



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**



Мр сц. мед. др Данијела Јовановић

**АНАЛИЗА ФАКТОРА УДРУЖЕНИХ СА
ПОСТОПЕРАТИВНИМ ОПОРАВКОМ КОД БОЛЕСНИКА
ПОСЛЕ ЕЛЕКТИВНЕ АБДОМИНАЛНЕ
ХИСТЕРЕКТОМИЈЕ**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2014.

ЗАХВАЛНОСТ

Захваљујем се свом ментору, проф. др сц. мед Драгану Миловановићу, на подршци и труду током израде докторске дисертације.

Проф. др сц. мед. Владимиру Јаковљевићу и доц. др сц. мед Ивану Јовановићу на стручним саветима и помоћи у делу истраживања које се односи на параметре оксидационог стреса и цитокина. Захвалност упућујем и њиховим сарадницима.

Проф. др сц. Драгићу Банковићу се захваљујем на помоћи у статистичкој анализи података.

Проф. др Полу Мајлсу сам захвална за давање сагласности за коришћење упитника QoR-40.

Посебно се захваљујем особљу (лекарима и медицинским сестрама) Клинике за гинекологију и акушерство Клиничког центра „Крагујевац“, Крагујевац, на великом залагању у раду са пацијентима током студије.

Такође хвала и свим колегама, специјалистима и специјализантима (од којих су многи сада постали специјалисти), анестетичарима и медицинским сестрама Јединице за интензивно лечење Клиничког центра „Крагујевац“, Крагујевац, на великој помоћи током рада са пацијентима и прикупљању студијских узорака.

Највеће хвала упућујем својој породици и пријатељима на подршци.

Ова дисертација је рађена у оквиру Јуниор пројекта ЈП 09-12, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

САДРЖАЈ

1 УВОД	6
1.1 КВАЛИТЕТ ОПОРАВКА	6
1.2 ОПЕРАЦИЈА И ИМУНСКИ СИСТЕМ	9
1.2.1 Основно о имунском систему	9
1.2.2 Цитокини и промене у периоперативном периоду	10
<i>1.2.2.1 Анестезија и имунски статус</i>	<i>13</i>
1.2.3 Интерферон гама (IF-γ)	14
1.2.4 Интерлеукин 17 (IL-17)	14
1.2.5 Трасформишући фактор раста β (TGF-β)	15
1.2.6 Интерлеукин 10 (IL-10)	17
1.3 ОПЕРАЦИЈА И РЕАКТИВНА ЈЕДИЊЕЊА	18
1.3.1 Стварање реактивних једињења-механизми	18
1.3.2 Утицај метала	19
1.3.3 Биотрансформација лекова и других ксенобиотика	20
1.3.4 Ишемијско-реперфузиона повреда	21
1.3.5 Основна реактивна једињења – класификација	22
1.3.6 Дејства реактивних једињења, појам оксидационог стреса	22
1.3.7 Оштећења која настају под дејством ROS	22
<i>1.3.7.1 Оштећење DNK</i>	<i>22</i>
<i>1.3.7.2 Оштећење протеина</i>	<i>23</i>
<i>1.3.7.3 Липидна пероксидација</i>	<i>23</i>
1.3.8 Антиоксидациона одбрана	24
1.3.9 Оксидациони стрес и операција	25
<i>1.3.9.1 Утицај хируршке интервенције</i>	<i>25</i>
<i>1.3.9.2 Утицај анестетика и аналгетика</i>	<i>28</i>
<i>1.3.9.3 Оксидациони стрес и постоперативни исход</i>	<i>29</i>
1.3.10 Детекција оксидационог стреса	30
<i>1.2.10.1 Супероксид дизмутаза (SOD)</i>	<i>30</i>
<i>1.2.10.2. Каталаза (CAT)</i>	<i>30</i>
<i>1.2.10.3 Глутатион</i>	<i>31</i>
<i>1.2.10.4 Водоник пероксид – H_2O_2</i>	<i>32</i>
1.3 ПОСТОПРАТИВНА АНАЛГЕЗИЈА	33
1.3.1 Морфин	33
1.3.2 Нестероидни антиинфламаторни лекови (NSAIL)	34
1.3.3 Парацетамол	34
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ	36
3 БОЛЕСНИЦИ И МЕТОД	37
3.1 ВРСТА СТУДИЈЕ	37
3.2 СТУДИЈСКА ПОПУЛАЦИЈА	37

3.2.1. Узорковање студијске популације	37
3.3 ПЛАН СТУДИЈЕ	37
3.4 СТУДИЈСКЕ ПРОЦЕДУРЕ	38
3.4.1 Поступак прикупљања узорка крви	38
3.4.2 Прикупљање других релевантих података	38
3.5 ВАРИЈАБЛЕ ИСТРАЖИВАЊА	38
3.5.1 Параметри клиничког исхода	39
3.5.2 Параметри оксидативног стреса	39
3.5.2.1 <i>Одређивање концентрације нитрита</i>	39
3.5.2.2 <i>Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)</i>	40
3.5.2.3 <i>Одређивање концентрације супер оксид анјон радикала (O_2^-)</i>	40
3.5.2.4 <i>Одређивање концентрације водоник-пероксида (H_2O_2)</i>	41
3.5.2.5 <i>Одређивање активности супер оксид дизмутазе (SOD)</i>	42
3.5.2.6 <i>Одређивање активности каталазе (CAT)</i>	42
3.5.2.7 <i>Одређивање активности глутатиона (GSH)</i>	43
3.5.3 Концентрације цитокина у серуму	43
3.5.4 Други фактори ризика	44
3.6 АНЕСТЕЗИЈА И ПОСТОПЕРАТИВНА АНАЛГЕЗИЈА	44
3.6.1 Премедикација и увод у анестезију	44
3.6.2 Постоперативна аналгезија	45
3.7 ЕТИЧКИ И ОРГАНИЗАЦИОНИ АСПЕКТИ СТУДИЈЕ	46
3.8 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА	46
4 РЕЗУЛТАТИ	47
4.1 КАРАКТЕРИСТИКЕ СТУДИЈСКЕ ПОПУЛАЦИЈЕ	47
4.2 КВАЛИТЕТ ПОСТОПЕРАТИВНОГ ОПОРАВКА	47
4.2.1 Вредности укупног скорa и појединачних домена QoR-40	47
4.2.1.1 <i>Укупни скор (QoR-40)</i>	47
4.2.1.2 <i>Домен удобност (QoR-40-U)</i>	48
4.2.1.3 <i>Домен емотивно стање (QoR-40-E)</i>	49
4.2.1.4 <i>Домен физичка независност (QoR-40-F)</i>	50
4.2.1.5 <i>Домен подршка (QoR-40-P)</i>	51
4.2.1.6 <i>Домен удобност-1 (QoR-40-U1)</i>	52
4.2.1.7 <i>Домен емоционално стање-1 (QoR-40-E1)</i>	53
4.2.1.8 <i>Домен подршка-1 (QoR-40-P1)</i>	54
4.2.1.9 <i>Домен бол (QoR-40-B)</i>	55
4.2.2 Тренд вредности скорова QoR-40	56
4.2.2.1 <i>Укупни скор QoR-40</i>	56
4.2.2.2 <i>Скор домена удобност (QoR-40-U)</i>	57
4.2.2.3 <i>Скор домена емоционални статус (QoR-40-E)</i>	58
4.2.2.4 <i>Скор домена физичка независност (QoR-40-F)</i>	58
4.2.2.5 <i>Скор домена подршка (QoR-40-F)</i>	59
4.2.2.6 <i>Скор домена удобност-1 (QoR-40-U1)</i>	60
4.2.2.7 <i>Скор домена емотивно стање-1 (QoR-40-E1)</i>	61
4.2.2.8 <i>Скор домена подршка-1 (QoR-40-P1)</i>	61

4.2.2.9 Скор домена бол (QoR-40-B)	61
4.2.3 Утицај аналгетика на квалитет постоперативног опоравка	62
4.3 ЦИТОКИНИ	63
4.3.1 Вредности цитокина у студијској популацији	63
4.3.1.1 Интерлеукин-17 (IL-17)	64
4.3.1.2 Интерферон- γ (IF- γ)	65
4.3.1.3 Интерлеукин-10 (IL-10)	65
4.3.1.4 Трансформишући фактор раста β (TGF- β)	66
4.3.2 Утицај аналгетика и придружених фактора на концентрације цитокина	67
4.3.2.1 Утицај аналгетика на концентрације цитокина	67
4.3.2.1.1 Интерлеукин 17 (IL-17)	67
4.3.2.1.2 Остали цитокини	69
4.3.2.2 Утицај осталих придружених фактора на концентрације цитокина	69
4.3.3 Међусобна корелација концентрација цитокина током студије	69
4.3.4 Повезаност вредности QoR-40 и концентрација цитокина	70
4.4 ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА	70
4.4.1 Параметри оксидационог стреса у студијској популацији	70
4.4.2 Тренд вредности параметара оксидационог стреса	72
4.4.2.1 Индекс липидне пероксидације (TBARS)	72
4.4.2.2 Азот моноксид (NO)	72
4.4.2.3 Водоник пероксид (H_2O_2)	72
4.4.2.4 Супероксидни анјон (O_2^-)	73
4.4.2.5 Супероксид дизумутаза (SOD)	73
4.4.2.6 Глутатион (GSH)	74
4.4.2.7 Каталаза (CAT)	74
4.4.3 Утицај аналгетика и придружених фактора на параметре оксидационог стреса	75
4.4.3.1 Утицај аналгетика на параметре оксидационог стреса	75
4.4.3.2 Утицај осталих придружених фактора на параметре оксидационог стреса	76
4.4.4 Међусобна корелација параметара оксидационог стреса	77
4.4.5 Повезаност QoR-40 и параметара оксидационог стреса	77
4.5 ПОВЕЗАНОСТ ПАРАМЕТРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА И ЦИТОКИНА	78
5 ДИСКУСИЈА	79
5.1 КВАЛИТЕТ ОПОРАВКА	79
5.2 ЦИТОКИНИ	80
5.2.1 Интерлеукин-17 (IL-17)	80
5.2.2 Интерферон-γ (IF-γ)	81
5.2.3 Интерлеукин-10 (IL-10)	84
5.2.4 Трансформишући фактор раста β (TGF-β)	86
5.3 ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА	88
5.3.1 Водоник пероксид (H_2O_2)	88
5.3.2 Индекс липидне пероксидације мерен TBARS методом	90
5.3.3 Укупни профил оксидационог стреса	91
6 ЗАКЉУЧЦИ	92
7 ЛИТЕРАТУРА	93

1 УВОД

У току хируршке интервенције долази до активације многобројних физиолошких реакција које су есенцијалне за одржавање хомеостазе организма а колективно су означене као „Одговор организма на повреду“ (Freide, 2013). Промене се огледају у активацији неуроендокрино-метаболичког система, што је означено као „Хируршки стрес одговор“. Он подразумева појачано лучење хормона стреса (пре свега кортизола и катехоламина али и других: хормона раста, ренина, ангиотензина и тирестимулишућег хормона, хипергликемије др. (Desborough, 2000; Wilmore, 2002). Затим, активацији имунског система (лучењу цитокина, активацији и миграцији леукоцита на место повреде, активацији система комплемента), активацији коагулационог система као и променама у редокс систему (оксидациони стрес) (Freide, 2013). За настанак и интензитет оваквих реакција су одговорни многобројни фактори, како они везани за саму операцију тј. екстензивност трауме ткива, губитак течности и крви, интензитет бола, поремећаје телесне температуре, тако и фактори везани за анестезију: ларингоскопија, примена анестетичких лекова и различитих техника анестезије као и других фармаколошких агенаса. Такође, интензитет промена у биолошким каскадама је у великој мери одређен и фенотипом пацијената, који се огледа како у интериндивидуалним разликама у морфологији, физиологији, склоношћу ка развоју болести, тако и у одговору на стресне стимулусе и реактивности на лекове па и анестетике и бар делом је одређен различитим генотипом (Freide, 2013).

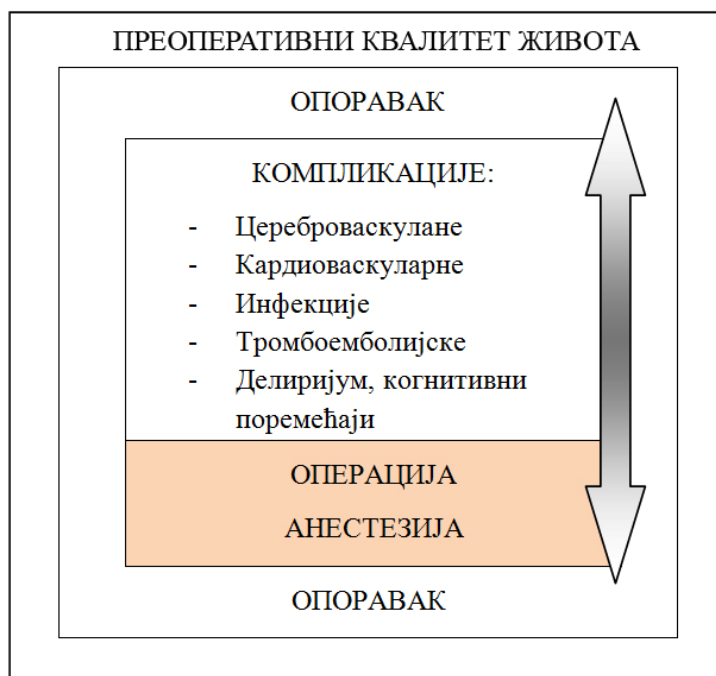
Иако се у неким аспектима може сматрати адаптивним и корисним, када је пренаглашен и уколико дуго траје, одговор организма на повреду неиминовно доводи до оштећења ћелијских компоненти у различитим органским системима, тако да је пацијент изложен повећаном ризику за развој компликација и дисфункције виталних органа. Ово се посебно односи на пацијенте који већ имају смањену функционалност система тј. имунокомпромитованих, старих, неонатуса, пацијената са коморбидитетима (Angele, 2002; Kurosawa and Kato, 2008). Савремена анестезиологија и хирургија имају за циљ да смањењем дисбаланса који настају у биолошким каскадама, како минимално инвазивним хируршким техникама, тако и модалитетима анестезије и аналгезије, те применом фармакотерапијских агенаса, побољшају клиничке исходе, тј. смање морталитет, морбидитет али побољшају и друге релевантне клиничке исходе код пацијената (Kehlet and Dahl, 2003). Абдоминална хистректомија као операција у доњем абдомену спада у хируршке интервенције са интермедијерним интензитетом стреса, како по параметрима који одређују опсежност једне интервенције (трауматизовање ткива, интензитет крварења, време трајања интервенције, интензитету бола) тако и по могућности његове модификације различитим анестетцима (Hall et al., 1978; Desborough, 2000).

1.1 КВАЛИТЕТ ОПОРАВКА

Увођење савремених анестетика у клиничку праксу, боље разумевање физиологије бола и периоперативне физиологије као развој мониторинга довели су до значајног смањења периоперативног морбидитета и морталитета (Kehlet and Dahl, 2003). Досадашњи напредак је сагледаван кроз клиничке исходе као што су дисфункције виталних

органичних система, учесталост тромбоемболијских компликација, катаболизам, бол, мучнина, повраћање и брзина зарастања хируршке ране (Kehlet, 1997; Kehlet and Dahl, 2003). Мада су ти традиционални клинички исходи важни и незаобилазни у процени успешности хируршких процедура и анестезије и онда када компликација нема, пацијент је суочен са непријатностима које је хируршка интервенција проузроковала а сваки од симптома и дисфункција неминовно води ка компромитовању квалитета живота у одређеном временском периоду који представља време опоравка од операције (слика 1).

Појам опоравка пацијента датира са почетка двадесетог века, када је препозната потреба да се пацијенти надгледају у непосредном постоперативном периоду и да се тада и лече нежељене последице операције и анестезије (Edwards, 1951). Међу првим инструментима клиничке процене, којима се мери опоравак, 1970. године Антионио Алдрет (Antonio Aldrete) уводи метод који је у употреби и данас, са извесним модификацијама, на основу којег се прати прогрес опоравка функције виталних органа (кардиоваскуларног и респираторног система, стање свести, моторне активности и пребојености коже и слузница) пре него што се пацијент преведе на одељење (Aldrete and Kroulik, 1970). Анестезиолози су традиционално укључени у непосредни постоперативни опоравак пацијента, 2-3 сата након операције али развојем периоперативне медицине, као мултидисциплинарне гране, долази до експанзије њихове улоге као клиничара и у каснијем периоду опоравка, пре свега због терапије бола, као и улоге истраживача у откривању дисфункција које се јављају у овом периоду (Miller, 2002).



Слика 1. Постоперативни опоравак, са или без компликација.

Данас се опоравак сагледава као комплексан процес који започиње одмах након операције и анестезије а наставља како у току хоспитализације тако и након тог периода . И мада се постоперативни опоравак често користи као самостални концепт,

тешко је идентификовати опште прихваћену стандардну дефиницију. Међу њима, једна од најцеловитијих (најсвеобухватнијих) је она коју даје Алвин (Allvin) у којој се каже да је „постоперативни опоравак динамичан процес који захтева енергију за враћање у нормалност и целовитост и то успостављањем контроле над физиолошким, психолошким, социјалним и хабитуалним функцијама, што резултира у повратку на преоперативне нивое независности, или зависности у свакодневним дневним активностима и оптималном нивоу психолошког осећања доброг“ (Allvin et al., 2007 ;De Cherney et al.,2002) . Из наведене дефиниције се уочава да је опоравак комплексан процес и да се може поделити на неколико димензија: физиолошки, психолошки, социјални, хабитуални, те опоравак когнитивних функција. Такође се може закључити да је за процену већине ових функција неопходна искључиво перспектива пацијента.

Данас постоји читав спектар упитника који процењују квалитет живота код пацијената (генерички инструменти) али за праћење постоперативног опоравка је неопходно усмерити фокус на актуелне проблеме који се јављају специфично за овај период, што је наметнуло и потребу за развојем адекватних инструмената мерења. Деведесетих година прошлог века Пол Мајлс (Paul Myles) започиње развоје упитника за процену постоперативног опоравка и то прво кратког упитника од девет питања-„Скор квалитета опоравка-9“ (QoR-9) а затим и „Скор квалитета опоравка-40“ (QoR-40), који је коришћен и у нашој студији. У даљем периоду наставило се са развојем оваквих упитника и међу њима до сада најважнији су: Евалуација и конвалесценција опоравка (CARE) (Hollenbeck et al., 2008), Профил постоперативног опоравка (PRP) (Allvin et al., 2011), Индекс постоперативног опоравка (PORI) (Butler et al., 2012), Скор постоперативног квалитета опоравка (PQoRS) (Roysel et al., 2010).

Оваквом проценом стања пацијената, како у раном, тако и у касном постоперативном периоду, добијамо неколико важних информација. Пре свега имамо увид да ли одређена хируршка процедура, код нпр. увођења нових хируршких техника, заиста доприноси квалитету живота пацијената. Затим, добија се профил опоравка код одређених хируршких процедура што пружа могућност пацијенту да јасно сагледа све аспекте интервенције и да се на тај начин ускладе његова очекивања и смањи анксиозност у постоперативном периоду. Додатно, из аспекта истаживања, важно је утврђивање одређених дисфункција и успостављање корелације са етиологијом, тј. одређеним хируршким техникама, модалитетима анестезије и аналгезије, а такође и повезивање опоравка са фундаменталним променама које се огледају у дисбалансу биолошких каскада чијом би модулацијом могло да се повољно делује на поправљање профила опоравка.

QoR-40 садржи 40 питања, обухвата 5 клинички значајних димензија: емотивно стање, физички комфор, психолошку подршку, физичку независност и бол и испуњава свих осам критеријума за које се данас сматра да су неопходни да би се један инструмент користио у сврхе клиничког истраживања. Он је адекватан, поуздан, валидан, прецизан, интерпретабилан, прихватљив за пацијенте и изводљив (Myles et al., 2000; Herrera et al., 2007). До сада је примењиван у већем броју истраживања ка што су били процена квалитета опоравка после спиналне или опште анестезије, поређење примене различитих анестетика и њихов утицај на квалитет опоравка као и

успостављање корелације са лучењем цитокина у постоперативном периоду укључујући и болеснице подвргнуте абдоминалној хистеректомији (Catro-Alves et al., 2011). У доступној литератури нема циљаних студија које су истраживале корелацију квалитета постоперативног опоравка са променама у параметрима оксидационог стреса док су студије које се односе на промене у имунском систему раритетне (Bekker et al., 2013).

1.2 ОПЕРАЦИЈА И ИМУНСКИ СИСТЕМ

Хируршка интервенција и траума су непатогени активатори имунског система који индукују промене и урођене и стечене имуности, како целуларне тако и хуморалне (Menger and Vollmar 2004; Kurosawa and Kato, 2008).

1.2.1 Основне карактеристике имунског система

Имунски систем представља комплексну интеракцију између имунских ћелија, органа и молекула и има као основни циљ заштиту организма од патогена, као и разликовање сопственог од несопственог (Abbas et al., 2009). Два основна дела имунског система су неспецифични тј. урођени имунски систем и специфични, адаптивни или стечени имунски систем (слика 2).

Урођена имуност је прва линија одбране домаћина и укључује физичке баријере као што су кожа, мукозне мембране, затим ћелијске компоненте у које спадају: фагоцитне ћелије (моноцити, макрофаги и неутрофили), ћелије природне убице (NK ћелије), маст ћелије и дендритичне ћелије. Хуморалну компоненту урођеног имунитета чине протеински молекули као што су: компоненте комплемента, протеини акутне фазе и цитокини (Abbas et al., 2009). Урођени имунски одговор је брз, неспецифичан и не захтева претходно излагање антигенима за стимулацију. Тако ћелије које су укључене у урођену имуност препознају еволутивно сачуване микробијалне секвенце које су заједничке међу класама патогена „РАМП“ („pathogen associated molecular patterns“), док је приликом трауме препознавање усмерено на „DAMP“ („damage associated molecular patterns“), тј. протеина повезаних са митохондријалном ДНК оштећених ћелија (Zhang et al., 2010). Инфламација, запаљење као одбрамбена реакција чија је главна сврха откалањање примарног узрока ћелијског оштећења, као и некротичних ћелија и ткива насталих дејством штетних агенаса је заправо део ширег, заштитног одговора који представља одговор урођене имуности.

Адаптивни или стечени имунски одговор је специфичан, захтева претходно излагање антигену и појачава се са поновљеном излагању патогена. Ћелијске компоненте адаптивне имуности чине Т и В лимфоцити. Т лимфоцити се могу поделити у три главне групе: помагачки, цитотоксички и регулаторни (супресорски) (Abbas et al., 2009)

Т-помоћнички лимфоцити -Т-helper (Th) или CD4+ луче многе цитокине и појачавају активност и пролиферацију других компоненти имунског система. Th лимфоцити се диференцирају из наивних Т ћелија (T0) у Th-1, Th-2 или Th-17.

Цитотоксички Т лимфоцити (CD8+) имају пре свега улогу у индукцији апоптозе туморских ћелија и ћелија инфицираних вирусом, мада и они луче цитокине али у мањој мери од CD4+ лимфоцита. Меморијске ћелије нису директно укључене у елиминацију патогена, већ више памте претходне инфекције и код поновног излагања патогену ове ћелије могу да обезбеде јачи и бржи имунски одговор.

Т регулаторни лимфоцити (Treg) имају функцију у спречавању нежељене реакције након имунске стимулације а имају улогу у регулисању одговора који су усмерени на сопствено ткиво тј. у аутоимунским реакцијама.

В лимфоцити су одговорни за хуморалну компоненту у адаптивном имунитету. Th лимфоцити луче цитокине који помажу сазревању В лимфоцита у плазма ћелије које секретују антитела или меморијске В лимфоците.

ИМУНСКИ СИСТЕМ

УРОЂЕНА ИМУНОСТ	ФИЗИЧКЕ БАРИЈЕРЕ	ЋЕЛИЈСКЕ КОМПОНЕНТЕ	ХУМОРАЛНЕ КОМПОНЕНТЕ
	-КОЖА -МУКОЗНЕ МЕМБРАНЕ	- ФАГОЦИТНЕ ЋЕЛИЈЕ (моноцити, макрофаги, неутрофили) -ЋЕЛИЈЕ ПРИРОДНЕ УБИЦЕ (NK ћелије) -МАСТ ЋЕЛИЈЕ -ДЕНДРИТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ (DC)	-КОМПОНЕНТЕ КОМПЛЕМЕНТА -ПРОТЕИНИ АКУТНЕ ФАЗЕ -ЦИТОКИНИ
АДАПТИВНА ИМУНОСТ		Т ЛИМФОЦИТИ - Т helper (CD4+) - Т цитотоксични (CD8+)(CTL) - Т reg (регулаторни) В ЛИМФОЦИТИ	-ИМУНОГЛОБУЛИНИ (антитела)

Слика 2. Основне компоненте имунског система - урођена и адаптивна имуност

1.2.2 Цитокини и промене у периперативном периоду

Цитокини су полипептиди које могу стварати бројни типови ћелија у организму у оном тренутку када се под утицајем штетне ноксе експримирају цитокински гени (Dinarello, 2000). Иако представљају пре свега важне медијаторе у имунском систему, готово све ћелије са једром су у стању да синтетишу ове протеине по чему су и добили назив „citoкени“ а њихови ефекти се огледају у готово сваком биолошком процесу: ембриогенетском развоју, патогенези болести, променама у когнитивним функцијама, прогресији дегенеративних процеса и старења (Dinarello, 2007).

Бројни су фактори који могу да индукују експресију цитокинских гена укључујући: липополисахариде бактерија и друге солубилне продукте микроорганизама, компоненте комплемента, реактивна кисеонична и азотна једињења, исхемију, радијацију, ултравиолетно зрачење, компоненте екстрацелуларног матрикса, DNK (како сисара тако и микроорганизама), *heat shock* протеине као и саме цитокине који делују аутокринно (Firestein et al., 2009).

Цитокини представљају протеине мале молекулске масе, у просеку 25 kDa (од 6-51), данас је познато преко 40 цитокина и њихов број се проналаском нових стално увећава. Већина цитокина делује на саме ћелије које их стварају (аутокрино дејство) или на суседне ћелије (паракрино дејство). Када се у реакцијама урођене имуности активира довољан број макрофага (у току системске инфламације), продукују се велике количине цитокина који тада могу да делују и на местима удаљеним од њихове секреције и тада имају ендокрино дејство (Abbas et al., 2009). Плејотропизам, тј. испољавање мултиплих биолошких активности је основна карактеристика њиховог деловања (Dinarello, 2007).

Јединствен класификациони систем цитокина још увек не постоји па су они су различито груписани и означени као нпр. по нумеричком реду откривања (IL-1 до IL-37), по датој функционалној активности (нпр. Фактор некрозе тумора–TNF, интерферони), по кинетици или функционалној улози у инфламаторном одговору (рани или касни, проинфламаторни или антиинфламаторни) (Firestein et al., 2009). Данас појам цитокина обухвата: интерфероне, интерлеукине, фамилију хемокина, мезенхималне факторе раста, фамилију фактора некрозе тумора и адипокина (Dinarello, 2007).

У оквиру урођеног имунског одговора и инфламацији цитокине луче ћелије урођене имуности и то: макрофаги, дендритичне ћелије, ендотелне ћелије, NK ћелије, мастоцити и то су пре свега проинфламаторни цитокини: TNF- α , IL-1, IL-12, IF- γ . (Abbas et al., 2009). Њихова улога се огледа у активацији ендотела, нагомилавању леукоцита, повећању лучења хемокина, еикосаноида и активацији фибробласта. У адаптивном имунском одговору преодминантни извори цитокина су CD4+Th лимфоцити. Неки од цитокина су укључени у пролиферацију и диференцијацију лимфоцита као на пример IL-2 и IL-4 као и активацију различитих ефекторских ћелија нпр. IF- γ који активира макрофаге и IL-5 који активира еозинофиле (Abbas et al., 2009).

У погледу функционалне активности које имају у имунском систему најважнија је подела цитокина на проинфламаторне и антиинфламаторне. И док су неке од ћелија адаптивне имуности (наивне Т ћелије-T0) подложне даљој диференцијацији у посебне ефекторске ћелије које луче проинфламаторне цитокине (Th1), антиинфламаторне цитокине (Th2) и Th17 (Abbas et al., 2009), за неке од ћелија урођене имуности (макрофаги, маст ћелије и неутрофили) је познато да показују пластичитет, тј. да под утицајем различитих фактора из микроокружења могу брзо а и реверзибилно да мењају свој фенотип и функцију, тако да у различитим фазама инфламације луче проинфламаторне или антиинфламаторне цитокине (Gong et al., 2012; Galli, 2011).

У физиолошком функционисању имунског система одржава се баланс између проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина и на тај начин се задржава функционалност ћелијског имунитета у одбрани од патогена а да се при томе не изазову оштећења изазвана хиперинфламацијом (Ayala et al, 2003; Mannick et al., 2001; Giannoudis et al., 2006).

Међутим, у постоперативном периоду под утицајем више фактора долази до нарушавања ове равнотеже што индукује промене, како су досадашња истраживања

показала, одређеним редоследом (Kurosawa and Kato, 2008; Lin et al., 2000; Homburger and Meiler, 2006; Scholl et al., 2012). Иницијално долази до повећаног лучења проинфламаторних цитокина и то превасходно од стране ћелија урођеног имунског система. Након те проинфламаторне фазе следи фаза у којој доминирају антиинфламатори цитокини и то је тзв. имуносупресивна фаза (Bone, 1996; Choileain and Redmond, 2006).

Као одговор на оштећење ткива у акутној хиперинфламаторној фази фагоцитне и ендотелне ћелије ослобађају проинфламаторне цитокине IL-1 и TNF- α (Bone, 1996; Lin et al., 2000; Kurosawa and Kato, 2008). Ови цитокини активирају инфламаторну каскаду како локално тако и системски у покушају да се контролише ткивно оштећење. IL-1 и TNF- α индукују ослобађање IL-6 а њега прате и повећање концентрације других проинфламаторних цитокина и (IF- γ , IL-2, IL-12) као и протеина акутне фазе (Angele and Faist, 2003; Menger and Vollmar, 2004). IL-6 је цитокин који испољава како проинфламаторне тако и антиинфламаторне карактеристике (Dinarello, 2000).

У даљем току, као резултат активације неуроендокриног одговора, долази до хиперсекреције кортизола и катехоламина као и ректаната акутне фазе, што води ка померању баланса и преминању антиинфламаторних цитокина то: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13 (Jovanović Radojević, 2009; Angele and Faist, 2003; Menger and Vollmar, 2004.) Наиме, глукокортикоиди синергистички са норадреналином и адреналином делују инхибиторно на синтезу проинфламаторних цитокина тј. IL-1 и TNF- α (Elenkov and Chrousos, 2002).

Осим тога, глукокортикоиди повећавају синтезу антиинфламаторних цитокина и то како директно, дејством на CD4+Т лимфоците, тако и индиректно инхибицијом синтезе IL-12 од стране моноцита и макрофага (O'Sullivan et al., 1995; Blotta et al., 1997; Elenkov and Chrousos, 2006). IL-12 је снажан стимулатор IF- γ , те се на овај начин индиректно смањује и његова синтеза. Катехоламини такође преко α -2 адренергичних рецептора инхибирају продукцију IL-12 а повећавају синтезу IL-10 (Elenkov, 2004). Осим тога, у овој имуносупресивној фази макрофаги, које активира IL-6, стварају велике количине простагландина- E2 (PGE-2) који је снажан имуносупресив (Sheeran and Hall, 1997).

Све ове промене у лучењу цитокина праћене су и променама у функцији ћелија имунског система. Тако се зна да, иако број неутрофила расте већ три сата након операције (Tabuchi et al., 1980), број оних неутрофила који су укључени у фагоцитозу је смањен, као што је инхибирана и „неутрофилна апоптоза“ (Brand et al., 1997; El-Maallem and Fletcher, 1991; Savitha, 2008). Такође је смањена и инфламаторна реактивност моноцита као и експресија и HLA-DR молекула која траје 3-5 дана након операције (Wakefield et al., 1993). Значајно је смањен број CD4+ и CD8+ лимфоцита а активност NK ћелија је смањена и враћа се на преоперативне вредности 4 до 10 дана после операције (Tabuchi et al., 1980; Dietz et al., 2000).

Осим трауме ткива и активације неуроендокриног система које су већ поменуте и други фактори доприносе имунодепресији у постоперативном периоду као што су:

трансфузије алогене крви, бол, хипергликемија а такође значајан утицај имају и анестетици и аналгетици који се примењују (Kehlet, 1997; Menger and Vollmar, 2004; Meiler, 2006). Промене у лучењу цитокина су сразмерне интензитету хируршке трауме и перзистирају до пет дана након гастректомије, док су после мастектомије промене присутне три дана (Shirakawa, 1998). Такође постоје и разлике између полова у лучењу цитокина после операције (Offner et al., 1999; Wichmann et al., 2003;).

Поред тога што системско лучење појединих цитокина утиче на поремећаје општег стања тј. доводи до настанка умора, слабости и поспаности (пре свега TNF- α , IL-1), овакве промене у функцији имунског система су повезане и са развојем бројних компликација као што су: постоперативне инфекције, делиријум, когнитивни поремећаји, бржи развој метастаза. Инфекцијама као што су инфекција ране, пнеумонија или сепса, су нарочито склони пацијенти који су већ имунокомпромитовани, потхрањени, на имуносупресивној терапији, стари (Dantzer, 2001; Mannick, 2001; Angele and Faist, 2002).

Код пацијената који имају смањене функционале резерве CNS-а, старих, дементних, са претходним цереброваскуларним инсултима, постоји повећана могућност развоја постоперативног делиријума и когнитивних поремећаја и то се приписује повећању нивоа проинфламаторних цитокина IL6, IL-8, IL-1 β , и њиховом утицају на микроглијалне ћелије и, на тај начин, индукцији неуроинфламације (De Rooij et al., 2007; Sanders and Maze, 2010). Код пацијената који имају малигне болести повећана је склоност ка бржем развоју метастаза и рекуренцији карцинома, пре свега због смањења ефекторских функција NK ћелија, CD4+ тип 1, CD8+, поремећају T1/T2 баланса, повећању IL-6 (Ben-Eliyahu et al., 1999; Kurosawa, 2012).

1.2.2.1 Анестезија и имунски статус

Генерално се може рећи да анестезија и постоперативна аналгезија прозрокују пролазне промене у функцији имунског система које имају мали утицај на клинички исход код већине пацијената али у одређеним популацијама пацијената могу довести до нежељених догађања (Mannick, 2001; Angele and Faist, 2002; De Rooij et al., 2007; Sanders and Maze, 2010; Kurosawa, 2012). Сви анестетици испољавају директне супресивне ефекте на ћелијске и хуморалне компоненте имунског система при чему волатини анестетици доводе до веће супресије функције моноцита, CD4+ и CD8+ лимфоцита као и повећања IL-6 (Schneemilch et al., 2005; Kurosawa and Kato, 2008). Све је већи број доказа да тотална интравенска анестезија (TIVA) са пропофолом, инхибитори циклооксигеназе као и регионална анестезија смањују негативне консеквенце повезане са имуносупресијом (Kurosawa, 2012). У нашој студији праћене су концентрације четири цитокина: интерферона гама (IF- γ), интерлеукина-10 (IL-10), интерлеукина-17 (IL-17) и трансформишућег фактора раста бета (TGF- β).

1.2.3 Интерферон гама (IF- γ)

Овај цитокин је назван тако јер се примарно сматрало, као и за друге интерфероне да је њихова једина улога у спречавању вирусне инфекције тј. да интерферирају са вирусном инфекцијом (Abbas et al., 2009). IF- γ припада типу II интерферона и то је проинфламаторни цитокин како урођене тако и адаптивне имуности (Schroder et al., 2004; Abbas et al., 2009). У почетку је владало мишљење да га искључиво производе CD4⁺ Th лимфоцити, CD8⁺ цитотоксични лимфоцити, и NK ћелије (Bach, 1997). Међутим, данас постоје докази да и друге ћелије као што су В лимфоцити, NKT ћелије и професионалне антиген-предентујуће ћелије (APC), секретују IF- γ (Frucht et al., 2001; Schroder et al., 2004).

Секреција IF- γ од стране NK ћелија и професионалних антиген презентујућих ћелија-APC), тј. моноцита/макрофага и дендритичних ћелија је важна у раној одбрани домаћина против инфекције, док у адаптивном имунском одговору Т лимфоцити постају главни извор IF- γ (Frucht et al., 2001; Schroder et al., 2004). Управо у току ране одбране од инфекције он је веома снажан активатор макрофага јер поспешује њихову микробицидну активност као и фагоцитозу а такође и активност NK ћелија. IF- γ игра кључну улогу како у раној тако и проинфламаторној адаптивној имуности и његов недостаткак води ка повећаном ризику од инфекције (Schinkel, 2003; Prass et al., 2003) а његова улога је веома значајна у заштити од развоја тумора (Dunn et al., 2002).

Цитокини који стимулишу лучење IF- γ су пре свега IL-12 као и IL-18 (Munder et al., 2001). Када макрофаг препозна патогене, секретује IL-12 и хемокине, они привлаче NK ћелије и заједничким дејством NK ћелија, макрофага као и Т лимфоцита се повећава лучење IF- γ . Управо IL-12 и IF- γ координишу препознавање патогена од стране урођене имуности и индукцију специфични имунски одговор (Boehm et al., 1997). Негативни регулатори синтезе IF- γ укључују IL-4, IL-10, TGF- β и глукокортикоиде (Schroder et al., 2004). Редуковане плазма концентрације IF- γ и директна стимулација од стране катехоламина и кортизола за време стреса проузрокују поремећај активности NK ћелија упркос пролазном повећању њиховог броја (Madden et al., 1995).

Више студија је истраживало промене концентрације IF- γ код великих абдоминалних операција а ретке од њих после абдоминалне хистеректомије (Pirenne et al., 1995; Kumru et al., 2006). Зато постоји интерес за даља истраживања овог цитокина у области постоперативног опоравка.

1.2.4 Интерлеукин 17 (IL-17)

До сада је откривено шест структурно сличних протеина који припадају овој фамилији (A, C, D, E и F) а међу њима доминантан је IL-17A (Bosmann and Ward, 2012). Секретују се као гликолизирани протеини молекулеске масе ~5kDa и по структури фамилија интерлеукина 17 се разликују од свих осталих интерлеукина због присуства четири цистеинске резидуе које учествују у формирању дисулфидних веза и на тај

начин учествују у стварању хомодимера или хетеродимера који по структури подсећају на нервне факторе раста (NGF) и друге неуротрофине (Hymowitz et al., 2001; Chang and Dong, 2012).

До сада је познато је да га лучи неколико искључиво хематопоетских ћелија, како урођене тако и адаптивне имуности. Примарно се сматрало да га искључиво лучи посебна подгрупа активираних CD4+Th лимфоцита, дакле ћелија адаптивне имуности, која је и означена као Th-17 популација (Park et al., 2005; Yao et al., 1995). Међутим, активација Th-17 пута није давала објашњење за рани имунски и одговор посредован IL-17 који се јавља након неколико сати (4-8) од настанка микробијалне инфекције и повреде ендотелних ћелија (Cua and Tato, 2010). Тако се и дошло до сазнања да неколико ћелија урођене имуности играју значајну улогу у лучењу овог цитокина. У њих спадају: $\gamma\delta$ T лимфоцити, неутрофили, NKT ћелије и Панетове ћелије (Cua and Tato, 2010). Такође, постоји и све већи број доказа да су и макрофаги појединих ткива (перитонеални и алвеоларни) значајан извор IL-17A као и IL-17F за време акутног инфламаторног одговора (Da Silva et al., 2008). Највећи број ових ћелија је смештено у мукози црева, плућима и кожи, дакле ткивима које представљају прву баријеру домаћина од окружења (Cua and Tato, 2010). У току акутног инфламаторног одговора, IL-17 стимулише хемотаксу и пролиферацију неутрофила, и лучење проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-1, IL-6,) и хемокина (CXCL1, CXCL8, CXCL10), антимикуробних пептида (муцина, β -дефензина) из циљаних ћелија као што су фибробласти и епителне ћелије (Iwakura et al., 2008; Cua and Tato, 2010). Такође испољава синергизам у индуковању инфламаторног одговора са TNF- α , IL-1 β и IF- γ на различитим циљним ћелијама (Takaya et al., 2002).

Дакле, IL-17 има јасно проинфламаторно дејство. Осим након стимулације микроорганизмима, показано је да неутрофили могу да продукују значајне количине овог цитокина и као одговор на „стерилну“ повреду ткива као што је исхемијско-реперфузиона повреда. Наиме показано је да је IL-17 заједно са IF- γ одговоран за оштећење бубрега у току овакве повреде (Li et al., 2010). Мада има протективну улогу у одбрани домаћина, прекомерна активација IL-17 посредованог имунског одговора може допринети ткивном оштећењу (Hirota et al., 2011). Показано је да постоје повишене вредности овог цитокина у неколико аутоимунских обољења, туморима, кардиоваскуларним обољењима (Pappu et al., 2011; Chang et al., 2011; Wilke et al., 2011).

У неколико клиничких истраживања су забележене значајне флукуације IL-17 у постоперативном периоду између различитих експерименталних групе (Frangen et al., 2008; Tylman et al., 2011; Fant et al., 2013). Међутим, резултати ових студија нису директно упоредиви са нашим истраживањем због методолошких разлика и различитих карактеристика испитаника.

1.2.5 Трансформишући фактор раста β (TGF- β)

Трансформишући фактор раста β (TGF- β) постоји у три изоформе (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) и плејотропни је цитокин. Значајно доприноси контроли апоптозе, ангиогенезе, зарастању рана, имунорегулацији као и биологији тумора (Prud'homme,

2007). Практично све ћелије имају рецепторе за TGF- β а бар једна изоформа се продукује у свим ткивима. Ћелије имунског система продукују пре свега TGF- β 1 (Flanders and Roberts, 2001; Howe, 2003; Li et al., 2006). Готово све ћелије имунског система могу да продукују и да реагују на овај цитокин (имају рецепторе) (Li et al., 2006; Worthington et al., 2012). Показано је да је сигнализирање TGF- β 1 неопходно за алтернативну активацију макрофага (M2), који продукују антиинфламаторне цитокине и примарно су укључени у фагоцитозу апоптотичних ћелија, обнављању ткива и зарастању рана (Gong et al., 2012). TGF- β 1 се такође нормално налази у плазми и везује се за протеине екстрацелуларног матрикса у целом телу, а велике количине овог цитокина се налази у тромбоцитима и костима (Prud'homme, 2007).

За разлику од других цитокина секретује се у латентној форми и може бити активиран различитим механизмима да би испољио своје ефекте, а важну улогу његовој активацији имају дендритичне ћелије (Prud'homme, 2007). Примарно је сврстан у антиинфламаторне цитокине и познато је да експерименталне животиње којима недостаје TGF- β 1 изоформа веома брзо умиру од мултиорганске инфламације (Worthington et al., 2012). Ихибиторне ефекте TGF- β 1 испољава на готово свим ћелијама имунског система укључујући Th-1, Th-2 ћелије, CTL (цитотоксичне лимфоците), макрофаге, NK ћелије, В ћелије, дендритичне (DC ћелије) и полиморфонуклеарне леукоците (гранулоците) (Li et al., 2006; Rubtsov and Rudensky, 2007; Wahl, 2007).

Међутим, сва дејства овог цитокина нису супресивна, јер он испољава јака хемотаксична својства која доводе до брзе акумулације макрофага, гранулоцита и других ћелија (Wahl et al., 1987; Reibman et al., 1991). Та инфламаторна компонента је појачана чињеницом да TGF- β може довести до индукције диференцијације Th-17 лимфоцита који секретују велику количину IL-17 који одржава акутну инфламацију са мобилисањем гранулоцита и стимулацијом секреције других проинфламаторних цитокина. Практично, природа његовог дејства је биполарна и сматра се да рано након ткивне повреде испољава инфламаторне ефекте, а да томе следи његово антиинфламаторно дејство (Wahl et al., 1987). Студије на експерименталним моделима су показале да постоје и разлике између полова у експресији како латентних TGF- β 1, тако и TGF- β активатора зависних од естрадиола (Rescoveux et al., 2013). Смањена продукција овог цитокина је присутна у неким аутоимуним болестима и велики број истраживања се врши у циљу утврђивања ефеката имунотерапије која стимулише TGF- β код аутоимуних болести. Повећана продукција TGF- β је присутна у многим патолошким стањима: плућној фибрози, гломерулосклерози, реналној интерстицијалној фибрози, цирози, Кроновој болести и др. (Prud'homme, 2007).

Истраживања промена серумских концентрација TGF- β болесника после хируршких интервенција су, у доступној литератури, врло ретке. С тим у вези, постоји потреба да се овај цитокин помно прати и у студијама разноврсног дизајна како би се стекао увид у његову хомеостазу код што већег броја различитих операција.

1.2.6 Интерлеукин 10 (IL-10)

IL-10 је плејотропни имунорегулаторни цитокин који је важан у заштити домаћина од имунопатологије удружене са инфекцијама, аутоимунитетом и алергијама (Ng et al., 2013). Иницијално се сматрао искључиво Th-2 специфичним цитокином али су даља истраживања показала да се његова синтеза повезује са T-регулаторним лимфоцитима (Treg) (Fiorentino et al., 1989; Moore et al., 2001; O'Garra and Vieira, 2004; Roncarolo et al. 2006; Sabatos-Peyton et al., 2010). Сада се зна да готово све ћелије како урођене тако и адаптивне имуности могу да стварају IL-10 и то укључујући дендритичне ћелије, макрофаге, маст ћелије, NK ћелије, еозинофиле, неутрофиле, B лимфоците, CD8+Th, Th-1 Th-2, Th-17 лимфоците (O'Garra and Vieira, 2004; Roncarolo et al., 2006; Sabatos-Peyton et al., 2010; Mauri and Bosma, 2012).

Главна имунорегулаторна дејства овог цитокина се огледају у имуносупресији те се примарном функцијом сматра његово директно везивање за леукоците и тим путем спречавање ширења имунског одговора (Bijjiga and Martino, 2013). Секреција IL-10 из Treg, макрофага и других леукоцита, праћена везивањем за рецепторе за IL-10 на макрофагима и дендритичним ћелијама, се повезује са смањењем презентације антигена и анергијом T лимфоцита (Hoves et al., 2006; Shalev et al., 2011). Такође, инхибиторно делује на синтезу Th-1 проинфламаторних цитокина (IL-12, IF- γ , IL-2, IL-6, IL-1 β , TNF- α) а стимулише Th-2 одговор повећањем нивоа Th-2 циткина (IL-4, IL-5, IL-13) (Cope et al., 2011).

Међутим постоје и функције овог цитокина које су означене као проинфламаторне и то се пре свега односи на дејства која испољава на B лимфоците, гранулоците и NK ћелије (Ozdemir et al., 2008; Deo et al., 2010). Наиме, IL-10 секретован из NK ћелија повећава B лимфоцитну диференцијацију, пролиферацију и развој, делујући као кофактор са IL-4 (Yu and Wang, 2011).

У експерименталним студијама са моделима инфекција различитим патогенима је показано да резолуција инфекција захтева координисан одговор у коме иницијални проинфламаторни механизми отклањају патоген, и да су након тога инхибирани продукцијом IL-10, пре него што се развије патолошки процес. Тако да је време и релативна количина проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина од кључне важности за безбедну резолуцију инфекције (Couper et al., 2008).

Недостатак IL-10 се повезује са развојем хиперсензитивности и аутоимуних обољења те су ниске концентрације овог цитокина забележене код пацијената са реуматоидним артритисом, дијабетес мелитусом тип-1, псоријазом, колитисом, целијачном болешћу, дакле у аутоимунским и хиперинфламаторним стањима са доминацијом Th-1 цитокина и сниженим нивоом антитела. Повећање IL-10 има негативан утицај на билошке системе и огледа се у повећаној склоности ка развоју карцинома, хроничних инфекција и системског лупуса (Th-2 зависне аутоимуности). (Bijjiga and Martino, 2013).

Студије које су истраживале тренд промене серумских концентрација IL-10 у постоперативном периоду су бројне и дизајном разноврсне (Gilliland et al., 1997; Kim

and Hahn, 2001; Rodriguez et al., 2007; Ke et al., 2008; Ionescu et al., 2013). Међутим, временски период праћења овог цитокина је, у већини, био кратак, до око 24 сата и, додатно, за разлику од неких нестероидних аналгетика, није познат утицај кетопрофена на концентрацију IL-10.

1.3 ОПЕРАЦИЈА И РЕАКТИВНА ЈЕДИЊЕЊА

Слобони радикали су сви они јони, молекули или једињења која могу да егзистирају самостално, а имају један или више неспарених електрона у спољашњој орбитали. То их чини веома реактивним са другим једињењима тј., имају сталну тежњу да постигну стабилније стање те реагују са другим молекулима, атомима или чак индивидуалним електронима (Halliwell and Gutteridge, 1999). Многа једињења која нису радикалске врсте, дакле немају неспарен електрон, показују велику реактивност па се због тога заједно са слободним радикалима сврставају у такозвана реактивна једињења или реактивне врсте.

Висока реактивност је основна карактеристика постојања реактивних једињења и захваљујући томе она и остварују своје биолошке ефекте. Међутим, то чини њихов полуживот веома кратким (за најреактивније врсте као што је хидроксил радикал-OH• је полуживот 10^{-9} s), тако да не постоји акумулација ових једињења, дакле, континуирана продукција и елиминација је такође једна од основних карактеристика њиховог постојања, што значајно отежава њихову детекцију (Lushchak and Semchyshyn, 2012). У физиолошким условима процес стварања реактивних једињења је добро контраизбалансиран са антиоксидативним системом који има улогу у његовом уклањању (Halliwell and Gutteridge, 1999).

1.3.1 Механизми стварања реактивних једињења

Основно место настанка реактивних врста у физиолошким условима су митохондрије, у току процеса оксидативне фосфорилације (Boveris and Cadenas, 1975; Lushchak and Semchyshyn, 2012). Такође у физиолошким условима, реактивна једињења се могу стварати и удругим ћелијским органелмама (пероксизомима, лизозомима, ендолпзматском ретикулуму) као и у току уобичајених каталитичких реакција под дејством ензима оксидаза (оксигеназа, пероксидаза). Тим путем пре свега настају супероксид анјон радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2) а такође може доћи до стварања и веома реактивног и токсичног хидроксил радикала (OH•) (Halliwell and Cross, 1994; Halliwell and Gutteridge, 1999).

Наиме, у респираторном ланцу у митохондријама се континуирано врши пренос електрона међу компонентама респираторног ланца са крајњом четвороелектронском редукцијом молекуларног кисеоника при чему као крајњи продукти ових реакција настају високоенергетско једињење аденозин-трифосфат (АТФ) и вода (H_2O). Некада се у овим процесима не изврши потпуна редукција молекуларног кисеоника и тада као интермедијерни продукти настају различити кисеонични радикали: супероксид анјон радикал (O_2^-) водоник пероксид (H_2O_2), хидроксил радикал (OH•) и хидроперокси радикал (HO_2) (Lushchak and Semchyshyn, 2012). Респираторни ланац се састоји од

три интегрисана протеинска комплекса (I, II и IV), као и два слободна дифузибилна молекула: убихинона (коензима Q) и цитохрома-C. Сматра се да је главно место отпуштања електрона на месту комплекса I тј. NADPH-коензим Q редуктазе и редукване форме коензима Q (Kehrer, 2000), те да се 3-5% молекуларног кисеоника који је доступан респираторном ланцу потроши на стварање реактивних кисеоничних врста.

До повећаног стварања реактивних једињења долази и у неутрофилима у току процеса инфламације, што представља њихово циљано стварање, затим под утицајем метала, при метаболисању ксенобиотика, у току исхемије и реперфузије као и утицајем УВ зрачења, радиоактивног зрачења и утицајем полутаната из окружења, као и при појачаној физичкој активности. Стварање реактивних једињења у неутрофилима одвија се у неколико повезаних процеса и ту радикалске врсте имају функцију бактерицидних оксиданаса. У току активације неутрофила у инфламацији, у процесу који је назван оксидативна експлозија, активацијом NADPH-оксидазе, ензима смештеног у ћелијској мембрани, једноелектронском редукцијом молекуларног кисеоника се ствара велика количина кисеоничних радикала, заправо O_2^- , који се даље конвертује било спонтано или ензимски у H_2O_2 и након тога у веома реактивни хидроксил радикал OH^\bullet . (Iyer and Quastel, 1963; Murray, 2003 Davies, 2011).

То није једини механизам којим леукоцити остварују своју микробицидну функцију, заправо они поседују и ензим индуцибилну азот оксид синтетазу (iNOS), те тако стварају азот оксид (NO^\bullet), који заједно са O_2^- доводи до стварања веома моћног оксиданта пероксинитрита ($ONOO^-$). Такође, мијелопероксидаза, ензим који се налази у великим количинама у неутрофилима користи створени H_2O_2 и ствара хипохлорну киселину (Murray, 2003). Сви ови продукти заједно помажу неутрофилима да остваре своју бактерицидну улогу.

1.3.2 Утицај метала

Метали играју важну улогу у многим биолошким процесима у организму и њихова хомеостаза се одржава добро избалансираним механизмима апсорпције, преузимања, депоновања и секреције (Jomova and Valko, 2011). Нарушавање неког од ових хомеостатских механизма може довести до неконтролисаног стварања слободних радикала који учествују у модификацијама ДНК, липидној пероксидацији, промени хомеостазе кацијума и сулфидрилних група (Gutteridge, 1995; Jomova and Valko, 2011).

Редокс активни метали (гвожђе, бакар, хром, кобалт) имају неспарене електроне и могу учествовати у реакцијама трансфера електрона тј., једноелектронској редукцији или оксидацији и играју важну улогу у одржању редокс хомеостазе (Gutowski and Kowalczyk, 2013). Токсичност многих метала се и огледа или у директном стварању реактивних врста или интеракцији са ензимима антиоксидативне одбране а посебно су значајни они метали који играју улогу у биолошким процесима као што су гвожђе (Fe) и бакар (Cu) (Valko et al., 2005). Организам је заштићен од прелазних метала у слободном облику њиховом секвестрацијом у протеинима као што су феритин, трансферин, хемоглобин, миоглобин и др. (Valko et al., 2005; Gutowski and Kowalczyk,

2013). Токсичност гвожђа као најраспрострањенијег прелазног метала у организму (у мањој мери и других метала) додатно појачава способност да учествује у Фентоновој реакцији, када катализују настанак веома реактивног $\text{OH}\cdot$ радикала (Gutowski and Kowalczyk, 2013).

Као примарну реакцију за настанак $\text{OH}\cdot$ описао је Haber Weiss, као реакцију између O_2^- и H_2O_2 , међутим касније се дошло до сазнања да је за то у *in vivo* условима неопходна каталитичка активност јона гвожђа (Fe^{2+}) што је описано као Фентонова реакција (Gutowski and Kowalczyk, 2013). Да би учествовали у Фентоновој реакцији, метали морају бити ослобођени из комплекса са протеинима. У процесу прерасподеле гвожђа у ћелији долази до његовог издвајања из феритина као облика резервног гвожђа и то представља критични моменат за укључивање у Фентонову реакцију (Pavlović, 2011). У условима ткивне деструкције, као последице исхемичних оштећења и трауме, ослобођено гвожђе делује као катализатор и генератор хидроксил радикала при чему структуре богате гвожђем имају пресудну улогу (хемоглобин, миоглобин и др.).

У процесу издвајања учествују акцелератори, редукујући агенси као што су аскорбинска киселина, цистеин, редуковани флавин нуклеотиди (Pavlović, 2011). Показано је да и повишене концентрације неких реактивних врста, као O_2^- могу да доведу до оштећења феритина и да на тај начин доведу до изложености гвожђу и стварању хидроксил радикала (Liochev and Fridovich, 1999). Повећана изложеност гвожђу се повезује са неким патолошким стањима као што су колоректални канцер, затим са дијабетес мелитус тип 2 и коронарна болест (Jomova and Valko, 2011).

1.3.3 Биотрансформација лекова и других ксенобиотика

Многобројна ксенобиотична једињења укључујући и лекове су у стању да кроз интеракције са различитим ензимским системима у ћелији стварају реактивна једињења (Mayers, 1997). У неким случајевима ксенобиотици стварају реактивна једињења директно, а у другим појачавају способност других ћелијских компоненти да их стварају (Deavall et al., 2012). Ћелијске компоненте које учествују у оваквом начину стварања реактивних врста укључују ендоплазматски ретикулум, митохондрије а и цитосол. Ендоплазматски ретикулум садржи бројне ензиме који су укључени у метаболизам стотина страних једињења а два најважнија су цитохром P450 (CYP) и NADPH цитохром P450 оксидоредуктаза (POR). Мада је највише пажње привукло стварање реактивних врста у митохондријама у току процеса оксидативне фосфорилације познато је да и неколико ксенобиотика могу да повећају стварање O_2^- и у митохондријама (нпр. етанол, доксорубицин).

Важна група ензима, названи „оксидазе мешане функције (MFOs)-моноксигеназе“ је ангажована у биотрансформацији неких, аналгетика (NSAID, опиоида, парацетамола), стероидних хормона а има удела и у биотрансформацији летљивих анестетика (нпр. 5% севофлурана се метаболише путем CYP 2E1) (Kharasch and Thummel, 1993; Weber et al., 2003; Murray, 2003; You, 2004). Оксидациони стрес који настаје под утицајем лекова је добро потврђен са лековима који се користе у лечењу карцинома (доксорубицин), нестероидним антиинфламаторним лековима

(NSAIL), антиретровиралним лековима, антибиотицима (аминогликозидима, цефалоспоринима, тетрациклинима) антипсихотицима и парацетамолом при чему се то односи, у зависности од лека, како на терапијске тако и на токсичне дозе (Deavall et al., 2012).

Еукариотски монооксигеназни циклус има и значајне девијације које резултирају у ослобађању великих фракција активираниог кисеоника и без оксидације супстрата. У једној од ових грана једноелектронски редукован тернарни комплекс води ка стварању O_2^- , а у другој ROS продукцијској грани долази до протонације пероксицитохрома P450 са формацијом H_2O_2 (Davydov, 2001). Дакле, осим када је индукован присуством ксенобиотика, овај монооксигеназни систем показује високу експресију и без тога, заправо перманентно је активан у продукцији ROS.

1.3.4 Ишемијско-реперфузиона повреда

Ћелијско оштећење које настаје после реперфузије претходног вијабилног ткива је означено као ишемијско реперфузиона повреда (I-R повреда). Може настати у различитим клиничким условима, као нпр. током тромболитичке терапије, коронарне ангиопластике, трансплантације органа, великих васкуларних и других операција (Eltzschig and Collard, 2004). Ишемија резултира у мултиплим ултраструктурним и метаболичким променама у ћелији (Becker et al., 1999). Смањена је оксидативна фосфорилација и синтеза АТФ-а, што доводи до промене функције јонских пумпи које су АТФ зависне и, самим тим, до поремећаја ћелијске хомеостазе, тј. уласка калцијума, натријума и воде у ћелију. Осим тога ишемија представља у основи проинфламаторно стање, које индукује експресију многих проинфламаторних гена у ендотелним ћелијама (леукоцитних адхезионих молекула, цитокина), биоактивних молекула (тромбоксана A_2 , ендотелина), док смањује „протективне“ генске продукте: конститутивну NOS, NO, тромбомодулина (Eltzschig and Collard, 2004).

Такође, за време продужене ишемије долази до интрацелуларног нагомилавања хипоксантина, иначе катаболичког продукта АТФ-а. Под нормалним физиолошким условима оксидацијом хипоксантина уз помоћ ксантин дехидрогеназе настаје ксантин. Међутим у условима хипоксије, ензим ксантин дехидрогеназа се конвертује у ксантин оксидазу, која користи кисеоник и тада није у стању да катализује конверзију хипоксантина у ксантин. У току реперфузије, након довођења кисеоника, конверзија нагомиланог хипоксантина са ксантин оксидазом резултира у формацији велике количине реактивних једињења као што су O_2^- , H_2O_2 , хипохлорне киселине (HOCl), хидроксил радикала (OH•), као и пероксинитрита (Collard and Gelman, 2001). Дакле, ткивна оштећења настају као последица стварања реактивних врста али и индукованом инфламацијом, коју карактерише активација комплемента, адхезија леукоцита за ендотел, нагомилавање и активација тромбоцита и леукоцита са повећањем микроваскуларне пермеабилности и смањењем ендотел-зависне релаксације (Eltzschig and Collard, 2004).

1.3.5 Основна реактивна једињења

Најзаступљенија реактивна једињења или врсте (RS) у биолошким системима могу бити кисеоничне природе (ROS) или азотна реактивна једињења (RNS). Кисеонична се могу поделити у радикалске и нерадикалске реактивне врсте. Од кисеоничних радикалских најприсутнији су: супероксид анјон радикал O_2^- , хидроксил радикал OH^\bullet , алкоксил радикал RO^\bullet , пероксил радикал ROO^\bullet . Кисеоничне нерадикалске врсте су водоник пероксид H_2O_2 и синглет кисеоник 1O_2 . У најзаступљенија азотна једињења спадају азот оксид NO^\bullet , азот диоксид NO_2^\bullet и пероксинитрити $ONOO^-$ (Halliwell and Gutteridge, 1999; Sabry and El-Bahr, 2013).

1.3.6 Појам оксидационог стреса

Реактивна једињења, када се једном створе у ћелији, одмах испољавају неколико дејстава у биолошким системима: а) делују као сигнални молекули и координишу многе ћелијске процесе као што су развој, пролиферација, диференцијација, метаболизам, ембриогенеза и то су њихова физиолошка дејства; б) учествују у одбрани од инфекције и в) доводе до оштећења ћелијских конституената као што су DNK, протеини и липиди (уколико њихово стварање превазилази капацитете за отклањање) (Murray, 2003; Lushchak and Semchyshyn H M., 2012). Ова дејства се одвијају симултано а крајњи ефекти зависе од више чинилаца: реактивности циљних молекула, количине синтетисаних слободних радикала, дужине изложености супстрата и од доступности јона метала.

Оксициони стрес, према дефиницији коју даје Halliwell, представља тежак дисбаланс између продукције реактивних једињења и антиоксидативне одбране. (Halliwell and Whiteman, 2004). Ћелија може да толерише изванредан степен оштећења и да нормално функционише, али ако постоји значајан дисбаланс са значајним променама на DNK, липидима и протеинима то модулира сигналне каскаде за опстанак ћелије и води у функционална оштећења и, следствено, у апоптозу. Данашња сазнања указују на то да оксидациони стрес доприноси развоју многих хроничних болести и то: инфламаторних болести (артритис, васкулитис, гломерулонефритис, инфламаторна болест црева, системски лупус, акутни респираторни дистрес синдром), исхемичних болести (цереброваскуларне, кардиоваскуларне, исхемија интестиналне мукозе), хемокроматизи, синдрому стечене имунодефицијенције, емфизему, неуролошким болестима (Паркинсонова болест, Алцхајмерова деменција, мишићне дистрофије) па и старости (Lobo et al., 2010). Заправо, у многим хроничним болестима оксидациони стрес је секундарни феномен, консеквенца ткивне повреде, али, без обзира на то, значајно доприноси активности болести (Halliwell and Cross, 1994).

1.3.7 Оштећења која настају под дејством ROS

1.3.7.1 Оштећење DNK

Оксидацијом DNK се свакодневно, континуирано стварају лезије као што су оксидација пуринских и пиримидинских база, кидање једноструких и двоструких

ланаца а ћелија поседује специфичне механизме за репарацију ових промена (Fraga et al., 1990; Deavall et al., 2012). Када ћелијски механизми репарације нису више у стању да их поправљају то доводи до стварања мутација, промене генске експресије и, у зависности од трајања излагању реактивним врстама, до апоптозе.

1.3.7.2 Оштећење протеина

Оксидација протеина може да има велики утицај на хомеостазу ћелије. У протеине који су посебно сензитивни на оксидационо оштећење спадају фосфатазе, киназе, транскрипциони фактори и кључни метаболички ензими (Deavall et al., 2012) Оксидација ових протеинских молекула се одражава на ћелијско сигнализирање, структуру, метаболизам и ензимске процесе. У факторе који одређују остетљивост протеина на оксидацију спадају присуство одређених аминокиселинских резидуа као што је цистеин, присуство места за везивање метала, локализација, молекуларна конформација као што је и познато да су новосинтетисани протеини више остетљиви због некомплетно организоване конформације (Ostman et al., 2012; Vandyopadhyay and Gronostajski, 1994). Деградација овако оштећених протеина се одвија у протеазомима и лизозомима.

1.3.7.3 Липидна пероксидација

Липидна пероксидација се за сада сматра основним молекуларним механизмом укљученим у оксидационо оштећење ћелијских структура и у процесу токсичности који води у ћелијску смрт (Repetto et al., 2012). То је комплексан процес који укључује фомирање и пропацију липидних радикала, преузимање кисеоника и реорганизацију двоструких веза у незасићеним липидима са крајњом деструкцијом липида ћелијских мембрана и стварањем многих оксидационих распадних продуката укључујући алкоhole, кетоне, алкане, алдехиде и етре (Dianzani and Barrera, 2008). Пошто садрже велике концентрације незасићених масних киселина као и јона прелазних метала, биолошке мембране (како ћелијске тако и интрацелуларне) су константно изложене различитом степену оштећења од стране реактивних кисеоничних и азотних једињења а нарочито онда када дође до њиховог прекомерног стварања (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Механизам оштећења се одвија у неколико фаза и започиње такозваном **фазом иницијације**. У тој, првој фази, довољно реактивни оксидант (нпр. хидроксил радикал HO•) реагује са полинезасићеном масном киселином и одузимањем водоника, створи масни алкил радикал (R•). Наиме, двоструке везе придружене уз метиленску групу чине да је метиленска C-H веза слаба и зато је водоник из ове везе подложнији екстракцији те тако на угљенику остаје неспарен електрон и формиран је липидни алкил радикал (R•) (Repetto et al., 2012).

Липидни алкил радикал (R•) се стабилизује прерасподелом двоструких веза и стварањем коњугованих диена који даље реагују са молекуларним кисеоником и стварају липидни перокси радикал (ROO•). Он има довољни оксидишући потенцијал да напада суседне незасићене масне киселине у мембрани и да формира хидропероксиде и

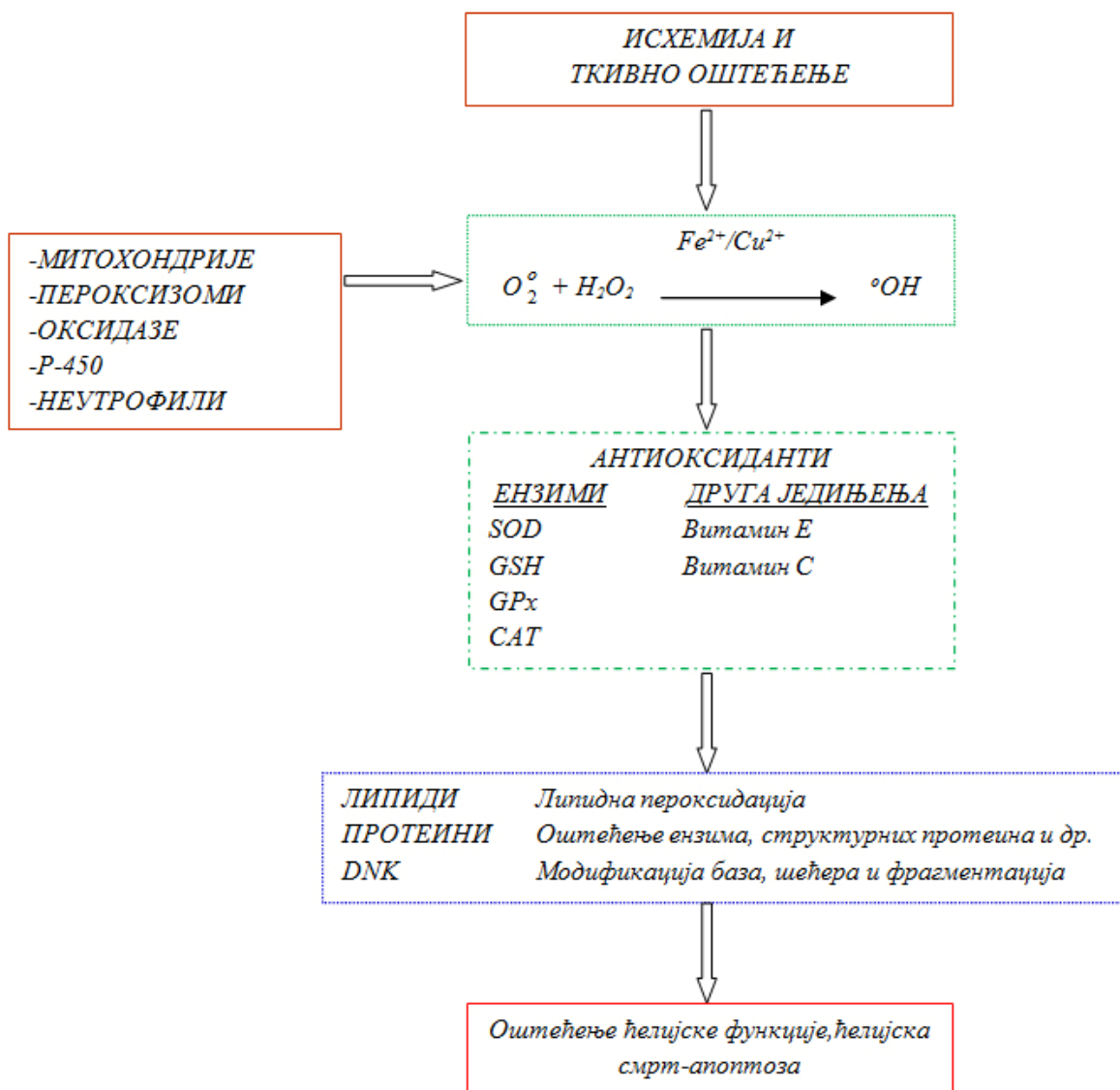
нове липидне радикале ($R\cdot$ и $ROO\cdot$) и то је **фаза пропације**. Углавном, ради се о ланчаном процесу који се завршава **фазом терминације** тј., колизијом две радикалске врсте којом се формира нерадикалски молекул. У току овог процеса се стварају и други оксидисани распадни продукти који су у стању да даље врше модификацију виталних структура ћелије.

Примери укључују малондиалдехид (MDA), изопростане и друге молекуле а неки од њих се могу измерити и на тај начин бити индиректан показатељ оксидационог оштећења (Stone et al., 1990). Липидна пероксидација резултира у поремећају ћелијске функције како због директног оштећења ћелијских мембрана (губитак структуре, селективне пермебилности, флуидности), тако и због оштећења које праве секундарни продукти, а одражавају се у оштећењу других структура ћелије (протеина и DNK), који, сви заједно, могу довести до апоптозе (Deavall et al., 2012; Repetto et al., 2012).

1.3.8 Антиоксидациона одбрана

Одбрамбени механизми од слободних радикала укључују следеће (слика 3):

1. Каталитичко уклањање са ензимима као што су: супероксид димутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GPx), тиол специфични антиоксиданси;
2. Везивање метала са протеинима (трансферин, металопротеини, хаптоглобин, церулоплазмин);
3. Протекција од макромолекуларног оштећења са протеинима као што су *стрес*- и *heat-schock* протеини;
4. Редукција слободних радикала донорима као што су редуковани глутатион (GSH), витамин Е и витамин С.



Слика 3. Структуре и чиниоци оксидационог стреса и антиоксидационе одбране.

1.3.9 Оксидациони стрес и операција

1.3.9.1 Утицај хируршке интервенције

У току операције активирају се многобројни механизми настанка реактивних једињења а на њихову активност утичу како екстензивност и врста операције тако и примена различитих техника анестезије и анестетика (Kulacoglu et al., 2007; Mas E et al., 2011; Rosenfeldt et al., 2013; McDonald et al., 2014). Операција доводи до активације ензима у неутрофилима у току системског инфламаторног одговора, као и локално, на месту ткивне трауме (NADPH-оксидазе, iNOS, мијелопероксидазе) и ксантин оксидазе у току исхемијско реперфузионе повреде. Додатно, у процесу настанка реактивних врста вероватно је значајна улога и микрозомалног монооксигеназног система који учествује у биотрансформацији неких аналгетика (NSAIL, опиоида, парацетамола) и стероидних хормона а, као што је раније поменуто, има удела и у биотрансформацији

волатилних анестетика (нпр. 5% севофлурана) (Iyer and Quastel, 1963; Mayers, 1997; Collard and Gelman, 2001; Kharasch and Thummel, 1993; Murray, 2003; You, 2004; Weber et al., 2003).

Операција, као контролисана ткивна траума, у зависности од екстензивности, доводи до настанка реактивних врста које се синтетишу на месту самог ткивног оштећења. При томе долази до деструкције металопротеина и електронског транспортног ланца због чега долази до повећаног ослобађање јона метала, електрона, активирања липооксигеназе и циклооксигеназе и других механизма важних за настанак реактивних врста (Halliwell and Cross, 1994). Такође реактивна једињења настају и под утицајем других, нефизиолошких услова у којима се организам у току операције налази као што су вентилација под позитивним притиском, изложеност ткива већем притиску кисеоника него што је у физиолошким условима и друго (Kessler et al., 1997; Tsuchiya et al., 2000; Filho et al., 2012).

Настанак реактивних једињења највише је проучаван у операцијама у којима долази до исхемијско реперфузионе повреде. Такве интервенције су, пре свега, велике васкуларне операције, у којима се клемује аорта и други велики артеријски крвни судови, као и операције у којима се користи екстракорпорална циркулација (Papalambros et al., 2007; Aivatidi et al., 2011; McDonald et al., 2014). Исхемијско реперфузиона повреда прати и операције код којих се користи повеска, као што су ортопедске и операције у пластичној хирургији и том приликом осим артеријске настаје и венска исхемија (Karg et al., 1997; Bilgin-Karabulut et al., 2001; Cheng et al., 2003; Wang et al., 2011). Такође у торакалној хирургији, приликом вентилације једног плућног крила, у другом, невентилисаном плућном крилу у коме долази до хипоксичне плућне вазоконстрикције и следствено хипоерфузије, након успостављања вентилације и адекватне перфузије следи исхемијско реперфузиона повреда (Erturk et al., 2014).

Код лапароскопских операција при којима се пнеумоперитонеум постиже са инсуфлацијом угљен диоксида (CO₂) под притиском >7-10 mmHg, долази до компромитовања спланхничке циркулације и следствено исхемијско-реперфузионе повреде абдоминалних органа; с друге стране, инсуфлација CO₂ под ниским притиском (< 10 mmHg) није праћена инсуфицијенцијом спланхничке циркулације (Eleftheriadis et al., 1996; Arash et al., 2008; Nickkholgh et al., 2008; Tsuchiya et al., 2008; Nesek-Adam et al., 2009). У условима када се лапароскопске операције раде под пнеумоперитонеумом са вишим притиском неке од студија су показале да је стварање реактивних једињења мање него код отворених абдоминалних операција, као нпр. код холецистектомије и тоталне колектомије (Nakan Bukan et al., 2004; Stipancic et al., 2005; Pappas-Gogos Get al., 2009). Међутим, због хетерогености у методологији до сада публикованих студија за сада се не може рећи да има довољно доказа који потврђују да је минимално инвазивна хирургија, без обзира на исхемијско реперфузиону повреду, супериорнија од конвенционалне хирургије у погледу стварања радикалских врста (Yiannakoroulou et al., 2013).

Осим у операцијама код којих је механизам настанка реактивних врста примарно повезан са исхемијско реперфузионом повредом и у другим врстама хируршких интервенција могуће је повећено стварање реактивних врста. Током

абдоминалних операција, као што су нпр. тотална колектомија, холецистектомија, сигмоидектомија и херниектомија, више фактора могу допринети значајном стварању реактивних врста (Tsuchiya et al., 2008; Zea et al., 2009; Fricova et al., 2010; Krikri et al., 2013; Pappas-Gogos et al., 2013). Код отворенох абдоминалних операција у којима је траума ткива већа, већи је и пораст биохемијских маркера запаљења (IL-6, CRP и других протеина акутне фазе) (Desborough, 2000). Резултати студија у којима се истражује хормонски стрес одговор (концентрације кортизола, катехоламина као и нивоа гликемије) нису униформни али већина студија показује значајно нижи ниво катехоламина и кортизола после лапароскопске адреналектомије и холецистектомије у односу на отворене абдоминалне операције (Zea et al. 2009; Arsalani-Zadeh et al., 2011; Krikri et al., 2013). Може да се претпостави да се код великих интервенција у абдоминалној хирургији јавља повећана активност микрозомалног монооксигеназног система, што би, последично, могло да учествује у повећаном стварању реактивних једињења (Murray, 2003; You, 2004).

Експерименталне анималне студије сугеришу да и мала хируршка траума абдоминалних органа може значајно допринети стварању реактивних једињења. Нпр. блага манипулација танким цревом може да доведе до активације ензима ксантин оксидазе у ентероцитима и на тај начин допринесе повећаном стварању супероксида, што може резултирати у промени структуре и функције интестиналне мукозе, те довести до повећане интестиналне пермеабилности (Simmy et al., 2004). Други нефизиолошки услови којима је организам изложен у току операције (отвореност абдомена, изложеност абдоминалних органа повећаном притиску кисеоника, који је у атмосферском ваздуху већи него у абдоминалној шупљини и висцералним органима) такође може бити један од фактора који доприноси настанку оксидационог стреса. (Kessler et al., 1997; Tsuchiya et al., 2000). Ноцицепција повећава продукцију слободних радикала као и липидну пероксидацију у сензомоторном кортексу уз детектабилне нивое слободних радикала и у крви (Rokuta et al., 2004). Све ове набројане факторе који доприносе стварању реактивних врста у клиничким условима је тешко издвојити (било да су присутни сви или код неких врста операција само неки од њих) и вероватно да сви заједно доприносе настанку реактивних једињења.

Само неколико студија је истраживало настанак реактивних врста код болесница подвргнутих хистеректомији (Sane et al., 1993; Szymczyk et al., 2003; Szymczyk et al., 2005; Kaur et al., 2007). Током и након хистеректомије долази до пораста појединих маркера липидне пероксидације као нпр. малондиалдехида (MDA), липопероксида, 4-HDA, док укупни антиоксидативни капацитет остаје је непромењен а коцнетрације изопростана F2 у серуму опадају. Постоје разлике у интензитету оксидационог стреса између подгрупа пацијенткиња у односу на затварање перитонеума и учињену оваријектомију. Жене које имају лејомиоме, у односу на особе без њих, такође имају у серуму и значајно повишене продукте оксидационог оштећења протеина као што су протеин карбонили, оксидисани протеински продукти (AOPP) а значајно снижене тиоле уз значајну корелацију вредности ових параметара са величином миома (Santulli et al., 2013).

1.3.9.2 Утицај анестетика и аналгетика

Највећи број студија је истраживао утицај пропофола на параметре окидационог стреса. Овај анестетик је, хемијски, фенолно једињење и својом структуром подсећа на α -токоферол па, као и многи други полифеноли, има антиоксидативно дејство (редуктант) што је показано како у *in vitro* тако и у *in vivo* условима (Li Volti et al., 2006). Пропофол реагује са пероксинитритима доводећи до формације стабилнијег добијеног феноксил радикала (Murphy et al., 1992). Пропофол је претежно сакупљач органских радикалских врста добијених од липидних хидропероксида арахидонске киселине (Green et al., 1994). Овај анестетик може да има неуропротективно дејство јер је познато да атенуира токсичност пероксинитрита у астроцитима (Acquaviva et al., 2004). Анестезија пропофолом атенуира липидну пероксидацију изазвану исхемијско-реперфузионом повредом изазвану применом повеске у операцијама на екстремитетима код деце (Aldemir et al., 2001; Budić et al., 2010), смањује оксидационо оштећење тромбоцита код хируршких пацијената (De la Cruz et al., 1999) и има протективно дејство на еритроците у односу на севофлуран и на тај начин смањује постоперативну анемију (Tsuchiya et al., 2002).

Клиничке студије у којима је поређен севофлуран са другим инхалационим анестетцима тј. десфлураном, као и са пропофолом, са друге стране показале су да анестезија вођена овим анестетиком има повољније ефекте на маркере оксидационог стреса јер је долазило до мањег пораста исхемијом модификованих албумина као MDA и других маркера оксидационог стреса (Allaouchiche et al., 2001; Yalcin et al., 2013; Erturk et al., 2014). Експерименталне студије су показале да севофлуран у полиморфонуклеарним ћелијама доводи до дозно-зависног повећања реактивних једињења као што су H_2O_2 , пероксинитрити, супероксид и NO (Wong et al., 2006).

Резултати више студија укажују да различите технике анестезије (регионалне и опште) имају различити утицај на параметре оксидационог стреса. Код болесника подвргнутим херниектомији спинална и локална инфилтрациона анестезија дају повољнији профил у погледу оксидационог стреса у односу на општу анестезију (Kulacogly et al., 2007). Такође, експериментална студија на анималном моделу је указала да торакална епидурална анестезија атенуира како системски инфламаторни одговор, тако и интестиналну липидну пероксидацију након мезентеричке исхемијско реперфузионе повреде (Bedirli et al., 2011).

Нема много клиничких студија које су испитивале утицаја аналгетика који се примењују у постоперативном периоду на параметре оксидационог стреса. Једна од њих, у којој је преемптивно примењиван морфин и поређен са меперидином или плацебом, после херниектомије, показала је да је код тих пацијената дошло до благог смањења слободних радикала (Fricova et al., 2010). С друге стране, експериментални резултати указују да морфин има снажну антиоксидативну активност у *in vitro* условима која је сразмерна концентрацији примењеног морфина, а која се огледа у снажној редуктивној способности, способности хелирања метала и сакупљању H_2O_2 и супероксида (O_2^-) (Gülçin et al., 2004).

У доступној литератури нема студија које су испитивале утицај NSAIL на оксидациони стрес у пероперативним условима. Експериментална и друга клиничка истраживања указују на њихову могућу улогу и у модулацији ROS али су резултати, за сада, контроверзни. Студије на хомогенатима јетре су показале да ибупрофен и диклофенак смањују стварање продуката липидне перосидације (Chakraborty et al., 2006) док је ренално оштећење настало услед примене диклофенака удружено са повећањем реактивних врста, тј. редокс кружењем интермедијера насталог хидроксилацијом овог лека и мултиплих митохондријалних дисфункција (Deavall et al., 2012). Такође, студије код спортиста који су подвргнути интензивном физичком напору показују да су продукти липидне и протеинске пероксидације значајно виши код оне групе спортиста која је користила ибупрофен и односу на плацебо (Mc Anulty et al., 2007). Познато је да парацетамол у токсичним дозама делује прооксидативно, хепатотоксично, јер се тада троше резерве редукованог глутатиона јетре (James et al., 2003; Charma and Mehta, 2013). Међутим, парацетамол је фенолно једињење те, у терапијским концентрацијама, поседује капацитет за антиоксидативно деловање путем инхибиције синтезе оксидативних продуката-хипохлорне и хипобромне киселине и пероксинитрита (Koelsch M et al., 2010; Blough and Wu ., 2011).

Већина истраживања периоперативног оксидационог стреса је фокусирана на детекцију маркера тј. оштећења ћелијских структура која настају под утицајем реактивних једињења или ретко, самих реактивних врста. Иако су ови исходи релевантни њихов утицај на настанак раних и касних постоперативних компликација и утицај на постоперативни опоравак се истражује тек у последњих неколико година. Коензим Q, селен, липоична киселина, омега-3 масне киселине и витамин C су испитани у бројним студијама а неки од њих су имали позитивне ефекте на ток и исход постоперативног опоравка (Lim et al., 2010; Leong, 2010; Fukushima and , 2010; Calò et al., 2005).

1.3.9.3 Оксидациони стрес и постоперативни исход

Прецизна улога реактивних једињења у настанку постоперативних компликација још увек није у потпуности разјашњена али се показало да са повећањем одређених маркера оксидационог стреса долази до одређених неповољних клиничких исхода. То се пре свега односи на реперфузију акутно исхемичног миокарда у току аортокоронарног *by-pass*-а, где се неке од клиничких манифестација тј. компликација, приписују повећеном стварању реактивних врста, као што су настанак аритмија и пролазна механичка дисфункција миокарда (Rosenfeldt et al., 2013). Такође, једна мета анализа о употреби повеске код ортопедских операција (артроскопске операције колена) је показала да је оваква хируршка техника удружена са повећаним бројем компликација као што је смањена постоперативна ткивна перфузија, отежано зарастање ране и повећено мишићно оштећење (Smith and Hing, 2009). Благо повећање реактивних једињења код анестезије севофлураном делује протективно на миокард (тзв. прекондиционирање) (Kevin et al., 2005), пропофол, као антиоксиданс, смањује постоперативну анемију (Tsuchiya et al., 2002) а ROS су значајно повишене код критично оболелих који развијају акутни респираторни дистрес (Metnitz et al., 1999).

1.3.10 Детекција оксидационог стреса

Упркос све већем интересовању о улози коју реактивна једињења имају како у физиолошким процесима тако и у настанку оштећења у биолошким системима и развоју бројних патолошких стања, идеална, тј. довољно поуздана а клинички лако применљива и економски оправдана квантитативна метода за процену оксидационог оштећења не постоји. Директно мерење реактивних врста у ткивима и телесним течностима (што је клинички прихватљивије) има смисла и оправдано је за реактивна једињења која су нешто стабилнија, као што су H_2O_2 и нитрити (Halliwell and Whiteman, 2004). За остале радикалске врсте, обзиром да имају веома кратак полуживот, примењују се мерења електронском парамагнетном резонанцом и различитим „trapping“ методама (Mrakic-Sposta et al., 2012). Међутим, ни ове софистициране и скупе технологије не дају увид у то колико је и да ли је дошло до биолошког оштећења. Индиректно мерење тј. мерење промена у ензимима антиоксидативне одбране (CAT, SOD, укупни антиоксидативни статус), редукованог глутатиона (GSH), као и мерење продуката оштећења биомолекула (MDA, F2-изопростана, протеин карбонила), са друге стране даје увид о настанку оштећења али такође има своја ограничења (не даје увид у то одакле таква оштећења потичу). Такође, и сами продукти оштећења су подложни даљем метаболизму и екскрецији, тако да у овом тренутку ни једном садашњом методологијом није могуће идентификовати молекула који би могао да буде поуздан биомаркер оксидационог стреса у свим условима. Због тога се приликом процене оксидационог стреса не можемо ослонити на појединачну методу, већ је неопходно знати ограничења сваке од њих, као и компликованост интеракција које постоје између самих биомолекула и реактивних врста. Неопходно је и добро познавање субцелуларног места њиховог настанка и само свеукупним сагледавањем свих ових чинилаца се може добити увид у то где је и у коликој мери дошло до оштећења од стране радикалских врста (Halliwell and Whiteman, 2004; Winterbourn and Hampton, 2008).

1.2.10.1 Супероксид дизмутаза (SOD)

SOD је ензим који катализује дизмутацију високо реактивног O_2^- у мање реактивно једињење, H_2O_2 (Fridovich, 1995). Код људи постоје три форме SOD и то: цитосолна Cu/Zn SOD, митохондријална Mn-SOD и екстрацелуларна EC-SOD (Marklund, 1980; Teixeira et al., 1998). EC-SOD је тетрамерски гликопротеин који садржи бакар и цинк и налази се у интерстицијалном простору ткива као и у плазми и телесним течностима (лимфи, синовијалној течности). Поседује висок афинитет за гликозаминогликане као што су хепарин и хепарин сулфат, није индукована својим супстратом или другим оксидансима већ је регулација примарно координисана цитокинима (Marklund, 1980; Sandstrom et al., 1994; Sun et al., 1995; Krishnamurthy and Wadhvani, 2012).

1.2.10.2 Каталаза (CAT)

По хемијској структури спада у хемохромопротеиде, представља тетрамер и састоји се од четири истоветне субјединице. Протеински део сваке субјединице има 18

аминокиселина а коензимски део чини молекулу хема за које је везано тровалентно гвожђе тако да четири молекула хема улазе у активни центар фермента (Mayes and Botham, 2003).

Каталаза је ензим антиоксидативне одбране и примарно је локализована у малим ћелијским органелама-пероксизомима и њена биолошка улога се састоји у уклањању H_2O_2 (Krishnamurthy and Wadhvani, 2012). Један начин на који то чини је да катализује реакцију између два молекула водоник пероксида што резултира у стварању молекула H_2O и O_2 . Овај, каталазни тип реакције, се одвија када је концентрација H_2O_2 висока (Mayes and Botham, 2003). У другом типу реакције (пероксидазном) каталаза може да елиминира H_2O_2 у реакцији са једињењима која служе као донатори водоника или електрона тако да се као продукт добија молекул воде а супстрати постају оксидовани. Овакав тип реакције се дешава када су концентрације H_2O_2 ниске и када су у ћелији присутни одговарајући донори водоника као што су етанол, метанол, феноли и други. Када је концентрација H_2O_2 мала, главну улогу у његовом уклањању има глутатион пероксидаза (GPx), зато што каталаза има високу Michaelis–Menten константу (K_m). Каталаза је највише заступљена у јетри, еритроцитима, бубрезима а најмање у срчаном мишићу и везивном ткиву (Kirkman and Gaetani, 1984).

1.2.10.3 Глутатион (GSH)

Глутатион је трипептид (γ -глутамил-цистеинил-глицин) који врши многобројне функције у организму (Lushchak, 2012). Синтеза глутатиона се одвија у готово свим типовима ћелија али је јетра главно место како стварања тако и ослобађања глутатиона (Sies, 1999). Синтезише се из три амоникиселине: глутаминске, цистеина и глицина уз каталитичко дејство два ензима, γ -глутамил-цистеин синтетазе (GCS) и глутатион синтетазе (GS) уз потрошњу два молекула АТФ-а (Halliwell and Gutteridge, 1999). У ћелији се ствара у цитосолу а дистрибуира се у различите органеле у којима извршава своје функције, тако да постоје независни депои GSH у ендоплазматском ретикулуму, митохондријама и нуклеусу (Lushchak, 2012).

Глутатион постоји у две форме, као редуковани GSH и оксидовани GSSG. Наиме, када дође до оксидовања две резидуе GSH, оне се повезују дисулфидним везама и формирају редуковани глутатион GSSG. Специфична хемијска структура, заправо активна тиол група коју носи на цистеинској резидуи одређује његове најзначајније функције. Најважније су његове функције у протекцији од ROS и RNS као у детоксикацији од ендогених и екзогених токсина који су електрофилне природе.

Протективну улогу од реактивних једињења глутатион може да обавља директно, реакцијама са ROS и RNS и то пре свега са $OH\cdot$, хипохлорном киселином ($HOCl$), $RO\cdot$ и $OHO\cdot$ (перосинитритима). У тим реакцијама настаје *thiyl* радикал ($GS\cdot$), који може реаговати или са другим молекулима или са другим *thiyl* радикалима и при томе стварати GSSG (Lushchak, 2012; Fang et al., 2002). Такође, антиоксидативну улогу има у реакцији коју катализује глутатион пероксидаза (GPx) у отклањању H_2O_2 (Murray, 2003). У реакцијама детоксикације од ендогених и екзогених једињења глутатион има значајну улогу у коњугацији како неких продуката липидне

пероксидације (MDA) тако и многих токсичних продуката нормалног ћелијског метаболизма. Осим ових функција у заштити од реактивних једињења и токсичних продуката метаболизма, глутатион има и друге важне функције: одржавање тиол статуса протеина и других молекула, представља депо цистеина, има улогу у метаболизму естрогена, леукотријена, простагландина а и веома је важан у хомеостазу бакра, гвожђа и других метала (мобилизација и транспорт) (Wu et al., 2004).

Три форме глутатиона и то GSH, GSSG и његови коњугати могу да се екскретују из ћелије и дистрибуирају у друга ткива (Lu, 2009; Lushchak, 2012). Због тога, редуковани глутатион (GSH) у плазми потиче пре свега из јетре, мада је могуће да на њега утичу и дијетарни унос као и интестинално створени GSH (Adams et al., 1983; Lu, 2009). У плазми су концентрације GSH далеко ниже него у ћелији и зависе од баланса синтезе и метаболизма у ткивима при чему је једна од кључних детерминанти активност ензима GCS, који може бити индукован или инхибиран многим факторима па и оним у периоперативном периоду (Richie et al., 1996; Lu et al., 1996; Wu et al., 2004).

1.2.10.4 Водоник пероксид (H_2O_2)

H_2O_2 је течност и по хемијској природи није радикал али се може сматрати снажним оксидансом јер лако пролази кроз ћелијске мембране и приликом хомолитичког кидања од стране прелазних метала продукује веома јак хидросил радикал $OH\bullet$. (Halliwell and Gutteridge, 1999; Halliwell et al., 2000). Сматра су да су његове токсичне концентрације од 10-100 μM , у зависности од типа ћелије, да је за већину ћелија токсичан када су концентрације $>50 \mu M$ и једно је од ретких реактивних једињења које се може наћи и у телесним течностима (Gutowski and Kowalczyk, 2013).

У ћелији се H_2O_2 може створити ензимским или неензимским путем (Halliwell and Gutteridge, 1999). У ензимском (нерадикалском) стварању H_2O_2 ензими оксидазе (гликолат оксидаза, ацетил-коензим А оксидаза, д-аминокиселинска оксидаза, урат оксидаза, моноаминооксидаза) врше редукацију косупстрата, молекуларног кисеоника O_2 . Други начин стварања је неензимски (радикалски) при којем се ствара у било ком биолошком систему где се ситетише и супероксид анион радикал (O_2^-) када дизмутацијом овог радикала настаје H_2O_2 (Gutowski and Kowalczyk, 2013). Ова реакција може бити катализована ензимом антиоксидативне одбране супероксид дизмутаза (SOD) (Liochev and Fridovich, 2007). Ензими, као што су каталаза, глутатион пероксидаза и тиоредоксин везани ензими, заустављају његово оксидационо дејство чиме се остварује равнотежа концентрације H_2O_2 у ћелији и телесним течностима.

H_2O_2 је, генерално, слабо реактиван у физиолошким концентрацијама али може да инактивира неколико ензима и оксидује кето киселине као пируват и 2-оксоглутарат (Brodie and Reed, 1987); самостално, H_2O_2 може учествовати у оштећењу хемопротеина као што су миоглобин и хемоглобин (Gutteridge, 1986). Међутим, његова токсичност највише зависи од синтезе хидроксил аниона ($OH\bullet$), веома реактивног радикала који настаје у реакцији H_2O_2 са прелазним металима (гвожђем или бакром). Такође, у неутрофилима који поседују јединствен ензим мијелопероксидазу H_2O_2 учествује у стварању хипохлорне киселине (Muggau, 2003). Све је већи број студија које указују на

то да је H_2O_2 важан сигнални молекул како интрацелуларно, тако и екстрацелуларно и да концентрације $>20 \mu M$ немају токсично дејство, већ су неопходне у регулисању важних сигналних процеса (Veal et al., 2007).

1.3 ПОСТОПРАТИВНА АНАЛГЕЗИЈА

Постоперативни бол је мултифакторијалан и комплексан симптом који захтева различите терапијске модалитете да би исход био задовољавајући. Бол након абдоминалне хистеректомије по интензитету достиже значајно умерен и јак интензитет и генерално се сматра мултифакторијалним. Извори бола укључују инцизију и дубље висцералне структуре, а присутна је и динамична компонента тј. бол при покрету, напрезању и кашљу. Свеукупно, у првих 48 сати након хистеректомије доминира висцерални бол (Leung et al., 2000; Cusack et al., 2013).

Мултимодална аналгезија представља приступ у терапији бола при коме се пацијенту администрира комбинација опиоидног и неопиоидног аналгетског лека, дакле медикамената који делују на различитим местима у централном и периферном нервном систему са циљем да се минимизира употреба опиоида и смање нежељена дејства која од њих потичу. Мултимодална аналгезија може подразумевати и комбиновање модалитета регионалне анестезије са различитим аналгетцима. (Buvanendran and Kroin, 2009).

1.3.1 Морфин

Морфин је лек који због својих потентних фармаколошких дејстава још увек заузима централно место у постоперативној аналгезији. Као селективни μ агониста своје аналгетске ефекте остварује тако што мења образац интернеуроналне комуникације у путевима бола, на супраспиналном и спиналном нивоу (Coda, 2006). Пошто су ови рецептори широко распрострањени у организму човека примена морфина је праћена јасно уочљивим клиничким нежељеним ефектима као што су: седација, респираторна депресија, повраћање, пруритус и смањење мотилитета гастроинтестиналног тракта. Овакви нежељени ефекти ограничавају његову примену и успоравају постоперативни опоравак и рехабилитацију (Kehlet, 1997).

Велики број истраживања су потврдила да морфин испољава значајно имуносупресивно дејство на све аспекте урођене и адаптивне имуности (Roy et al., 2011). Оваква имуносупресивна дејства морфина се делом остварују индиректно преко дејства на μ рецепторе у CNS-у и активацијом хипоталамско-питуитарно-адrenalне осовине (пре свега на NK ћелије и В лимфоците), а делом директим дејством морфина на индивидуалне имунолошке ћелијске типове. Наиме након открића посебне изоформе μ рецептора која је у погледу егзоених опиоида искључиво осетљива на алкалоидне опиоиде (морфин, налоксон, морфин-6-глукуронид), претпостављено је да дејства посредована овим молекулом могу значајно утицати на функције имунског система (Макман 1994; Макман 1998). Дејством μ рецептора који се налазе на моноцитима, макрофагима, ендотелним ћелијама тако на Т лимфоцитима супримира се фагоцитоза, инхибира њихова микробицидна активност (смањењем продукције O_2^- и продукције

NO), смањује се синтеза проинфламаторних цитокина како ћелија урођене имуности тако и Т лимфоцита тј. IL-6, TNF- α , IF- γ , смањује се активација IL-23/IL-17 осовине, повећава синтезу TGF- β и генерално усмерава диференцијацију Т лимфоцита ка Th-2 диференцијацији (Peterson et al., 1989; Roy et al., 2001; Wang et al., 2003).

1.3.2 Нестероидни антиинфламаторни лекови (NSAIL)

Примарни механизам којим делује ова група лекова је инхибиција стварања метаболита арахидонске киселине, директном инхибицијом ензима циклооксигеназе, и то било селективно на индуцибилу циклооксигеназу 2 (COX-2) или неселективно па инхибирају и конститутивну циклооксигеназу- 1 (COX-1) (Vane and Botting, 1998). Неселективност одређених NSAIL према COX-2 има значајних импликација на њихова нежељена дејства (Warner et al., 1999). Своје аналгетске ефекте примарно остварују преко инхибиције COX -2 а на тај начин смањују периферну али и централну сензитизацију у путевима бола, тј. смањују осетљивост централних и периферних ноцицептора на друге инфламаторне медијаторе (брадикинин, серотонин и други) (Sinatra, 2002; Golan, 2008).

Осим аналгетских ефеката које постижу инхибицијом COX-2, показано је да и други механизми независни од циклооксигеназе могу допринети њиховим аналгетском дејству, као што је интерференција са ендоканабиноидним, серотонергичним, холинергичним и норадренергичним системом у путевима бола (Hamza and Dionne, 2009). Такође, лекови из ове групе имају и имуномодулаторно дејство јер утичу на лучење појединих цитокина, што је једна од основа међусобно различитог дејства на имунске функције NSAIL. Тако нпр. ибупрофен стимулише TNF- α и IL-6 а инхибира IL-10 и по томе се разликује од индометацина, док флурбипрофен инхибира IL-6 (Esme et al., 2011; Tegeder et al., 2001). Рацемски облици појединих лекова се по утицају на лучење цитокина такође међусобно разликују нпр. R-флурбипрофен и S-флурбипрофен као S-кетопрофен и L- кетопрофен.

1.3.3 Парацетамол

Парацетамол је лек који ја нашао широку клиничку примену због свог аналгетичког и антипиретичког деловања. Спектар фармаколошких дејстава му је сличан нестероидним антиинфламаторним лековима али, у поређењу са њима, има слабији аналгетски ефекат, нема антиинфламаторно дејство и тиме више наликује селективним COX-2 инхибиторима (Graham et al., 2013). Иако је прошло више од 100 година од његовог открића, механизам дејства овог лека није у потпуности објашњен. Данас је прихваћено да инхибира COX-1 и COX-2 али индиректно, преко инхибиције пероксидазне активности овог ензима (Graham et al., 2013). Наиме, ензим одговоран за метаболизам арахидонске киселине, простагландин H₂ синтаза поседује 2 активна места и то циклооксигеназно (COX) и пероксидазно (POX). Активност COX је регулисана високим нивоом пероксинитрита (тзв. пероксинитритни тонус) који оксидирају хем на пероксидном делу ензима. Парацетамол се не везује за COX, већ редукује Fe-IV у Fe-III и спречава каталитичку пероксидну активност, те тако индиректно инхибира циклооксигеназну активност, мењајући њено оксидационо стање (Kam and So, 2008).

У условима оштећења ћелије или инфламацији када је концентрација пероксида висока долази до високог степена оксидације парацетамола и то спречава његово дејство, па то и објашњава одсуство антиинфламаторног дејства овог лека (Graham et al., 2013). Парацетамол инхибира и друге ензиме са пероксидазном активношћу, као нпр. мијелопероксидазу што је праћено смањењем халогених оксиданата (хипохлорне киселине, хипобромне киселине) а ова дејства други инхибитори COX немају. Такође, делује и на једну изоформу циклооксигеназе (COX-3) која код неких врста у функционалном стању преобладајуће постоји у CNS-у, и тиме се додатно објашњава његово антипиретичко дејство (Kam and So, 2008). Постоје докази и за бројне друге централне механизме деловања укључујући ефекте на серотонергичке, опиоидне, и канабоидне путевеи сигнални пут азот оксида те се сматра да сви ови механизми могу да буду укључени у аналгетске ефекте овог лека (Sharma and Mehta, 2013).

Парацетамол се метаболише у јетри и под дејством цитохрома P450 формира се реактивни метаболит N-acetyl-p-benzoquinone (NAPQI) (James et al., 2003). Овај метаболит се детоксикује редуктивним глутатионом (GSH), те се формира парацетамол-GSH-конјугат. Уколико се резерве редукованог глутатиона потроше (код хепатотоксичних доза) или уколико су већ смањене као код болести јетре, потхрањености или алкохолизма овај лек испољава изражено хепатотоксично дејство (James et al., 2003; Sharma and Mehta, 2013).

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

а) Циљеви студије су:

1. Да се утврди како различити аналгетици примењени у периоперативном периоду утичу на клинички опоравак пацијената.
2. Да се утврди како различити аналгетици утичу на интензитет и модалитет промене у параметрима оксидационог стреса и лучења цитокина.
3. Да се утврди како интензитет и модалитет промене у цитокинском одговору и параметрима оксидационог стреса утичу на клинички опоравак.

Б) Истраживачке хипотезе су следеће:

1. Различити модалитети периоперативне аналгезије различито утичу на интензитет и модалитет промене у цитокинском одговору и параметрима оксидационог стреса који се јавља у постоперативном периоду.
2. Различити аналгетици утичу на квалитет постоперативног опоравка.
3. Модалитет дисбаланса у цитокинском одговору утиче на квалитет опоравка.
4. Модалитет дисбаланса у параметрима оксидационог стреса утиче на клинички опоравак.

3. БОЛЕСНИЦИ И МЕТОДЕ

3.1 ВРСТА СТУДИЈЕ

Студија је дизајнирана као интервентно, контролисано, нетерапијско, отворено, нерандомизовано и проспективно истраживање. У истраживање је била укључена кохорта болесница са некомпликованим бенигним обољењима утеруса а које су подвргнуте елективној хистеректомији у Клиничком центру „Крагујевац“ у Крагујевцу у периоду од октобра 2011. до фебруара 2013. године. План истраживања је заснован на дизајну других сличних публикованих студија у којима су код особа подвргнути истим типом хируршких захвата праћени фактори ризика за одређене клиничке исходе (Jovanović Radojević i sar., 2009; Meltomaa et al., 2000; Harboe and Bardram, 2011).

3.2 СТУДИЈСКА ПОПУЛАЦИЈА

У студију су биле укључене одрасле особе женског пола које су подвргнуте елективној абдоминалној хистеректомији у Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра „Крагујевац“. Критеријуми за укључење у студију су били: животна доб од 18 година и старији, стање непосредно после елективне хистереоктомије, АСА статус 1, 2 и 3, претходни добровољни пристанака за учешће у студију уз потпуну информисаност. Искључујући критеријуми су били: животна доб 17 година и млађи, присуство когнитивних поремећаја, хронично узимање антипсихотичне медикације, кортикостероида и опиоида, дуготрајна терапија са инхибиторима циклооксигеназе или узимање тих лекова три дана пре операције, узимање антиоксиданаса, постојање контраиндикација за примену аналгетика из групе нестероидних антиинфламаторних лекова и опиоида, трудноћа и лактација, одбијање испитаника да учествује у студији, учешће у другом клиничком испитивању и било која друга околност која је отежавала учешће болесница у студији.

3.2.1. Узорковање студијске популације

Испитаници у студији су били регрутовани из укупне популације болесника подвргнутих елективној хистеректомији и у КЦ „Крагујевац“. Укључивање је спровођено сукцесивно, према принципу случајног избора (без претходно утврђене рандомизације) према укључујућим и искључујућим критеријумима, почев од првог дана студије па надаље, до дана када је био постигнут укупни број испитаника, а сходно прорачуну величине студијског узорка.

3.3 ПЛАН СТУДИЈЕ

Испитаница је била укључена у студију најкасније дан раније од дана заказане операције, уколико је испуњавала укључујуће и није имала искључујуће критеријуме. Од испитаника је прво затражен писани информисани пристанак уз пуну обавештеност. Писани информисани пристанак је обезбедио лечећи гинеколог одн. хирург који је био истовремено и ко-истраживач. Студија се је обухватила период времена од обезбеђивања писаног информисаног пристанка до 3. дана од операције.

По обезбеђеном пристанку, прикупљени су анамнестички подаци (анамнеза садашње болести, лична анамнеза, породична и социоепидемиолошка анамнеза), подаци који се односе на гинеколошки онд. хируршки статус и идентификовани су одговарајући фактори ризика за неповољан клинички исход. Након прикупљања података, испитанику је био узет узорак крви за одговарајуће биохемијске анализе, чиме би се завршила прва студијска визита. Следећа визита је започела непосредно након хируршког захвата, а наредне три визите 24, 48 и 72 сата после операције. На студијским посетама пратила се промена вредности параметара прибављених на првој визити, потом безбедност испитаника која се тиче студијских процедура (узимање узорака крви) и други аспекти релевантни за клиничко истраживање. По обављеној последњој визити, испитаница је завршила учешће у студији.

3.4 СТУДИЈСКЕ ПРОЦЕДУРЕ

Студијске процедуре су укључиле узимање узорака крви, у пет наврата у којима су одређивани нивои цитокина као и параметри оксидационог стреса. Такође, у току студијске процедуре вршено је испитивање пацијената по упитницима за квалитет постоперативног опоравка и интензитет бола а обављано је и прикупљање података о релевантним факторима ризика (анамнестички и из историја болести) који су могли утицати на вредности испитиваних параметара.

3.4.1 Поступак прикупљања узорка крви

Узорци од по 20 мЛ пуне венске крви су узимани од испитаника у пет наврата. Први узорак је узет преоперативно кроз пласирану и.в. канилу у предпростору операционе сале. Други узорак је узет 3 сата постоперативно, трећи 24 сата, четврти 48 сати и пети 72 сата после оперативног захвата на болничком одељењу. Након одговарајуће обраде, узорци су чувани под одговарајућим условима до спровођења датих анализа.

3.4.2 Прикупљање других релевантних података

Током фазе прикупљања узорака крви одн. серума а нарочито по завршетку формирања студијског узорка истраживач је извршио увид у одговарајуће историје болести и прикупио податке релеванте за даљу анализу и то: старост, пол, дијагнозу, фармакотерапију (име лека, облик, доза), присуство коморбидитета (хипертензија, срчана инсуфицијенција, реналана инсуфицијенција, дијабетес, неуролошка обољења, анемија, болести дисајних путева, системске болести везивног ткива) и друге податке који су могли да утичу на параметре који се испитују тј. нутритивни статус, пушење и конзумирање алкохола.

3.5 ВАРИЈАБЛЕ ИСТРАЖИВАЊА

Варијабле истраживања су груписане у категорије: параметри клиничког исхода, параметри имунолошког статуса, параметри оксидационог стреса, фармаколошки параметри, и социо-демографски и клинички фактори ризика. Примарна варијабла

истраживања ће бити квалитет клиничког опоравка а све друге варијабле ће бити секундарне варијабле.

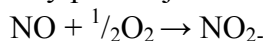
3.5.1 Параметри клиничког исхода

Параметри клиничког исхода су били квалитет постоперативног опоравка и бол. Квалитет постоперативног опоравка је био примарни клинички исход и процењиван је 1., 2., 3., 4. и 7. постоперативног дана на основу широко коришћеног упитника у сличним истраживањима, QoR-40 (Myels, 2000). Интензитет бола је процењиван на 10 минута у соби за буђење, након тога у временским интервалима од 5 сати до 72 сата после операције, на основу нумеричке скале бола (NRS) (McCaffrey and Pasero, 1999). Процена интензитета бола је коришћена у циљу титрације аналгетске медијације.

3.5.2 Параметри оксидационог стреса

3.5.2.1 Одређивање концентрације нитрита (NO)

За одређивање концентрације нитрита у плазми врши се специфична екстракција по следећем протоколу: у Епендорф епрувете пипетирати је 0.1 ml 3M PCA, 0.4 ml 20 mM EDTA и 0.2 ml плазме. Тако добијене узорке инкубирати у леденом купатилу (-4 оС) 10 минута. Након инкубације узорке центрифугирати 4 минута на 15000 rpm, супернатант одлити, а преципитат ресуспендовати у 2 M K₂CO₃ до pH 7.4. У тако добијеним узорцима екстракта плазме одређивати концентрацију ослобођених нитрита спектрофотометријском реакцијом уз употребу Griess-овог реагенса. (1) С обзиром да се у реакцији са молекуларним кисеоником:



ствара еквимоларна количина нитрита, можемо са веома великом сигурношћу тврдити да количина ослобођених нитрита представља количину ослободјеног NO-а.

Биохемијски се ова метода заснива на употреби Griess-реагенса, који са нитритима гради диазо-комплекс, који даје љубичасту боју. Griess-ов реагенс се припрема *extempore*, непосредно пре аналитичког одређивања, мешањем једнаких запремина (v/v) 1 % сулфанилне киселине, растворене у 5 % орто-фосфорној киселини (може се чувати на собној температури) и 0.1 % воденог раствора: N-(1-нафтил)- етилендиамин дихидрохлорида (NEDA), који се чува у тамној бочици на 4 оС, због своје високе фотохемијске реактивности. У епрувете (12 x 100) пипетирати 0.1 ml екстракта плазме, 250 µl свеже направљеног Griess-ов реагенса и 125 µl амонијачног пуфера (pH=9.0), кога сачињавају амонијум хлорид (NH₄Cl) и натријум тетраборат (Na₂B₄O₇). Амонијачни пуфер, који се у току припреме мора загревати, због изузетно слабе растворљивост натријум тетрабората, има за сврху стабилизацију диазо-комплекса. Као слепа проба екстракта плазме коришћена је дестилована вода. Концентрација ослободјених нитрита у узорцима одређивана је на основу калибрационе криве. Калибрациона крива је конструисана на основу екстинкција узорка, који су у себи садржали познату концентрацију нитрита, након њихове реакције са Griess-овим реагенсом у присуству пуфера. Добијана је пипетирањем различитих количина воденог раствора 1 mM NaNO₂ у 1 ml дестиловане воде и то: 3, 6, 12, 24 µl, чиме је добијена концентрација нитрита од: 2.18, 4.37, 8.73 и 17.34 nmolNO₂-/ml. Након стабилизације

боје на собној температури 5-10 минута приступа се детерминисању концентрације ослобођених нитрита спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=550$ nm. Концентрација, а затим количина ослобођених нитрита добијена је на основу:

1. Одређивања стандардног фактора (ϕ), који се добијао из следеће једначине:

Екстинкција стандарда-екстинкција слепе пробе

Концентрација NaNO_2 у стандарду

за сваки појединачни стандард (F1-F4), а затим добијањем њихове аритметичке средине.

2. Дељењем разлике екстинкција узорка и слепе пробе са стандардом ϕ :
 $\text{nmolNO}_2/\text{ml екстракта} = \Delta E (E_u - E_{sp})/F.$

3.5.2.2 Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Индекс липидне пероксидације, као један од параметара оксидативног стреса, одређује се индиректно преко продукта реакције липидне пероксидације са тиобарбитруном киселином, одакле и потиче скраћеница TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). За одредјивање концентрације TBARS у плазми врши се специфична екстракција по следећем протоколу: у Епендорф епрувете пипетирати је 0.4 ml 28 % TCA и 0.8. ml плазме. Тако добијене узорке инкубирати у леденом купатилу (-4 оC) 10 минута. Након инкубације узорке центрифугирати 4 минута на 15000 gpm а у добијеном супернатанту одређивати концентрацију TBARS спектрофотометријски (21). Метода се заснива на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције једног од њих, малонилдиалдехида (MDA) са тиобарбитурном киселином (TBA). У епрувете (12x100) пипетираи 800 μl екстракта плазме и 200 μl 1 % TBAu 0.05 M NaOH. Као слепа проба уместо екстракта плазме користи се еквивалентна количина дестиловане воде. Након пипетирања, узорке инкубирати у воденом купатилу 15 минута на 100°C. Након инкубације, узорке прилагодити собној температури, па приступити детерминисању концентрације ослобођених TBARS спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=530$ nm. Концентрација ослобођених TBARS добијена је на основу следеће једначине
 $\text{nmolTBARS/ml плазме} = \Delta A (A_u - A_{sp})/1.56 \times 1.25,$
при чему је A_u апсорбанца узорка, док је A_{sp} апсорбанца слепе пробе, док су 1.56 и 1.25 корекциони фактори за овај есеј.

3.5.2.3 Одређивање концентрације супер оксид анион радикала (O_2^-)

Одређивање концентрације супероксид анион радикала (O_2^-) у плазми заснива се на реакцији O_2^- са нитро тетразолијум плавим (*NitroBlue Tetrazolium*- NBT) до нитроформаза плавог. Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорпције $\lambda_{\text{max}} = 550\text{nm}$. Есејна смеша ("assay mixture") садржи: 50 mM TRIS-HCl пуфера (pH=8.6), 0.1 mM EDTA, 0.1 mg/ml желатина и 0.1 mM NBT. Пре употребе раствор се претходно гасира азотом под притиском у трајању од једног часа. У епрувете (12x100) пипетира се 50 μl плазме и 950 μl есејне смеше, чиме реакција отпочиње. Као слепа проба уместо плазме користи се адекватна количина дестиловане воде. На самом почетку реакције измери се екстинкцију смеше и нотира као екстинкција E1. Сваких 60 секунди се врши

мешање пластичним штапићем и нотира екстинкција након мешања, до своје стабилизације, што подразумева две узастопне приближно исте екстинкције. Последња екстинкција се означава као E₂. Исти поступак се примењује и за слепу пробу.

1. Концентрација ослобођеног O₂⁻ добијена је на основу следећих једначина:

$$\begin{aligned}\Delta E_u &= E_{2u} - E_{1u} \text{ (за узорак)} \\ \Delta E_{sp} &= E_{2sp} - E_{1sp} \text{ (за слепу пробу)} \\ \Delta E &= \Delta E_u - \Delta E_{sp} \\ \text{nmolO}_2\text{-/ml плазме} &= \Delta E / 0.015 \times 1 / 0.05\end{aligned}$$

3.5.2.4 Одређивање концентрације водоник-пероксида (H₂O₂)

Детерминација количине водоник-пероксида H₂O₂ заснива се на оксидацији фенол-црвеног помоћу водоник-пероксида, реакцијом која је катализована ензимом пероксидазом из коњске ротквице (HorseRadishPerOxidase - HRPO). Ова реакција резултује формирањем једињења чији је максимум апсорпције на λ_{max}=610nm (22). Линеарна зависност апсорбанце на 610nm од концентрације H₂O₂ је постојана за 1-60mM опсег концентрација (1-60nmol/ml). Ова метода омогућује детерминацију настајања и ослобађања H₂O₂ за временски интервал од 5-60 минута. У епрувете (12 x 100) пипетира се 200 ml плазме и 800 ml свеже направљеног раствора фенол црвеног (PhenolRedSolution-PRS) који садржи 140mM NaCl, 10m Калијум фосфатног пуфера (pH=7), 5,5mM D(+)-глукозе и 0,28mM фенол црвеног. Узорцима се затим додаје 10ml (1:20) HRPO, припремљен *extempore*. Узорци се остављају на собној температури 10 минута, а затим подесе pH=12, помоћу 1M NaOH. Као слепа проба плазме користи се адекватна количина дестиловане воде. Концентрација ослобођеног H₂O₂ у венском ефлуенту израчунава се на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве), који се одређује за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве, користи се стандардни (Stock) раствор H₂O₂, уз предходну проверу концентрације (A230 за 10mM H₂O₂ износи 0,810). У три епрувете пипетирају се : (уместо венског ефлуента) 5, 10 и 20ml, 1mM раствора H₂O₂, 200ml дестиловане, 800ml раствора фенол црвеног и 10ml (1:20) HRPO. Након инкубације од десет минута на собној температури, подесити pH=12, помоћу 1M NaOH (10ml). Мерење апсорбанце (A) врши се на таласној дужини максималне апсорпције λ_{max}=610nm, у стакленим киветама, запремина 1ml на спектрофотометру LKB Biochrom, model: Ulltроспес 4050. Од добијене апсорбанце одузима се вредност апсорбанце слепе пробе (B), чиме се добија коначна апсорбанца (DA). Концентрација, а затим и количина ослобођеног H₂O₂ у венском ефлуенту израчунава се на основу:

Фактор апсорбанце (F) по једном nmolу водоник пероксида:

$$F = \Delta A / \text{nmolH}_2\text{O}_2 / \text{cuv}$$

На основу апсорбанце узорка на λ_{max}=610nm (A_u) и њеног упоређивања са слепом пробом (A_{sp}) израчунава се финална апсорбанца (DA) (A=A_u-A_{sp}). Помоћу овако добијене апсорбанце, фактора F и количине венског ефлуента употребљеног у есеју (200ml) израчунава се концентрација и количина H₂O₂ у венском ефлуенту по формули: nmolH₂O₂/ml плазме = DA/F.

3.5.2.5 Одређивање активности супер оксид дизмутазе (SOD)

Одређивање активности SOD вршено је адреналинском методом. Ова метода припада групи метода “негативног” типа, јер се прати смањење брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од O_2^- . Присутна SOD уклања O_2^- и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина. Брзина аутооксидације адреналина прати се спектрофотометријски преко промене апсорбанце на 480 nm. Пораст апсорбанце на 480 nm потиче од акумулације адренохрома. Брзина аутооксидације адреналина једнака је нагибу линеарног дела пораста апсорпције. Процент инхибиције користи се као мера каталитичке активности ензима. Брзина аутооксидације адреналина у одсуству ензима узима се као референтна (контролна), а брзина аутооксидације у присуству SOD, односно протеина у цитосолу представља део референтне вредности.

У 3.2 ml реакционе смеше коју чине: 3 ml карбонатног пуфера, $pH = 10.2$ и 0.1 ml раствора адреналина, дода се 0.01 ml раније припремљеног супернатанта. Аутооксидација адреналина прати се у току 4 минута на 480 nm. Реакција је стабилна у температурном опсегу од 26-300 °C. Упоредо се ради и контролна реакција. Процент инхибиције аутооксидације адреналина у присуству SOD из узорка, у односу на контролну реакцију аутооксидације адреналина користи се за израчунавање SOD активности. Количина SOD изражава се у јединицама SOD активности по gHb (u/gHb). Јединица SOD активности дефинисана је као запремина, односно количина протеина која узрокује 50% инхибиције брзине аутооксидације адреналина у линеарном делу пораста апсорпције. Израчунавање се врши по следећој једначини:

$$SOD-1 = 2(\Delta K - \Delta A) \times R / V \times Hb \times K$$

ΔK - промена апсорпције контролне реакције у минути

ΔA - промена апсорпције реакције са узорком у минути

V - запремина узорка која се сипа у реакциону смешу (ml)

Hb - количина хемоглобина (g/100 ml лизата)

R - разблажење

3.5.2.6 Одређивање активности каталазе (CAT)

Активност каталазе у сонификату одређује се по методи Beutler-a (Beutler, 1982). Метода се састоји у спектрофотометријском праћењу брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на 230 nm. На тој таласној дужини водоник пероксид апсорбује светлост. Тачна концентрација водоник-пероксида одређује се на следећи начин: у односу на апсорпцију разблаженог раствора пуфера (1:10), као нула, читава се апсорпција раствора састављеног од 0.9 ml разблаженог пуфера и 0.1 ml разблаженог 30% раствора H_2O_2 (1:100). Концентрација водоник пероксида израчунавана је на основу екстинкционог коефицијента, који је за H_2O_2 на 230 nm 0.071, по формули:

$$C = \Delta A / 0.071$$

Добијена концентрација је затим разблаживана до 10 mM.

Реакциона смеша:

У кварцну кивету у којој се налази 50 μL пуфера дода се између 5 и 50 μL узорка (зависно од активности каталазе). Реакција почиње додатком 1 mL 10 mM раствора водоник-пероксида. Пад апсорбанце пратити на 230 nm у току 3 минута. Активност се

изражава у јед/mg протеина, а јединица је дефинисана као количина редукованог H₂O₂, изражена у μM, у минути. Израчунавање је вршено према следећој једначини:

$$\text{CAT} = \Delta A \times R / 0.071 \times \text{Low} \times V$$

ΔA – промена апсорбанце у минути

R – разблажење

V – запремина узорка (ml)

Low – количина протеина (mg/ ml сонификата).

3.5.2.7 Одређивање активности глутатиона (GSH)

Ниво редукованог глутатиона (GSH) у плазми одређује се спектрофотометријски по методи Buetler-a(1982), а заснива се на оксидацији глутатиона GSH помоћу 5,5-дитио-бис.6,2-нитробензевом киселином (DTNB). GSH се екстрахује тако што се у 0,1ml 0,1 % EDTA , дода 0.4ml плазме и 0,75ml раствора за преципитацију (1,67 g метафосфорне киселине, 0.2 gEDTA, 30g NaCl, допуни се до 100ml дестилованом водом ; раствор је стабилан 3 недеље на +4°C). После мешања на Vortex-мешалици смеша се екстрахује 15 минута на леду и центрифугира 10 минута на 4000 грm.Мерење се врши у кварцним киветама запремине 1ml. У епрувете (12 x 100) пипетира се 300μl венског ефлуента , 750μl NaHPO₄ и 100μl DTNB (1mg DTNB/1%натријум цитрата). Као слепа проба користи се дестилована вода. Концентрација , а затим и количина редукованог глутатиона у венском ефлуенту одређује се на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве), који се одређује за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве користи се стандардни Stock-раствор редукованог глутатиона концентрације 1,5mmol/l. У 4 епрувете се пипетира (уместо венског ефлуента) 10,20,30 и 40μl 1mM раствора GSH, 300μl хладног перфузионог Krebs-Hensenleit-овог раствора. Тако се одреди концентрација нитрита у узорцима стандарда (nmol/GSH/ml). Мерење апсорбанце (A) врши се на таласној дужини максималне апсорпције λ_{max} = 420nm. Од добијених апсорбанци одузима се вредност апсорбанце слепе пробе (B), чиме се добија коначна апсорбанца(ΔA). Помоћу овако добијене апсорбанце, стандардног фактора (F) и количине венског ефлуента употребљеног у есеју израчунава се концентрација глутатиона у венском ефлуенту по формули :

$$\text{nmolGSH/ml ефлуента} = \Delta A / F$$

$$F = \Delta A / \text{nmolGSH /cuv}$$

3.5.3 Концентрације цитокина

Концентрација релевантних цитокина (IFN-γ, IL-10, IL-17, , TGF-β и) у серуму одређује се комерцијалним ELISA китовима специфичним за хумане протеине (Jovanovic et al 2010). Стандарди ће се пре употребе растворити у PBS-у (pH 7.2), тако да почетне концентрације буду 1000 pg/mL или 2000 pg/mL зависно од цитокина. Направљени штокови ће се серијски 7 пута двоструко разблажити у растварачу (енгл. Reagent Diluent-у (1% BSA у PBS-у) да би се добила стандардна крива са 7 тачака. 100μl радне концентрације везујућег антитела (енгл. Capture Antibody) сипаће се у бунарчиће полистиренских микротитар плоча (енгл. microtiter plate- MTP) са 96 бунарчића са равним дном (SARSTED). Плоче ће се прелепити адхезивном фолијом (енгл. ELISA

Plate Sealers) и оставити преко ноћи на собној температури, након чега ће се бунарчићи испрати пуфером за испирање (енгл. Wash Buffer) у аутоматској машини за испирање МТР-а. Затим се у све бунарчиће додаје блокирајући пуфер (Block Buffer, 1% BSA у PBS-у) финалног волумена 300µl и МТР се остављају минимум 1 сат на собној температури. МТР се тада испирају пуфером за испирање. Сви узорци су претходно разблажени 2 пута у дејонизованој води. Разблажени узорци и припремљени стандарди сипају се у МТР, које су прекривене адхезивном фолијом и остављене 2 сата на собној температури. Након инкубације и испирања МТР, у све бунарчиће се додаје 100µl радне концентрације детекционог антитела (енгл. Detection Antibody), а плоче поново обложе адхезивном фолијом и оставе додатних 2 сата на собној температури. МТР се поново испирају, а у бунарчиће се сипа 100µl радне концентрације Streptavidin-HRP (Streptavidin horseradish peroxidase). Инкубација на собној температури и без директног излагања светлости прекинута је након 20 минута, испирањем МТР-а. У бунарчиће се сипају 100 µl Substrate Solution (Color reagent A + Color reagent B, 1:1). Двадесет минута касније, додато је 50 µl Stop Solution-а (2N H₂SO₄) и оптичка густина се непосредно меритла у сваком бунарчету, помоћу Microplate reader-а (Zenyth, Anthos, UK) подешеног на 450 nm. Све измерене вредности су умањене за вредности апсорбанци следеће пробе (дејонизована вода). На основу измерених вредности стандарда направљена је се стандардна крива, а помоћу ње израчуната вредности за сваки појединачан узорак. Сви узорци су мерени у трипликату.

Свим пацијентима су бити одређене преоперативне вредности цитокина. Одређена је средња вредност и стандардна девијација. Свака постоперативна вредност која је изван граница +/-1,96 СД од средње вредности ће се сматрати дисбалансом.

3.5.4 Други фактори ризика

Вредности социо-демографских и клиничких параметара су сматрани факторима ризика или факторима од интереса за утицај на примарне и секундарне исходе студије. Основне групе секундарних варијабли су били: демографски параметри (старост), лоше навике (пушење, алкохолизам), употреба лекова: аналгетици (опиоидни, нестероидни антиинфламаторни лекови), друге болести (хронична бубрежна инсуфицијенција, анемија, дијабетес, хипертензија, болести дисајних путева, срчана инсуфицијенција, системске болести везивног ткива).

3.6 АНЕСТЕЗИЈА И ПОСТОПЕРАТИВНА АНАЛГЕЗИЈА

3.6.1 Премедикација и увод у анестезију

Све пацијенткиње су преоперативно примиле мидазолам 5 мг и.м. 30 минута пре увода у анестезију. Након премедикације и преоперативне преоксигенације увод и вођење анестезије је био подједнак за све пацијенткиње и одвијао се према одговарајућем протоколу.

Увод у анестезију :

- Фентанил: 2 µg/kg интравенски
- Пропофол: 1,5-2 mg/kg интравенски

-
- Рокуронијум: 0,6 mg/kg интравенски

Вођење анестезије:

Анестезија је вођена инхалационим анестетиком севофлураном (1-1,5 MAC), са смешом воздух/кисеоник ($FiO_2=0,4$) при чему је анестезиолог који је водио анестезију администрирао додатне болусе фентанила према сопственој процени као и додатне дозе мишићног релаксанта. Извођен је континуирани мониторинг следећих параметара: ЕКГ, SpO_2 , неинвазивно мереног систолног, дијастолног и средње артеријског притиска (СП, ДП, МАП). Дубина анестезије процењивана је на основу клиничких критеријума. Знацима недовољно дубоке анестезије сматрани су:

1. Пораст срчане фреквенције за више од 20% од преиндукцијских вредности
2. Пораст МАП за више од 20% од преиндукцијских вредности
3. Презнојавање пацијената (у одсуству другог разлога).

Све пацијенткиње су примиле 4 mg ондансетрона пре краја операције. Пробуђене су и екстубиране у операционој сали и превежене у собу за буђење.

3.6.2 Постоперативна аналгезија

У погледу примања постоперативне аналгезије пацијенткиње су подељене у следеће групе:

1. група код које је примењен кеторолак („Z“), добила је 30 mg овог лека на почетку операције;
2. група код које је примењен искључиво морфин („M“), добила је 0,15 mg/kg овог лека интравенски 15 минута пре завршетка операције;
3. група код које је примењен кетопрофен („K“), добила је 100 mg овог лека у и.в. инфузији у трајању од 30 минута на почетку операције;
4. група код које је примењен парацетамол („P“), добила је 1000 mg овог лека у спорој интравенској инфузији у трајању од 30 минута на почетку операције.

Код пацијенткиња из свих група аналгезија се у соби за буђење одвијала администрацијом додатних доза морфина и.в. болусима од по 2 mg, до постизања скорa бола 3 или ниже. Након одласка на одељење аналгезија се одвијала по следећем протоколу:

1. група пацијенткиња која је добијала кеторолак, добијала је 30 mg овог лека интравенски на 8 сати, до максималне дневне дозе од 90 mg;
2. група пацијенткиња која је добијала искључиво морфин, добијала је морфин у интравенским болусима по следећој шеми: прописаних 5 mg на 4 сата, уз додавање болуса од по 2 mg уколико је интензитет бола прелазео 3 на NRS скали до максималне дневне дозе за првих 24 сата прорачунатој према годинама старости (100-године старости);
3. група пацијенткиња која је добијала кетопрофен, добијала је 100 mg овог лека у спорој интравенској инфузији, до максималних 300 mg дневно;
4. група пацијенткиња која је добијала парацетамол, добијала је 1000 mg овог лека у спорој интравенској инфузији на 6 сати, до максималне дневне дозе 4000 mg.

Пацијенткиње из свих група су добијале интравенске болусе морфина од по 2 mg, до постизања скорa бола 3 на NRS скали.

Аналгезија се по овој шеми давала на дан операције као и првог постоперативног дана. Након тога, тј. другог постоперативног дана су се дозе аналгетика смањивале сразмерно смањењу интензитета бола при чему је свака од група задржала свој основни аналгетик као примаран у купирању бола.

3.7 ЕТИЧКИ И ОРГАНИЗАЦИОНИ АСПЕКТИ СТУДИЈЕ

Студија је спроведена као академско, мултидисциплинарно и непрофитно истраживање, према принципима Добре клиничке праксе, Добре лабораторијске праксе и Хелсиншке декларације. За учешће у студији од болесница је био обезбеђен писани, добровољни пристанак уз пуну обавештеност. Пре спровођења студије протокол истраживања и друга потребна документа су одобрена од стране надлежног Етичког одбора Клиничког центра „Крагујевац“.

3.8 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

Статистичка анализа је обухватила прорачун величине узорка и статистичку обраду прикупљених података. Величина узорка је одређена помоћу претпостављене вредности QoR-40 скорa и њеног варијабилитета у раном постоперативном периоду (1-3 дан) као примарне варијабле а на основу података из претходних студија укључујући и болеснице подвргнутих гинеколошким интервенцијама (Myles et al., 2001; Murphy et al., 2009; Kluivers, 2008; Catro-Alves et al., 2011). Коришћењем одговарајућих података, за два независна узорка, у расподели (алокацији) 1:1, са снагом студије 0.8 и алфа грешком 0.05, употребом одговарајућег софтвера прорачунат је узорак од укупно 50 испитаница (Faul et al., 2007).

У анализи прикупљених података користиле су се методе дескриптивне статистике и тестирања хипотезе (Altman, 1991). Примарна варијабла истраживања је била вредност скорa на QoR-40 упутнику. Секундарне варијабле су биле одговарајући клинички параметри (старост, навике, аналгетици и друго) и вредности праћених параметара оксидационог стреса и цитокина. Анализиране су и промене одговарајућих студијских варијабли у односу на базалну (почетну вредност), између студијских визита као и између студијских подгрупа диференцираних на основу присуства фактора од интереса (аналгетске медијације)

У зависности од квалитативних и квантитативних карактеристика добијених података, спроведене су одговарајуће статистичке анализе (тестови). Варијабле код којих су подаци били дистрибуирани по типу нормалне расподеле коришћени су параметарски тестови тј. основни метод је била анализа варијансе и њени модалитети (*ANOVA-repeated measures, ANOVA-repeated measures, pairwise comparisons*). Варијабле код којих је дистрибуција података одступала од нормалне расподеле коришћени су непараметарски тестови: *Kruskal Wallis test, Friedman test, Wilcoxon Signed Rank test, Mann-Whitney-Wilcoxon test*. Међусобна повезаност варијабли анализирана је корелационим тестовима, *Pearson correlation* и *Spearman's rho*. За статистичку анализу ће бити коришћен одговарајући статистички софтвер (SPSS), а вредности вероватноћа статистичке значајности за све статистичке методе су биле утврђене на $p < 0,05$ (5%).

4 РЕЗУЛТАТИ

4.1 КАРАКТЕРИСТИКЕ СТУДИЈСКЕ ПОПУЛАЦИЈЕ

Студијска популација је укључила 51 жену која је подвргнута хистеректомији а које су у постоперативном току прималне аналгетике ради контроле постоперативног бола. Просечна старост болеснице је била 51.6 ± 7.8 година (\pm стандардна девијација) при чему је најмлађа имала 39 година а најстарија 69 година. Пушача дувана је било забележено код 43.1% ($n=22$), а непушача 17.6% (9) болесница док податак о узимању дувана није дало 39.2% испитаница (20). Просечно трајање операције је износило 74.8 ± 26.4 минута (минимално 35, максимално 120). Било је четири дефинисане подгрупе према студијским аналгетицима и то 6 (11.8%) болесница које су примале кеторолак, 19 (37.3%) морфин, 14 (27.5%) кетопрофен, 7 (13.7%) парацетамол док 5 болесница нису сврстане у ове подгрупе сходно предефинисаним критеријумима. Према наведеним демографским и клиничким особинама, типична испитаница је била на почетку шесте деценије живота, конзумирала је дуван, подвргнута је оперативној интервенцији у трајању нешто дужем од сат времена при чему су постоперативни болови лечени применом опиоидног аналгетика, морфина.

4.2 КВАЛИТЕТ ПОСТОПЕРАТИВНОГ ОПОРАВКА

Квалитет опоравка у читавој студијској групи после операција је мерен специфичним инструментом клиничке процене, QoR-40 скалом. При томе, посебно је мерен укупан скор, што је био примарни студијски исход, а посебно 8 појединачних домена QoR-40 скале.

4.2.1 Вредности укупног скорa и појединачних домена QoR-40

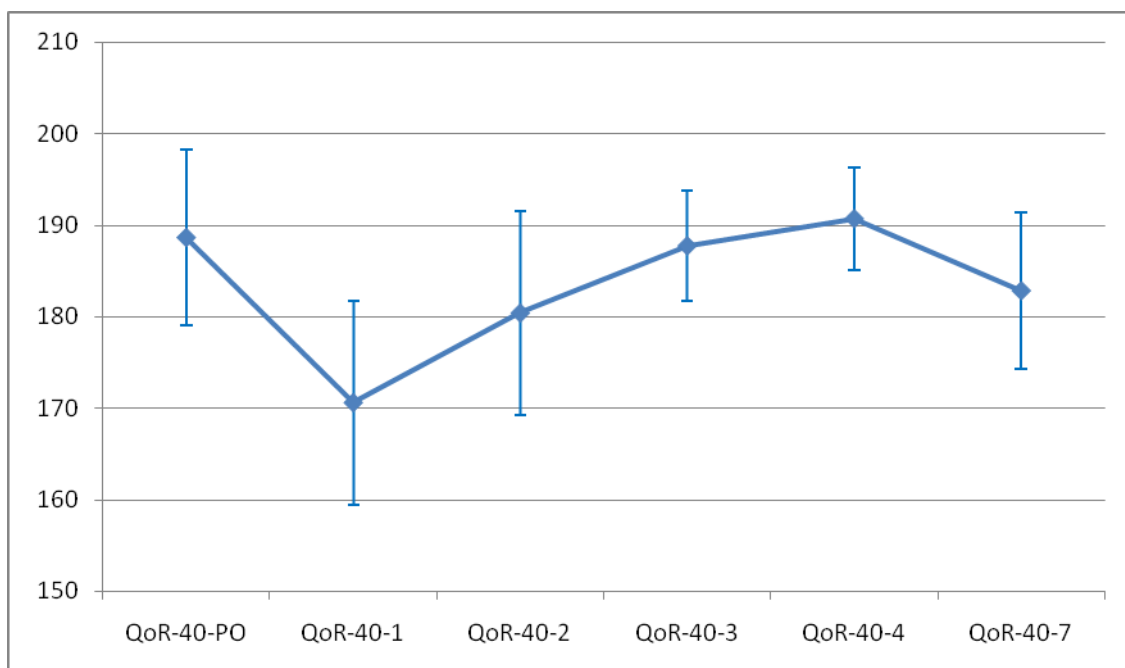
4.2.1.1 Укупни скор (QoR-40)

Подаци за укупан скор су указали да је у првом мерењу забележен значајан пад квалитета постоперативног опоравка, просечно за око 10%, након чега следи лагани пораст до приближног постизања преоперативних вредности у четвртном мерењу и благим падом након тога (табела 1; слика 4).

Табела 1. Вредности укупног QoR-40 скорa

QoR-40	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-PO	165	200	188.65	9.65
QoR-40-1	146	189	170.59	11.13
QoR-40-2	152	195	180.39	11.15
QoR-40-3	174	200	187.74	6.03
QoR-40-4	182	196	190.71	5.59
QoR-40-7	171	192	182.83	8.52

PO-преоперативно, 1, 2, 3, 4, 7: вредности мерења у одговарајућим студијским интервалима (в. методе); СД-стандардна девијација



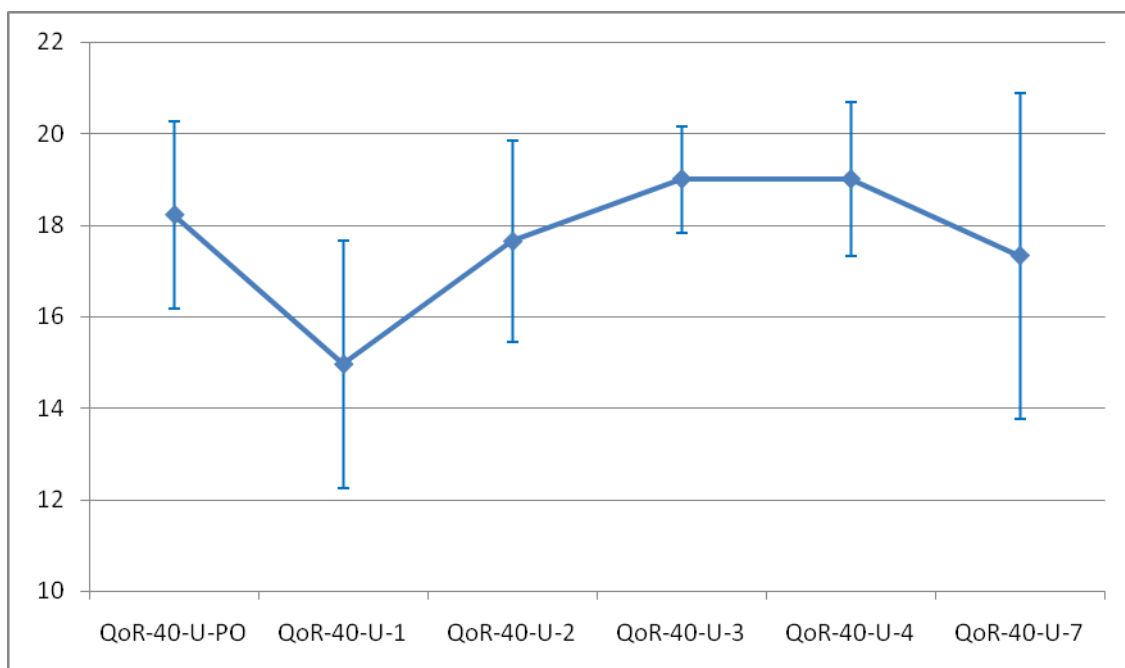
Слика 4. Средње вредности (\pm стандардна девијација) укупног QoR-40 скорa у шест студијских периода.

4.2.1.2 Домен удобност (QoR-40-U)

Вредности скорова субдомена удобност (U) у основи прате тренд укупног скорa QoR-40 скале (табела 2; слика 5). Пад скорова у првом интервалу мерења после операције је за око два пута већи, а даљи тренд следи опоравак у четвртом мерењу да би након тога, у седмом мерењу, наступио пад и успоставио нов еквилибријум за око 5% нижи него преоперативно.

Табела 2. Вредности домена удобност

QoR-40-U	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-U-PO	13	20	18.22	2.044
QoR-40-U-1	9	19	14.96	2.708
QoR-40-U-2	13	20	17.64	2.206
QoR-40-U-3	16	20	19.00	1.166
QoR-40-U-4	16	20	19.00	1.673
QoR-40-U-7	11	20	17.33	3.559



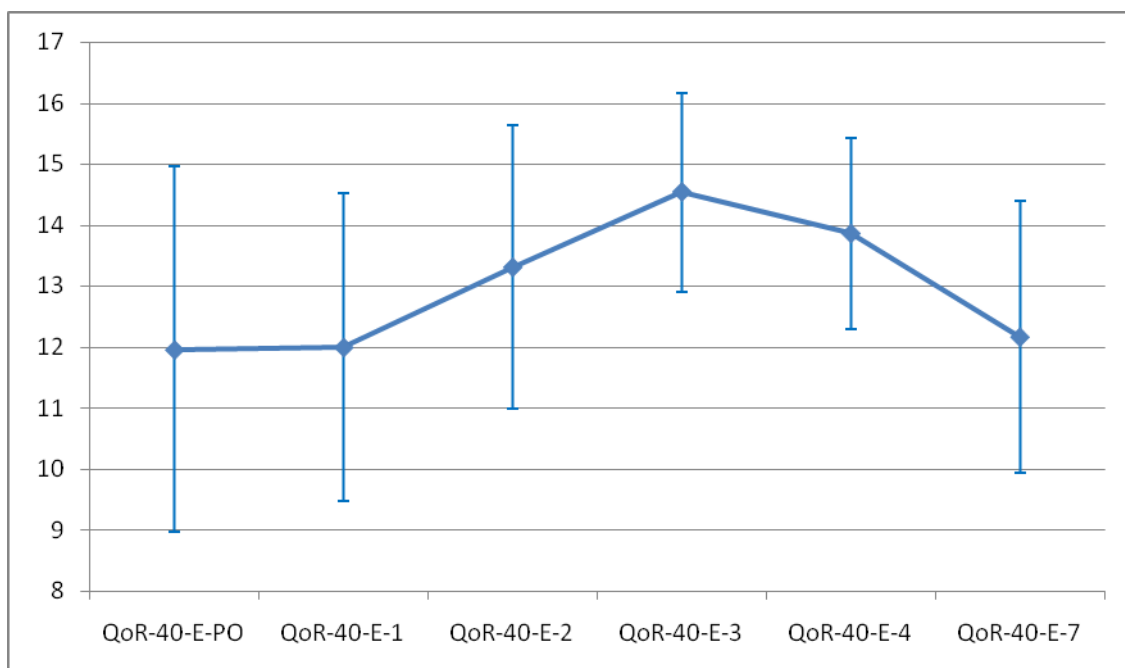
Слика 5. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена удобност (QoR-40-U) у шест студијских периода.

4.2.1.3 Домен емотивно стање (QoR-40-E)

Вредности скорова субдомена емотивно стање (E) слабије осцилирају него код укупног скова и скорова субдомена удобност (табела 3; слика 6). У првом постоперативном мерењу се практично скор одржава да би касније био чак и нешто већи у односу на постоперативне вредности.

Табела 3. Вредности домена емотивно стање

QoR-40-E	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-E-PO	6	15	11.96	2.993
QoR-40-E-1	5	15	12.00	2.530
QoR-40-E-2	7	18	13.31	2.328
QoR-40-E-3	12	20	14.54	1.630
QoR-40-E-4	11	15	13.86	1.574
QoR-40-E-7	9	15	12.17	2.229



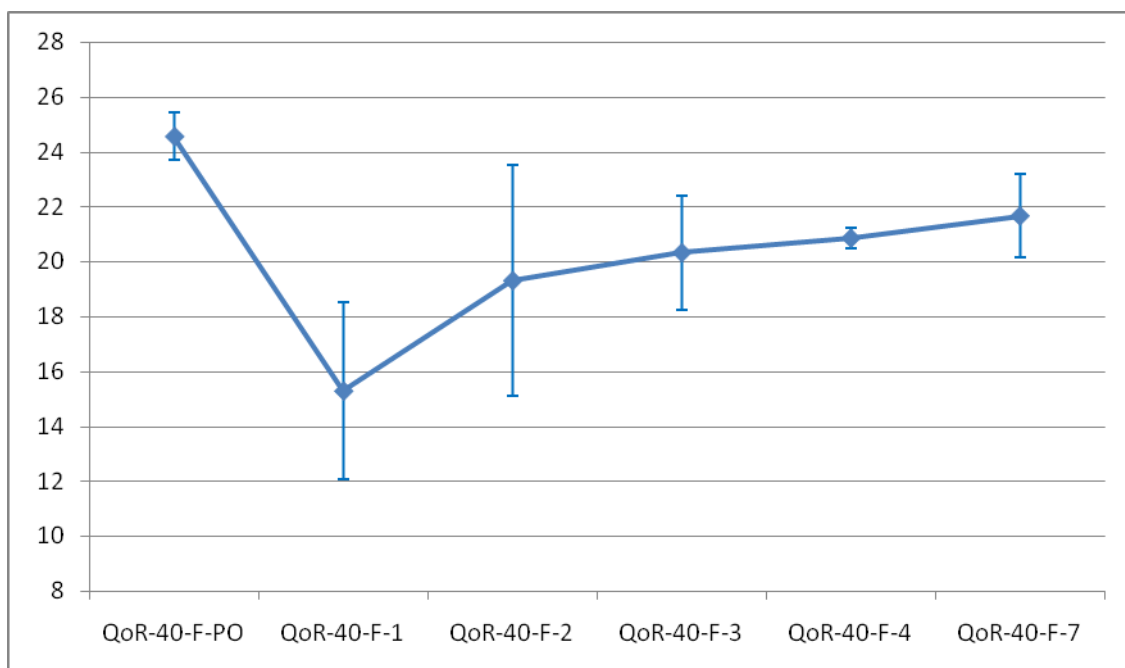
Слика 6. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена емотивно стање (QoR-40-E) у шест студијских периода.

4.2.1.4 Домен физичка независност (QoR40-F)

Скорови домена физичка независност прате сличан тренд вредностима укупног скова с тим што се практично не враћају на преоперативну вредности (табела 4; слика 7). У првом мерењу после операције вредност скова овог домена опада за више од трећине а на крају студијског интервала остаје за више од 10% нижа у односу на почетне вредности.

Табела 4. Вредности домена физичка независност

QoR-40-F	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-F-PO	22	25	24.56	0.87
QoR-40-F-1	8	23	15.29	3.22
QoR-40-F-2	11	37	19.31	4.21
QoR-40-F-3	14	23	20.33	2.08
QoR-40-F-4	20	21	20.86	0.38
QoR-40-F-7	20	23	21.67	1.51



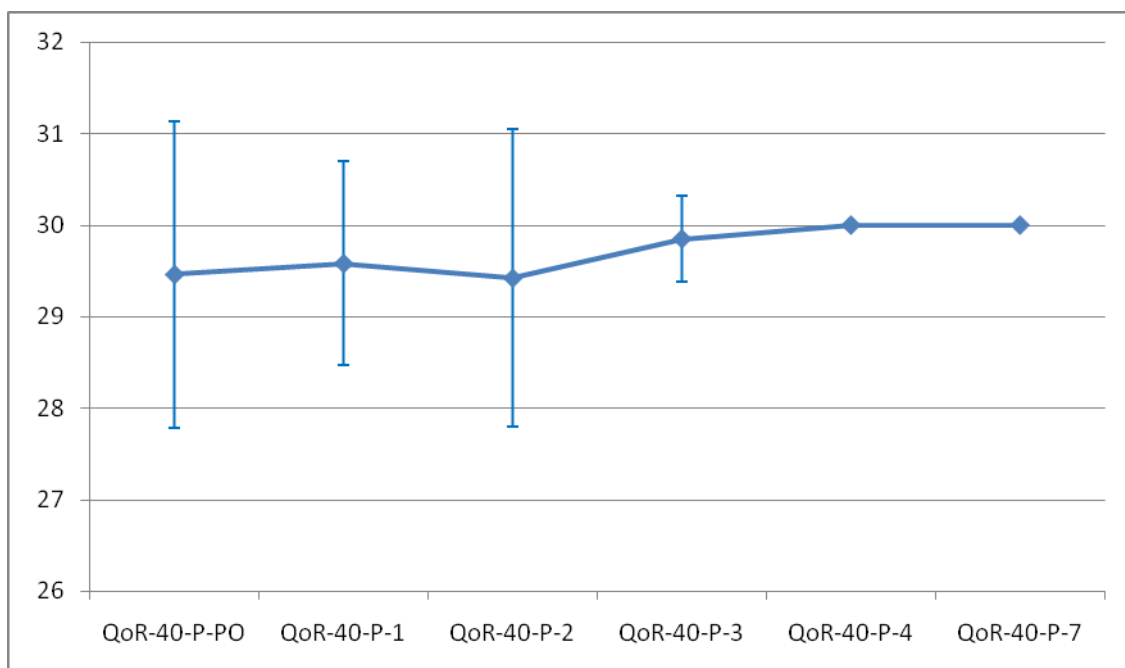
Слика 7. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена физичка независност (QoR-40-F) у шест студијских периода.

4.2.1.5 Домен подршка (QoR-40-P)

Скорови домена подршка, уопште узев, су имали минималне варијације и у томе је сличан домену емотивно стање (табела 5; слика 8). Просечне вредности скова овог домена су чак и нешто веће у односу на преоперативни ниво, а претходно забележен тренд пада у првом постоперативном мерењу код укупног скова и два друга субдомена овде изостаје.

Табела 5. Вредности домена подршка

QoR-40-P	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-P-PO	22	30	29.46	1.679
QoR-40-P-1	24	30	29.58	1.118
QoR-40-P-2	22	30	29.42	1.628
QoR-40-P-3	28	30	29.85	.464
QoR-40-P-4	30	30	30.00	.000
QoR-40-P-7	30	30	30.00	.000



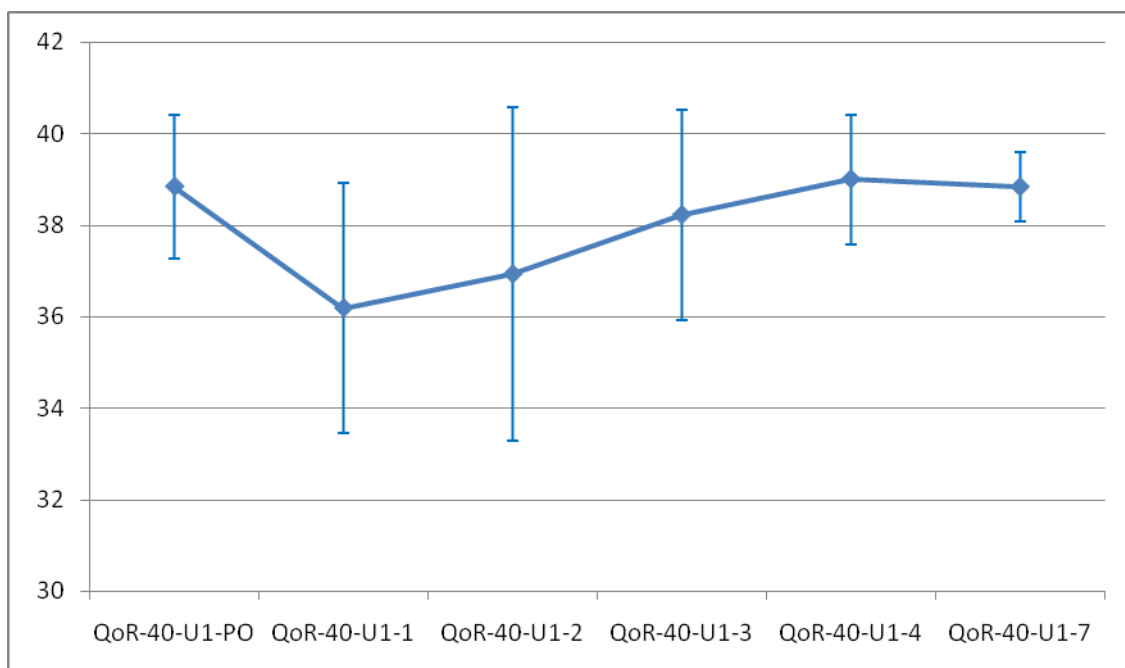
Слика 8. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена подршка (QoR-40-P) у шест студијских периода.

4.2.1.6 Домен удобност-1 (QoR-40-U1)

Варијације вредности скорова домена удобност-1 су такође биле врло мале (табела 6; слика 9). У првом постоперативном мерењу се регистровао пад од око 7%, да би се на крају студијског интервала вредност практично изједначила са преоперативним скором.

Табела 6. Удобност (1)

QoR-40-U1	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-U1-PO	33	40	38.84	1.58
QoR-40-U1-1	27	40	36.18	2.73
QoR-40-U1-2	23	40	36.92	3.64
QoR-40-U1-3	29	40	38.22	2.29
QoR-40-U1-4	37	40	39.00	1.41
QoR-40-U1-7	38	40	38.83	0.75



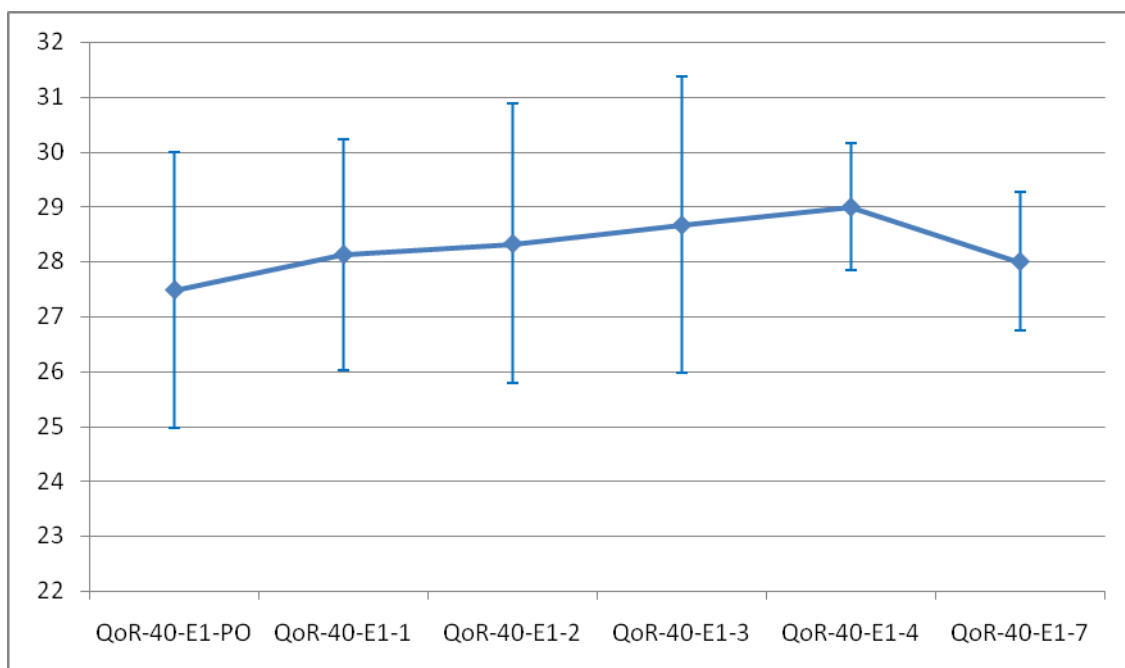
Слика 9. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена удобност-1 (QoR-40-U1) у шест студијских периода.

4.2.1.7 Домен емоционално стање-1 (QoR-40-E1)

Током студије домен емоционално стање остаје претежно стабилан јер се ни у првом нити каснијим студијским интервалима не региструје пад вредности скова. Штавише, средња вредност скова је благо повећана на крају студије а у четвртм мерењу највише, за око 5% у односу на почетни, преоперативни статус (табела 7; слика 10).

Табела 7. Вредности домена емоционално стање-1

QoR-40-E1	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-E1-PO	19	30	27.48	2.52
QoR-40-E1-1	22	32	28.13	2.11
QoR-40-E1-2	18	32	28.33	2.55
QoR-40-E1-3	22	39	28.67	2.70
QoR-40-E1-4	27	30	29.00	1.16
QoR-40-E1-7	26	29	28.00	1.26



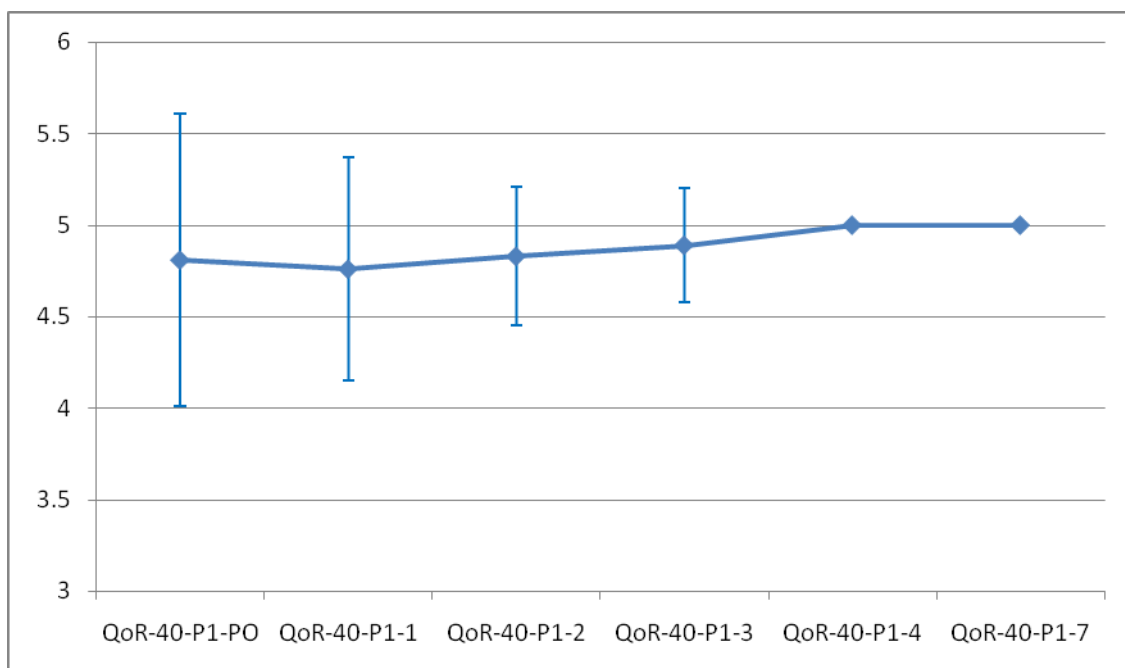
Слика 10. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена емоционално стање-1 (QoR-40-E1) у шест студијских периода.

4.2.1.8 Домен подршка-1 (QoR-40-P1)

Вредности скорова домена подршка-1 су показале мале варијације током студије а на крају истраживања су чак и нешто веће него преоперативно (табела 8; слика 11).

Табела 8. Вредности домена подршка-1

QoR-40-P1	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-P1-PO	1	5	4.81	0.80
QoR-40-P1-1	2	5	4.76	0.61
QoR-40-P1-2	4	5	4.83	0.38
QoR-40-P1-3	4	5	4.89	0.32
QoR-40-P1-4	5	5	5.00	0
QoR-40-P1-7	5	5	5.00	0



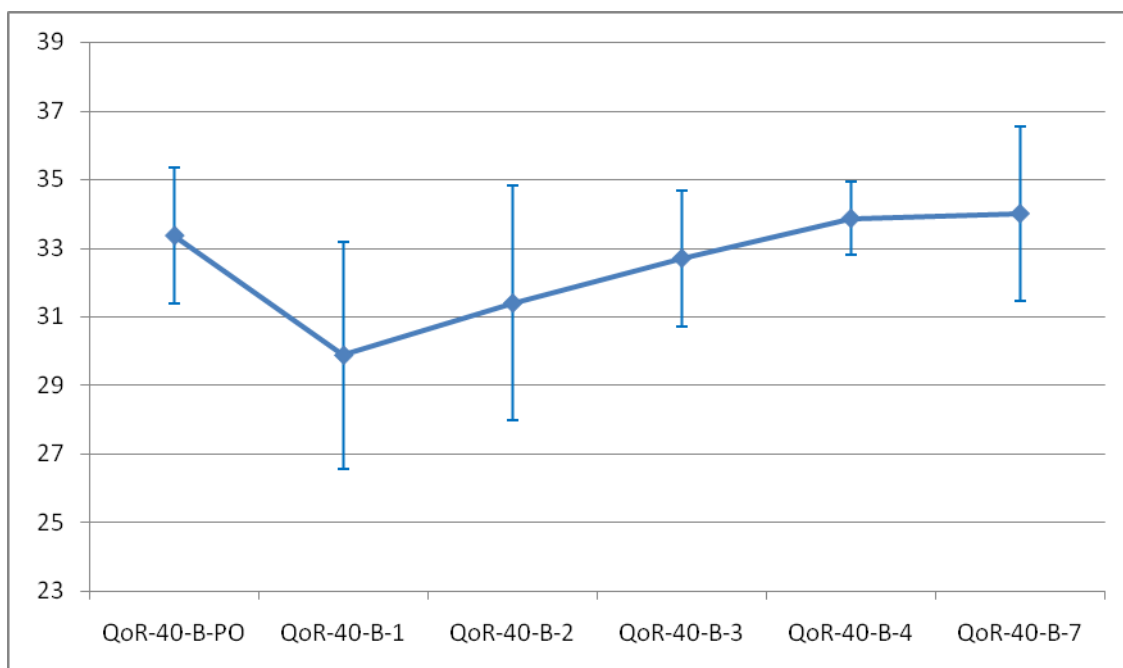
Слика 11. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена подршка-1 (QoR-40-P1) у шест студијских периода.

4.2.1.9 Домен бол (QoR-40-B)

Вредности скорова за домен бол су у првом постоперативном интервалу опале, просечно за око 10% након чега долази до постепеног увећања да би у последња два мерења скорови били приближно или нешто мало већи у односу на преоперативни период (табела 9; слика 12).

Табела 9. Вредности домена бол

QoR-40-B	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
QoR-40-B-PO	28	35	33.36	1.98
QoR-40-B-1	22	35	29.87	3.30
QoR-40-B-2	23	40	31.39	3.41
QoR-40-B-3	28	38	32.70	1.98
QoR-40-B-4	32	35	33.86	1.07
QoR-40-B-7	32	39	34.00	2.53



Слика 12. Средње вредности (\pm стандардна девијација) скова домена бол (QoR-40-B) у шест студијских периода.

4.2.2 Тренд вредности скорова QoR-40

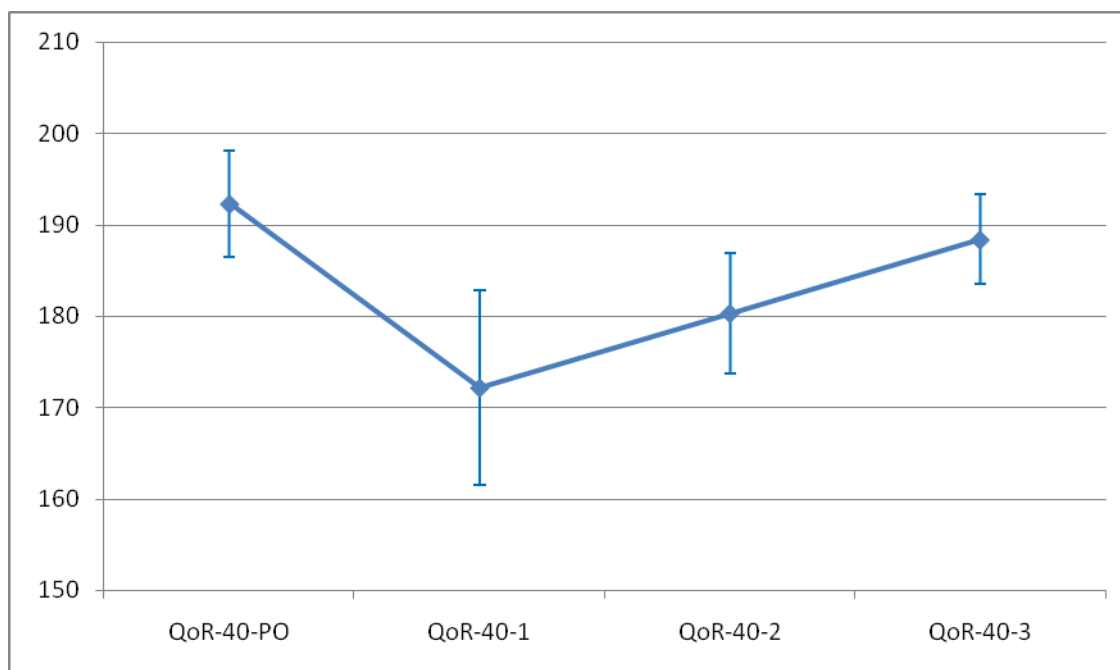
Тренд је анализиран кроз промену скова тј. аритметичку средину разлика између вредности скова за различите студијске визите, употребом упареног Т теста. Треднови у вредностима укупног скова као и у скоровима субдомена су анализирани само код подгрупе испитаница код којих су прикупљени потпуни подаци (без недостајућих вредности), током свих студијских интервала. Уопште узев, један део испитаница је нерадо и нередовно одговарао на питања из студијског упитника, иако су дале добровољни пристанак за учешће у студији и тај пристанак нису повукле током истраживања. Имајући у виду важеће етичке стандарде који уважавају став и интерес испитаника а не самог истраживања, вредности скорова код таквих пацијената су рачунате као изостале, из логистичких разлога.

4.2.2.1 Укупни скор QoR-40

Тренд укупног скова квалитета опоравка код ове студијске подгрупе је указао на сличан пад у првом постоперативном мерењу као и на читавој студијској популацији уз опоравак на крају интервала праћења (табела 10, слика 13). Статистичка анализа је утврдила да су разлике између прва четири мерења у укупном QoR-40 скору (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) биле статистички значајне ($p < 0,001$; ANOVA-repeated measures), при чему се вредности скорова у другом мерењу (први дан) и трећем мерењу (други дан) статистички значајно разликују од осталих вредности ($p < 0,05$; ANOVA-repeated measures, pairwise comparisons). Овакав тренд јасно указује на чињеницу да непосредно после операције долази до значајног пада квалитета живота, мерено кроз QoR-40, али да се релативно брзо успоставља преоперативни ниво функционалности болесница и то након око 72 сата.

Табела 10. Тренд укупног скорa квалитета опоравка.

QoR-40	Средња вредност	СД
QoR-40-ПО	192.31	5.822
QoR-40-1	172.15	10.676
QoR-40-2	180.31	6.575
QoR-40-3	188.38	4.925



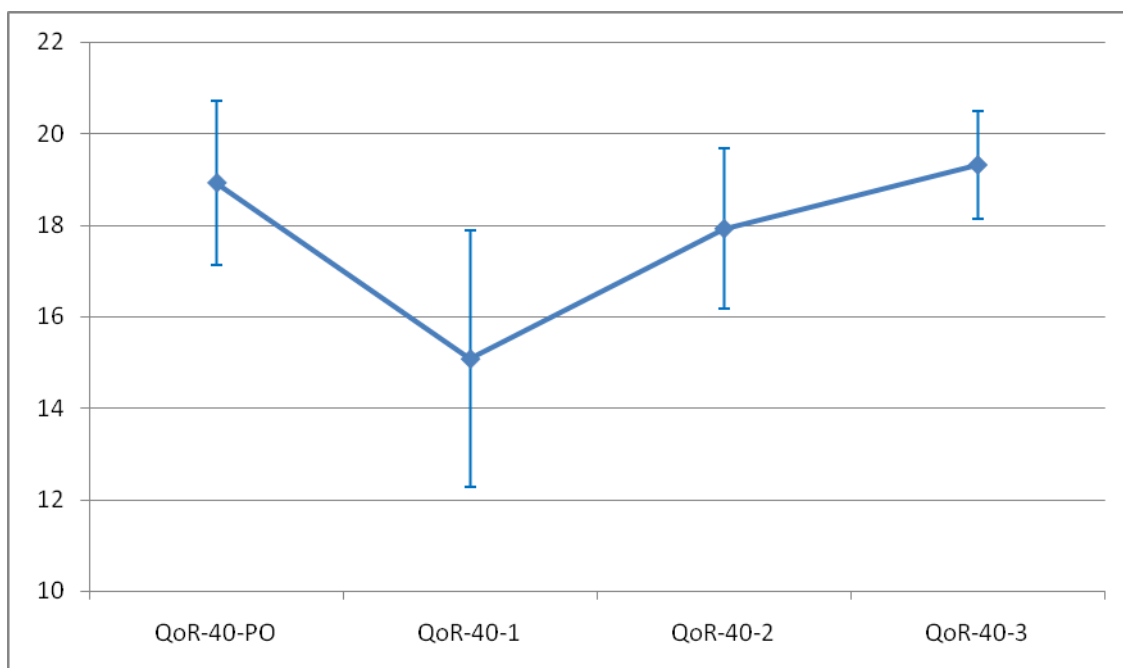
Слика 13. Квалитет постоперативног опоравка – тренд укупног скорa

4.2.2.2 Скор домена удобност (QoR-40-U)

Тренд укупног скорa опоравка за домен удобност у овој субпопулацији такође прати тренд вредности код читаве студијске групе. Првог постоперативног дана долази до пада за око 20% да би се на крају студијског интервала успоставиле преоперативне вредности (табела 11, слика 14). Статистичка анализа је указала да су разлике скорова између прва четири мерења домена удобност, QoR-40-U (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) биле такође статистички значајне ($p=0,003$; ANOVA-repeated measures) при чему се вредности у другом мерење (први постоперативни дан) статистички значајно разликују од осталих ($p<0,05$; ANOVA-repeated measures, pairwise comparisons).

Табела 11. Тренд квалитета опоравка за домен удобност.

QoR-40-U	Средња вредност	СД
QoR-40-U-PO	18.92	1.801
QoR-40-U-1	15.08	2.813
QoR-40-U-2	17.92	1.754
QoR-40-U-3	19.31	1.182



Слика 14.Квалитет опоравка за модалитет удобност - тренд

4.2.2.3 Скор домена емоционални статус (QoR-40-E)

Тренд скова квалитета опоравка за домен емоционални статус у овој субопулацији такође прати вредности тренда читаве студијске групе (табела 12). Статистичка анализа је доказала да разлике између прва четири мерења у овом домену, QoR-40-E (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) нису биле статистички значајне ($p=0,069$; ANOVA-repeated measures).

Табела 12. Тренд скова квалитета опоравка за домен емоционални статус.

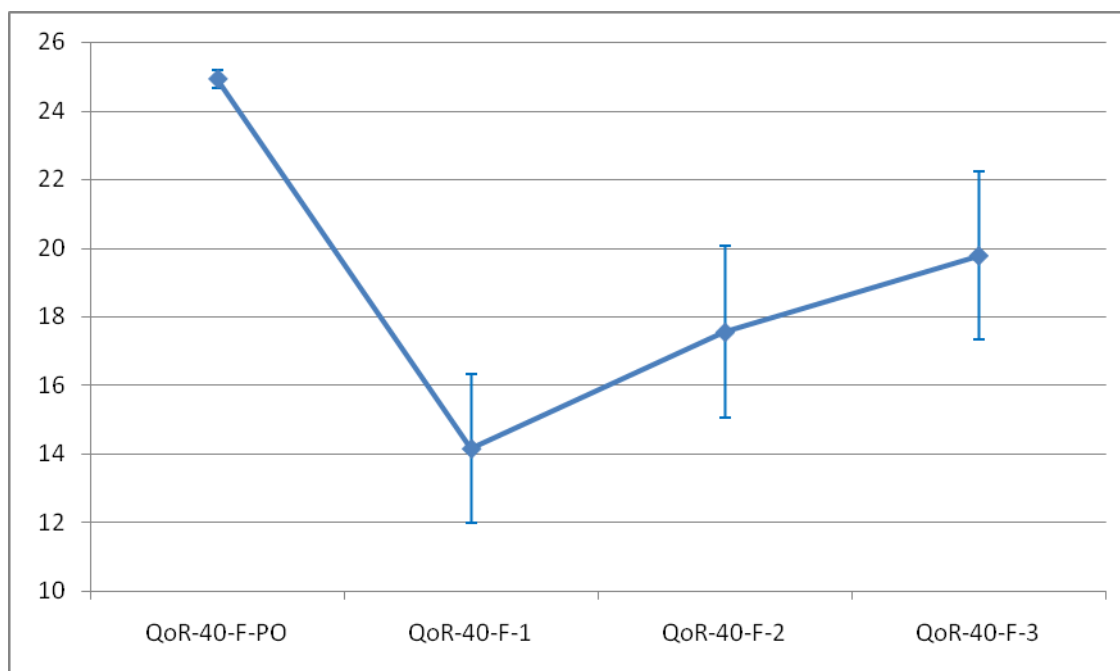
QoR40-E	Средња вредност	СД
QoR-40-E-PO	12.92	2.50
QoR-40-E-1	12.69	1.93
QoR-40-E-2	13.23	1.48
QoR-40-E-3	14.69	1.80

4.2.2.4 Скор домена физичка независност (QoR-40-F)

Анализа тренда квалитета опоравка за домен физичка независност је доказала значајан пад скорова (табела 13; слика 15). Разлике су високо статистички значајне, укупно за сва мерења ($p < 0.001$; ANOVA-repeated measures), при чему је разлика значајна код првог постоперативног мерења док између скорова у трећем и четвртном студијском интервалу није било разлике ($p=0.067$; ANOVA-repeated measures, pairwise comparisons). Очигледно је да је овај домен изразито (негативно) упливисан оперативним захватом (пад у првом постоперативном мерењу за око 45%) и да је опоравак спорији него код других модалитета постоперативног опоравка.

Табела 13 . Тренд скорова квалитета опоравка за домен физичка независност

QoR-40-F	Средња вредност	СД
QoR-40-F-PO	24.92	0.28
QoR-40-F-1	14.15	2.15
QoR-40-F-2	17.54	2.50
QoR-40-F-3	19.77	2.46



Слика 15. Тренд скорова квалитета опоравка за домен физичка независност

4.2.2.5 Скор домена подршка (QoR-40-P)

Анализа тренда вредности скорова квалитета опоравка за домен подршка (QoR-40-P) у овој студијској субпопулацији је потврдила одсуство значајнијих варијација (табела 14). Разлике између прва четири мерења у скоровима овог домена, QoR-40-P (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) нису биле статистички значајне ($p=0,309$; ANOVA-repeated measures).

Табела 14. Тренд скорова квалитет опоравка за домен подршка

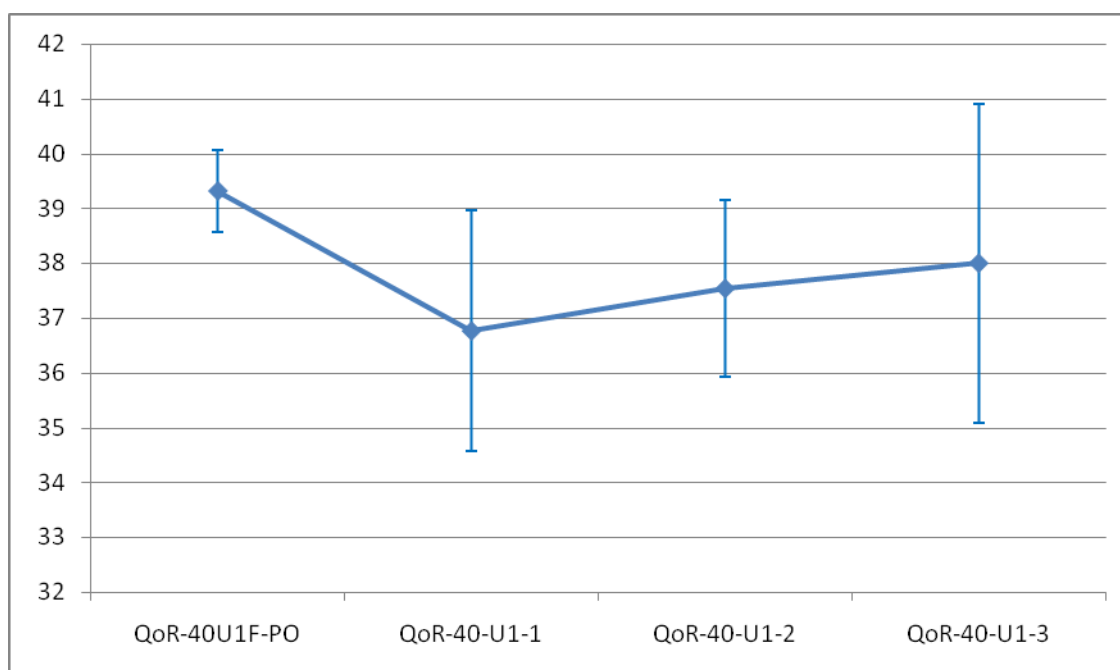
QoR-40-P	Средња вредност	СД
QoR-40-P-PO	29.85	0.56
QoR-40-P-1	29.54	0.97
QoR-40-P-2	29.62	0.77
QoR-40-P-3	29.77	0.60

4.2.2.6 Скор домена удобност-1 (QoR-40-U1)

Тренд просечног скорa квалитета за домен удобност-1 (QoR-40-U1) је указао на постојање значајног пада у првом постоперативном интервалу уз каснији опоравак, приближан преоперативним вредностима. Статистичка анализа је доказала да су разлике, свеукупно, између прва четири мерења у скоровима овог домена, QoR-40-U1 (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) биле високо статистички значајне ($p = 0,001$; ANOVA-repeated measures). При томе, вредности у првом мерењу (после операције) се статистички значајно разликују од вредности скорова овог домена код другог и трећег мерења и ниже су за око 7% у односу на преоперативни статус ($p > 0.05$; ANOVA-repeated measures, pairwise comparisons) (табела 15; слика 16).

Табела 15. Тренд скорова квалитет опоравка за домен удобност-1

QoR-40-U1	Средња вредност	СД
QoR-40-U1-PO	39.31	0.75
QoR-40-U1-1	36.77	2.20
QoR-40-U1-2	37.54	1.61
QoR-40-U1-3	38.00	2.92



Слика 16. Тренд скорова квалитет опоравка за домен удобност-1

4.2.2.7 Скор домена емотивно стање-1 (QoR-40-E1)

Анализом тренда вредности скорова квалитета опоравка у домену емотивно стање-1, QoR-40-E1, нису установљене статистички значајне разлике између прва четири мерења (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) ($p = 0,501$; ANOVA-repeated measures). Овај модалитет квалитета живота остаје стабилан у постоперативном периоду код болесница у студијској подгрупи (табела 16).

Табела 16. Тренд скорова квалитета опоравка за домен емотивно стање-1

QoR-40-E1	Средња вредност	СД
QoR-40-E1-PO	27.69	2.06
QoR-40-E1-1	28.46	1.66
QoR-40-E1-2	28.54	1.13
QoR-40-E1-3	29.62	2.96

4.2.2.8 Скор домена подршка-1 (QoR-40-P1)

Анализом тренда вредности скорова квалитета опоравка у домену подршка-1, QoR-40-P1, нису установљене статистички значајне разлике између прва четири мерења (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) ($p = 0,276$; ANOVA-repeated measures). Овај модалитет квалитета живота остаје стабилан у постоперативном периоду код болесница у студијској подгрупи (табела 17).

Табела 17. Тренд скорова квалитета опоравка за домен подршка-1

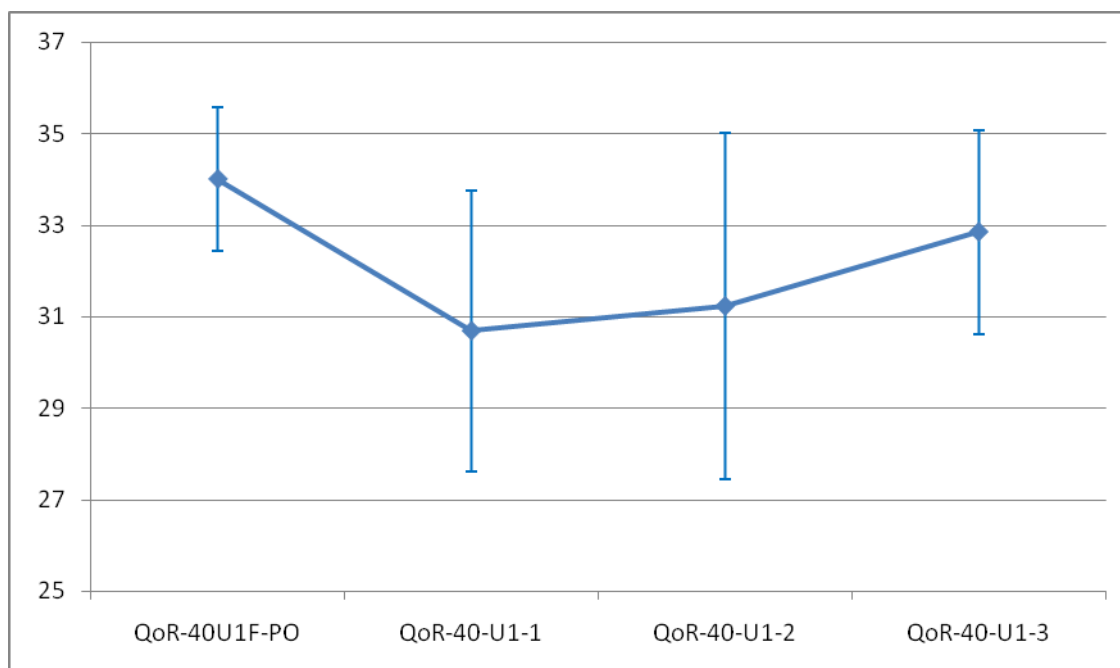
QoR-40-P1	Средња вредност	СД
QoR-40-P1-PO	5.00	0
QoR-40-P1-1	4.80	0.41
QoR-40-P1-2	4.87	0.35
QoR-40-P1-3	4.93	0.26

4.2.2.9 Скор домена бол (QoR-40-B)

Анализа тренда квалитета опоравка за домен бол (QoR-40-B) је показала значајан пад просечног скору у овој студијској подгрупи за око 10 % (табела 18; слика 17). При томе, разлике, свеукупно, између прва четири мерења за овај домен, QoR-40-B (пре операције, први дан, други дан, трећи дан) су биле статистички значајне ($p=0,024$; ANOVA-repeated measures). Вредности скору у првом мерењу (пре операције) се статистички значајно разликују од другог мерења ($p<0,05$; ANOVA-repeated measures) док међусобне разлике у скору у другим студијским интервалима нису биле значајне. Вредности средњих вредности скорова овог домена на крају студије су нешто ниже него постоперативно, али су стандардне девијације знатне магнитуде због чега таква разлика није достигла статистичку значајност.

Табела 18. Тренд скорова квалитета опоравка за домен бол

QoR-40-B	Средња вредност	СД
QoR-40-B-PO	34.00	1.58
QoR-40-B-1	30.69	3.07
QoR-40-B-2	31.23	3.79
QoR-40-B-3	32.85	2.23



Слика 17. Тренд скорова квалитета опоравка за домен бол

4.2.3 Утицај аналгетика на квалитет постоперативног опоравка

Квалитет постоперативног опоравка је анализиран у три подгрупе болесница које су класификоване према примењеном аналгетику (кеторолак, морфин, кетопрофен). Број испитаница који је примио парацетамол је био недовољан за валидну статистичку анализу. Разлике преоперативних средњих вредности укупног QoR-40 скорa као и вредности осталих домена између три подгрупе нису биле статистички значајне ($p > 0.05$; ANOVA). Дакле, подгрупе испитаница према студијским аналгетикима су биле приближно приближно хомогене у погледу базалних укупног скорa тако и скорова поједначних модалитета опоравка (табела 19).

Табела 19. Вредности QoR-40 у подгрупама примењених аналгетика

QoR домен	Лек	Н	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
QoR-40-PO	З	6	184.17	9.347	171	200
	М	11	193.64	5.662	181	200
	К	8	185.88	12.438	165	197
QoR-40-U-PO	З	6	18.00	1.673	16	20
	М	12	18.58	2.275	13	20
	К	8	18.38	1.598	16	20
QoR-40-E-PO	З	6	11.83	3.189	8	15
	М	12	12.50	2.844	7	15
	К	8	11.13	3.441	6	15
QoR-40-F-PO	З	6	24.33	1.211	22	25
	М	10	24.60	.966	22	25
	К	8	24.63	.518	24	25

QoR-40-P-PO	З	6	30.00	.000	30	30
	М	10	29.80	.632	28	30
	К	9	28.67	2.693	22	30
QoR-40-U1-PO	З	6	38.83	.753	38	40
	М	10	39.30	.823	38	40
	К	8	38.25	2.550	33	40
QoR-40-E1-PO	З	6	26.17	3.920	19	30
	М	10	28.40	1.265	27	30
	К	8	27.50	2.390	23	30
QoR-40-P1-PO	З	6	4.33	1.633	1	5
	М	10	5.00	.000	5	5
	К	9	4.89	.333	4	5
QoR-40-B-PO	З	6	32.33	1.862	30	35
	М	10	34.40	.843	33	35
	К	8	32.63	2.560	28	35

З-кеторолак, М-морфин, К-кетопрофен

Анализа промена укупног QP-40 скорa указује да врста лека из групе аналгетика статистички значајно утичу на квалитет опоравка само у првом постоперативном интервалу ($p=0.039$; ANOVA). При томе, најмањи пад скорa QP-40 се уочава у подгрупи испитаница које су примале кетопрофен, око 10% што је значајно ниже него код подгрупа које су примале кеторолак и морфин где тај пад износи нешто преко 20% (табела 20)

Табела 20. Вредности промене укупног QoR-40 скорa од преоперативног до првог постоперативног дана

Подгрупа аналгетика	Н	Ср. вред.	СД	Мин	Мах
Кеторолак	6	23.1667	17.22111	7	54
Морфин	11	25.6364	12.04386	4	46
Кетопрофен	8	10.625	6.52331	-1	18
Укупно	25	20.24	13.45139	-1	54

4.3 ЦИТОКИНИ

Студија је обухватила одређивање концентрације четири цитокина (IL-17, IF- γ , IL-10, TGF- β) у пет узоракa крви пацијенткиња узетих преоперативно (0) као и у четири постоперативна временска интервала (1, 2, 3, 4). Анализирани су: апсолутне концентрације, утицај аналгетика и других придружених фактора и повезаност са постоперативним опоравком.

4.3.1 Вредности цитокина у студијској популацији

Концентрације цитокина у читавој студијској популацији су одређиване у пет узоракa крви испитаница узетих преоперативно и у 4 постоперативна интервала.

Основна анализа у овом делу је обухватила апсолутне вредности концентрација IL-17, IF- γ , IL-10 и TGF- β .

4.3.1.1 Интерлеукин-17 (IL-17)

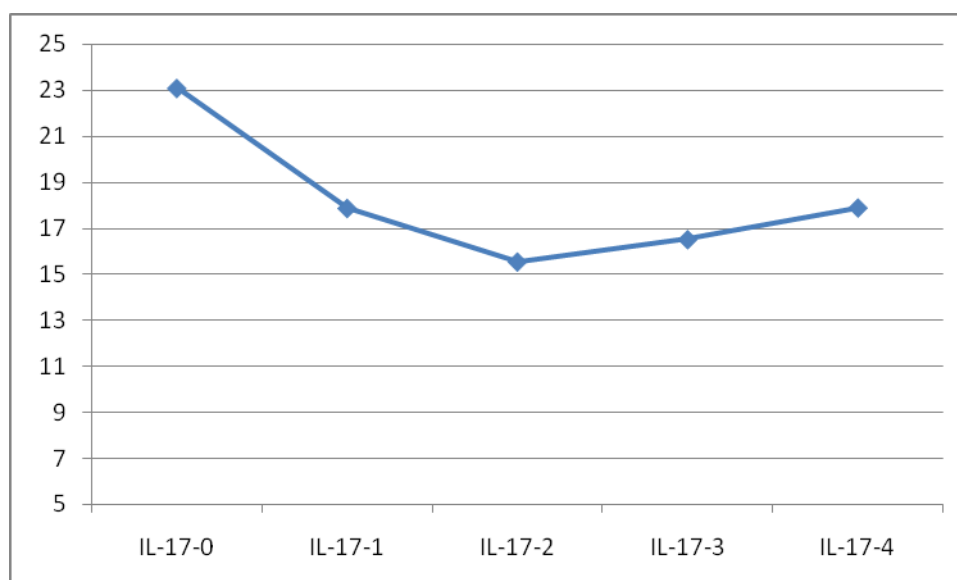
Разлике између вредности концентрација IL-17 првог (преоперативног, IL-17_0) и другог (првог постоперативног, IL-17_1) мерења су биле статистички значајне ($p=0,016$; Wilcoxon Signed Rank test) као и разлике између првог (преоперативног) и трећег (другог постоперативног) узорка ($p=0,007$; Wilcoxon Signed Rank test). Разлике концентрација IL-17 између узорака осталих студијских интервала нису биле статистички значајне ($p>0.05$; Wilcoxon Signed Rank test) (табела 21; слика 18).

Табела 21. Вредности IL-17 током студије у укупној студијској популацији

Период	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.	Медијана
ИЛ-17_0	51	25.01	21.43	6.99	158.94	23.09
ИЛ-17_1*	50	20.44	12.09	4.38	71.03	17.86
ИЛ-17_2*	50	20.32	14.07	7.07	66.75	15.53
ИЛ-17_3	50	22.82	21.86	3.70	151.01	16.50
ИЛ-17_4	50	22.43	18.73	3.75	129.29	17.88

* $p<0.05$ у односу на преоперативну вредност

Подаци за вредности концентрације IL-17 код појединачних болесника показују значајну интериндивидуалну варијабилност што је условило да разлике концентрација IL-17, свеукупно (истовремено у свим мерењима) нису достигле статистичку значајност ($p = 0.072$; Friedman test).



Слика 18. Концентрације IL-17 у пет студијских узорака (медијана).

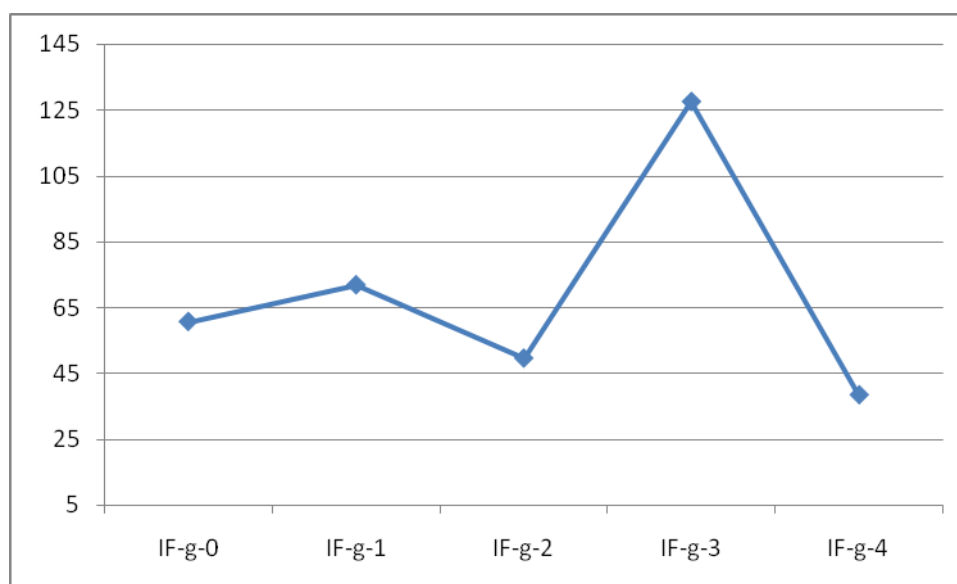
4.3.1.2 Интерферон- γ (IF- γ)

Разлике концентрација IF- γ између различитих узорака током студије су свеукупно биле статистички значајне, указујући на одређени тренд ($p=0,010$; Friedman test). Статистички значајне разлике вредности концентрација су уочене између преоперативног, с једне и првог ($p=0,020$; Wilcoxon Signed Rank test) и четвртог постоперативног мерења, с друге стране ($p=0,004$; Wilcoxon Signed Rank test), као и између другог и трећег постоперативног мерења ($p=0,018$; Wilcoxon Signed Rank test) и између трећег и четвртог постоперативног мерења ($p=0,005$; Wilcoxon Signed Rank test) (табела 22; слика 19).

Табела 22. Вредности IF- γ (pg/mL) током студије у укупној студијској популацији

Период	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.	Медијана
IF- γ _0	47	740.59	1846.86	0	11394.76	60.70
IF- γ _1*	47	646.32	1826.61	0	10302.69	71.85
IF- γ _2	47	591.72	1956.49	0	12845.64	49.56
IF- γ _3	47	739.85	1845.77	0	11634.34	127.56
IF- γ _4*	47	255.03	671.81	0	3759.23	38.42

* $p<0.05$ у односу на преоперативну вредност



Слика 19. Концентрације IF- γ (pg/mL) у пет студијских узорака (медијана).

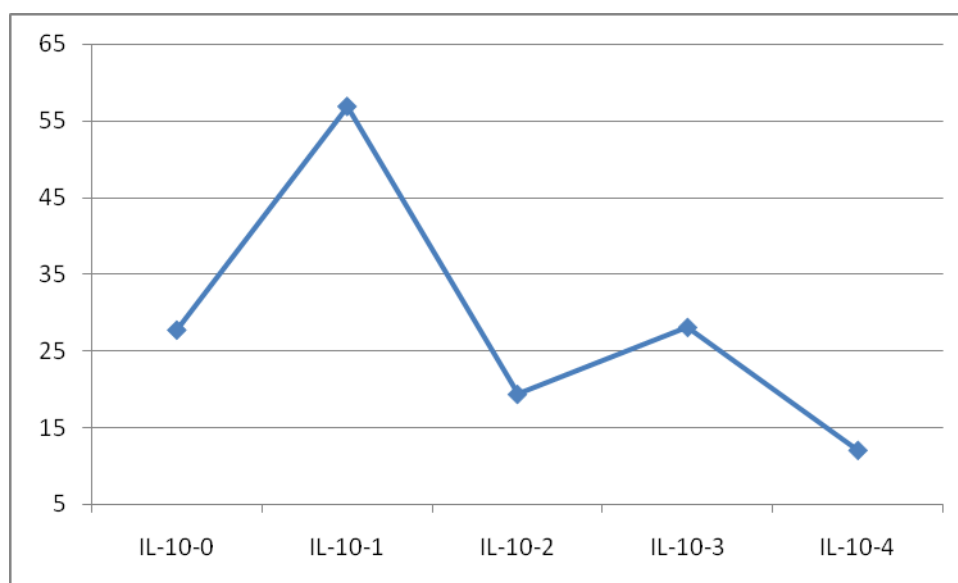
4.3.1.3 Интерлеукин-10 (IL-10)

Разлике концентрација IL-10 између мерења су биле, свеукупно, статистички значајне ($p<0,001$; Friedman test). При томе, статистички значајне разлике су уочене између концентрација између преоперативног и другог постоперативног мерења ($p=0,007$; Wilcoxon Signed Rank test) као и између првог и другог постоперативног мерења ($p<0,001$; Wilcoxon Signed Rank test). Остале разлике нису биле статистички значајне ($p>0.05$) (табела 23; слика 20).

Табела 23. Вредности IL-10 (pg/mL) током студије у укупној студијској популацији

Период	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.	Медијана
IL-10_0	48	77.15	126.44	0	557.66	27.74
IL-10_1	48	88.46	108.70	10.15	690.76	56.87
IL-10_2*	48	47.03	91.73	0	540.07	19.36
IL-10_3	48	58.69	81.42	0	330.46	28.08
IL-10_4	48	45.45	57.46	0	296.60	12.06

* $p < 0.05$ у односу на преоперативну вредност



Слика 20. Концентрације IL-10 (pg/mL) у пет студијских узорак (медијана).

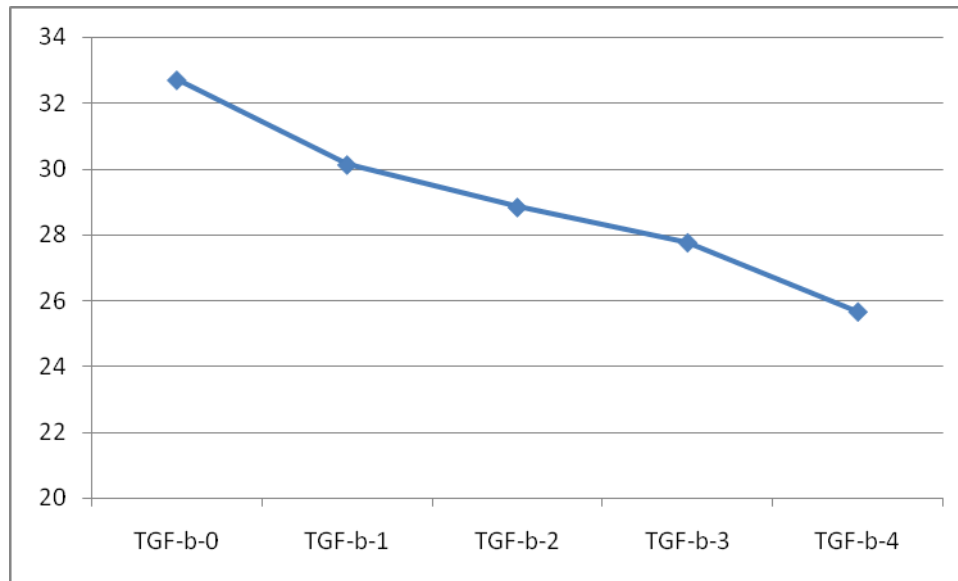
4.3.1.4 Трансформишући фактор раста β (TGF- β)

Међусобне разлике у концентрацијама TGF- β у узорцима узетих током студијских интервала су биле статистички значајне ($p = 0,016$; Friedman test). При томе, статистички значајне разлике су уочене између преоперативног, с једне, и трећег ($p = 0,023$; Wilcoxon Signed Rank test) и четвртог постоперативног мерења с друге стране ($p = 0,001$; Wilcoxon Signed Rank test). Разлике концентрација између осталих узорак нису статистички значајне (табела 24; слика 21).

Табела 24. Вредности TGF- β (ng/mL) током студије у укупној студијској популацији

Период	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.	Медијана
TGF- β _0	47	34.35	13.59	14.27	67.84	32.70
TGF- β _1	47	32.72	14.47	14.54	80.59	30.13
TGF- β _2	47	30.51	11.08	14.17	63.68	28.84
TGF- β _3*	47	29.71	11.58	14.78	74.61	27.77
TGF- β _4*	47	27.33	12.83	14.00	69.95	25.67

* $p < 0.05$ у односу на преоперативну вредност



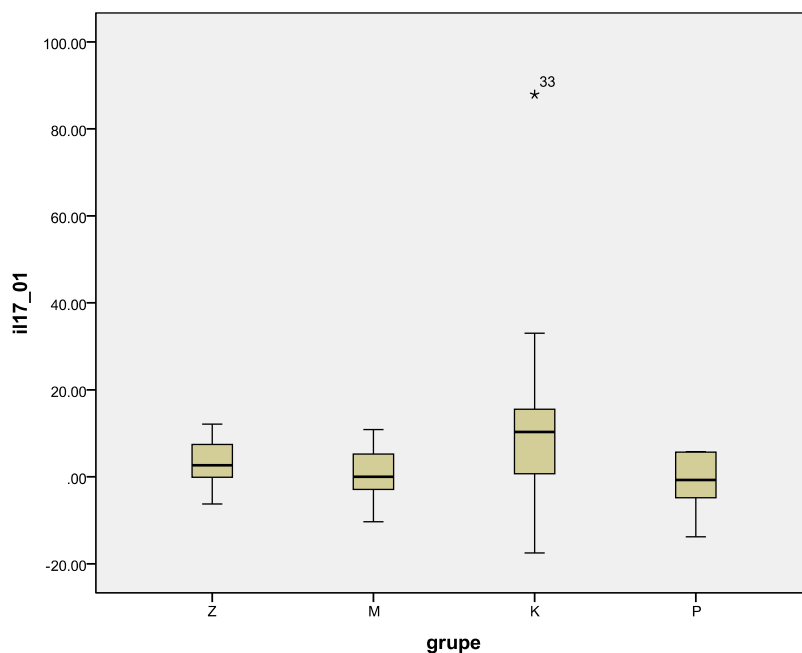
Слика 21. Концентрације TGF- β (ng/mL) у пет студијских узорка (медијана).

4.3.2 Утицај аналгетика и придружених фактора на концентрације цитокина

4.3.2.1 Утицај аналгетика на концентрације цитокина

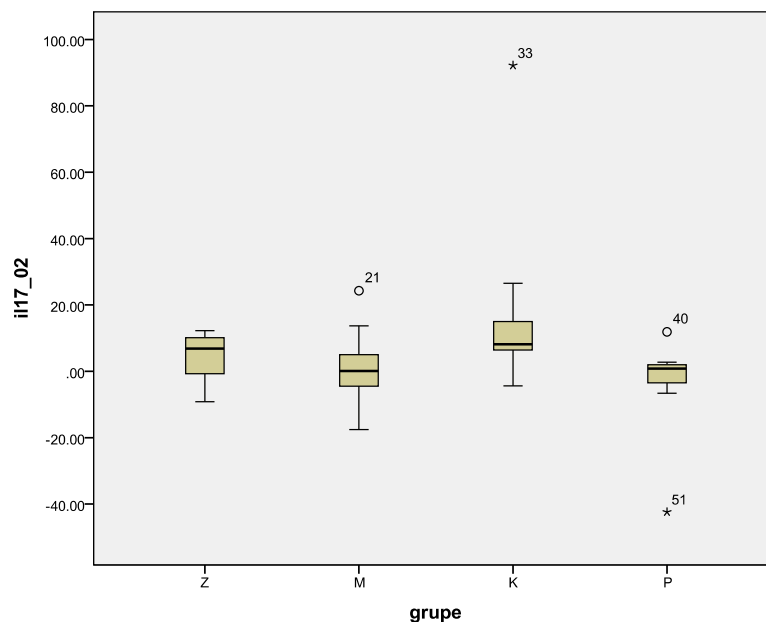
4.3.2.1.1 Интерлеукин 17 (IL-17)

Вредности концентрација IL-17 (између два узорка) су значајно различите између првог мерења (0), с једне и другог (1. постоперативни узорак, $p=0.031$; Kruskal Wallis test) и трећег мерења (2. постоперативни узорак, $p=0,030$; Kruskal Wallis test), с друге стране у подгрупама болесница сврстаних према врсти примењеног аналгетика. Промена између почетног и првог постоперативног узорка је била најизраженија код кетопрофена и у овој подгрупи је достигла статистичку значајност у односу на подгрупу која је примала морфин ($p=0.012$; Mann-Whitney-Wilcoxon test) (слика 22).



Слика 22. Медијане промена IL-17 између студијских подгрупа, према врсти аналгетика (Z-кеторолак, M-морфин, K-кетопрофен, P-парацетамол) од првог (преоперативног) до другог узорка (3 сата од операције).

Додатно, поређење разлика у вредностима IL-17 у другом постоперативном узорку у односу на преоперативни узорак је показало да постоји разлика између подгрупа испитаница које су примале кетопрофен, с једне стране у односу на подгрупе болесница које су примале морфин ($p=0.007$ Mann-Whitney-Wilcoxon test) и парацетамол ($p=0.031$ Mann-Whitney-Wilcoxon test) (слика 23).



Слика 23. Медијане промена IL-17 између студијских подгрупа, према врсти аналгетика, Z-кеторолак, M-морфин, K-кетопрофен, P-парацетамол од првог (преоперативно) до трећег узорка (24 сата од операције).

Пошто је највећа и статистички једино значајна промена (пад) забележен код кетопрофена ($p=0.018$; Friedman test), извршена је ближа анализа података за ову подгрупу испитаница. Показало се да су разлике у концентрацијама IL-17 у овој подгрупи биле значајне и то између првог и другог узорка (мерења) ($p=0,016$; Wilcoxon Signed Rank test), првог и трећег ($p=0,003$) и првог и четвртог ($p=0,041$; Wilcoxon Signed Rank test). Разлика је такође била статистички значајна између трећег (тада достиже најмању вредност) и петог узорка ($p=0,041$; Wilcoxon Signed Rank test) (табела 25).

Табела 25. Вредности IL-17 (у подгрупи испитаница које су примале кетапрофен

Период	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.	Медијана
IL-17_0	14	34.16	36.91	11.03	158.94	24.10
IL-17_1	14	20.10	16.86	4.38	71.03	14.51
IL-17_2	14	19.40	16.59	7.07	66.75	13.91
IL-17_3	14	27.61	38.61	4.76	151.01	12.79
IL-17_4	14	28.98	31.65	9.53	129.29	18.82

4.3.2.1.2 Остали цитокини

Разлике промена IF- γ у подгрупама испитаница према појединачним аналгетицима нису биле статистички значајне ($p>0.05$; Kruskal Wallis test). Разлике промена IL-10 у подгрупама испитаница према појединачним аналгетицима нису биле статистички значајне ($p>0.05$; Kruskal Wallis test). Разлике промена TGF- β у подгрупама испитаница према појединачним аналгетицима нису биле статистички значајне ($p>0.05$; Kruskal Wallis test).

4.4.2.2 Утицај осталих придружених фактора на концентрације цитокина

Придружени фактори за које је извршена анализа значајности утицаја на промене концентрације цитокина су били старост, пушење и трајање операције. Промене концентрација IL-17, TGF- β и IF- γ између појединачних узорка крви одговарајућих студијских интервала нису биле статистички значајно повезане са годинама живота испитаница, трајањем операције и пушењем. Испитивањем утицаја старости, пушења и трајања операције помоћу мултиваријантне линеарне регресије показало је да на промену IL-10 у прва 3 сата утиче само старост ($p=0.046$), тако да већој старости одговарају веће промене IL-10.

4.3.3 Међусобна корелација концентрација цитокина током студије

Међусобна повезаност концентрација појединачних цитокина у узорцима крви узетих у одговарајућим периодима је анализирана за вредности промена између појединих периода мерења.

У периоду од преоперативног студијског мерења до мерења у узорку 3 сата од операције постоји позитивна корелација између IL-10 и IF- γ ($r=0,301$, $p=0,038$; Spearman's rho), IF- γ и TGF- β ($r=0,340$, $p=0,018$; Spearman's rho). У периоду од

преоперативног студијског мерења до мерења у узорку 24 сата од операције постоји негативна корелација између IL-10 и IF- γ ($r=-0,736$, $p<0,001$; Pearson correlation). У периоду од мерења у узорку 24 сата операције до мерења у узорку 48 сати од операције постоји позитивна корелација између IL-10 и IF- γ ($r=-0,724$, $p<0,001$; Pearson correlation). У периоду мерења у узорку 48 сати од операције до мерења у узорку 72 сата од операције постоји позитивна корелација између IF- γ и TGF- β ($r=-0,348$, $p=0,017$; Pearson correlation) и TGF- β и IL-17 ($r=-0,736$, $p<0,001$; Pearson correlation).

4.3.4 Повезаност вредности QoR-40 и концентрација цитокина

Анализа значајности повезаности тренда у променама квалитета опоравка и концентрација цитокина је учињена за вредности укупног QoR-40 скорa. Овом анализом је установљено да промене концентрација IL-10, TGF- β , IL17 и IF- γ нису биле статистички значајно повезане са промена у укупном скору QoR-40 у студијским периодима ($p> 0.05$; Pearson correlation).

4.4 ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА

Током студије одређиване су концентрације (у плазми) укупно седам једињења и ензима за које се зна да представљају индикаторе статуса оксидационог стреса и антиоксидационе одбране: индекс липидне пероксидације мерен као TBARS, азот моноксид (NO), водоник пероксид (H_2O_2), супероксидни ањон (O_2^-), супероксид дизумутаза (SOD), редуковани глутатион (GSH) и каталаза (CAT).

4.4.1 Параметри оксидационог стреса у студијској популацији

Сви параметри су одређивани преоперативно и у још четири постоперативна интервала, тј. 3 сата након, 24, 48 и 72 сата након операције као што је назначено у методи (табела 26). Општа карактеристика вредности ових параметара је велика варијабилност како код истих испитаница тако и у оквиру различитих група тј. код различитих болесница (интер- и интраваријабилност). Просечно, магнитуда стандардних девијација је била од близу 60% па до скоро 190% од припадајуће средње вредности.

Табела 26. Параметри оксидационог стреса током студије у читавој студијској групи

Параметар	Мин.	Макс.	Средња вредност	СД
TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)	0.13	11.21	3.23	2.26
	0.04	10.97	3.63	2.62
	0.71	9.70	3.74	2.43
	0.60	10.00	3.64	2.30
	0.26	10.24	3.49	2.17
NO (nmol/ml)	1.42	33.24	10.37	7.62
	1.46	31.44	9.58	7.88
	1.38	31.77	10.15	7.93
	0.04	35.20	9.38	7.56
	1.75	23.01	10.12	7.05
H_2O_2 (nmol/ml)	0.07	11.24	2.47	2.32
	0.16	5.43	1.94	1.41
	0.14	7.09	1.85	1.43
	0.32	9.92	2.36	1.83
	0.30	11.08	2.96	2.33
O_2^- (nmol/ml)	1.32	20.43	6.91	4.25
	.99	16.15	6.54	3.83
	.99	23.07	8.53	5.07
	.33	23.07	7.48	5.27
	.66	23.39	6.19	4.66
SOD ($\text{U/gHgbx}10^4$)	8.14	5095.64	584.09	1065.07
	8.14	7277.16	695.88	1298.00
	16.28	3858.36	507.21	675.36
	8.10	3402.50	570.68	692.91
	32.56	2629.22	605.77	672.69
GSH (nmol/ml)	820.51	21128.21	5826.29	4093.37
	410.26	52923.08	6586.89	8246.42
	1025.00	40000.00	6869.54	6654.74
	205.13	77948.72	8059.70	12197.24
	410.26	51282.05	7556.66	8731.99
CAT ($\text{U/gHgbx}10^4$)	7.00	607.75	133.45	144.76
	2.80	295.30	103.06	87.99
	2.50	625.00	97.27	117.51
	2.00	610.25	115.43	123.14
	1.80	595.30	102.15	143.04

4.4.2 Тренд вредности параметара оксидационог стреса

4.4.2.1 Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Разлике вредности TBARS-а између пет мерења (T0-преоперативно и четири постоперативне вредности, T1, T2, T3, T4) нису биле статистички значајне ($p=0,633$; Fiedman test). Иако је забележен тренд повећања овог маркера, због значајне варијабилности индивидуалних података (10 и више пута), ове разлике нису, у просеку, достигле статистичку значајност (табела 27).

Табела 27. Индекс липидне пероксидације-TBARS ($\mu\text{mol/ml}$) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	29	3.54	2.59	0.13	11.21
T1	29	4.04	2.93	0.04	10.97
T2	29	4.21	2.73	0.71	9.70
T3	29	3.99	2.57	0.60	10.00
T4	29	3.49	2.17	0.26	10.24

4.4.2.2 Азот моноксид (NO)

Разлике вредности концентрације NO између пет мерења такође нису биле статистички значајне ($p=0,956$; Fiedman test). Код овог параметара је забележена и већа варијабилност, од 20-30 пута у односу најмањих и највећих вредности (табела 28).

Табела 28. Тренд вредности NO (nmol/ml) током студијских мерења

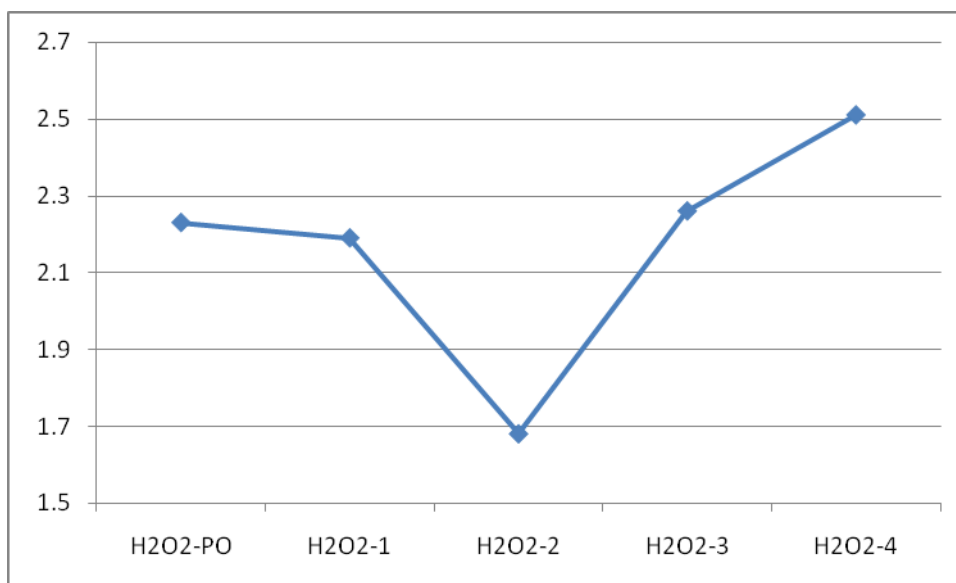
Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	29	10.24	6.63	1.42	23.47
T1	29	10.18	7.79	1.46	31.44
T2	29	11.44	7.59	1.38	26.60
T3	29	10.76	7.82	.04	35.20
T4	29	10.12	7.05	1.75	23.01

4.4.2.3 Водоник пероксид (H_2O_2)

Водоник пероксид је параметар оксидационог стреса чије су вредности током студије статистички значајно флукуирале. Вредности бележе пад у првом, другом и трећем интервалу мерења, да би на крају студије достигле вредности приближно онима у преоперативном периоду (табела 29; слика 25). Статистички значајне разлике су забележене у целом тренду ($p=0,011$; Fiedman test) као и између појединих интервала мерења. Тако је значана разлика доказана између првог и трећег мерења ($p=0.044$; Wilcoxon Signed Ranks test), другог и четвртог ($p=0.040$; Wilcoxon Signed Ranks test), трећег и четвртог ($p=0.003$; Wilcoxon Signed Ranks test), трећег и петог ($p=0.007$; Wilcoxon Signed Ranks test) и другог и петог ($p=0.036$; Wilcoxon Signed Ranks test). Свеукупно, највећи пад је забележен у трећем узорку крви тј. 24 сата након операције, за око трећину у односу на преоперативне вредности.

Табела 29. Вредности H₂O₂ (nmol/ml) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	27	2.65	2.30	0.48	11.24
T1	27	2.11	1.31	0.16	5.43
T2	27	2.08	1.25	0.14	4.58
T3	27	2.59	1.54	0.44	5.62
T4	27	2.96	2.34	0.30	11.08



Слика 25. Медијане вредности H₂O₂ током студијских мерења

4.4.2.4 Супероксидни анјон (O₂⁻)

Разлике између пет мерења O₂ нису статистички значајне (p=0,293; Fiedman test) (табела 30).

Табела 30. Вредности O₂⁻ (nmol/ml) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	29	6.24	3.04	1.32	13.18
T1	29	6.52	3.77	0.99	14.70
T2	29	7.91	4.67	0.99	23.07
T3	29	6.56	4.67	0.33	23.07
T4	29	6.29	4.72	0.66	23.39

4.4.2.5 Супероксид дизмутаза (SOD)

Разлике у тренду вредности између пет мерења SOD нису биле статистички значајне (p=0,769; Fiedman test). Код овог параметара је забележена још већа варијабилност, просечно у рангу величине 10² до близу 10³ (табела 31).

Табела 31. Вредности SOD ($U/gHgb \times 10^4$) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	31	642.80	1237.00	8.14	5095.64
T1	31	889.62	1522.65	8.14	7277.16
T2	31	359.47	354.45	16.28	1391.94
T3	31	626.52	791.88	16.30	3402.50
T4	31	605.77	672.69	32.56	2629.22

4.4.2.6 Редуковани глутатион (GSH)

Разлике тренда вредности између пет мерења редукованог глутатиона-GSH такође нису биле статистички значајне ($p=0,114$; Fiedman test). Слично претходним параметрима, детектована је знатана варијабилност индивидуалних података, више десетина пута (табела 32).

Табела 32. Вредности редукованог глутатиона (GSH) (nmol/ml) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	31	5454.66	4464.90	820.51	21128.21
T1	31	6531.01	9169.65	410.26	52923.08
T2	31	6974.39	7429.45	1025.00	40000.00
T3	31	9515.30	14367.34	205.13	77948.72
T4	31	7556.66	8731.99	410.26	51282.05

4.4.2.7 Каталаза (CAT)

Разлике тренда вредности између пет мерења САТ нису биле статистички значајне ($p=0,317$; Fiedman test). Варијабилност индивидуалних вредности овог параметара је била знатна, али нешто мања него код напред наведених анализираних параметара (табела 33).

Табела 33. Тренд вредности САТ ($U/gHgb \times 10^4$) током студијских мерења

Интервал	Број	Средња вредност	СД	Мин.	Макс.
T0	30	134.95	160.69	7.75	607.75
T1	30	84.27	76.76	2.80	278.30
T2	30	109.14	134.52	2.50	625.00
T3	30	117.00	141.61	2.00	610.25
T4	30	102.15	143.04	1.80	595.30

4.4.3 Утицај аналгетика и придружених фактора на параметре оксидационог стреса

Укупна студијска популација је класификована у подгрупе према примењеном аналгетику и према присуству или. одсуству придружених фактора од интереса и то: животне доби, дужине операције и пушења. Имајући у виду велику варијабилност ових параметара, статистичка анализа је обухватила непараметарске методе, а мере централне тенденције су приказане у виду медијане, 25-ог и 75-ог перцентила.

4.4.3.1 Утицај аналгетика на параметре оксидационог стреса

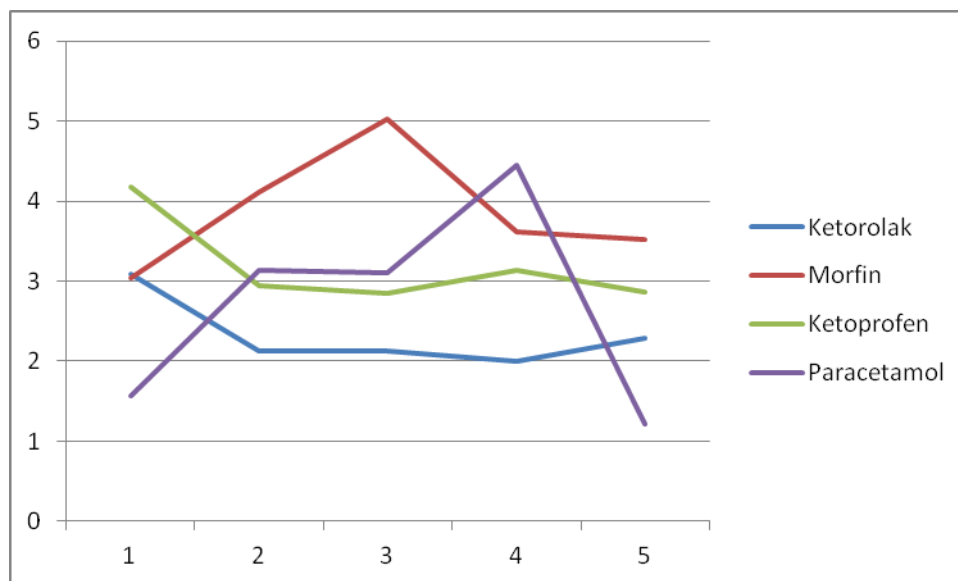
Анализа утицаја аналгетика на параметре оксидационог стреса и антиоксидативне обране је извршена за четири студијске подгрупе, према примењеном леку: кеторолак, морфин, кетопрофен и парацетамол. Од свих анализираних параметара разлике између подгрупа су доказане само за вредности TBARS (табела 34; слика 26).

Разлике средњих вредности промена TBARS од нултог до трећег мерења између лекова су биле статистички значајне ($p=0,031$; Kruskal Wallis test). У овом временском интервалу разлика је била значајна између кеторолака и парацетамола ($p=0.004$; Mann-Whitney-Wilcoxon test), између морфина и парацетамола ($p=0.015$; Mann-Whitney-Wilcoxon test). Разлике средњих вредности промена од трећег до четвртог мерења између кетопрофена и парацетамола је индикативна ($p=0.062$; Mann-Whitney-Wilcoxon test). Свеукупно, у датом временском периоду највећи пораст вредности TBARS (од T0 до T3) је забележен у подгрупи испитаница које су примале парацетамол. Остале разлике у вредностима TBARS-а, у осталим временским интервалима међу аналгетичима нису биле статистички значајне.

Табела 34. Вредности TBARS ($\mu\text{mol/ml}$) између група аналгетика

Узорак	Групе	П25	Медијана	П75
T0	Кеторолак	1.95	3.08	3.13
	Морфин	1.95	3.04	7.72
	Кетопрофен	2.31	4.18	5.15
	Парацетамол	0.13	1.56	
T1	Кеторолак	0.87	2.12	4.08
	Морфин	1.68	4.12	6.16
	Кетопрофен	1.81	2.95	7.24
	Парацетамол	2.80	3.13	
T2	Кеторолак	1.05	2.12	4.14
	Морфин	2.70	5.02	8.29
	Кетопрофен	2.25	2.84	6.65
	Парацетамол	1.44	3.10	
T3	Кеторолак	0.97	2.00	2.72
	Морфин	2.05	3.62	5.96
	Кетопрофен	2.46	3.13	7.37
	Парацетамол	2.93	4.45	

T4	Кеторолак	1.01	2.29	3.93
	Морфин	2.13	3.52	5.05
	Кетопрофен	2.33	2.86	5.71
	Парацетамол	0.67	1.21	



Слика 26. Вредности TBARS ($\mu\text{mol/ml}$) између група аналгетика

Разлике средњих вредности промена од нултог до првог, од нултог до другог, од нултог до трећег, од нултог до четвртог мерења за вредности NO, H_2O_2 , O_2^- , SOD, GSH, CAT између подгрупа пацијенткиња које су примале различите аналгетике нису биле статистички значајне ($p > 0.05$; Kruskal Wallis test).

4.4.3.2 Утицај осталих придружених фактора на параметре оксидационог стреса

Вредности промене TBARS између преоперативног и трећег узорка и старост су били у негативној корелацији ($r = -0.359$, $p = 0.032$; Spearman's rho). С друге стране, промене CAT између узорка у току трајања студије су биле у позитивној корелацији ($r = 0.363$, $p = 0.025$; Spearman's rho). Вредности промене O_2^- између преоперативних узорка и узорка у првом постоперативном периоду и време трајање операције су били у статистички значајној негативној корелацији ($r = -0.388$, $p = 0.016$; Spearman's rho). Вредности промене CAT између преоперативних узорка и узорка у другом студијском периоду и дужина трајања операције су били у статистички значајној позитивној корелацији ($r = 0.327$, $p = 0.045$; Spearman's rho).

Промене вредности TBARS, NO, H_2O_2 , GSH и CAT код пушача и непушача се не разликују значајно. У остала два параметра, O_2^- и SOD детектоване су одређене промене између ове две подгрупе испитаница.

Промене вредности O_2^- од нултог до првог мерења између пушача и непушача се статистички значајно разликују ($p = 0.005$; Mann-Whitney-Wilcoxon test), јер се код непушача медијана вредности O_2^- повећава за 0.65, а код пушача се смањује за 2.30. Додатно, промене вредности O_2^- од нултог до другог мерења између пушача и

непушача се статистички значајно разликује ($p=0.008$; Mann-Whitney-Wilcoxon test), с тим што се код непушача медијана вредности O_2^- повећава за 3.62, а код пушача се смањују за 1.64 (табела 35).

Табела 35. Промена вредности O_2^- између подгрупа пушача и непушача

Интервал промене ¹	Пушачи ²	P25	P50	P75
$O_2^-_1$	0	-0.33	0.65	2.30
	1	-3.30	-2.30	-.99
$O_2^-_2$	0	0	3.62	4.94
	1	-3.62	-1.64	2.30
$O_2^-_3$	0	-1.32	0.50	4.62
	1	-4.28	-1.64	1.98
$O_2^-_4$	0	-2.64	-1.16	1.65
	1	-3.62	-2.31	0.33

1-промена у односу на преоперативну вредност; 2- 0: непушачи, 1: пушачи; P25, P50, P75-перцентили

Промене вредности SOD између преоперативног и првог постоперативног узорка између подгрупа пушача и непушача се такође статистички значајно разликују ($p=0.045$; Mann-Whitney-Wilcoxon test). При томе се код непушача медијана вредности SOD повећава за 252 а код пушача се смањује за 269 (табела 26).

Табела 36. Промена вредности SOD између пушача и непушача

Интервал промене	Пушачи	P25	P50	P75
SOD_1	0	-32.56	252.34	529.10
	1	-1554.74	-268.62	-81.40

0: непушачи, 1: пушачи; P25, P50, P75-перцентили

4.4.4 Међусобна корелација параметара оксидационог стреса

Анализа међусобне повезаности вредности појединачних параметара оксидационог стреса, за одређене студијске периоде (мерења) су показале да није постојала статистички значајна асоцијација сем у једном случају. Промене вредности између преоперативних узорака и узорака крви узетих у трећем периоду између TBARS и H_2O_2 су биле у статистички значајној негативној корелацији ($r=-0.303$, $p=0.046$; Spearman's rho).

4.4.5 Повезаност QoR-40 и параметара оксидационог стреса

Анализа повезаности параметара оксидационог стреса је показала статистички значајну негативну корелацију преоперативних вредности O_2^- и преоперативног скорa за домен удобност (QoR-40-U-PO, $r=-0.414$, $p=0.036$; Pearson correlation) и домен емоционални статус (QP-40-E-PO, $r=-0.523$, $p=0.006$; Pearson correlation). Између укупног преоперативног QoR-40 скорa и скорова осталих домена на почетку студије, с

једне стране и свих других преоперативних вредности параметара оксидационог стреса, с друге, није било статистички значајне корелације.

Од свих параметара оксидационог стреса једино су код H_2O_2 уочене статистички значајне разлике у тренду промена током студије. Међутим, није било статистички значајне корелације између тренда промене овог параметра и тренда промене укупног QoR-40 скорa током студије између првог и другог ($p=0.804$; Spearman's rho) и другог и трећег студијског периода ($p=0.910$; Spearman's rho).

4.5 ПОВЕЗАНОСТ ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА И ЦИТОКИНА

Анализа значајности повезаности појединачних студијских анализа ове две групе је извршена само код оних параметара за које су показане статистичке значајне разлике у вредностима током студије: H_2O_2 , с једне и IL-17, IL-10, IF- γ и TGF- β , с друге стране. Установљено је да не постоји статистички значајна повезаност јер је промена вредности H_2O_2 била независна од тренда концентрација било ког од четири испитивана цитокина ($p>0.05$; Spearman's rho).

5 ДИСКУСИЈА

Студијска популација у нашем истраживању је укључила пацијенткиње које су подвргнуте абдоминалној хистеректомији а које су у постоперативном току прималне различите аналгетике ради контроле постоперативног бола. Према својим демографским и клиничким карактеристикама оне репрезентују болеснике у свакодневној клиничкој пракси. Болеснице су просечно биле на почетку шесте деценије живота, скоро половина је било пушача дувана, просечно трајање операције је износило нешто више од сата а дистрибуција примењених аналгетика указује на преовлађујућу примену нестероидних антиинфламаторних лекова.

5.1 КВАЛИТЕТ ОПОРАВКА

Постоперативни опоравак је комплексан клинички модалитет чије су патофизиолошке основе тек делом познате и тек последњих декада постају предмет интензивнијег истраживања. Након хируршке интервенције пацијент је суочен са непријатностима које је хируршка интервенција проузроковала и онда када нема компликација, а сваки од симптома и дисфункција неминовно води ка компромитовању квалитета живота у одређеном временском периоду који представља време опоравка од операције (Myles et al., 2000). И мада су традиционални клинички исходи у праћењу ефикасности операција и анестезије и даље важни и незаобилазни, постоји читав спектар симптома са којима се пацијент суочава у периоду опоравка који значајно нарушавају квалитет живота, а већину од њих, могуће је измерити само из перспективе пацијента.

У нашој студији квалитет опоравка болесница после абдоминалне хистеректомије је праћен коришћењем QoR-40 упитником, који је стандардизован и валидиран за студије сличног дизајна (Myles et al., 2000). QoR-40 садржи 40 питања, обухвата 5 клинички значајних димензија (домена): емотивно стање (9 питања), физички комфор (12 питања), психолошку подршку (7 питања), физичку независност (5 питања) и бол (7 питања) и испуњава све критеријуме за које се данас сматра да су неопходни да би се један инструмент користио у сврхе клиничког истраживања (Myles et al., 2000; Herrera et al., 2007).

Најниже вредности укупног скорa овог инструмента клиничке процене су забележене 24 сата од операције, када су биле ниже за око 20-25% у односу на преоперативни скор. Ова разлика је високо статистички значајна, да би се касније смањивала након 48 сати и 72 сата се вратила на преоперативне вредности. Овакав профил квалитета опоравка је, у основи, сличан резултатима других студија сличног дизајна као наше истраживање (Kluivers, 2008; Catro-Alves et al., 2011; Kane, 2012; Bekker et al., 2013). Приликом сагледавања вредности скорова по различитим димензијама које садржи упитник, показало се да у емоционалном статусу (QoR40-E и QoR-40-E1) као у димензији психолошке подршке (QoR-40-P и QoR-40-P1) не долази до значајнијих варијација у непосредном постоперативном периоду. Емоционално стање има тенденцију пораста вредности у односу на преоперативне, мада се разлика није показала статистички значајна. За разлику од ових димензија, промене у физичкој

независности (QoR-40-F) су значајне и веће него у укупном скору QoR-40. Тако у првом постоперативном дану долази до пада у овом домену до 45% у односу на преоперативне вредности, као што је нешто спорији и тренд враћања на преоперативне вредности. Такође, у домену за бол (QoR-40-B) долази до значајног пада у првом постоперативном дану, вредности су око 10% ниже него преоперативне, са тендецијом враћања на преоперативне вредности трећег постоперативног дана.

Разлика између група пацијенткиња тј., утицај лекова на QoR-40 се показала статистички значајна само 24 сата након операције и то у групи која је добијала кетопрофен. У овој подгрупи скор опоравка је био статистички значајно бољи тј. дошло је до најмањег пада у односу на преоперативне вредности. Промене параметара оксидационог стреса (индекса липидне пероксидације мереног TBARS методом и H₂O₂) нису показале корелацију са квалитетом опоравка, као што ни промене у цитокинима IL-17, IL-10, TGF-β, и IF-γ нису показале статистички значајну корелацију са променама у укупном QoR-40.

5.2 ЦИТОКИНИ

5.2.1 Интерлеукин 17

Слично другим проинфламаторним цитокинима и IL-17 има плејотропне, проинфламаторне ефекте и луче га, осим Th-17 лимфоцита и многе ћелије урођене имуности, највише оне које су локализоване у првој баријери домаћина (кожи, мукози црева и плућа) (Yao, 1995; Sua and Tato, 2010). Сматра да је његова основна улога протективна у одбрани домаћина од микроорганизама. Међутим, прекомерна активација IL-17 посредованог имунског одговора може допринети ткивном оштећењу због чега се он повезује са патогенезом појединих аутоимуних болести као и са асептичном инфламацијом удруженом са акутним и хроничним метаболичким болестима (Hirota et al, 2011).

У нашој студији концентрације интерлеукина 17 су опадале, са максималним падом око 20%-40 %, у трећем узорку (24 сата од операције). На крају студије, у узорку трећег дана од операције, концентрације се враћају на приближно базалне вредности. У доступној литератури подаци о вредностима овог цитокина у крви након хируршких интервенција су раритенти. У два клиничка истраживања су забележене значајне флукуације IL-17 у постоперативном периоду између различитих експерименталних групе. У првој студији, код болесника подвргнутих радикалној простатектомији због неоплазије, концентрације IL-17 су 24 сата након операције биле више пута изнад преоперативних, након чега се 72 сата после интервенције оне враћају приближно на препорекативни ниво (Fant et al., 2013). При томе, вредности у групи која је системски примала морфин су биле значајно више него у групи са епидуралном аналгезијом. У другој студији, код особа оперисаних од колоректалне неоплазије регистроване је значајан пораст овог цитокина само у групи која је примала инхалациону анестезију (Tulman et al, 2011).

Међутим, резултати ових студија нису директно упоредиви са нашим истраживањем. У оба случаја, ради се о болесницима са неопластичним обољењима за које се зна да је цитокински профил већ значајно измењен основном болешћу. Даље, у првој студији концентрације IL-17 су одређиване тек након *in vitro* стимулације, док у другој студији није извршена ближа анализа утицаја аналгетске терапије. Неколико других студија је испитивало концентрације IL-17 код болесника претходно подвргнутим трансплантацијама органа, али ти резултати нису упоредиви са нашим студијом, имајући у виду специфичности ове популације болесника и то да су имunosупресиви најчешће примењивани периоперативно, што, само по себи, модулира цитокински одговор. Са друге стране, у студији у којој је праћена концентрација IL-17 код пацијената после тешких траума показано је да у веома малом проценту пацијената (6%) долази до повећања концентрације овог цитокина у периоду од неколико дана интензивног лечења и да се тежина повреда код ових пацијената не разликује од оних код којих се вредности нису мењале те је закључак да анализа IL-17 нема прогностички значај код политрауматизованих пацијената (Frangen et al., 2008).

Наши резултати указују, такође, да постоје значајне разлике између појединих аналгетика, при чему, најснажније супримирајуће дејство има Кетопрофен. Подаци о утицају аналгетика и анестетика коришћених у нашем истраживању на концентрације IL-17 у серуму болесника после операција су такође врло ретки и већином из експерименталних студија. Показано је да морфин смањује продукцију IL-17 у мишијем моделу опиоидне зависности и плућне инфекције стрептококом (Ma et al., 2010). Такође, познато је да анестетици врло често супримирају синтезу цитокина, мада са различитим степеном код различитих лекова (Schneemilch et al., 2005). С друге стране, кетопрофен инхибира синтезу IL-17 на експерименталном мишијем моделу алегиског контактнoг дерматитиса у тестирању новог трансдермалног препарата (Shah et al., 2011).

У закључку, наши резултати сугеришу да је инфламаторни одговор посредован сигналним путем IL-17 атенуиран у послеоперативном периоду и да постоје одређене, значајне разлике међу појединим аналгетским протоколима. Овај ефекат је транзиторне природе, јер се почетне концентрације рестауришу око 3 дана после интервенције. Имајући у виду раритетне податке у досадашњој литератури, наши резултати имају карактер оригиналних сазнања у овој области.

5.2.1 Интерферон гама (IF- γ)

IF- γ је проинфламаторни цитокин (како урођене тако и адаптивне имуности) који има кључну улогу како у раној тако и у проинфламаторној адаптивној имуности, а његов недостаткак води ка повећаном ризику од инфекције (Schinkel, 2003; Prass et al., 2003; Schroder et al., 2004; Abbas et al., 2009). У нашој студији серумска концентрација IF- γ значајно расте код свих болесника у прва три сата након операције, да би након 48 сати достигла максимум. На крају периода праћења, трећег постоперативног дана, ниво IF- γ постаје значајно нижи у односу на почетне вредности. Такође, у резултатима наше студије није било разлика у лучењу овог цитокина између пацијенткиња различитих група. Овакав профил указује да се у раној постоперативној фази развија

проинфламаторни одговор а у каснијој је инфламација супримирана. Познато је да након хируршке трауме прво наступа проинфламаторна фаза, са повећаним лучењем проинфламаторних цитокина а да у каснијем периоду наступа фаза имуносупресије (Angele and Faist, 2002).

Наишли смо на само једну студију која је пратила нивое овог цитокина после абдоминалне хистеректомије у којој се показало да су нивои овог цитокина значајно нижи после хистеректомије него што су преоперативне серумске вредности. Међутим, студијско мерење концентрација овог цитокина је обухватало преоперативног период и 30 дана након операције тако да не можемо вршити поређење за ранији постоперативни период. Такође у овој студији је показано да супституција естрогеном враћа серумске нивое IF- γ на преоперативне вредности (Kumru et al., 2006). Друге студије које су пратиле нивое IF- γ након великих абдоминалних операција су показале да до пода серумских вредности овог цитокина долази раније. Тако је једна студија показала да концентрација IF- γ опада првог постоперативног дана након абдоминалних операција и остаје нижа од преоперативних вредности и до девог постоперативног дана. Међутим ради се о хетерогеној популацији пацијената од којих је половина боловала од малигнух болести (Pirenne et al., 1995).

У студији у којој су мерене концентрације овог цитокина након холецистектомије долази до пада овог цитокина већ првог постоперативног дана а такође, ниже од преоперативних су и у студији која је пратила серумске нивое након аортокоронарног *by-pass-a* (Brune et al., 1999; Alrawi et al, 2001). Ове студије указују да обзиром да се ради о проинфламаторном цитокину, долази до нешто раније имуносупресије него код наших пацијенткиња (Brune et al., 1999; Alrawi et al., 2001).

Како се наша студија односи на специфичну популацију пацијената тј. само жена, а пошто је познато да постоје међуполне разлике у лучењу цитокина, тражили смо резултате студија које су пратиле разлике између лучења овог цитокина између мушкараца и жена. Резултати су донекле контрадикторни јер једна студија је показала да код мушкараца долази до значајног опадања лучења IF- γ од стране периферних крвних мононуклеарних ћелија стимулираних липополисахаридом, док се код жена такве промене не дешавају (Ono et al., 2005). Радило се о популацији пацијената којима је рађена тотална гастректомија због малигнух болести. Такође, ова студија је показала да постоје значајно више концентарције IL-10 код жена, што све указује да овакве промене доприносе повећаној склоности мушкараца за развој постоперативних инфекција или системског инфламаторног одговора.

Међутим, друга студија је показала да је крв здравих мушкараца (волонтера) производила значајно више TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 након стимулације високим концентрацијама липополисахарида него жена, док се IL-10 и IF- γ нису разликовали. (Aulock et al., 2006). Такође студија Wichmann-a је показала да код жена након колоректалних операција постоји више изражен проинфламаторни одговор који се огледао у IL-6, и такође значано мања супресија ћелијске имуности (Wichmann et al., 2003). Како је познато да је овај цитокин (IF- γ) значајан за одбрану од инфекција и да има ефекта у заштити од тумора, вршени су покушаји терапијске надокнаде у

постоперативном периоду са циљем смањења развоја метастаза и рекуренције карцинома, међутим студија Wiesenfeld-a је искључила клинички значајне користи од терапијске примене овог цитокина у те сврхе (Dunn et al., 2002; Wiesenfeld et al., 1995). Рани проинфламаторни ефекти IF- γ могу да буду и штетни на шта указују повољни ефекти блокаде овог цитокина у експерименталним условима на смањење фиброзових адхезија (Kosaka et al., 2008).

Какав утицај може имати интензитет постоперативног бола као и начин администрирања опиоидног аналетика на лучење проинфламаторних цитокина показано је у студији која је пратила нивое проинфламаторних цитокина IL-1 β и IL-6 у постоперативном периоду. Након абдоминалних операција у овој студијској популацији аналгезија је вођена на три различита начина (интермитентним болусима опијата, PCA-пацијент контролисана аналгезија и PCEA-пацијент контролисана епидурална аналгезија) и показало се да једино код пацијената са епидуралном аналгезијом не долази до повећања ових цитокина. Највећи пораст је забележен у групи која је добијала интермитентне болусе опијата, код којих је и интензитет бола био највиши. Међутим, без обзира на корелацију са интензитетом бола, не може се искључити утицај примењених лекова јер се аналгезија осим у начину апликације разликовала и по врсти примењеног опијата (меперидин, морфин, фентанил) (Beilin, 2003). Студија у којој су у постоперативном периоду мерени између осталих цитокина и нивои IF- γ , код пацијената након радикалне простатектомије, а којима је постоперативни бол лечен на два начина (PCA-пацијент контролисана аналгезија или PCEA-пацијент контролисана епидурална аналгезија) није показала да између ових група пацијената постоји разлика у промени IF- γ (Fant et al., 2013). Резултати ових студија ипак могу указати да је и начин администрације морфина (који је код наших пацијенткиња администриран у интермитентним интравенским болусима) могао утицати на продужени проинфламаторни одговор.

Студија која је испитивала утицај морфина на велики број цитокина, између њих и IF- γ , код пацијената који болују од малигних болести, није показала да овај лек утиче на концентрације IF- γ (Makimura et al., 2011). Нисмо наишли на студију која је истраживала утицај кетопрофена и кеторолака на лучење овог цитокина, мада је неколико студија експерименталног дизајна показало да нестероидни антиинфламаторни лекови могу стимулативно да утичу на његово лучење од стране Т лимфоцита и полиморфонуклеарних ћелија (Tsuboi et al., 1995)

На тачан временски ток профила концентрација IF- γ у постоперативном периоду могу да утичу многи чиниоци: аналгетици, анестетици, врста и интензитет хируршке трауме и бола, метод истраживања и друго (Alrawi et al., 2001). Показано је да су особе са одређеним типом полиморфизма гена за IF- γ (874A>T) склоније развоју постоперативних инфекција од особа без те мутације (Motoyama et al., 2009). Ипак, још увек нема доказа у том обиму да би се могла сачинити прецизна диференцијација временског тока промене концентрације IF- γ и тачног узрочно-последичног односа са факторима који ту концентрацију модификују. Циљане студије нису бројне, односе се на хетерогену популацију хируршких болесника и методолошки су разноврсне. Због тога,

даља истраживања у овој области треба да укажу на прави клинички значај улоге IF- γ у балансу про- и антиинфламаторних чинилаца током постоперативног периода.

5.2.4 Интерлеукин-10 (IL-10)

Концентрације IL-10 код болесница у нашој студији значајно флукутирају тако да 3 сата након операције долази до благог пораста који није статистички значајан да би после 24 сата дошло до појаве значајно нижих концентрација у односу на базални ниво. Три дана од операције, за разлику од IF- γ , долази до враћања концентрација IL-10 на преоперативне вредности. Такође, у резултатима наше студије није било разлика у лучењу овог цитокина између пацијенткиња различитих група. У погледу корелације са другим цитокинима, до трећег сата након операције постоји статистички значајна позитивна корелација IL-10 са IF- γ , док 24 сата након операције постоји статистички значајна негативна корелација између ова два цитокина, да би након тога, у периоду од 24-48 сати корелација поново била значајно позитивна. Овакав профил сугерише да највећи дисбаланс проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина постоји периоду око 24 сата након операције када заправо настаје померање баланса ка доминацији проинфламаторних цитокина.

Главна имунорегулаторна дејства овог цитокина се огледају у имunosупресији те се примарном функцијом сматра његово директно везивање за леукоците и тим путем спречавање ширења имунског одговора (Bijjiga and Martino, 2013). Готово све ћелије како урођене, тако и адаптивне имуности могу да стварају IL-10 и то укључујући дендритичне ћелије, макрофаге, маст ћелије, NK ћелије, еозинofile, неутрофиле, В лимфоците, CD8+Th, Th-1, Th-2, Th-17 лимфоците. Међутим постоје и функције овог цитокина које су означене као проинфламаторне и то се пре свега односи на дејства која испољава на В лимфоците, гранулоците и NK ћелије (Garra and Vieira, 2004; Roncarolo et al., 2006; Ozdemir et al., 2008; Sabatos-Peyton et al., 2010; Deo et al., 2010; Mauri and Bosma, 2012).

У неколико студија су мерене концентрације овог цитокина након хистеректомије, при чему су се поредиле вредности промене овог цитокина у односу на примењене анестетике и аналгетике. У студији код болесница којима је извршена абдоминална хистеректомија забележен је статистички значајан пораст и IL-10 и то 4 сата након операције, док су 24 сата након операције концентрације овог цитокина остале на вишим нивоима од базалних вредности (Rodriguez et al., 2007). Иако је у овој студији такође коришћен севофлуран, уз примену опиоидних аналгетика и нестероидних антиинфламаторних лекова, базалне концентрације IL-10 су ниже него код болесница у нашој студији. У ранијој студији код 20 болесница са абдоминалном хистеректомијом концентрације IL-10 су расле у постоперативном периоду и до 24 сата а 4 сата након операције су уочене значајне разлике у групи која је примала изофлуран у односу на ону која је примала пропофол, што указује на утицај анестетика на лучење овог цитокина (Gilliland et al., 1997).

С друге стране, други истраживачи су утврдили да код овог типа операције концентрације IL-10 достижу максимум знатно раније, другог сата од инцизије а да

потом брзо опадају, али при томе не долази до пада нижих од преоперативних вредности (Kim and Nahm, 2001). При томе, постоји разлика у тренду у односу на групу болесница које су примале морфин и ону која је додатно примала и кеторолак.

Иако се у до сада поменутих студијама радило о променама IL-10 након хистеректомије, није било наглашено да ли је урађена и тотална оваријектомија као код наших пацијенткиња. Какав је утицај естрадиола на лучење IF- γ и IL-10, показано је у студији Mataalka-е, у којој високе дозе естрадиола којима су били изложени узорци крви, стимулативно делују на лучење IL-10, док инхибирају продукцију IF- γ (Mataalka., 2003). Како се естрадиол синтетише једино у оваријумима и жутом телу (у зависности од фазе менструалног циклуса) као и плаценти за време трудноће, код пацијенткиња у нашој студији смо несумњиво имали нагли пад концентрација естрадиола (чији је полуживот 13-17 сати), тако да је могуће да се то одразило на велики дисбаланс у концентрацијама IF- γ и IL-10 24 сата након операције.

Код болесника са отвореном холецистектомијом је такође уочен пораст IL-10 али је он био већи код особа које су примале пропофол и ремифентанил него инхалациони анестетик-изофлуран (Ke et al., 2008). Сем тога, овај пораст је уочен брзо након почетка операције, 2 сата од инцизије, након чега је забележен пад на нивое сличне преоперативним вредностима.

Између болесника који су примали тоталну интравенску анестезију (TIVA) и изолфлуран су постојале разлике у тренду концентрација IL-10, са максималним порастом овог цитокина 3 сата након операције, већим у групи TIVA, при чему се 24 сата вратио на базалне вредности (Ionescu et al., 2013). Концентрације IL-10 су одређиване и код болесника оперисаних због неоплазија мокраћне бешике када нису детектоване значајне разлике 6-8 сати и 5 дана након интервенције (Sofra et al., 2013). Код болесника са великим уролошким интервенцијама серумски нивои IL-10 значајно расту али тек у шестом сату од почетка интервенције да би после 24 сата дошло до пада, приближно до нивоа базалних вредности (Mahdy et al., 2002). При томе су уочене разлике између болесника који су почели да примају диклофенак дан пре операције и постоперативно у односу на оне којима је ординирао плацебо тј. концентрације IL-10 су биле значајно више у групи која је примала диклофенак, док су концентрације IL-6 биле значајно ниже у овој групи. Такође, показано је да и кеторолак може утицати на концентрације овог цитокина после абдоминалне хистеректомије (Myung et al., 2001).

Севофлуран, који је примењен код наших болесница, не разликује се битно од других анестетика у погледу утицаја на концентрације IL-10. У великим колоректалним операцијама долази до пораста IL-10 у постоперативном периоду и код болесника код којих је примењена анестезија севофлуран-фентанил и код TIVA (пропофол-ремифентанил) (Kvanstrom et al., 2012). С друге стране, показано је да севофлуран смањује системски инфламаторни одговор код болесника са аортокоронарним *by-pass*-ом и да смањује концентрације IL-10 (Cho et al., 2009). Међутим, други истраживачи нису потврдили овакве резултате јер нису детектовали значајан утицај севофлурана на флукуације IL-10 у овој субпопулацији болесника (Kawamura et al., 2006). Такође, у неким студијама забележен је прогресиван пораст вредности интерлеукина-10 који се

одржавао и до 24 сата од великих елективних операција, независно од врсте примењене анестезије (Delogu et al., 2005).

После хируршких интервенција долази до значајних флукуација серумских вредности IL-10, а њихов образац зависи од врсте операције и, делом, од врсте примењених анестетика. У већини студија, пораст овог цитокина настаје непосредно након интервенције, унутар пар сати, да би потом дошло до враћања на базалне вредности после 24 сата од операције. Свеукупно студије које су проучавале утицај интравенских и инхалационих анестетика, пре свега пропофола и изофлурана, показале су да је пораст IL-10 већи у групама које су примале интравенску анестезију. Такође, показано да и аналгетици из групе нестероидних антиинфламаторних лекова (диклофенак и кеторолак) могу утицати на лучење овог цитокина. У нашој студији је се такве разлике нису уочиле за примењене лекове из ове групе (кеторолак и кетопрофен).

5.2.3 Трансформишући фактор раста бета (TGF- β)

Концентрације TGF- β код болесница у нашој студији лагано али прогресивно опадају тако да су у касном постоперативном периоду (48 и 72 сата од операције) значајно ниже него базалне вредности при чему не постоји разлика између група пацијенткиња у односу на аналгетике које су примале у постоперативном периоду. Такође, резултати су показали да није било разлике у лучењу овог цитокина између група пацијенткиња.

TGF- β синтетишу многе ћелије а у имунском систему се експримира примарно изоформа 1 (TGF- β 1) која се може детектовати у плазми. Доминантно дејство TGF- β на ћелије имунског система је супресивно, антиинфламаторно а значајно доприноси и контроли апоптозе, ангиогенезе, зарастању рана, имунорегулацији као и биологији тумора (Li et al., 2006; Prud'homme, 2007; Rubtsov and Rudensky, 2007; Wahl, 2007). Након ткивне повреде, TGF- β 1 међутим, може имати и транзиторно проинфламаторно дејство а познато је да делује и као хемотактички фактор (Wahl et al., 1987; Reibman et al., 1991; Li et al., 2006; Prud'homme, 2007; Rubtsov and Rudensky, 2007; Wahl, 2007).

Студије које су испитивале концентрације TGF- β у серуму особа после хируршких интервенција су, за сада, раритетне. Нисмо наишли ни на једну студију која је испитивала серумске концентрације овог цитокина након абдоминалне хистректомије. Неколико студија је било фокусирано на концентрације овог цитокина након операција особа са неопластичним болестима, те се показало да код пацијенткиња након операције дојке 24 сата након операције вредности овог цитокина значајно опадају у групи која је била у општој анестезији, за разлику од оне код које је примењена регионална анестезија (Looney et al., 2010). У тој студији је показано да осим стадијума малигне болести и анестезиолошке технике (општа насупрот регионалној анестезији) имају утицај на промене вредности овог цитокина у постоперативном периоду. Такође, до пада у вредностима овог цитокина долази и након уклањања астрoцитоме (Loh et al., 2013).

После лапароскопских холецистектомија свеукупна промена ткивних концентрација TGF- β није значајна. Штавише, код неких лапароскопских техника

(којима се врши мања ткивна траума) тренд концентрација TGF- β 1 показује смер нижих вредности, мерених у перитонеалној течности (Brokelman et al., 2007). Међутим, студија у којој су мерене концентрације овог цитокина након тешке хеморагије показала је да 24 сата од хеморагије долази до значајног пораста нивоа овог цитокина. (Angele and Faist, 2002).

Постоји сложен међусобни однос TGF- β , с једне и естрогена и прогестерона, с друге стране који још може да буде измењен у условима патолошких стања а и под утицајем фармаколошке модулације (Ciarmela et al., 2011; Blake, 2007). TGF- β подстиче трофику гениталних органа док стероидни хормони и аналози гонадотропина мењају синтезу како самог TGF- β тако и његових рецептора изазивајући усходну или нисходну регулацију, како у експерименталним тако и у клиничким условима, а у зависности од конкретног типа TGF- β , полног хормона и индивидуалних карактеристика јединке. Раст миома је под снажним утицајем како оваријалних стероида, тако и прогестерона (Ishikawa et al., 2010). Болеснице у нашој студији су дакле имале дисбаланс женских полних хормона што је могло да утиче како на базалне вредности тако и на концентрације после операције.

Студије на експерименталним моделима су показале да постоје и разлике између полова у експресији како латентних TGF- β 1, тако и TGF- β активатора зависних од естрадиола, тако да је код јединки мушког пола повећан ниво TGF- β 1 (Recouvteux et al., 2013). Међутим нисмо наишли на клиничку студију која је пратила разлике у концентрацијама у плазми овог цитокина између мушкараца и жена. Такође је познато да прогестерон (кога синтетише жуто тело и плацента) индукује секрецију TGF- β 1 које излучују и епителне ћелије ендометријума, тако да су вредности овог цитокина под утицајем фазе менструалног циклуса (Kim et al., 2005). У нашој студији нисмо имали податак у којој фази циклуса су пацијенткиње биле подвргнуте абдоминалној хистректомији. Затим, постоји значајна експресија како TGF- β тако и његових рецептора, како у миометријуму, тако и у миомима утеруса, а докази из експерименталних модела указују да је TGF- β сигнални пут од круцијалног значаја за одржање болести (миоматозе утеруса) (Chagini et al., 2013).

Многе студије указују да TGF- β инхибира продукцију IF- γ (Munder et al., 2001; Schroder et al., 2004). Имајући у виду профил концентрација самог IF- γ код наших болесница и међусобну корелацију ова два цитокина, очекивало би се да је смер промене концентрација TGF- β супротан. С друге стране, серумска концентрација TGF- β може бити упливисана дејством анаглетске медиације. Познато је да морфин повећа секрецију овог цитокина, пре свега дејством на мононуклеарне периферне ћелије док диклофенак испољава супротни ефекат (Singhal et al., 2000). У експерименталној студији код видео-асистираних торакалних интервенција примена диклофенака смањује концентрацију TGF- β у плеуралној течности и крви уз смањење броја неутрофила (Opitz et al., 2013). У нашој популацији пацијенткиња се није показала разлика између група пацијенткиња које су примале различиту аналгетску терапију.

Улога TGF- β у процесима регулације имунског одговора после операција још увек није довољно јасна и у овом пољу су потребна додатна истраживања јер су

постојећа сазнања тек инцијалне природе. На основу досадашњих истраживања се може закључити да његово лучење зависи од врсте трауме (хеморагија насупрот хируршкој трауми), врсте већ постојеће патологије, затим примењених аналгетика а вероватно да постоји и утицај пола пацијента који се, даљим истраживањима треба доказати.

5.3 ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА

Само неколико студија је истраживало настанак реактивних врста у току операција (Sane et al., 1993; Szymczyk et al., 2003; Szymczyk et al., 2005; Kaur et al., 2007). У нашој студији најзначајнији налази у погледу параметара оксидационог стреса су: смањење концентрације водоник пероксида код свих пацијенткиња до 24 сата након операције као и пораст вредности индекса липидне пероксидације (TBARS-a) у групи пацијенткиња које су примале парацетамол унутар периода од 48 сати након операције.

5.3.1 Водоник пероксид (H_2O_2)

У нашој студији долази до значајног пада H_2O_2 трећег и 24 сата након операције, док се вредности враћају на преоперативне у року од 48 сати. У доступној литератури, нема поузданих података о вредностима H_2O_2 у постоперативном периоду. На основу добијених резултата јасно је да је дошло до дисбаланса између стварања и/или елиминације овог једињења.

Синтеза H_2O_2 је посредована SOD а у ензимској елиминацији H_2O_2 учествују CAT, GPx (при ниским концентрацијама овог једињења), GSH и на свој начин, мијелопероксидаза (Lushchak, 2012). Међутим, у нашој студији активности ензима SOD и CAT нису се значајно мењале тако је учешће ових ензима у детектованом смањењу концентрације H_2O_2 је мало вероватно. С друге стране, H_2O_2 може да се уклони у реакцији која је катализована слободним јонима метала, пре свега гвожђем и бакром (Fe^{2+} и Cu^{2+}) када долази до стварања веома токсичног хидроксил радикала, $OH\cdot$. На овај начин, смањење концентрације H_2O_2 може да указује прооксидационо стање, што је околност која се управо јавља у раном постоперативном периоду (Gutowski and Kowalczyk, 2013).

Феритин, трансферин, хемоглобин, миоглобин и други металопротеини у својим структурама инкорпорирају прелазне метале па је тиме организам заштићен од штетног дејства њихових слободних молекуларних форми (Valko al., 2005; Gutowski and Kowalczyk, 2013). Ткивна траума са собом носи могућност ослобађања јона слободних метала управо деструкцијом структура у којима су они секвестрирани и последично, њиховог прооксидационог дејства (Halliwell and Cross, 1994). Обзиром да су резултати наше студије такође показали да 24 сата након операције H_2O_2 и липидна пероксидација мерена TBARS методом стоје у обрнутој корелацији, то иде у прилог постојања прооксидационог стања код наших болесница.

Други подаци доводе у индиректну везу хируршку интервенцију, метаболизам гвожђа и молекула који учествују у каскадама оксидационог стреса и антиоксидационе одбране. У једној студији је тако показано да након велике абдоминалне хируршке

интервенције долази до смањења концентрације глутатиона, GSH у скелетним мишићима за око 40% (Luo et al., 1996; Luo et al., 1998). С друге стране, познато је да глутатион, осим других протективних улога које има, учествује у сазревању гвожђе-сумпор кластера, као и транспорту гвожђа, те иако немамо података из доступне литературе у ком правцу се крећу концентрације GSH у јетри у току хируршке интервенције, може се размишљати и у том правцу, да и у јетри долази до пада вредности GSH (Lushchak, 2012). Ово се са великом сигурношћу може претпоставити за групу пацијенткиња које су примале парацетамол, јер је познато да терапијске дозе овог лека доводе до значајног смањења GSH, који се троши у инактивацији добијеног интермедијерног продукта NAPQI, чиме се може и објаснити значајно повећање продуката липидне пероксидације у овој групи пацијенткиња (James et al., 2003; Charma and Mehta, 2013).

У погледу утицаја аналгетика који се примењују у постоперативном периоду рађен је мали број клиничких студија. Тако је студија у којој је преемптивно примењиван морфин и поређен са меперидином или плацебом, после херниектомије показала да је код тих пацијената дошло до благог смањења слободних радикала мерено електронском парамагнетном резонанцом резонанцом и трапинг методама (*spin trapping*) (Fricova et al., 2010). Дакле, смањење концентрација H_2O_2 се може приписати и утицају лекова, тј. пре свега морфину који су примале пацијенткиње из свих наших група. Наиме, експериментална студија у којој су испитивана антиоксидациона својства морфина показала је да морфин испољава снажно антиоксидационо дејство, да је такво дејство дозно зависно и да се на један од начина огледа и у уклањању H_2O_2 (Gulcin et al., 2004). Такође, експериментално је показано да парацетамол и други нестероидни антиинфламаторни лекови (NSAID) мењају динамику Фентонове реакције, и то у различитој мери. У раној фази, долази до инхибиције али већ након 120 минута, активност стварања хидроксил радикала из Фентонове реакције расте (Rozmer and Perjési, 2005).

Још један од фатора који би могао да утичу на смањење концентрације H_2O_2 , је инхибиција ензима мијелопероксидазе, ензима који у неутрофилима користи H_2O_2 за стварање моћне бактерицидне супстанце хипохлорне киселине. Наиме, парацетамол је фенолно једињење те, у терапијским концентрацијама, поседује капацитет за антиоксидационо деловање путем инхибиције синтезе оксидационих продуката: хипохлорне и хипобромне киселине тј. продуката који оштећују пре свега протеинске молекуле а не липиде, као и пероксинитрита, инхибицијом мијелопероксидазе (Blough and Wu et al., 2011). Морфин такође смањује инфилтрацију ткива леукоцитима, који су богати овим ензимом (Clark et al, 2007; Martin et al., 2010). Затим, севофлуран који је коришћен као основни анестетик код жена у нашој студији такође у лабораторијским условима инхибира активност мијелопероксидазе, али у клиничким условима, током анестезије која је вођена севофлураном у односу на пропофол, код колоректалне хирургије долази до повећања маркера оксидационог стреса (Minguet et al., 2013; Tsuchiya, 2013).

У закључку, расположиви докази сугеришу да је смањена концентрација H_2O_2 највероватније последица два процеса, повећаног трошења у Фентоновој реакцији као и уклањања од стране опиоидног аналгетика морфина. Концентрација водоник пероксида

током хируршких интервенција не показује униформни образац и зависи од многих чинилаца: врсте хируршке интервенције, коришћених анестетика и других сложених чинилаца.

5.3.2 Индекс липидне пероксидације мерен TBARS методом

Од осталих параметара оксидационог стреса који су одређивани у нашој студији забележен је пораст индекса липидне пероксидације мерен TBARS методом то само у групи болесница које су примале парацетамол. Ова разлика постоји само унутар периода од 48 сати након операције. При томе, вредности у групи која је примала парацетамол статистички су значајно веће у односу на групе које су примале кетрололак и морфин, а у односу на групу која је добила кетопрофен та разлика није достигла ниво значајности. Метода коју смо користили за мерење липидне пероксидације се заснива на мерењу реакције малондиалдехида (MDA) (једног од продуката који настаје приликом пероксидације липида ћелијске мембране) са тиобарбитуратном киселином. Раније студије су показале да у одређеном степену постоји повећање продуката пероксидације липида током поједних оперативних интервенција, а и након хистеректомије.

TBARS је метода која је екстензивно коришћена у претходних неколико декада као индекс липидне пероксидације и нормалне вредности за TBARS у плазми су 2-3 μ M/ml (Junqueira et al., 2004). Међутим, ова методологија има извесна ограничења, која се морају узети у обзир приликом тумачења резултата. Наиме, иако MDA представља споредни продукт како ензимске оксидације полинезасићених масних киселина (PUFA) тако и неензимског аутооксидационог формирања липидних пероксида, настанак MDA зависи од природе PUFA, тј. нарочито од степена незасићености. Затим, само одређени продукти липидне пероксидације декомпозицијом стварају MDA а и пероксиди у окружењу утичу како на формацију прекурзора добијених из липида тако и на њихову декомпозицију у MDA. Малондиалдехид је реактиван метаболит и подлеже даљој деградацији оксидативно или метаболички а може се створити и оксидационом повредом и нелипидних молекула у биолошким системима (Repetto et al., 2012).

С друге стране, експериментално је показано да морфин у условима оксидационог стимулуса (који укључује ADP и двовалентно гвожђе) смањује ниво TBARS-а јер превенира липидну пероксидацију због смањења потрошње кисеоника и стварања водоник пероксида (Cunha-Oliveira et al., 2013). У дозама од 30 mg/kg/h, морфин доводи до повећања нивоа TBARS-а код препарата јетре пацова (Horid'ko et al., 2007). Ипак, ове дозе су доста високе и не могу се директно екстраполирати на услове наше студије и, генерално, клиничке анестезиолошке праксе. Сем тога, друга студија на експерименталним животињама *in vivo* је показала да ацетилсалицилна киселина и морфин, за разлику од антиоксиданаса (витамин С, Е, А и селен) нису утицали на липидину пероксидацију претходно изазвану експерименталним ноцицептивним стимулусом (Rokyta et al., 2003). У доступној литератури нема јасних доказа о утицају друга два аналгетика, кеторолака и кетопрофена, на ниво TBARS-а у серуму.

Свеукупним сагледавањем резултата који смо добили TBARS методом као и мерењем нивоа H_2O_2 , докази иду у прилог да је ипак у групи пацијенткиња које су добијале парацетамол, упркос антиоксидационом дејству морфина, дошло до стварања продуката липидне пероксидације. Могући разлози су примена мање дозе морфина и специфични утицај парацетамола на GSH, као важног антиоксиданта. Добро је познато да се GSH екстензивно троши приликом коњугације метаболита прве фазе метаболизма парацетамола (NAPQI). Раније је показано да су плазма концентрације код пацијената који су дуготрајно узимали парацетамол значајно ниже студија (Trenti et al., 1992).

5.3.3 Укупни профил оксидативног стреса

У закључку, наши резултати сугеришу да је током хистеректомије код испитаница ипак дошло до детектабилног степена оштећења ћелијских мембрана по типу липидне пероксидације и да је подгрупа која је примала парацетамол заправо под највећим ризиком. Од свих коришћених аналгетика, парацетамол има највећи потенцијал за исцрпљивањем механизма антиоксидационе одбране што посебно може да дође до изражаја код присуства других оксидационих стресора какав је сигурно хируршка интервенција. Наша студија је, према доступним сазнањима, прва која је у компаративном дизајну, истом методом, испитила међусобне разлике различитих аналгетика на параметре липидне пероксидације и других индикатора оксидационог стреса. Резултати су јасно указали да међу њима ипак постоје суптилне разлике што отвара простор за будућа истраживања у овој области.

У нашој студији, концентрације осталих параметара оксидационог стреса, супероксид дизмутаза, каталаза, азот моноксид и супероксид анјон радикал као и GSH, нису се разликовале у сукцесивним узорцима плазме, ни у целини нити у појединим подгрупама. Истраживања у овој области постоје а резултати нису усаглашени. Постоје студије које подупиру наше резултате које такође нису пронашле промене у овим маркерима после операције, под утицајем анестетика или аналгетика (Kierzenkowska et al., 2013). Очигледно је да је питање валидности маркера оксидационог стреса и даље предмет научне дебате тако да ће тек будућа истраживања донети чињенице на основу којих ће моћи да се донесу и поузданији закључци.

6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Квалитет постоперативног опоравка код болесница подвргнутих абдоминалној хистеректомији опада, са максималним падом од око 25% у односу на почетну вредносту првог постоперативног дана, да би се трећег постоперативног дана вратио на преоперативни ниво.
2. Болеснице које су примале кетопрофен имају мањи пад квалитета постоперативног опоравка првог постоперативног дана.
3. Између квалитета постоперативног опоравка и промена концентрација цитокина и параметара оксидационог стреса и антиоксидационе одбране нема значајне повезаности.
4. Концентрације сва четири испитивана цитокина значајно флукутирају током студије при чему постоје разлике у временском профили и тренду појединачних цитокина.
5. Концентрације проинфламаторног цитокина, IL-17, показују преовлађујући пад у постоперативном периоду да би се на самом крају студије вратиле на преоперативне вредности.
6. Концентрације другог проинфламаторног цитокина, IF- γ , након пораста у почетним студијским периодима опадају на ниже вредности од преоперативних на самом крају студије.
7. Концентрације антиинфламаторног цитокина, IL-10, опадају током студије, уз велику интериндивидуалну варијабилност, при чему су вредности на крају студије упоредиве са преоперативним нивоом.
8. Концентрације другог антиинфламаторног цитокина, TGF- β , благо али прогресивно опадају током студије без значајних флукуација.
9. Између промена концентрација IL-10 и IF- γ постоји позитивна корелација.
10. Вредности параметара оксидационог стреса и антиоксидационе одбране се изразито мењају само код водоник пероксида.
11. Вредности водоник пероксида се прво смањују, најниже се три сата после операције наког чега долази до пораста тако да су на крају студије сличне преоперативном нивоу.
12. Индекс липидне пероксидације, TBARS, се значајно мења само у подгрупи болесница које су примале парацетамол.
13. Постоји обрнута корелација између вредности водоник пероксида и TBARS-а.
14. Промене концентрације цитокина и вредности параметара оксидационог стреса нису у значајној повезаности.

7 ЛИТЕРАТУРА

1. Abbas AK, Lichtman AH, Andrew H. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009.
2. Acquaviva R, Campisi A, Murabito P, Raciti G, Avola R, Mangiameli S, Musumeci I, Barcellona ML, Vanella A, Li Volti G. Propofol attenuates peroxynitrite-mediated DNK damage and apoptosis in cultured astrocytes: an alternative protective mechanism . *Anesthesiology* 2004;101(6):1363-71.
3. Adams JD Jr, Lauterburg BH, Mitchell JR. Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther* 1983;227(3):749-54.
4. Aivatidi C, Vourliotakis G, Georgopoulos S, Sigala F, Bastounis E, Papalambros E. Oxidative stress during abdominal aortic aneurysm repair-biomarkers and antioxidant's protective effect: a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011;15(3):245-52.
5. Aldemir O, Celebi H, Cevik C, Duzgun E. The effects of propofol or halothane on free radical production after tourniquet induced ischaemia-reperfusion injury during knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001;45(10):1221-5.
6. Aldrete AJ, Kroulik D. A postanesthetic recovery score. *Anesth Analg* 1970;49(6): 924-34.
7. Allaouchiche B, Debon R, Goudable J, Chassard D, Duflo F. Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. *Anesth Analg* 2001;93(4):981-5.
8. Allvin R, Berg K, Idvall E, Nilsson U. Postoperative recovery: a concept analysis. *J Adv Nurs* 2007;57(5):552-8.
9. Allvin R, Svensson E, Rawal N, Ehnfors M, Kling AM, Idvall E. The Postoperative Recovery Profile (PRP) – a multidimensional questionnaire for evaluation of recovery profiles. *J Eval Clin Pract* 2011;17(2):236-43.
10. Alrawi SJ, Abo Deeb AA, Samee M, Raju R, Shirazian D, Acinapura AJ, Cunningham JN. Significance of interferon-gamma in coronary artery bypass surgery. *J SLS* 2001;5(3):249-53.
11. Altman DG. Practical statistics for medical research. 1st ed. London: Chapman and Hall, 1991.
12. Angele MK, Faist E. Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Crit Care* 2002;6(4):298-305.
13. Arsalani-Zadeh R, Ullah S, Khan S, MacFie J. Oxidative stress in laparoscopic versus open abdominal surgery: a systematic review. *J Surg Res* 2011;169(1):e59-68.

-
14. Aulock SV, Deininger S, Draing C, Gueinzus K, Dehus O, Hermann C. Gender difference in cytokine secretion on immune stimulation with LPS and LTA. *J Interferon Cytokine Res* 2006;26(12):887-92.
 15. Ayala A, Chung CS, Grutkoski P, Song G. Mechanism of immune resolution. *Crit Care Med* 2003;31(8):558-71.
 16. Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol* 1997;15:563-91.
 17. Bandyopadhyay S, Gronostajski RM. Identification of a conserved oxidation-sensitive cysteine residue in the NFI family of DNK-binding proteins. *J Biol Chem* 1994;269(47):29949-55.
 18. Becker LB, vanden Hoek TL, Shao ZH, Li CQ, Schumacker PT. Generation of superoxide in cardiomyocytes during ischemia before reperfusion. *Am J Physiol* 1999;277(6 Pt 2):H2240-6.
 19. Bedirli N, Akyürek N, Kurtipek O, Kavutcu M, Kartal S, Bayraktar AC. Thoracic epidural bupivacaine attenuates inflammatory response, intestinal lipid peroxidation, oxidative injury, and mucosal apoptosis induced by mesenteric ischemia/reperfusion. *Anesth Analg* 2011;113(5):1226-32.
 20. Beilin B, Shavit Y, Trabekin E, Mordashev B, Mayburd E, Zeidel A, Bessler H. The effects of postoperative pain management on immune response to surgery. *Anesth Analg* 2003;97(3):822-7.
 21. Bekker A, Haile M, Kline R, Didehvar S, Babu R, Martiniuk F, Urban M. The Effect of Intraoperative Infusion of Dexmedetomidine on Quality of Recovery after Major Spinal Surgery. *J Neurosurg Anesthesiol* 2013; 25(1):16–24.
 22. Ben-Eliyahu S, Page G, Yirmiya R, Shakhar G. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing natural killer activity. *Int J Cancer* 1999;80:880-8.
 23. Beutler E. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods . 3rd ed. Orlando: Grune and Stratton, 1984.
 24. Bijjiga E, Martino AT. Interleukin 10 (IL-10) regulatory cytokine and its clinical consequences. *J Clin Cell Immunol* 2013;S1:007. (doi: 10.4172/2155-9899.S1-007).
 25. Bilgin-Karabulut A, Ademoğlu E, Aydin I, Erer M, Gökkuşu C. Protective effects of vitamins A and E pretreatment in venous ischemia/reperfusion injury. *J Reconstr Microsurg* 2001;17(6):425-9.
 26. Blake RE. Leiomyomata uteri: hormonal and molecular determinants of growth. *J Natl Med Assoc* 2007;99(10):1170–84.
-

-
27. Blotta MH, DeKruyff RH, Umetsu DT. Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4+ lymphocytes. *J Immunol* 1997;158(12):5589-95.
 28. Blough ER, Wu M. Acetaminophen: Beyond Pain and Fever-Relieving . *Front Pharmacol* 2011;2:72. (doi: 10.3389/fphar.2011.00072)
 29. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol* 1997;15:749-95.
 30. Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med* 1996;125(8):680-7.
 31. Bosmann M, Ward P. Therapeutic potential of targeting IL-17 and IL-23 in sepsis. *Clin Transl Med* 2012;1:4.
 32. Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. *FEBS Lett* 1975;54(3):311-4.
 33. Brand JM, Kirchner H, Poppe C, Schmucher P. The effect of general anesthesia on human peripheral immune cell distribution and cytokine production. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;83:190-4.
 34. Brodie AE, Reed DJ. Reversible oxidation of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase thiols in human lung carcinoma cells by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;148(1):120-5.
 35. Brokelman WJ, Holmdahl L, Bergström M, Falk P, Klinkenbijnl JH, Reijnen MM. Peritoneal transforming growth factor beta-1 expression during laparoscopic surgery: a clinical trial. *Surg Endosc* 2007;21(9):1537-41.
 36. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Holzmann B, Siewert JR. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *Am J Surg* 1999;177(1):55-60.
 37. Budić I, Pavlović D, Cvetković T, Djordjević N, Simić D, Milojević I, Stojanović M. The effects of different anesthesia techniques on free radical production after tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury at children's age. *Vojnosanit Pregl* 2010;67(8):659-64.
 38. Bukan MH, Bukan N, Kaymakcioglu N, Tufan T. Effects of open vs. laparoscopic cholecystectomy on oxidative stress. *Tohoku J Exp Med* 2004;202(1):51-6.

-
39. Butler SF, Black RA, Techner L, Fernandez KC, Brooks D, Wood M, Katz N. Development and validation of the post-operative recovery index for measuring quality of recovery after surgery. *J Anesth Clin Res* 2012;3:12. (<http://dx.doi.org/10.4172/2155-6148.1000267>).
 40. Buvanendran A, Kroin J S. Multimodal analgesia for controlling acute postoperative pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22:588–93.
 41. Calò L, Bianconi L, Colivicchi F, Lamberti F, Loricchio ML, de Ruvo E, Meo A, Pandozi C, Staibano M, Santini M. N-3 fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery: a randomized, controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(10):1723-8.
 42. Catro-Alves LJ, De Azevedo VL, De Freitas Braga TF, Goncalves AC, De Oliveira GS Jr. The effect of neuraxial versus general anesthesia techniques on postoperative quality of recovery and analgesia after abdominal hysterectomy: a prospective, randomized, controlled trial. *Anesth Analg* 2011;113(6):1480-6.
 43. Chakraborty S, Kumar Kar S, Roy K, Sengupta C. Exploring effects of different nonsteroidal antiinflammatory drugs on malondialdehyde profile. *Acta Pol Pharm* 2006;63(2):83-8.
 44. Chang JK, Chuang LY, Ho ML, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on transforming growth factor-beta expression and bioactivity in rat osteoblast-enriched culture. *Kaohsiung J Med Sci* 2003;19(6):278-88.
 45. Chang SH, Dong C. Signaling of Interleukin-17 family cytokines in immunity and inflammation. *Cell Signal* 2012;23(7):1069-75.
 46. Chang SH, Reynolds JM, Pappu BP, Chen G, Martinez GJ, Dong C. Interleukin-17C promotes Th17 cell responses and autoimmune disease via interleukin-17 receptor E. *Immunity* 2011;35(4):611-21.
 47. Chegini N, Zhao Y, Williams RS, Flanders KC. Human uterine tissue throughout the menstrual cycle expresses transforming growth factor-beta 1 (TGF beta 1), TGF beta 2, TGF beta 3, and TGF beta type II receptor messenger ribonucleic acid and protein and contains [¹²⁵I]TGF beta 1-binding sites. *Endocrinology* 1994;135(1):439-49.
 48. Cheng YJ, Chien CT, Chen CF. Oxidative stress in bilateral total knee replacement, under ischaemic tourniquet. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85(5):679-82.
 49. Cho EJ, Yoon JH, Hong SJ, Lee SH, Sim SB. The effects of sevoflurane on systemic and pulmonary inflammatory responses after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23(5):639-45.

-
50. Choileain N, Redmond HP. Cell Response to Surgery. *Arch Surg* 2006;141(11):1132-40.
 51. Ciarmela P, Islam MS, Reis FM, Gray PC, Bloise E, Petraglia F, Vale W, Castellucci M. Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum Reprod Update* 2011;17(6):772-90.
 52. Clark DJ, Shi X, Li X, Qiao Y, Liang DY, Angst MS, Yeomans DC. Morphine reduces local cytokine expression and neutrophil infiltration after incision. *Mol Pain* 2007;3:28.
 53. Coda BA. Opioids. In: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, eds. *Clinical anesthesia*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 353-83.
 54. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001; 94:1133– 8.
 55. Cope A, Le Friec G, Cardone J, Kemper C. The Th1 life cycle: molecular control of IFN- γ to IL-10 switching. *Trends Immunol* 2011;32(6):278-86.
 56. Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008;180(9):5771-7.
 57. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010;10(7):479-89.
 58. Cunha-Oliveira T, Silva L, Silva AM, Moreno AJ, Oliveira CR, Santos MS. Acute effects of cocaine, morphine and their combination on bioenergetic function and susceptibility to oxidative stress of rat liver mitochondria. *Life Sci* 2013;92(24-26):1157-64.
 59. Cusack SL, Reginald P, Hensen L, Umerah E. The pharmacokinetics and safety of an intraoperative bupivacaine-collagen implant (XaraColl®) for postoperative analgesia in women following total abdominal hysterectomy. *J Pain Res* 2013;6:151–9.
 60. Da Silva CA, Hartl D, Liu W, Lee CG, Elias JA. TLR-2 and IL-17A in chitin-induced macrophage activation and acute inflammation. *J Immunol* 2008;181(6):4279-86.
 61. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann N Y Acad Sci* 2001;933:222-34.
 62. Davies M. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. *J Clin Biochem Nutr* 2011;48(1):8-1.
 63. Davydov DR. Microsomal monooxygenase in apoptosis: another target for cytochrome c signaling? *Trends in Biochem Sci* 2001;26(3):155–60.
 64. De La Cruz JP, Zanca A, Carmona JA, de la Cuesta FS. The effect of propofol on oxidative stress in platelets from surgical patients. *Anesth Analg* 1999;89(4):1050-5.

-
65. De Rooij SE, Van Munster BC, Korevaar JC, Levi M. Cytokines and acute phase response in delirium. *J Psychosom Res* 2007;62(5):521-5.
 66. Deavall DG, Martin EA, Horner JM, Roberts R. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol* 2012; 2012: 645460. (<http://dx.doi.org/10.1155/2012/645460>).
 67. DeCherney A, Bachmann G, Isaacson K, Gall S. Postoperative fatigue negatively impacts the daily lives of patients recovering from hysterectomy. *Obstet Gynecol* 2002;99(1):51-7.
 68. Delogu G, Antonucci A, Signore M, Marandola M, Tellan G, Ippoliti F. Plasma levels of IL-10 and nitric oxide under two different anaesthesia regimens. *Eur J Anaesthesiol* 2005;22(6):462-6.
 69. Deo SS, Mistry KJ, Kakade AM, Niphadkar PV. Role played by Th2 type cytokines in IgE mediated allergy and asthma. *Lung India* 2010;27(2):66-71.
 70. Desborough JP. The stress response to trauma and surgery . *Br J Anaesth* 2000;85(1):109-17.
 71. Dietz A, Heimlich F, Daniel V, Polarz H, Weidauer H, Maier H. Immunomodulating effects of surgical intervention in tumors of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;123(1 Pt 1):132-9.
 72. Dinarello C. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000;118:503-8.
 73. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol* 2007;37(Suppl 1):S34-45.
 74. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002;3(11):991-8.
 75. Edwards G. Frederick William Hewitt (1857-1916). *Ann R Coll Surg Engl* 1951;8(3):233-45.
 76. El-Bahr SM. Biochemistry of free radicals and oxidative stress. *Science International* 2013; 1(5):111-7.
 77. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Botsios D, Tzartinoglou E, Farmakis H, Dadoukis J. Splanchnic ischemia during laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy* 1996;10(3):324-6.
 78. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* 2002;966:290–303.
 79. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress system–organization, physiology and immunoregulation. *Neuroimmunomodulation* 2006;13(5-6):257-67.

-
80. Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1024:138-46.
 81. El-Maallem H, Fletcher J. Effects of surgery on neutrophil granulocyte function. *Infect Immun* 1981;32(1):38-41.
 82. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004;70:71-86.
 83. Erturk E, Topaloglu S, Dohman D, Kutanis D, Beşir A, Demirci Y, Kayir S, Ahmet Mentese A. The comparison of the effects of sevoflurane inhalation anesthesia and intravenous propofol anesthesia on oxidative stress in one lung ventilation. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 360936. (<http://dx.doi.org/10.1155/2014/360936>).
 84. Esmé H, Kesli R, Apiliogullari B, Duran F M and Yoldas B. Effects of flurbiprophen on CRP, TNF- α , IL-6, and postoperative pain of thoracotomy. *Int J Med Sci* 2011;8:216-21.
 85. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002;18(10):872-9.
 86. Fant F, Tina E, Sandblom D, Andersson SO, Magnuson A, Hultgren-Hörnkvist E, Axelsson K, Gupta A. Thoracic epidural analgesia inhibits the neuro-hormonal but not the acute inflammatory stress response after radical retropubic prostatectomy. *Br J Anaesth* 2013;110(5):747-57.
 87. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 2007;39:175-91.
 88. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989;170(6):2081-95.
 89. Firestein GS, Budd RC, Harris ED Jr, McInnes IB, Ruddy S, Sargent JS. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier Inc., 2009.
 90. Flanders KC, Roberts AB. TGF β . In: Oppenheim JJ, Feldmann M, eds. *Cytokine Reference*. Vol. 1. San Diego: Academic Press, 2001:719-46.
 91. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(12):4533-7.
 92. Frangen TM, Bogdanski D, Schinkel C, Roetman B, Kälicke T, Muhr G, Köller M. Systemic IL-17 after severe injuries. *Shock* 2008;29(4):462-7.
 93. Freide K, Mathew JP, Podgoreanu MV. Genomic basis of perioperative medicine. In: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, Cahalan MK, Stock MC, Ortega R, eds. *Clinical anesthesia*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2013: 130-55.

-
94. Fricova J, Vejrazka M, Stopka P, Krizova J, Belacek J, Rokyta R. The influence of pre-emptive analgesia on postoperative analgesia and its objective evaluation. *Arch Med Sci* 2010; 6(5):764–71.
 95. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995;64:97–112.
 96. Frucht DM, Fukao T, Bogdan C, Schindler H, O’Shea JJ, Koyasu S. IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends Immunol* 2001;22(10):556-60.
 97. Fukushima R, Yamazaki E. Vitamin C requirement in surgical patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13(6):669-76.
 98. Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol* 2011;12(11):1035-44.
 99. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Chalidis B, Hall GM. Surgical stress response. *Injury* 2006;37(Suppl 5):S3-9.
 100. Gilliland HE, Armstrong MA, Carabine U, McMurray TJ. The choice of anesthetic maintenance technique influences the antiinflammatory cytokine response to abdominal surgery. *Anesth Analg* 1997;85(6):1394-8.
 101. Golan DE, Tashjian AHJr., Armstrong EJ, Armstrong AW. *Principles of Pharmacology. The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy.* 2nd ed. Philadelphia : Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
 102. Gong D, Shi W, Yi SJ, Chen H, Groffen J, Heisterkamp N. TGF β signaling plays a critical role in promoting alternative macrophage activation *BMC Immunol* 2012;13:31.
 103. Graham GG, Davies MJ, Day RO, Mohamudally A, Scott KF. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology* 2013;21(3):201-32.
 104. Green TR, Bennett SR, Nelson VM. Specificity and properties of propofol as an antioxidant free radical scavenger . *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;129(1):163-9.
 105. Gülçin I, Beydemir S, Alici HA, Elmastaş M, Büyükokuroğlu ME. In vitro antioxidant properties of morphine. *Pharmacol Res* 2004;49(1):59-66.
 106. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim Pol* 2013;60(1):1-16.
 107. Gutteridge JM. Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides. *FEBS Lett* 1986;201(2):291-5.

-
108. Hall GM, Young C, Holdcroft A, Alaghband-Zadeh J. Substrate mobilisation during surgery. A comparison with halothane anaesthesia. *Anaesthesia* 1978;33:924–3.
 109. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004;142(2):231-55 .
 110. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett* 2000;486(1):10-3.
 111. Halliwell B, Clement MV, Ramalingam J, Long LH. Hydrogen peroxide. Ubiquitous in cell culture and in vivo? *IUBMB Life* 2000;50(4-5):251-7.
 112. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994;102(Suppl 10):5–12.
 113. Halliwell B, Gutteridge J. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press, 1999.
 114. Hamza M, Dionne RA. Mechanisms of non-opioid analgesics beyond cyclooxygenase enzyme inhibition. *Curr Mol Pharmacol* 2009;2(1):1–14.
 115. Harboe KM, Bardram L. The quality of cholecystectomy in Denmark: outcome and risk factors for 20,307 patients from the national database. *Surg Endosc* 2011;25(5):1630-41.
 116. Herrera FJ, Wong J, Chung F. A systematic review of postoperative recovery outcomes measurements after ambulatory surgery. *Anesth Analg* 2007;105(1):63-9.
 117. Hirota K, Ahlfors H, Duarte J, Stockinger B. Regulation and function of innate and adaptive interleukin-17-producing cells. *EMBO Reports* 2012;13:113–20.
 118. Hirota K, Duarte JH, Veldhoen M, Hornsby E, Li Y, Cua DJ, Ahlfors H, Wilhelm C, Tolaini M, Menzel U, Garefalaki A, Potocnik AJ, Stockinger B. Fate mapping of interleukin 17-producing T cells in inflammatory responses. *Nat Immunol* 2011;12(3): 255–63.
 119. Hollenbeck BK, Dunn RL, Stuart Wolf, Jr. , Sanda MG, Wood DP, Gilbert SM, Weizer AZ, Montie JE, Wei JT. Development and validation of the convalescence and recovery evaluation (CARE) for measuring quality of life after surgery. *Qual Life Res* 2008;17(6):915-26.
 120. Homburger JA, Meiler SE. Anesthesia drugs, immunity, and long-term outcome. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006;19:423–8.
 121. Horid'ko TM, Hula NM, Stohnii NA, Mehed' OF, Klimashevs'kyi VM, Shovkun SA, Kindruk NL, Berdyshev AH. Effect of N-stearoylethanolamine on the lipid peroxidation process and lipid composition of the rat liver in acute morphine intoxication. *Ukr Biokhim Zh* 2007;79(5):175-85.
-

-
122. Hoves S, Krause SW, Schütz C, Halbritter D, Schölmerich J, Herfarth H, Fleck M. Monocyte-derived human macrophages mediate anergy in allogeneic T cells and induce regulatory T cells. *J Immunol* 2006;177(4):2691-8.
 123. Howe PH. Transforming growth factor . In: Thompson AW, Lotze MT, eds. *The cytokine handbook*. 4th ed. San Diego: Academic Press, 2003:1119–52.
 124. Hymowitz SG, Filvaroff EH, Yin JP, Lee J, Cai L, Risser P, Maruoka M, Mao W, Foster J, Kelley RF, Pan G, Gurney AL, de Vos AM, Starovasnik MA. IL-17s adopt a cystine knot fold: structure and activity of a novel cytokine, IL-17F, and implications for receptor binding. *EMBO J* 2001;20(19):5332-41.
 125. Ionescu DC, Margarit SCD, Hadade ANI, Teodora N, Mocan TN, Miron NA, Sessler DI. Choice of anesthetic technique on plasma concentrations of interleukins and cell adhesion molecules. *Perioper Med (Lond)* 2013;2(1):8.
 126. Ishikawa H, Ishi K, Serna VA, Kakazu R, Bulun SE, Kurita T. Progesterone is essential for maintenance and growth of uterine leiomyoma. *Endocrinology* 2010;151(6):2433-42.
 127. Iwakura Y, Nakae S, Saijo S, Ishigame H. The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. *Immunol Rev* 2008;226:57-79.
 128. Iyer GY, Quastel NH. NADPH and NADH oxidation by guinea pig polymorphonuclear leucocytes. *Can J Biochem Physiol* 1963;41:427-34.
 129. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2003;31(12):1499-506.
 130. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011;283(2-3):65-87.
 131. Jovanović I, Radosavljević G, Pavlović S, Zdravković N, Martinova K, Knežević M, Živić D, Lukić ML, Arsenijević N. Th-17 cells as novel participant in immunity to breast cancer. *Serb J Exp Clin Res* 2010;11(1):7-17.
 132. Jovanović Radojević D, Živančević Simonović S, Malenković V, Miličić B, Milovanović D. Hormonski odgovor kod abdominalnih histerektomija. *Med Čas* 2009;43(1):1-13.
 133. Junqueira VB1, Barros SB, Chan SS, Rodrigues L, Giavarotti L, Abud RL, Deucher GP. Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med* 2004;25(1-2):5-16
 134. Kam PCA, So A. Cox-3: Uncertainties and controversies. *Curr Anaesth Crit Care* 2009;20(1):50–3.
 135. Kane SM, Garcia-Tomas V, Alejandro-Rodriguez M, Astley B, Pollard RR. Randomized trial of transversus abdominis plane block at total laparoscopic hysterectomy: effect of regional analgesia on quality of recovery. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207(5):419.e1-5.

-
136. Karg E, Németh I, Virág G, Mészáros T, Boda D, Pintér S. Oxidative stress induced by bloodless limb surgery on humans. *Eur J Clin Invest* 1997;27(12):984-91.
137. Kaur G, Mishra S, Kaur A, Sehgal A, Nageswari KS, Prasad R. Retention of ovaries and oxidative stress of surgery. *Int J Gynaecol Obstet* 2007;97(1):40-3.
138. Kawamura T, Kadosaki M, Nara N, Kaise A, Suzuki H, Endo S, Wei J, Inada K. Effects of sevoflurane on cytokine balance in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006;20(4):503-8.
139. Ke JJ, Feng XB, Wu Y, Rao Y, Wang YL. A comparison of the effect of total intravenous anaesthesia with propofol and remifentanyl and inhalational anaesthesia with isoflurane on the release of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing open cholecystectomy. *Anaesth Intensive Care* 2008;36(1):74-8.
140. Kehlet H, Dahl JB. Anaesthesia, surgery, and challenges in postoperative recovery. *Lancet* 2003;362(9399):1921-8.
141. Kehlet H. Multimodal approach to control postoperative pathophysiology and rehabilitation. *Br J Anaesth* 1997;78:606-17.
142. Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000;149(1):43-50.
143. Kessler M, Lübbers DW, Krumme BA, Schönleben K, Bünte H. Oxygen tension in different tissues. *Bibl Anat* 1977;(16 Pt 2):146-9.
144. Kevin L, Novalija E, Stowe D. Reactive oxygen species as mediators of cardiac injury and protection: the relevance to anesthesia practice. *Anesth Analg* 2005;101:1275-87.
145. Kharasch ED, Thummel KE. Identification of cytochrome P4502E1 as the predominant enzyme catalyzing human liver microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1993;79:795– 807.
146. Kim MH, Hahn TS. Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 are affected by ketorolac as an adjunct to patient-controlled morphine after abdominal hysterectomy. *Clin J Pain* 2001;17(1):72-7.
147. Kim MR, Park DW, Lee JH, Choi DS, Hwang KJ, Ryu HS, Min CK. Progesterone-dependent release of transforming growth factor-beta1 from epithelial cells enhances the endometrial decidualization by turning on the Smad signalling in stromal cells. *Mol Hum Reprod* 2005;11(11):801-8.
148. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81(14):4343-7.
149. Kluivers KB, Hendriks JC, Mol BW, Bongers MY, Vierhout ME, Brölmann HA, de Vet HC. Clinimetric properties of 3 instruments measuring postoperative recovery in a gynecologic surgical population. *Surgery* 2008;144(1):12-21.
-

-
150. Koelsch M, Mallak R, Graham GG, Kajer T, Milligan MK, Nguyen LQ, Newsham DW, Keh JS, Kettle AJ, Scott KF, Ziegler JB, Pattison DI, Fu S, Hawkins CL, Rees MD, Davies MJ. Acetaminophen (paracetamol) inhibits myeloperoxidase-catalyzed oxidant production and biological damage at therapeutically achievable concentrations. *Biochem Pharmacol* 2010;79(8):1156-64.
151. Kosaka H, Yoshimoto T, Yoshimoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Interferon-gamma is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat Med* 2008;14(4):437-41.
152. Krikri A, Alexopoulos V, Zoumakis E, Katsaronis P, Balafas E, Kouraklis G, Karayannacos PE, Chrousos GP, Skalkeas G. Laparoscopic vs. open abdominal surgery in male pigs: marked differences in cortisol and catecholamine response depending on the size of surgical incision. *Hormones (Athens)* 2013;12(2):283-91.
153. Krishnamurthy P, Wadhvani A. Antioxidant Enzymes and Human Health, Antioxidant Enzyme. Rijeka: InTech, 2012. doi: 10.5772/48109.
154. Kulacoglu H, Ozdogan M, Gurer A, Ersoy EP, Onder Devay A, Duygulu Devay S, Gulbahar O, Gogkus S. Prospective comparison of local, spinal, and general types of anaesthesia regarding oxidative stress following Lichtenstein hernia repair. *Bratisl Lek Listy* 2007;108(8):335-9.
155. Kumru S, Godekmerdan A, Yilmaz B. Immune effects of surgical menopause and estrogen replacement therapy in peri-menopausal women. *J Reprod Immunol* 2004;63(1):31-8.
156. Kurosawa S, Kato M. Anesthetics, immune cells, and immune responses. *J Anesth* 2008;22:263–77.
157. Kurosawa S. Anesthesia in patients with cancer disorders. *Curr Opin Anaesthesiol* 2012;25(3):376-84.
158. Kvarnström AL, Sarbinowski RT, Bengtson JP, Jacobsson LM, Bengtsson AL. Complement activation and interleukin response in major abdominal surgery. *Scand J Immunol* 2012;75(5):510-6.
159. Leong JY, van der Merwe J, Pepe S, Bailey M, Perkins A, Lymbury R, Esmore D, Marasco S, Rosenfeldt F. Perioperative metabolic therapy improves redox status and outcomes in cardiac surgery patients: a randomised trial. *Heart Lung Circ* 2010;19(10):584-91.
160. Leung CC, Chan YM, Ngai SW, Ng KF, Tsui SL. Effect of pre-incision skin infiltration on post-hysterectomy pain – a double-blind randomized controlled trial. *Anaesth Intensive Care* 2000;28(5):510–16.

-
161. Li L, Huang L, Vergis AL, Ye H, Bajwa A, Narayan V, Strieter RM, Rosin DL, Okusa MD. IL-17 produced by neutrophils regulates IFN-gamma-mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2010;120(1):331-42.
162. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006;24:99-146.
163. Li Volti G, Murabito P, Attaguile G, Rodella LF, Astuto M, Di Giacomo C, Gullo A. Antioxidant properties of propofol: when oxidative stress sleeps with patients. *EXCLI J* 2006;5:25-32.
164. Lim HK, Jayaweera S, Calderone A, Pepe S, Rosenfeldt FL, Marasco SF. Protective role of coenzyme Q10 in two models of rat lung injury. *ANZ J Surg* 2010;80(4):265-70.
165. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000;127(2):117-26.
166. Liochev IS, Fridovich SI. Superoxide and iron: partners in crime. *IUBMB Life* 1999;48:157-61.
167. Liochev SI, Fridovich I. The effects of superoxide dismutase on H₂O₂ formation. *Free Radic Biol Med* 2007;42(10):1465-9.
168. Lobo V. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010;4(8):118-26.
169. Loh JK, Lieu AS, Su YF, Cheng CY, Tsai TH, Lin CL, Lee KS, Hwang SL, Kwan AL, Wang CJ, Hong YR, Chio CC, Howng SL. Plasma levels of transforming growth factor-beta 1 before and after removal of low- and high-grade astrocytomas. *Cytokine* 2013;61(2):413-8.
170. Looney M, Doran P, Buggy DJ. Effect of anesthetic technique on serum vascular endothelial growth factor C and transforming growth factor β in women undergoing anesthesia and surgery for breast cancer. *Anesthesiology* 2010;113(5):1118-25.
171. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med* 2009;30(1-2):42-59.
172. Luo JL, Hammarqvist F, Andersson K, Wernerman J. Skeletal muscle glutathione after surgical trauma. *Ann Surg* 1996;223(4):420-7.
173. Luo JL, Hammarqvist F, Andersson K, Wernerman J. Surgical trauma decreases glutathione synthetic capacity in human skeletal muscle tissue. *Am J Physiol* 1998;275(2 Pt 1):E359-65.
174. Lushchak V, Semchyshyn HM. Oxidative stress-molecular mechanisms and biological effects. Rijeka: InTech, 2012. (doi: 10.5772/2333).
-

-
175. Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J Amino Acids* 2012; 2012: 736837. (<http://dx.doi.org/10.1155/2012/736837>)
176. Ma J, Wang J, Wan J, Charboneau R, Chang Y, Barke RA, Roy S. Morphine disrupts interleukin-23 (IL-23)/IL-17-mediated pulmonary mucosal host defense against *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infect Immun* 2010; 78(2):830–7.
177. Madden KS, Sanders VM, Felten DL. Catecholamine influences sympathetic neural modulation of immune responsiveness. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995;35: 417–48.
178. Mahdy A, Galley HF, Abdel-Wahed MA, el-Korny KF, Sheta SA, Webster NR. Differential modulation of interleukin-6 and interleukin-10 by diclofenac in patients undergoing major surgery. *Br J Anesth* 2002;88(6):797-802.
179. Makimura C, Arao T, Matsuoka H, Takeda M, Kiyota H, Tsurutani J, Fujita Y, Matsumoto K, Kimura H, Otsuka M, Koyama A, Imamura CK, Yamanaka T, Tanaka K, Nishio K, Nakagawa K. Prospective study evaluating the plasma concentrations of twenty- six cytokines and response to morphine treatment in cancer patients. *Anticancer Res* 2011;31(12):4561-8.
180. Makman MH, Dobrenis K, Surratt CK. Properties of mu 3 opiate alkaloid receptors in macrophages, astrocytes, and HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *Adv Exp Med Biol* 1998;437:137-48.
181. Makman MH. Morphine receptors in immunocytes and neurons. *Adv Neuroimmunol* 1994;4(2):69-82.
182. Mannick JA, Rodrick ML, Lederer JA The immunologic response to injury. *J Am Coll Surg* 2001;193(3):237-44.
183. Marklund S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492:19-23.
184. Martin JL, Koodie L, Krishnan AG, Charboneau R, Barke RA, Roy S. Chronic morphine administration delays wound healing by inhibiting immune cell recruitment to the wound site. *Am J Pathol* 2010;176(2):786–99.
185. Mas E, Barden AE, Corcoran TB, Phillips M, Roberts LJ 2nd, Mori TA. Effects of spinal or general anesthesia on F₂-isoprostanes and isofurans during ischemia/reperfusion of the leg in patients undergoing knee replacement surgery. *Free Radic Biol Med* 2011;50(9):1171-6.
186. Matalka KZ. The effect of estradiol, but not progesterone, on the production of cytokines in stimulated whole blood, is concentration-dependent. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24(3-4):185-91.
-

-
187. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol* 2012;30:221-41.
188. Mayes PA, Botham KM. Biologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, eds. *Harper's illustrated biochemistry*. 26th ed. New York: McGraw-Hill, 2003: 86-91.
189. Mazullo Filho JB, Bona S, Rosa DP, Silva FG, Forgiarini Junior LA, Dias AS, Marroni NP. The effects of mechanical ventilation on oxidative stress. *Rev Bras Ter Intensiva* 2012;24(1):23-9.
190. McAnulty S, McAnulty L, Nieman D, Morrow J, Dumke C, Henson D. Effect of NSAID on muscle injury and oxidative stress. *Int J Sports Med* 2007;28(11):909-15.
191. McCaffrey M, Pasero C. *Pain: clinical manual*. 2nd ed. St Louis: C.V. Mosby, 1999.
192. McDonald CI, Fraser JF, Coombes JS, Fung YL. Oxidative stress during extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2014. (doi: 10.1093/ejcts/ezt637).
193. Meiler SE. Long-term outcome after anesthesia and surgery: remarks on the biology of a newly emerging principle in perioperative care. *Anesthesiol Clin* 2006;24(2):255-78.
194. Meltomaa SS, Mäkinen JI, Taalikka MO, Helenius HY. Incidence, risk factors and outcome of infection in a 1-year hysterectomy cohort: a prospective follow-up study. *J Hosp Infect* 2000;45(3):211-7.
195. Menger MD, Vollmar B. Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression? *Langenbecks Arch Surg* 2004;389(6):475-84.
196. Metnitz PG, Bartens C, Fischer M, Fridrich P, Steltzer H, Druml W. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1999;25(2):180-5.
197. Mila-Kierzenkowska C, Woźniak A, Drewa T, Woźniak B, Szpinda M, Krzyżyńska-Malinowska E, Rajewski R. Effects of open versus laparoscopic nephrectomy techniques on oxidative stress markers in patients with renal cell carcinoma. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013:438321. (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/438321>).
198. Miller RD. The place of research and the role of academic anesthesiologists in anesthetic departments. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002;16:353-70.
199. Minguet G, de la Rebière G, Franck T, Joris J, Serteyn D, Sandersen C. Sevoflurane inhibits equine myeloperoxidase release and activity in vitro. *Vet Anaesth Analg* 2013;40(2):166-75.
200. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683-765.
201. Motoyama S, Miura M, Hinai Y, Maruyama K, Usami S, Nakatsu T, Saito H, Minamiya Y, Murata K, Suzuki T, Ogawa J. Interferon-gamma 874A>T genetic polymorphism is
-

-
- associated with infectious complications following surgery in patients with thoracic esophageal cancer. *Surgery* 2009;146(5):931-8.
202. Mrakic-Spota S, Gussoni M, Montorsi M, Porcelli S, Vezzoli A. Assessment of a standardized ROS production profile in humans by electron paramagnetic resonance. *Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:973927. (<http://dx.doi.org/10.1155/2012/973927>).
203. Munder M, Mallo M, Eichmann K, Modolell M. Direct stimulation of macrophages by IL-12 and IL-18 – a bridge built on solid ground. *Immunol Lett* 2001;75(2):159-60.
204. Murphy GS, Szokol JW, Marymont JH, Greenberg SB, Avram MJ, Vender JS, Sherwani SS, Nisman M, Doroski V. Morphine-based cardiac anesthesia provides superior early recovery compared with fentanyl in elective cardiac surgery patients. *Anesth Analg* 2009;109(2): 311-9.
205. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,diisopropylphenol). *Br J Anaesth* 1992;68(6):613-8.
206. Murray RK. Metabolism of xenobiotics . In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, eds. *Harper's illustrated biochemistry*. 26th ed. New York: McGraw-Hill, 2003: 626-32.
207. Murray RK. Red and white blood cells. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, eds. *Harper's illustrated biochemistry*. 26th ed. New York: McGraw-Hill, 2003: 609-25.
208. Myers CR. Subcellular sites of xenobiotic-induced free-radical generation. In: Wallace KB. *Free radical toxicology*. Washington, DC: CRC Press, Taylor & Francis, 1997: 25-44.
209. Myles P, Weitkamp B, Jones K, Melick J, Hensen S. Validity and reliability of postoperative quality of recovery score: the QoR-40. *Br J Anaesth* 2000;84(1):11-5.
210. Myles PS, Hunt JO, Fletcher H, Solly R, Woodward D, Kelly S. Relation between quality of recovery in hospital and quality of life at 3 months after cardiac surgery. *Anesthesiology* 2001;95:862–7.
211. Neseke-Adam V. Comparison of the effects of low intra-abdominal pressure and pentoxifylline on oxidative stress during CO₂ pneumoperitoneum in rabbits. *Eur Surg Res* 2009;43(4):330-7.
212. Ng TH, Britton GJ, Hill EV, Verhagen J, Burton BR, Wraith DC. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. *Front Immunol* 2013;4:129.
213. Nickkholgh A, Barro-Bejarano M, Liang R, Zorn M, Mehrabi A, Gebhard MM, Büchler MW, Gutt CN, Schemmer P. Signs of reperfusion injury following CO₂ pneumoperitoneum: an in vivo microscopy study. *Surg Endosc* 2008;22(1):122-8.
-

-
214. O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg* 1995;222(4):482-90.
215. Offner PJ, Moore EE, Biffl WL. Male gender is a risk factor for major infections after surgery. *Arch Surg* 1999;134:935-8.
216. Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Takahata R, Kinoshita M, Mochizuki H. Sex differences in cytokine production and surface antigen expression of peripheral blood mononuclear cells after surgery. *Am J Surg* 2005;190(3):439-44.
217. Opitz I, Arni S, Oberreiter B, Asmis LM, Vogt P, Rousson V, Weder W, Lardinois D. Perioperative diclofenac application during video-assisted thoracic surgery pleurodesis modulates early inflammatory and fibrinolytic processes in an experimental model. *Eur Surg Res* 2013;50:14-23.
218. Ostman A, Frijhoff J, Sandin A, Böhmer FD. Regulation of protein tyrosine phosphatases by reversible oxidation. *J Biochem* 2011;150(4):345-56.
219. Ozdemir C, Akdis M, Akdis CA. Nature of regulatory T cells in the context of allergic disease. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2008;4(3):106-10.
220. Papalambros E, Sigala F, Georgopoulos S, Paraskevas KI, Andreadou I, Menenakos X, Sigalas P, Papalambros AL, Vourliotakis G, Giannopoulos A, Bakoyiannis C, Bastounis E. Malondialdehyde as an indicator of oxidative stress during abdominal aortic aneurysm repair. *Angiology* 2007;58(4):477-82.
221. Pappas-Gogos G, Tellis C, Lasithiotakis K, Tselepis AD, Tsimogiannis K, Tsimoyiannis E, Chalkiadakis G, Chrysos E. Oxidative stress markers in laparoscopic versus open colectomy for cancer: a double-blind randomized study. *Surg Endosc* 2013;27(7):2357-65.
222. Pappu R, Ramirez-Carrozzi V, Sambandam A. The interleukin-17 cytokine family: critical players in host defence and inflammatory diseases. *Immunology* 2011;134(1): 8-16.
223. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005;6(11):1133-41.
224. Pavlović DD. Biološka oksidacija. U: Koraćević D, Bjelaković G, Đorđević V, Nikolić J, Pavlović D, Kocić G, Cvetković T, Stojanović I, Jevtović Stoimenov T, Sokolović D, ur. *Biohemija*. V izdanje. Beograd: Savremena administracija Beograd, 2011: 678-705.
225. Peterson PK, Gekker G, Brummitt C, Pentel P, Bullock M, Simpson M, Hitt J, Sharp B. Suppression of human peripheral blood mononuclear cell function by methadone and morphine. *J Infect Dis* 1989;159(3):480-7.
-

-
226. Pirenne J, Ribbens C, Médot M, De Groote D, Vrindts Y, Lopez M, Gathy R, Franchimont P, Jacquet N. Adverse effect of abdominal operations on production of interferon-gamma. *Eur J Surg* 1995;161(2):77-83.
227. Prass K, Meisel C, Höflich C, Braun J, Halle E, Wolf T, Ruscher K, Victorov IV, Priller J, Dirnagl U, Volk HD, Meisel A. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. *J Exp Med* 2003;198:725–36.
228. Prud'homme GJ. Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. *Lab Invest* 2007;87(11):1077-91.
229. Recouvreux MV, Lapyckyj L, Camilletti MA, Guida MC, Ornstein A, Rifkin DB, Becu-Villalobos D, Díaz-Torga G. Sex differences in the pituitary transforming growth factor- β 1 system: studies in a model of resistant prolactinomas. *Endocrinology* 2013;154(11):4192-205.
230. Reibman J, Meixler S, Lee TC, Gold LI, Cronstein BN, Haines KA, Kolasinski SL, Weissmann G. Transforming growth factor beta 1, a potent chemoattractant for human neutrophils, bypasses classic signal-transduction pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6805–9.
231. Repetto M, Semprine J, Boveris A. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. Catala A, ed. *Lipid peroxidation*. Rijeka: InTech, 2012. (doi: 10.5772/45943)
232. Richie JP Jr, Skowronski L, Abraham P, Leutzinger Y. Blood glutathione concentrations in a large-scale human study. *Clin Chem* 1996;42(1):64-70.
233. Rodríguez R, Martínez E, Santana M, Rodríguez Huertas E. Stress response under continuous infusion of remifentanyl compared to bolus doses of fentanyl assessed by levels of cytokines, C-reactive protein, and cortisol during and after abdominal hysterectomy. *Rev Esp Anestesiología Reanimación* 2007;54(4):221-6.
234. Rokyta R, Holecek V, Pekárkova I, Krejcová J, Racek J, Trefil L, Yamamotová A. Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24(5):304-9.
235. Roncarolo MG, Gregori S, Battaglia M, Bacchetta R, Fleischhauer K, Levings MK. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunol Rev* 2006;212:28-50.
236. Rosenfeldt F, Wilson M, Lee G, Kure C, Ou R, Braun L, de Haan J. Oxidative stress in surgery in an ageing population: pathophysiology and therapy. *Exp Gerontol* 2013;48(1):45-54.

-
237. Roy S, Balasubramanian S, Sumandeep S, Charboneau R, Wang J, Melnyk D, Beilman GJ, Vatassery R, Barke RA. Morphine directs T cells toward T(H2) differentiation. *Surgery* 2001;130(2):304-9.
238. Roy S, Ninkovic J, Banerjee S, Charboneau RG, Das S, Dutta R, Kirchner VA, Koodie L, Ma J, Meng J, Barke RA. Opioid drug abuse and modulation of immune function: consequences in the susceptibility to opportunistic infections. *J Neuroimmune Pharmacol* 2011; 6(4): 442–65.
239. Royse CF, Newman S, Chung F, Stygall J, McKay RE, Boldt J, Servin FS, Hurtado I, Hannallah R, Yu B, Wilkinson DJ. Development and feasibility of a scale to assess postoperative recovery: the post-operative quality recovery scale. *Anesthesiology* 2010;113(4):892-905.
240. Rozmer Z, Perjési P. Effect of some nonsteroid antiinflammatory drugs on Fenton-reaction initiated degradation of 2-deoxy-D-ribose. *Acta Pharm Hung* 2005;75(2):69-75.
241. Rubtsov YP, Rudensky AY. TGF-beta signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. *Nat Rev Immunol* 2007;7:443–53.
242. Sabatos-Peyton CA, Verhagen J, Wraith DC. Antigen-specific immunotherapy of autoimmune and allergic diseases *Curr Opin Immunol* 2010; 22(5):609–15.
243. Sanders RD, Maze M. Neuroinflammation and postoperative cognitive dysfunction: can anaesthesia be therapeutic? *Eur J Anaesthesiol* 2010;27(1):3-5.
244. Sandström J, Nilsson P, Karlsson K, Marklund SL. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *J Biol Chem* 1994;269(29): 19163-6.
245. Sane AS, Chokshi SA, Mishra VV, Barad DP, Shah VC, Nagpal S. Serum lipoperoxide levels in surgical stress of abdominal hysterectomy. *Panminerva Med* 1993;35:131-3.
246. Santulli P, Borghese B, Lemaréchal H, Leconte M, Millischer AE, Batteux F, Chapron C, Borderie D. Increased serum oxidative stress markers in women with uterine leiomyoma. *PLoS One* 2013;8(8):e72069.
247. Savitha D, Rao KR, Girish SP. Effect of surgical stress on neutrophil function. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008;52(3):302-6.
248. Schinkel C. The role of IFN-gamma in surgical patients. *J Interferon Cytokine Res* 2003;23: 341-9.
249. Schneemilch CE, Ittenson A, Ansorge S, Hachenberg T, Bank U. Effect of 2 anesthetic techniques on the postoperative proinflammatory and anti-inflammatory cytokine response and cellular immune function to minor surgery. *J Clin Anesth* 2005;17(7):517-27.

-
- 250.Scholl R, Bekker A, Babu R. Neuroendocrine and immune responses to surgery. *The Internet Journal of Anesthesiology* 2012;30(3).
- 251.Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004;75(2):163-89.
- 252.Shah PP, Desai PR, Patel AR, Singh MS. Skin permeating nanogel for the cutaneous co-delivery of two anti-inflammatory drugs. *Biomaterials* 2012;33(5):1607-17.
- 253.Shalev I, Schmelzle M, Robson SC, Levy G. Making sense of regulatory T cell suppressive function. *Semin Immunol* 2011;23(4):282-92.
- 254.Sharma CV, Mehta V. Paracetamol: mechanisms and updates. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain* 2013. (doi: 10.1093/bjaceaccp/mkt049).
- 255.Sheeran P, Hall G M.Cytokines in anaesthesia. *Br J Anaesth* 1997;78(2):201-9.
- 256.Shirakawa T, Tokunaga A, Onda M. Release of immunosuppressive substances after gastric resection is more prolonged than after mastectomy in humans. *Int Surg* 1998;83(3):210-4.
- 257.Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med* 1999;27(9-10):916-21.
- 258.Sinatra R. Role of COX-2 inhibitors in the evolution of acute pain management. *J Pain Symptom Manage* 2002;24(1 Suppl):S18-27.
- 259.Singhal PC, Kapasi AA, Franki N, Reddy K. Morphine-induced macrophage apoptosis: the role of transforming growth factor- β . *Immunology* 2000;100(1): 57–62.
- 260.Smith TO, Hing CB. A meta-analysis of tourniquet assisted arthroscopic knee surgery. *Knee* 2009;16:317-21.
- 261.Sofra M, Fei PC, Fabrizi L, Marcelli ME, Claroni C, Gallucci M, Ensoli F, Forastiere E. Immunomodulatory effects of total intravenous and balanced inhalation anesthesia in patients with bladder cancer undergoing elective radical cystectomy: preliminary results. *J Exp Clin Cancer Res* 2013;32:6.
- 262.Stipancic I, Zarkovic N, Servis D, Sabolović S, Tatzber F, Busic Z. Oxidative stress markers after laparoscopic and open cholecystectomy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2005;15(4):347-52.
- 263.Stone K, Ksebati MB, Marnett LJ. Investigation of the adducts formed by reaction of malondialdehyde with adenosine. *Chem Res Toxicol* 1990;3(1):33-8.
- 264.Sun E, Xu H, Liu Q, Zhou J, Zuo P, Wang J. The mechanism for the effect of selenium supplementation on immunity. *Biol Trace Elem Res* 1995;48:231–8.

-
265. Szymczyk G, Beltowski J, Marciniak A, Kotarski J. Assessment of serum lipid peroxide levels and antioxidant status in females who had undergone total abdominal hysterectomy without closing of peritoneum. *Gin Pol* 2003;74:1397-403.
266. Szymczyk G, Beltowski J, Marciniak A, Kotarski J. Serum isoprostanes levels in patients after abdominal hysterectomy. *Rocz Akad Med Bialymst* 2005;50:322-4.
267. Tabuchi Y, Shinka S, Ishida H. The effects of anesthesia and surgery on count and function of neutrophils. *J Anesth* 1989;3(2):123-31.
268. Takaya H, Andoh A, Makino J, Shimada M, Tasaki K, Araki Y, Bamba S, Hata K, Fujiyama Y, Bamba T. Interleukin-17 stimulates chemokine (interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1) secretion in human pancreatic periacinar myofibroblasts. *Scand J Gastroenterol* 2002;37(2):239-45.
269. Tegeder I, Peeilschifter J, Geisslinger G. Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J* 2001;15(12):2057-72.
270. Teixeira HD, Schumacher RI, Meneghini R. Lower intracellular hydrogen peroxide levels in cells overexpressing CuZn-superoxide dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(14):7872-5.
271. Thomas S, Kang G, Balasubramanian KA. Surgical manipulation of the intestine results in quantitative and qualitative alterations in luminal *Escherichia coli*. *Ann Surg* 2004;240(2):248-54.
272. Trenti T, Bertolotti M, Castellana CN, Ferrari A, Pini LA, Sternieri E. Plasma glutathione level in paracetamol daily abuser patients. Changes in plasma cysteine and thiol groups after reduced glutathione administration. *Toxicol Lett* 1992;64-65(Spec No):757-61.
273. Tsuboi I, Tanaka H, Nakao M, Shichijo S, Itoh K. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially regulate cytokine production in human lymphocytes: up-regulation of TNF, IFN-gamma and IL-2, in contrast to down-regulation of IL-6 production. *Cytokine* 1995;7(4):372-9.
274. Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Antioxidant protection of propofol and its recycling in erythrocyte membranes. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:54-60.
275. Tsuchiya M, Sato E, Inoue M, Asada A. Open abdominal surgery increases intraoperative stress: can it be prevented? *Anesth Analg* 2008;107:1946-52.
276. Tsuchiya M, Tokai H, Takehara Y, Haraguchi Y, Asada A, Utsumi K, Inoue M. Interrelation between oxygen tension and nitric oxide in the respiratory system. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(4 Pt 1):1257-61.
-

-
277. Tylman M, Sarbinowski R, Bengtson JP, Kvarnström A, Bengtsson A. Inflammatory response in patients undergoing colorectal cancer surgery: the effect of two different anesthetic techniques. *Minerva Anesthesiol* 2011;77(3):275-82.
278. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005;12(10):1161-208.
279. Vane JR, Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res* 1998;47(Suppl 2):S78-87.
280. Veal EA, Day AM, Morgan BA. Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Molecular Cell* 2007;26(1):1-14.
281. Wahl SM, Hunt DA, Wakefield LM, McCartney-Francis N, Wahl LM, Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:5788-92.
282. Wahl SM. Transforming growth factor-beta: innately bipolar. *Curr Opin Immunol* 2007;19:55-62.
283. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S, Monson JR, Guillou PJ. Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery. *Br J Surg* 1993;80(2):205-9.
284. Wang J, Barke RA, Charboneau R, Loh HH, Roy S. Morphine negatively regulates interferon-gamma promoter activity in activated murine T cells through two distinct cyclic AMP-dependent pathways. *J Biol Chem* 2003;278(39):37622-31.
285. Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Update on ischemia-reperfusion injury for the plastic surgeon: 2011. *Plast Reconstr Surg* 2011;128(6):685e-92e.
286. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(13):7563-8
287. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003;33:105-36.
288. Wichmann MW, Muller C, Meyer G, Adam M, Angele MK, Eisenmenger SJ, Schildberg FW. Different immune responses to abdominal surgery in men and women. *Langenbecks Arch Surg* 2003; 387:397-401.
289. Wiesenfeld M, O'Connell MJ, Wieand HS, Gonchoroff NJ, Donohue JH, Fitzgibbons RJ Jr, Krook JE, Mailliard JA, Gerstner JB, Pazdur R. Controlled clinical trial of interferon-gamma as postoperative surgical adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1995;13(9):2324-9.
-

-
290. Wilke CM, Kryczek I, Wei S, Zhao E, Wu K, Wang G, Zou W. Th17 cells in cancer: help or hindrance? *Carcinogenesis* 2011;32(5): 643-9.
291. Wilmore D. From cuthbertson to fast-track surgery: 70 years of progress in reducing stress in surgical patients. *Ann Surg* 2002;236(5): 643-4.
292. Winterbourn C, Bus IH. Protein-carbonyl measurement by enzyme-linked immunoabsorbent assay. *Methods Enzymol* 1999;300:106-11.
293. Winterbourn C, Hampton M. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic Biol Med* 2008;45:549-61.
294. Wong CH, Liu TZ, Chye SM, Lu FJ, Liu YC, Lin ZC, Chen CH. Sevoflurane-induced oxidative stress and cellular injury in human peripheral polymorphonuclear neutrophils. *Food Chem Toxicol* 2006;44(8):1399-407.
295. Worthington JJ, Fenton TM, Czajkowska BI, Klementowicz JE, Travis MA. Regulation of TGF β in the immune system: An emerging role for integrins and dendritic cells *Immunobiology* 2012; 217(12): 1259–65.
296. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004;134(3):489-92.
297. Yalcin S, Aydoğan H, Yuce HH, Kucuk A, Karahan MA, Vural M, Camuzcuoğlu A, Aksoy N. Effects of sevoflurane and desflurane on oxidative stress during general anesthesia for elective cesarean section. *Wien Klin Wochenschr* 2013;125(15-16):467-73.
298. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, Armitage RJ. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 1995;155(12):5483-6.
299. Yiannakopoulou ECh, Nikiteas N, Perrea D, Tsigris C. Effect of laparoscopic surgery on oxidative stress response: systematic review. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2013;23(2):101-8.
300. You L. Steroid hormone biotransformation and xenobiotic induction of hepatic steroid metabolizing enzymes. *Chem Biol Interact* 2004;147(3):233-46.
301. Yu XM, Wang XF. The in vitro proliferation and cytokine production of V α 24+V β 11+ natural killer T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Chin Med J (Engl)* 2011;124(1):61-5.
302. Zea M, Anees A, Islam N, Zafar K, Ashraf T. Comparison of metabolic and inflammatory stress response after laparoscopic and open cholecystectomy. *The Internet Journal of Surgery* 2009;22(2).
303. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* 2010;464(7285):104-7.
-

8.6. ИНДЕТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I. Аутор</i>
Име и презиме: Данијела Јовановић
Датум и место рођења: 30.08.1967. Јагодина, Србија
Садашње запослење: Центар за анестезију и реанимацију, КЦ Крагујевац
<i>II. Докторска дисертација</i>
Наслов: Анализа фактора удржених са постоперативном опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије
Број страница: 128
Број слика: 26
Број библиографских података: 303
Установа и место где је рад израђен: Клинички центар Крагујевац, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицина
Ментор: Проф. др Драган Миловановић
<i>III. Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 28.06.2011. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: 1632/10; Научно-наставно веће усвојило тему 17.11.2011. године Стручно веће прихватило тему 22.11.2011. године
Комисија за оцену подобности теме и кандидата: Проф. др Мирјана Варјачић Научни саветник др сц. мед. Весна Андрић Маленковић Проф. др Драган Миловановић
Комисија за оцену подобности теме и кандидата: Проф. др Мирјана Варјачић Научни саветник др сц. мед. Весна Андрић Маленковић Проф. др Драган Миловановић
Комисија за оцену докторске дисертације: Проф. др Мирјана Варјачић Проф. др Владимир Јаковљевић Доц. др Иван Јовановић Доц. др Татјана Вуловић Доц. Др Биљана Миличић
Комисија за одбрану докторске дисертације: Проф. др Мирјана Варјачић Проф. др Владимир Јаковљевић Доц. др Иван Јовановић Доц. др Татјана Вуловић Доц. Др Биљана Миличић
Датум одбране дисертације:

ПРИЛОГ

8.1. КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број – РБ:	
Идентификациони број – ИБР:	
Тип документације - ТД:	Монографска публикација
Тип записа - ТЗ:	Текстуални штампани материјал
Врста рада - ВР:	Докторска дисертација
Аутор - АУ:	Мр сц. мед. др Данијела Јовановић
Ментор/коментор - МН:	Проф. др Драган Миловановић
Наслов рада - НР:	Анализа фактора удружених са постоперативним опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије
Језик публикације - ЈП:	Српски (ћирилица)
Језик извода - ЈИ:	Српски/Енглески
Земља публикавања - ЗП:	Србија
Уже географско подручје – УГП:	Шумадија
Година - ГО:	2014
Издавач - ИЗ:	Ауторски репринт
Место и адреса - МС:	Крагујевац, Светозара Марковића 69, 34000 Крагујевац
Физичи опис рада - ФО:	
Научна област:	Медицина
Научна дисциплина - ДИ:	Анестезиологија, фармакологија, имунологија, биохемија
Предметна одредница/ кључне речи – ПО:	постоперативна аналгезија, квалитет постоперативног опоравка, кетопрофен, кеторолак, парацетамол, TBARS, маркери оксидационог стреса
УДК	
Чува се - ЧУ:	У библиотеци факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Важна напомена - ВН:	
Извод: ИД	Увод: Хируршка интервенција индукује многобројне физиолошке реакције које су колективно означене као Одговор организма на повреду. Оне укључују имунске промене, хормонске промене (хируршки стрес одговор), активацију коагулационог система као и промене у редокс систему (оксидациони стрес). Повезаност оваквих

промена са анестезијом и клиничким исходом је одавно препознатавод стране анестезиолога. Много мањи број студија је био фокусиран на удруженост промена у маркерима оксидацион стреса, постоперативне аналгезије и клиничких исхода.

ЦИЉ: Циљ ове студије је био да испита корелацију између промена у лучењу цитокина (IF- γ , IL-17, IL-10 i TGF- β), параметара оксидационог стреса (TBARS, H₂O₂, O₂⁻, NO, SOD, CAT, GSH), постоперативне аналгезије и значајног клиничког исхода.

МЕТОД: Педесет једна пацијенткиња (51) које су биле подвргнуте абдоминалној хистеректомији због бенигне болести је било укључено у ову клиничку студију. Анестезија је свим пацијенткињама вођена по истом протоколу. Постоперативна аналгезија је вођена :само морфином (M), морфином и кеторолаком (Z), морфином и кетопрофеном (K) или морфином и парацетамолом(P). Примарни исход студије је био квалитет постоперативног опоравка који је процењиван са упитником QoR-40. Узорци крви су узимани преоперативно, као и 3, 24,48,72 сати након операције, и у њима су анализирани концентрације цитокина (IF- γ , IL-17, IL-10 i TGF- β) као и маркера оксидационог стреса (TBARS, H₂O₂, O₂⁻, NO, SOD, CAT, GSH).

РЕЗУЛТАТИ: Укупни QoR-40 скор је показао значајне промене у времену, са падом у односу на преоперативне вредности првог и другог постоперативног дана. Трећег постоперативног дана се вредности нису разликовла од преоперативних.Подгрупа K је имала статистички виши скор првог постоперативног дана од осталих. Цитокини су показали значајне флукуације између студијских времена узорковања. IF- γ је показивао тренд пораста од 3 сата до 48 сати након операције. У 72 сату вредности су биле значајно ниже од преоперативних.Концентрације IL-17 су опадале након операције, са најнижим вредностима 24 сата након операције док се 72 сата постоперативно враћају на преоперативне вредности. TGF- β није показао значајне промене за првих 24 сата али је тренд опадања отпочео 48 сати након опеарције са још нижим вредностима након 72 сата. Концентрације IL-10 су расле након 3 сата али не

статистички значајно, затим значајно опале 24 сата након операције и 72 сата се вратиле на базалне вредности. У подгрупи К статистички је значајан пад IL-17 у односу на остале подгрупе. Међу параметрима оксидационог стреса, само H₂O₂ статистички значајно опада код свих пацијенткиња, са најнижим вредностима 3 сата након операције, док након 48 сати достиже преоперативне вредности. Вредности TBARS-а су порасле само у подгрупи Р и то до 48 сати, након чега се враћају на преоперативне вредности.

Закључак: Кетопрофен поправља квалитет постоперативног опоравка првог постоперативног дана и делује инхибиторно на IL-17. Парацетамол индукује повећање липидне пероксидације више него остали аналгетици.

Датум прихватања теме од стране ННВ – ДП:

Научно-наставно веће усвојило тему 17.11.2011. године

Стручно веће усвојило тему 22.11.2011. године

Датум одбране – ДО:

Чланови комисије: КО

1. **Проф. др Мирјана Варјачић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник;
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;
3. **Доц. др Иван Јовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Основи онкологије, члан;
4. **Доц. др Татјана Вуловић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан;
5. **Доц. др Биљана Миличић**, доцент Стоматолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Медицинска информатика, члан.

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICINE KRAGUJEVAC

Accession number – ANO:
Identification number – INO:
Documentation type - DT: Monographic publication
Type of record - TR: Textual material, printed
Contents code - CC: PhD Thesis
Author - AU: Danijela Jovanović
Mentor/co-mentor – MN: Prof. Dragan Milovanović MD, PhD
Title - TI : The analysis of factors associated with postoperative recovery in patients after elective abdominal hysterectomy

Language of text – LT: Serbian (cyrillic):
Language of abstract: Serbian/English
Country of publication - CP: Serbia
Locality of publication - LP: Sumadia municipality
Publication year - PY: 2014
Publisher -PU: Authors reprint
Publication place - PP: 34000 Kragujevac, Svetozara Markovica Street 69
Physical description – PD:
Scientific field – SF: Medicine
Scientific discipline - SD: Anesthesiology, pharmacology, immunology, biochemistry
Subject/key words - SKW: postoperative analgesia, ketoprofen, ketorolak, paracetamol, morphine quality of recovery, cytokines, TBARS, oxidative stress markers

UDC
Holding data: Library of Faculty of Medical Sciences,
University of Kragujevac, Republic of Serbia

Note – N:
Abstract - AB: Introduction: Surgery induces a variety of physiological reactions which are collectively known as Host Response to Injury. They include immunological changes, hormone changes (surgical stress response), activation of coagulation system and changes in redox system (oxidative stress). The association between the surgery induced inflammatory response, anesthesia management and clinical outcomes are increasingly recognized by the anesthesia community. Far fewer studies have been done to investigate the association between changes in

oxidative stress markers, postoperative analgesia and clinical outcomes. The aim of this study was to investigate the relationship between the changes in concentrations of cytokines (IF- γ , IL-17, TGF- β , IL-10), oxidative stress markers (TBARS, H₂O₂, O₂⁻, NO, SOD, CAT, GSH), postoperative analgesia modalities and meaningful clinical outcome, in patients after abdominal hysterectomy.

Method: Fifty one patients (n=51) which were underwent abdominal hysterectomy for benign disease were included in this clinical study. Anesthesia was maintained on the same way for the whole study population. Postoperative analgesia was maintained with: morphine alone (M) (intermittent boluses), morphine +ketorolac (Z), morphine +ketoprofen (K) or morphine+paracetamol (P). The primary end point was the quality of recovery, which was assessed with a 40 item questionnaire QoR-40. The tests were administered preoperatively, on the postoperative days (POD) 1, 2, 3. Blood samples were collected at baseline, 3, 24, 48, 72 hours after surgery, and were analyzed for the levels of cytokines (IF- γ , IL-17, TGF- β , IL-10) as well as oxidative stress markers (TBARS, H₂O₂, O₂⁻, NO, SOD, CAT, GSH). Data were analyzed with SPSS software using multivariate and mixed model approach to test for the effect of time and drug group. Pairwise comparisons were assessed with t-test or rank tests after correcting for multiple comparisons.

Results: The global QoR-40 showed significant effect of time, with average score falling to lower levels on POD1 and POD2 than baseline. By POD3, score showed no significant difference than baseline levels. Between groups of patients significantly higher global QoR-40 scores were identified in the group K, only on POD1. Cytokines showed significant fluctuations between different time points. IF- γ started to increase from baseline levels 3 hours after surgery with the highest levels 48 hours after surgery and declined below preoperative levels 72 hours after surgery. IL-17 decreased after surgery with the lowest levels 24 hours after surgery, after 72 hours preoperative levels were reestablished. TGF- β levels didn't show significant changes during first 24 hours, and after that started to decline statistically significant after 48 and even more on 72 hours after surgery. IL-10 levels showed increase in

the first 3 hours and then decreased after 24 hours. Preoperative levels were reestablished 72 hours after surgery. Between groups, statistical significance was shown in group K with the most pronounced declines. Among oxidative stress parameters only H₂O₂ statistically significant declined between different time points, with the lowest levels 3 hours after surgery, and on 48 hours achieved preoperative values. TBARS levels were increased only in the group P, up to 48 hours after surgery. 72 hours after surgery levels were not statistically significant than baseline.

Conclusion: Ketoprofen improves quality of recovery on POD1 and attenuates IL-17. Paracetamol induces higher levels of oxidative stress markers (TBARS) than other medications.

Accepted by the Scientific Board on - ASB:

Thesis accepted from scientific board of the faculty on 17.11.2011.

Thesis accepted from scientific board of the university on 22.11.2011.

Defended on - DE:

Thesis defended board – DB: (Degree/name/surname/title/faculty)

- 1. Prof. Mirjana Varjadic PhD, president**
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
- 2. Prof. Vladimir Jakovljevic PhD, member**
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
- 3. Doc. Ivan Jovanovic PhD, member**
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
- 4. Doc. Tatjana Vulovic PhD, member**
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
- 5. Doc. Biljana Milicic PhD, member**
Faculty of Dentistry, University of Belgrade

ОБРАЗАЦ 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Потписана Данијела Јовановић

број уписа 2007/135

ИЗЈАВЉУЈЕМ да је докторска дисертација под називом :., *Анализа фактора удружених са постоперативним опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије "*

- резултат сопственог истраживачког рада
- да предложена дисертација у целини, ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права нити користила интелектуалну својину других лица

У Крагујевцу,

24.06.2104

Потпис аутора

Мр сци др Данијела Јовановић



ОБРАЗАЦ 2.

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСКОГ РАДА

Име и презиме аутора
Данијела Јовановић
Број уписа
2007/135

Студијски програм:
Докторске академске студије

Наслов рада: „ Анализа фактора удружених са постоперативним опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије "

Ментор:
Проф. др Драган Миловановић

Потписана Мр сци др Данијела Јовановић

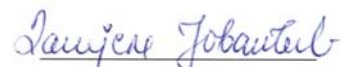
ИЗЈАВЉУЈЕМ да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала за објављивање на порталу ДИГИТАЛНОГ РЕПОЗИТОРИЈУМА УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

ДОЗВОЉАВАМ да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења, датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу,
24.06.2014

Потпис аутора
Мр сци др Данијела Јовановић



ОБРАЗАЦ 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

ОВЛАШЋУЈЕМ Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Анализа фактора удружених са постоперативним опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије“

која је моје ауторско дело.

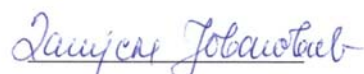
Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодним за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative commons) за коју сам се одлучила:

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
- 4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима**
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - делити под истим условима

У Крагујевцу,
24.06. 2014

Потпис аутора
Мр сци др Данијела Јовановић



БИОГРАФИЈА

1. ЛИЧНИ ПОДАЦИ

Име и презиме: Данијела Јовановић

Датум и место рођења: 30.08.1967. године, Јагодина, Република Србија

Адреса: Тоше Селаковића 17, 34000 Крагујевац

Телефон: 063/8325707

2. ОБРАЗОВАЊЕ

Прва крагујевачка гимназија

Медицински факултет у Крагујевцу, дипломирала 1992. године

Војномедицинска академија у Београду, специјализација анестезиологије са реаниматологијом 2001. године

Медицински факултет у Крагујевцу, магистрирала 2007. године

Медицински факултет у Крагујевцу, Докторске академске студије у изборном подручју „Клиничка и експериментална фармакологија" уписала школске 2007/2008. године.

3. РАДНО ИСКУСТВО

Заводу за хитну медицинску помоћ у Крагујевцу- од 1994 до 1999. године

Центар за Анестезију и ренимацију КЦ Крагујевац од 1.10.1999. године

Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Сарадник у настави за ужу научну област хирургија (од 2010-2013. године)

4. СТРУЧНА УСАВРШАВАЊА

Guy's and St Thomas hospital London (септембар-октобар 2009.)

Учесник великог броја домаћих и међународних симпозијума

5. ПОЗНАВАЊЕ СТРАНИХ ЈЕЗИКА

Енглески језик, напредни ниво

6. РАЗНО

Главни истраживач у Јуниор пројекту ЈП 09-12 Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу „Анализа фактора удружених са постоперативним опоравком код болесника после елективне абдоминалне хистеректомије“ од 2012. године

БИБЛИОГРАФСКИ ПОДАТЦИ

I. РАДОВИ ОБЈАВЉЕНИ У ЦЕЛИНИ У ВОДЕЋИМ МЕЂУНАРОДНИМ ЧАСОПИСИМА (часописи са "импакт" фактором-СЦИ)

1. Zornic N, Jovanovic Radojevic D, Jankovic S, Djuric D, Varjacic M, Simic VD and Milovanovic DR. Monitoring of drug-associated electrolyte disturbances in a hospital. **Pharmacoeconomics and Drug Safety 2009**; 18(11): 1026-33. (2008-IF: 2.516)

II. РАДОВИ ОБЈАВЉЕНИ У ДОМАЋИМ ЧАСОПИСИМА У ЦЕЛИНИ

2. Jovanović Radojević D, Živančević Simonović S, Malenković V, Miličić B i Milovanović D. Hormonski odgovor kod abdominalnih histerektomija. **Medicinski Časopis 2009**; 43(1): 1-13.
3. Jovicic U, Petrovic N, Jovanovic D, Milovanovic D. Inkopatibilnost lekova. Pons Med J 2012;9(1):27-32.
4. Dusan Djuric, Miroslav Mitrovic, Danijela Jovanovic, Zoran Jovanovic, Ivan Pavlovic, Olivera Milovanovic, Tatjana Sokolovic, Isidor Jevtovic. Komplijansa, adherence, konkordanca i perzistenca u savremenoj farmakoterapiji. Medicinski Casopis 2012; 46(4): 205-213.

III. Радови саопштени на међународним скуповима и објављени као сажети у зборницама

5. Milovanovic D, Zornic N, Arsic D, Jovanovic Radojevic D, Jevdjic J, Velickovic R, Dragojevic Simic V, Janjic V, Djukic Dejanovic S, Radonjic V, Jankovic S. Cost-effectiveness of clinical event monitoring of drug-associated electrolyte disturbances in hospital research setting. **ISPOR Serbia Chapter The first international conference**. Health economics in the context of health care system. Experience from Central, East and South Europe (Balkans). Belgrade, **2009** Mar 9-10. Abstract book: 283-4. N^o 5.
6. Milovanovic D, Jovanovic D. Bullous dermatosis associated with vancomycin use in the intensive care unit – importance of assessment of a rare clinical syndrome during treatment with multiple drugs. Section of Clinical Pharmacology and Academy of Medical Science. V week of the hospital clinical pharmacology. Belgrade, 2013 Nov 29th-Dec 1 st. Book of Abstract page 20.

IV. Магистарски рад

7. Jovanović Radojević D. Neurohumoralni stres odgovor tokom anestezije vodjene sevofluranom u poredjenju sa kombinacijom propofol/fentanil. **Magistarski rad**. Kragujevac: Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, 21. Dec **2007**.

V. Поглавља у књигама и уџбеницима за последипломску и специјалистичку наставу

8. Milovanović D, Jovanović D, Ružić D, Djurić V. **Nomenklatura i klasifikacija lekova**. U: Prostran M, Stanulović M, Marisavljević D, Djurić D. **Farmaceutska medicina**. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 2009: 618-24. ISBN 978-86-83943-32-6 CIP 615(082). Odlukom Veća za specijalističku nastavu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu od 1. jula 2009. godine, br. 1725-40/20 prihvata se recenzija publikacije koja je namenjena poslediplomskom usavršavanju.