



Општи подаци и протокол истраживања

Назив Пројекта : АНАЛИЗА ФАКТОРА УДРУЖЕНИХ СА ПОСТОПЕРАТИВНИМ ОПОРАВКОМ КОД БОЛЕСНИКА ПОСЛЕ ЕЛЕКТИВНЕ АБДОМИНАЛНЕ ХИСТЕРЕКТОМИЈЕ

Кључне речи : оксидативни стрес, цитокини, хистеректомија, квалитет опоравка

Предмет, садржај и циљ истраживања

Сажетак

УВОД. У току хируршке интервенције се активира неколико биолошких каскада и то: комплемент, метаболити арахидонске киселине, цитокини и реактивна једињења. Код пацијената код којих биолошке резерве нису смањене (АСА1/2/3) праћење постоперативног тока је све више фокусирано на квалитет и брзину постоперативног опоравка, за чију објективизацију су развијени и валидирани инструменти мерења.

ЦИЉ. Да се испита корелација између интензитета промена у цитокинском одговору и параметрима оксидативног стреса са квалитетом опоравка и модулишућим факторима. **ИСПИТАНИЦИ И МЕТОД.** Студија је дизајнирана као интервентно, контролисано, нетерапијско, отворено, нерандомизирано и проспективно истраживање. У истраживање ће бити укључена кохорта болесника са бенигним обољењима утеруса а који су подвргнути елективној абдоминалној хистеректомији у Клиничком центру "Крагујевац" у Крагујевцу. Узорци крви од испитаника ће бити узимани у пет наврата: преоперативно, непосредно постоперативно, након 24, 48 и 72 сата после операције. У свим узорцима ће се одређивати: а) имунолошки параметри (IL-10, IF-gamma, TGF- β , IL-17), б) параметри оксидативног стреса (активност ензима: супероксид димутаза, каталаза, мијелопероксидаза, глутатион редуктаза, глутатион оксидаза, као и продуката оксидације: протеин карбонила, супероксид аниона, водоник пероксида, индекс липидне пероксидације, нитрити. Тестирање квалитета постоперативног опоравка вршиће се на основу упитника за квалитет опоравка (QoR 40), нумеричке скале бола (NRS) и упитника о интензитету умора (FSS) и то 1, 3, 7, 30 и 90 дана постоперативно. У анализи прикупљених података користиће се методе дескриптивне статистике и тестирања хипотеза. Примарна варијабла биће квалитет клиничког опоравка а све остале ће бити секундарне варијабле.

ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ. Очекујемо да ће истраживање показати статистички значајне повезаности испитиваних параметара, посебно у односу на квалитет опоравка.

Кључне речи: оксидативни стрес, цитокини, хистеректомија, квалитет опоравка.



Циљ истраживања

Основни циљеви истраживања су следећи:

1. Да се утврди на који начин аналгетици примењени у периоперативној аналгезији утичу на квалитет постоперативног опоравка пацијената.
2. Да се утврди како различити аналгетици утичу на интензитет и модалитет промена у параметрима оксидативног стреса и цитокиноског одговора
3. Да се утврди како интензитет и модалитет промена у цитокинском одговору и параметрима оксидативног стреса утичу на клинички опоравак пацијената.

Актуелност истраживања

Традиционална евалуација медицинских интервенција разматра клиничке исходе као што су учесталост компликација одн. повећање морбидитета и морталитета. У последњој декади се фокус праћења исхода помера ка квалитету опоравка пацијената, тј. квалитету њиховог живота, функционалној независности, враћању когнитивних функција, способности за рад. У том циљу су развијени и валидирани инструменти за објективизацију опоравка, као што је Скор квалитета опоравка 40 (QoR40) (Myles et al., 2000), Скор интензитета умора-FSS (Krup et al., 1989), PQRS скор квалитета постоперативног опоравка (Roysel et al., 2010).

Хируршка интервенција је праћена значајним метаболичким и ендокриним променама, као и активацијом неколико биолошких каскада и то: цитокина, комплемента, метаболита арахидонске киселине, азот монооксида, слободних радикала. (Kehlet, 1997). Иако је примарна улога повећаног лучења ових једињења адаптивна и физиолошка, уколико је њихово лучење пренаглашено и дуго траје, доводи до неминовног оштећења ћелијских компоненти. Из тих разлога постоји велико интересовање за патофизиолошку улогу ових компоненти као и све веће интересовање на који начин утичу на клинички исход.

Прави клинички значај повишеног стварања реактивних једињења у периоперативним условима код критично оболелих још увек није довољно познат. Наиме, показано је да утичу на имунолошки систем, инфекције, алергијске реакције и повећан морталитет (Greenfeld et al., 2007), да благо повећање оксидативних једињења под утицајем анестетика севофлурана делује протективно на миокард да пропофол делује антиоксидативно и да смањује постоперативну анемију (Kevin et al., 2005).

На поменуте биолошке каскаде утичу врста и опсежност хируршке интервенције, генетски фактори, а неколико студија показује да и инхалациони и интравенски анестетици могу значајно да мењају лучење цитокина и РОС (Tsuchiya et al., 2008). До сада је у неколико студија праћен утицај НСАИЛ на поједине цитокине тј. ИЛ6, ИЛ10, TNF-алфа (Mahdy et al., 2002; Myung et al., 2001; Esme et al., 2011), док у доступној литератури нема студија које су испитивале утицај НСАИЛ на оксидативни стрес у периоперативним условима.

С друге стране, периоперативно давање опиоида, морфина, у кардиохирургији смањује пораст IL-6 (Murphy, 2009). Лекови који у својој структури садрже хемијске групе које имају капацитет за антиоксидативно деловање путем нпр. инхибиције синтезе оксидативних продуката, хипохлорне и хипобромне киселине и пероксинитрита, као што је то парацетамол, могу да буду потенцијално корисни модулатори хируршког стрес одговора (Koelsch et al., 2010).

У току и након абдоминалне хистеректомије повећано је лучење како проинфламаторних тако и антиинфламаторних цитокина (Holub et al., 2002; Kolsen-Peterson et al., 2008) али постоји и повишен ниво реактивних кисеоничних једињења (РОС) (Szymczyk, 2003). Неколико студија је испитивало корелацију између различитих аналгетика са квалитетом постоперативног опоравка (Murphy et al., 2009, Myles et al., 2001). Међутим, нема студија које су испитивале корелацију између поменутих биолошких каскада и квалитета опоравка и утицај аналгетика на стварање РОС. Компликације након абдоминалне



хистеректомије у смислу морталитета и повећаног морбидитета су ретке, тако да је квалитет опоравка рационални избор за праћење клиничког исхода.

Предмет и опис истраживања

Задачи студије

Задачи ове студије су да истражи утицај периоперативних фактора, посебно аналгезије, на концентрацију цитокина и реактивних кисеоничних једињења као и повезаности нарушавања баланса ових биолошких каскада са квалитетом постоперативног опоравка.

Методологија

Студија је дизајнирана као интервентно, контролисано, нетерапијско, отворено, нерандомизовано и проспективно истраживање. У истраживање ће бити укључена кохорта болесница са некомплицованим бенигним обољењима утеруса које су подвргнуте елективној хистеректомији у Клиничком центру „Крагујевац“ у Крагујевцу (Jovanović Radojević i sar., 2009). Испитанице ће бити укључене у студију најкасније дан раније од дана заказане операције, уколико испуњавају укључујуће и немају искључујуће критеријуме, прикупиће се сви потребни клинички и демографски подаци а потом ће испитанику ће бити узет узорак крви за одговарајуће биохемијске анализе.

Варијабле истраживања

Варијабле истраживања су груписане у више категорија. Примарна варијабла истраживања ће бити квалитет клиничког опоравка а све друге варијабле ће бити секундарне варијабле.

Параметри клиничког исхода

Параметри клиничког исхода су квалитет постоперативног опоравка и бол а биће процењивани на основу упитника QoR40 (Myles, 2000), на основу нумеричке скале НРС (Paice et al., 1997), и то преоперативно, као и 1., 2. и 3. постоперативног дана.

Параметри оксидативног стреса

Активност ензима ендogene антиоксидационе заштите организма ће бити одређивана на основу следећег: а) активност супероксид дизмутазе (СОД), б) активност каталазе, в) активност глутатион-пероксидазе и г) активности глутатион-редуктазе. Одређиваће се продукти оксидације: а) супероксид анион, б) водоник пероксид, в) индекс липидне пероксидације, г) нитрити, д) глутатион сулфонамид, њ) оксидовани глутатион, е) редуковани глутатион.

Одређивање активности SOD ће бити вршено адреналинском методом (Misra and Fridovich, 1972), активност каталазе у сонификату ће бити одређивана спектрофотометријским праћењем брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на 230 nm (Beutler, 1982), активност глутатион-пероксидазе ће бити одређивана праћењем потрошње NADPH, односно оксидација NADPH уз глутатион редуктазу на 340 nm а одређивање активности глутатион-редуктазе заснива се на праћењу оксидације NADPH на 340 nm, у реакцији у којој ензим катализује редукцију оксидованог у редуковани глутатион.

Концентрације цитокина у серуму

Концентрација релевантних цитокина (IFN- γ , IL-8, IL-6, IL-10, IL-17, VEGF, PGF, TGF- β и TNF- α) у серуму одређиваће се комерцијалним ELISA китовима специфичним за хумане протеине (Jovanović et al., 2010). Свим пацијентима ће бити одређене преоперативне вредности



citoкина. Одредиће се средња вредност и стандардна девијација. Свака постоперативна вредност која је изван граница $\pm 1,96$ СД од средње вредности ће се сматрати дисбалансом.

Етички и организациони аспекти студије
Студија је одобрена од стране надлежног Етичког одбора.

Статистичка анализа

На основу очекиване разлике у примарној варјабли (скора на QoR40 упутнику) прорачунат је узорак од 80 испитаника. У односу на присуство или одсуство одређеног фактора утицаја на квалитет опоравка студијска кохорта ће током анализе бити дељена на експерименталу и контролну групу. У анализи података користиће се методе дескриптивне статистике, тестирања хипотезе и логистичке регресије (Altman, 1991), уз $p < 0,05$.

Очекивани резултати

Ова студија би требало да одговори на истраживачко питање да ли и у којој мери различити модалитети периоперативне аналгезије утичу на интензитет промена у цитокинском одговору као и параметрима оксидативног стреса који се дешавају после абдоминалне хистеректомије. Такође би требало да да увид у утицај различитих модалитета аналгезије на квалитет и брзину постоперативног опоравка.

Значај истраживања

У периоду после абдоминалне хистеректомије, постоперативна аналгезија представља стуб опоравка а мулимодална аналгезија је нашла широку примену. Биолошке каскаде, међу којима су и синтеза цитокина као и дисбаланс параметара оксидативног стреса код абдоминалне хистеректомије трају и дуже од 24 сата после операције. Под претпоставком да различити модалитети постоперативне аналгезије мењају профил биолошких каскада од значаја је прибављање нових сазнања о њиховој повезаности са квалитетом раног постоперативног опоравка. Резултати ће пружити могућност примене у свакодневној анестезиолошкој пракси оних модалитета периоперативне аналгезије који су најповољнији за брзину и квалитет постоперативног опоравка.

Временски оквир

Истраживање ће се спроводити годину дана а након тога је предвиђена анализа прикупљених података.

Литература

1. Altman DG. Practical statistics for medical research. 1st ed. London: Chapman and Hall, 1991.
2. Ayala A, Chung CS, Grutkoski P, Song G. Mechanism of immune resolution. Crit Care Med 2003;31:558-71.
3. Beutler E. Catalase. In: Beutler E, ed. Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. New York: Grune and Stratton, 1982:105-6.
4. Esme 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.



5. Greenfeld K, Avraham R, Benish M, et al. Immune suppression while awaiting surgery and following it: dissociations between plasma cytokine levels, their induced production, and NK cell cytotoxicity. *Brain Behav Immun* 2007;21:503-13.
6. Holub Z, et al. Surgically induced hormonal, metabolic and inflammatory changes in laparoscopic hysterectomy: a comparasion with abdominal hysterectomy. *Gynecol Endosc* 2002;11:299-304.
7. 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;11:7-17.
8. Jovanović Radojević D, Živančević Simonović S, Malenković V, Miličić B i Milovanović D. Hormonski odgovor kod abdominalnih histerektomija. *Medicinski Časopis* 2009;43:1-13.
9. Kehlet H. Multimodal approach to control postoperative pathophysiology and rehabilitation. *Br J Anaesth* 1997;78:606-17.
10. 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.
11. Koelsch M, et al. Acethaminophen (paracetamol) inhibits myeloperoxidase-catalyzed oxidant production and biological damage at therapeutically achievable concentracions. *Biochem Pharmacol* 2010;79:1156-64.
12. Kolsen-Petersen JA, Bendtzen K, Tonnesen E. Infusion hypertonic saline before elective hysterectomy: effects on cytokines and stress hormones. *British Journal of Anesthesia* 2008; 100(4): 478-84.
13. Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus eritematodes. *Arch Neurol* 1989;46:1121-3.
14. Mahdy A, et al. Differential modulation of interleukin-6 and interleukin-10 by diclofenac in patients undergoing major surgery. *Br J Anesth* 2002;88:797-802.
15. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide-anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247:3170-3175.
16. Murphy G, et al. Morphine-based cardiac anesthesia provides superior early recovery compared with fentanyl in elective cardiac surgery patients. *Anesth Analg* 2009;109:311-19.
17. Myles P, Weitkamp B, Jones K, Melick J, Hensen S. Validity and realibility of postoperative quality of recovery score: the QoR-40. *Br J Anesth* 2000;84:11-5.
18. 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.
19. Myung K H, Tae Soo H, Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 are affected by ketorolac as an adjunct to patient-controlled morphine after abdominal hysterectomy. *Clinical Journal of Pain* 2001;17:71-7.
20. Paice Ja, Cohen VL. Validity of a verbally administered numeric rating scale to measure cancer pain intensity. *Cancer Nurs* 1997;20:88-93.
21. Royse CF, Newman S, Chung F, et al. Development and feasibility of a scale to assess postoperative recovery: the post-operative quality recovery scale. *Anesthesiology* 2010;113:892-905.
22. Szymczyk G, Beltowski J, Marciniak A, Kotarski J. Assesment 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.
23. 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.
24. Tsuchiya M, Sato E, Inoue M, Asada A. Open abdominal surgery increases intraoperative stress: can it be prevented? *Anesth Analg* 2008;107:1946-52.
25. Wilmore D. From cuthberston to fast-track surgery: 70 years of progress in reducing stress in surgical patients. *Ann Surg* 2002;236:643-4.