-47.
- ²¹⁷Khan ZH. Pain management in intensive care unit patients: the role of ultra-short acting opioid: remifentanil. *Anesth Pain Med*. 2013;3(1):188-190.
- ²¹⁸Heidenberg W, Torio I, Cebula J. Halothane hepatitis an American disease?. *Lancet*. 1963;281(7292):1185-6.

²¹⁹Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol.* 2005;100(2):179-90.

²²⁰ Neil DA, Hubscher SG. Are parenchymal changes in early post-transplant biopsies related to preservation-reperfusion injury or rejection?. *Transplantation.* 2001;71(11):1566-72.

²²¹Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Biology of disease mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest.* 1990;62(6):670-9.

²²² Dutkowski P, Schlegel A, Slankamenac K, Oberkofler CE, Adam R, Burroughs AK i sur. The use of fatty liver grafts in modern allocation systems: risk assessment by the balance of risk (BAR) score. *Ann Surg.* 2012;256(5):861-9.

11. ŽIVOTOPIS

Nataša Paklar rođena je 28. lipnja 1977. u Zagrebu, gdje završava osnovnu i srednju školu. 1996. upisuje Medicinski fakultet u Zagrebu. Bila je demonstrator na Katedri za anatomiju i Katedri za patofiziologiju. 2001. u sklopu studentske razmjene boravi na kardiološkom odjelu Sveučilišne bolnice u Sofiji, Bugarska. Diplomirala je 2002. Iste godine, kao stipendist zaklade profesora Seitza, boravi na Odjelu traumatološke klinike, Sveučilišne klinike Eppendorf, Hamburg, Njemačka. Obavezni pripravnički staž obavila je u OB „Sveti Duh”. Državni ispit pri Ministarstvu zdravstva položila je 2003. 2005. stekla je licencu Europskog reanimatološkog društva. Od 2004. do 2007. godine radi kao liječnik u Hitnoj pomoći Doma zdravlja Varaždinske županije. Specijalizaciju iz anesteziologije, reanimatologije i intenzivnog liječenja započela je 2007. godine. Specijalistički ispit je položila 2011, a 2015. subspecijalistički ispit iz intenzivne medicine. Nakon specijalističkog ispita, nastavila je raditi na Zavod za anesteziologiju, intenzivnu medicinu i liječenje boli Kliničke bolnice „Mercur”. Završila je tečajeve: *The Committee for the European Education in Anaesthesiology, Focus Assessed Transthoracic Echocardiography* i „Ultrazvukom vođena regionalna anestezija”. 2014. godine upisuje Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu u Zagrebu pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Tajane Filipec Kanižaj.

Autor je i koautor više znanstvenih i stručnih radova.

Udana je i majka je dvoje djece.