PLAZMATSKE KONCENTRACIJE TRAMADOLA, O-DEMETILTRAMADOLA I N-DEMETILTRAMADOLA KOD PACIJENATA LIJEČENIH U JEDINICI INTENZIVNOG LIJEČENJA NAKON VELIKIH ABDOMINALNIH OPERACIJSKIH ZAHVATA

Nešković, Nenad

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:328565

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Nenad Nešković

PLAZMATSKE KONCENTRACIJE TRAMADOLA, O-DEMETILTRAMADOLA I N-DEMETILTRAMADOLA KOD PACIJENATA LIJEČENIH U JEDINICI INTENZIVNOG LIJEČENJA NAKON VELIKIH ABDOMINALNIH OPERACIJSKIH ZAHVATA

Doktorska disertacija

Osijek, 2021.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Nenad Nešković

PLAZMATSKE KONCENTRACIJE TRAMADOLA, O-DEMETILTRAMADOLA I N-DEMETILTRAMADOLA KOD PACIJENATA LIJEČENIH U JEDINICI INTENZIVNOG LIJEČENJA NAKON VELIKIH ABDOMINALNIH OPERACIJSKIH ZAHVATA

Doktorska disertacija

Osijek, 2021.

Mentor rada: prof. prim. dr. sc. Slavica Kvolik

Komentor rada: doc. dr. sc. Saška Marczi

Rad ima 82 lista.

PREDGOVOR RADU

Izrada ove doktorske disertacije financirana je iz projekata Medicinskog fakulteta u Osijeku (VIF2015-MEFOS-16, VIF2016-MEFOS-15 i VIF 2017-MEFOS-16).

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. prim. dr. sc. Slavici Kvolik i komentorici doc. dr. sc. Saški Marczi na uloženom trudu i savjetima tijekom provođenja istraživanja i pisanja ove doktorske disertacije. Također, zahvaljujem doc. dr. sc. Dariju Mandiću na vremenu odvojenom za analizu velikog broja uzoraka.

Zahvaljujem kolegama s Klinike za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu, anesteziolozima dr. sc. Gordani Kristek, Sonji Škiljić i Hrvoju Vinkoviću na pomoći prilikom prikupljanja ispitanika. Posebnu zahvalu moram uputiti srednjem medicinskom osoblju Zavoda za intenzivnu medicinu na velikom zalaganju oko provođenja poslijeoperacijskog protokola, bez kojeg ovo istraživanje ne bi bilo moguće provesti.

Hvala mojim prijateljima i obitelji na podršci i razumijevanju za sve vrijeme koje nisam proveo s njima, nego na izradi i pisanju ove doktorske disertacije. Doktorsku disertaciju posvećujem vama.

Variability is the law of life. No two individuals react alike or behave alike under the abnormal conditions which we know as disease.

Sir William Osler
On the Education Value of the Medical Society
1903.

SADRŽAJ

Popis korištenih kratica I

Popis tablica II

Popis slika III

1. **UVOD** 1

1.1. Farmakokinetika tramadola 1

1.2. Metabolizam tramadola 2

1.3. Sustavni upalni odgovor i aktivnost citokroma 4

1.4. Sustavni upalni odgovor i plazmatska aktivnost kolinesteraze 5

2. **HIPOTEZA** 7

3. **CILJEVI ISTRAŽIVANJA** 8

4. **ISPITANICI I METODE** 9

4.1. Ustroj istraživanja 9

4.2. Ispitanici 9

4.3. Anesteziološka tehnika i intraoperacijska analgezija 10

4.4. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi i dijagnostički kriteriji za sustavnu upalu 11

4.5. Poslijeoperacijska analgezija i procjena boli 12

4.6. Analiza *CYP2D6* polimorfizma i određivanje metaboličkog fenotipa 13

4.7. Određivanje plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita 14

4.8. Statistička analiza 14

5. **REZULTATI** 16

5.1. Opća i klinička obilježja ispitanika 16

5.2. Prijeoperacijska aktivnost kolinesteraze i poslijeoperacijska sustavna upala 18

5.3. Plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita 21

5.3.1. Utjecaj različitog genotipa unutar normalnog metaboličkog fenotipa na poslijeoperacijske plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita 21

5.3.2. Utjecaj demografskih osobina pacijenata na poslijeoperacijske koncentracije tramadola i njegovih metabolita 24

5.3.3. Utjecaj prijeoperacijske aktivnosti kolinesteraze na poslijeoperacijske koncentracije tramadola i njegovih metabolita 27

5.3.4. Utjecaj prijeoperacijskih laboratorijskih pokazatelja jetrene i bubrežne funkcije na koncentracije tramadola i njegovih metabolita 32

5.3.5. Utjecaj kliničkih znakova sustavne upale i hitnosti operacijskog zahvata na koncentracije tramadola i njegovih metabolita 33
5.4. Analiza poslijeoperacijske boli 35
5.5. Analiza poslijeoperacijske mučnine i povraćanja 39
5.6. Poslijeoperacijski ishod pacijenta i koncentracije tramadola i njegovih metabolita 41
6. **RASPRAVA** 43
6.1. Utjecaj demografskih osobina pacijenata i indeksa aktivnosti *CYP2D6* gena na metabolizam tramadola i koncentracije tramadola i metabolita 43
6.2. Prijeoperacijska aktivnost ChE-a i sustavni upalni odgovor 46
6.3. Utjecaj prijeoperacijske aktivnosti ChE-a, kliničkih znakova sustavne upale i hitnosti operacijskog zahvata na metabolizam tramadola 47
6.4. Utjecaj prijeoperacijskih pokazatelja bubrežne i jetrene funkcije na koncentracije tramadola i metabolita 51
6.5. Analiza analgetskog učinka tramadola te poslijeoperacijske mučnine i povraćanja 53
6.6. Analiza ishoda pacijenata i poslijeoperacijskih koncentracija tramadola i njegovih metabolita 56
6.7. Ograničenja i znanstveni doprinos istraživanja 56
7. **ZAKLJUČAK** 58
8. **SAŽETAK** 59
9. **SUMMARY** 61
10. **LITERATURA** 63
11. **ŽIVOTOPIS** 79

Popis korištenih kratica

AS	Indeks aktivnosti *CYP2D6* (eng. *activity score*)
BMI	Indeks tjelesne mase (eng. *body mass index*)
BPS	Bihevioralna ocjenska ljestvica boli (eng. *behavioral pain scale*)
ChE	Kolinesteraza
CPOT	Opservacijska ocjenska ljestvica boli kritično oboljelih (eng. *critical care pain observation tool*)
EM	Normalni metabolizatori (eng. *extensive metabolizers*)
IM	Srednji metabolizatori (eng. *intermediate metabolizers*)
JIL	Jedinica intenzivnog liječenja
LChE	Skupina s niskim kolinesterazama (eng. *low ChE*)
MR	Metabolički omjer (eng. *metabolic ratio*)
NChE	Skupina s normalnim kolinesterazama (eng. *normal ChE*)
NDT	*N*-demetiltramadol
NODT	*N,O*-didemetiltramadol
NRS	Numerička ocjenska ljestvica boli (eng. *numeric rating scale*)
ODT	*O*-demetiltramadol
PM	Spori metabolizatori (eng. *poor metabolizers*)
PONV	Poslijeoperacijska mučnina i povraćanje (eng. *postoperative nausea and vomiting*)
SIRS	Sustavni upalni odgovor (eng. *systemic inflammatory response sindrome*)
TM	Tramadol
UM	Ultrabrzi metabolizatori (eng. *ultrarapid metabolizers*)
ZIM	Zavod za intenzivnu medicinu Klinike za anesteziologiju

Popis tablica

5.1.1. Opća obilježja ispitanika 16

5.1.2. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi u odnosu na aktivnost *CYP2D6* gena 17

5.2.1. Raspodjela ispitanika prema hitnosti operacijskog zahvata i razvoju SIRS-a u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 18

5.2.2. Predviđanje vjerojatnosti SIRS-a – univarijatna regresijska analiza 18

5.2.3. Predviđanje vjerojatnosti SIRS-a – multivarijatna regresijska analiza 19

5.2.4. Parametri ROC krivulje s obzirom na vjerojatnost pojave SIRS-a 20

5.2.5. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 20

5.2.6. Primijenjeni intraoperacijski i poslijeoperacijski volumen infuzija u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 21

5.3.1.1. MR ODT/tramadol kod pacijenata s AS 1 i AS 2 24

5.3.2.1. Korelacija koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a s BMI-jem 25

5.3.3.1. Korelacija koncentracija NDT-a s prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a 29

5.3.4.1. Korelacija prijeoperacijske vrijednosti ALT-a s koncentracijama tramadola, ODT-a i MR ODT/tramadola 32

5.3.4.2. Korelacija prijeoperacijske vrijednosti GGT-a s koncentracijama tramadola, ODT-a i MR ODT/tramadol 33

5.4.1. Vrijednosti NRS-a po mjerenjima s obzirom na AS 36

5.4.2. Potrošnja opijata ovisno o prijeoperacijskoj aktivnosti ChE-a 37

5.4.3. Vrijednosti NRS-a po mjerenjima ovisno o prijeoperacijskoj aktivnosti ChE-a 37

5.4.4. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata koji su imali adekvatnu i neadekvatnu analgeziju tramadolom tijekom druge, treće i pete procjene boli 38

5.4.5. Razlike u MR-u između pacijenata s adekvatnom i neadekvatnom analgezijom tramadolom u trećoj procjeni boli 39

5.5.1. Razlike u AS-u te intraoperacijskoj i poslijeoperacijskog dozi opijata s obzirom na poslijeoperacijsku pojavu mučnine i/ili povraćanja 40

5.6.1. Poslijeoperacijski ishod pacijenata s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 41

5.6.2. Korelacija duljine hospitalizacije s MR ODT/TM i MR ODT/NDT 42

Popis slika

5.2.1. ROC analiza senzitivnosti, specifičnosti i graničnih vrijednosti prijeoperacijskog CRP-a i kolinesteraze za pojavu poslijeoperacijskog SIRS-a 19

5.3.1.1. Koncentracije tramadola kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*.... 22

5.3.1.2. Koncentracije ODT-a kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*..... 23

5.3.1.3. Koncentracije NDT-a kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*..... 24

5.3.2.1. Koncentracije TM-a, ODT-a i NDT-a kod pacijenta s obzirom na spol 26

5.3.3.1. Koncentracije tramadola s obzirom na prijeoperacijsku ChE aktivnost 27

5.3.3.2. Koncentracije NDT-a s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a..... 28

5.3.3.3. Omjer ODT/NDT s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 29

5.3.3.4. Koncentracije ODT-a s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a 30

5.3.3.5. Koncentracije ODT-a s obzirom na ChE aktivnost i AS..... 31

5.3.5.1. Koncentracije ODT-a s obzirom na razvoj sustavne upale 34

5.3.5.2. Koncentracije NDT-a s obzirom na hitnost operacijskog zahvata..... 35

5.5.1. Pojava PONV-a u prva 24 sata i koncentracije ODT-a..... 40

1. UVOD

Tramadol je često korišten opioidni analgetik za liječenje akutne poslijeoperacijske boli u jedinicama intenzivnog liječenja (JIL) zbog niskog potencijala izazivanja respiratorne depresije i opstipacije u odnosu na druge opijate (1-4). Dvostruko slijepa studija usporedbe analgetskog učinka tramadola i morfina, koju su proveli Stamer i suradnici, pokazala je da tramadol primijenjen poslijeoperacijski ima dobar profil sigurnosti i analgetskog učinka (5). Velika metaanaliza 14 studija Martineza i suradnika iz 2015. godine, koja je uključivala više od 700 pacijenata, utvrdila je da tramadol primijenjen poslijeoperacijski smanjuje ukupnu poslijeoperacijsku potrošnju morfina (6). Za razliku od drugih opijata, analgetski učinak tramadola ostvaruje se na dva načina. Osim što djeluje kao agonist μ-opioidnih receptora, tramadol inhibira ponovnu pohranu monoamina u sinapsi te aktivacijom descendentnog inhibitornog sustava djeluje na modulaciju bolnog podražaja (7). Tramadol je prekursor potentnijeg metabolita i da bi ostvario maksimum svog analgetskog potencijala, mora se metabolizirati u jetri.

1.1. Farmakokinetika tramadola

Tramadol se može primjenjivati oralno: u obliku kapi, tableta ili kapsula s produljenim oslobađanjem; dok u ampuliranom obliku postoji kao otopina za supkutanu, intramuskularnu ili intravensku (i. v.) primjenu. U kliničkoj je upotrebi racemična smjesa dvaju enantiomera tramadola, (+)-tramadol i (–)-tramadol. (+)-Tramadol slab je agonist μ-opioidnih receptora i inhibira ponovnu pohranu serotonina, dok (–)-tramadol inhibira ponovnu pohranu noradrenalina (3, 8). Nakon oralne primjene gotovo se u potpunosti apsorbira iz probavnog sustava, a ponavljanom primjenom bioraspoloživost mu iznosi gotovo 100 % (9). Za liječenje akutne poslijeoperacijske boli tramadol se najčešće primjenjuje i. v. Nakon i. v. primjene 100 mg tramadola kod zdravih volontera izmjerene su plazmatske koncentracije tramadola od 612, 553, 483 i 409 μg/L nakon 15, 30, 60 i 120 minuta (8). Nakon ponavljanje i. v. primjene 75 mg tramadola (ukupno 375 mg/24 h) maksimalna koncentracija (C_{max}) od 932 ± 199 μg/L postignuta je nakon 16 sati (10).

Kako je samo 20 % tramadola vezano za proteine plazme, volumen distribucije (V_D) tramadola relativno je velik i iznosi 225 L. Tramadol i njegovi metaboliti primarno se

izlučuju bubrezima (90 %), a poluvrijeme eliminacije ($t_{1/2}$) ovisi o bubrežnoj ekskreciji i jetrenom metabolizmu. Kod zdravih pojedinaca $t_{1/2}$ tramadola iznosi oko 6 sati (11). Kod pacijenata s cirozom jetre $t_{1/2}$ tramadola produljeno je 2 – 3 puta, a bubrežna ekskrecija nepromijenjenog tramadola povećana je na 30 %. Zbog toga što se analgetski učinak tramadola primarno ostvaruje jetrenom pretvorbom u aktivni metabolit, analgetski učinak kod tih pacijenata može biti smanjen, no to još uvijek nije dovoljno istraženo. Stoga se kod pacijenata s jetrenim zatajenjem ne preporučuje primjena tramadola (12). Kod pacijenata s bubrežnim zatajenjem $t_{1/2}$ tramadola također je produljeno, što uz smanjeni klirens i V_D dovodi do akumulacije tramadola, stoga se kod tih pacijenata preporučuje smanjenje doze tramadola i povećanje intervala između doza (13).

1.2. Metabolizam tramadola

Metabolizmom tramadola nastaju 23 metabolita. U fazi 1 metabolizma nastaje 11 metabolita, a njihovom konjugacijom tijekom faze 2 metabolizma nastaje 12 konjugata. Najvažniji je metabolički put tramadola *O*-demetilacija koja je katalizirana citokromom P450 (CYP), izoenzimom 2D6, kojom nastaje *O*-demetiltramadol (ODT) te *N*-demetilacija katalizirana izoenzimom CYP3A4 i CYP2B6, kojom nastaje *N*-demetiltramadol (NDT). Ta dva metabolita konvertiraju se putem CYP2D6, CYP3A4 i CYP2B6 u *N,O*-didemetiltramadol (NODT) i druge neaktivne metabolite ili se konjugiraju u neaktivne konjugate pomoću UDP-glukuronoziltransferaze. ODT i NDT glavni su metaboliti tramadola, dok su ostali metaboliti kod čovjeka prisutni samo u tragovima (8, 14, 15).

Smatra se da tramadol prvenstveno djeluje kao inhibitor ponovne pohrane monoamina, dok ODT djeluje kao agonist μ-opioidnih receptora s 200 – 700 puta većim afinitetom od samoga tramadola. Stoga je ODT odgovoran za glavninu analgetskog učinka tramadola (14, 16). *CYP2D6* gen izrazito je polimorfan te je poznato više od 100 njegovih alelnih varijanti (17). Kod bijelaca *CYP2D6*3*, **4* i **5* najčešći su nefunkcionalni aleli, a *CYP2D6*41* najčešći je alel koji kodira enzim smanjene funkcije. Najčešći divlji alel normalne funkcije jest *CYP2D6*1* (18, 19). S ciljem prevođenja genotipa u fenotip, Gaedigk i suradnici 2008. godine predstavili su sustav bodovanja pojedinog haplotipa *CYP2D6* te kreirali tzv. indeks aktivnosti (eng. *activity score* – AS) koji je prihvaćen i klinički implementiran. Svakom alelu *CYP2D6* s obzirom na polimorfizam dodjeljuje se vrijednost 0; 0,5 ili 1 koja označava nefunkcionalni alel, alel smanjene ili alel normalne

funkcije. Zbrajanjem AS diplotipa i eventualne duplikacije pojedinog gena dobije se ukupno šest mogućih AS-ova: 0; 0,5; 1; 1,5; 2 i > 2. S obzirom na vrijednost AS-a postoje četiri kategorije metaboličkog fenotipa *CYP2D6*: spori (eng. *poor metabolizers* – PM) (AS = 0), srednji (eng. *intermediate metabolizers* – IM) (AS = 0,5), normalni (eng. *extensive metabolizers* – EM) (AS = 1 – 2) i ultrabrzi metabolizatori (eng. *ultrarapid metabolizers* – UM) (AS > 2) (20). Frekvencija pojedinih alela varijabilna je među različitim etničkim skupinama, no u svjetskoj populaciji učestalost je sporih metabolizatora 0,4 – 5,4 %, srednjih 0,4 – 11 %, normalnih do 90 %, a ultrabrzih metabolizatora 1 – 21 % (21).

Dosadašnje studije pokazale su da varijacije u plazmatskoj koncentraciji ODT-a najviše ovise o *CYP2D6* polimorfizmu. Tako je medijan ODT AUC (eng. *area under the curve*) 180 minuta nakon i.v. primjene 100 mg tramadola kod sporih metabolizatora 0 (IQR 0 – 11,4) μg ·h/L, kod srednjih 38,6 (IQR 15,9 – 75,3) μg ·h/L, kod normalnih 66,5 (IQR 17,1 – 118) μg ·h/L, a kod ultrabrzih metabolizatora čak 149 (IQR 35,4 – 235,4) μg ·h/L (22). Također, brojne studije potvrdile su da analgetski učinak tramadola ovisi o *CYP2D6* polimorfizmu. Dok spori metabolizatori imaju neučinkovitu analgeziju, ultrabrzi metabolizatori u većem su riziku za nuspojave i toksični učinak tramadola (17, 19, 22-25). Iako nisu toliko proučavani, srednji metabolizatori također su u riziku za smanjenu biotransformaciju tramadola, no te razlike nisu toliko značajne kao kod sporih i ultrabrzih metabolizatora. Zbog toga se primjena tramadola ne preporučuje samo kod sporih i ultrabrzih metabolizatora (26).

N-demetilacija tramadola katalizirana je izoenzimom CYP2B6 i CYP3A4, no iako i njihovi geni pokazuju polimorfizam, on ne utječe značajno na metabolizam tramadola te je u preporukama za kliničku primjenu tramadola preporučeno određivanje polimorfizma samo *CYP2D6* gena (27, 28). Studije koje su proučavale koncentracije NDT-a kod ljudi rijetke su jer je NDT neaktivni metabolit tramadola. Nakon i. v. primjene 100 mg tramadola C_{max} NDT-a od 18 μg/L postignut je za oko dva i pol sata (29).

Dosadašnja istraživanja utvrdila su da postoje velike interindividualne razlike u plazmatskim koncentracijama tramadola i njegovih metabolita koje se ne mogu objasniti samo polimorfizmom *CYP2D6* gena jer postoje unutar istog metaboličkog fenotipa (22, 30, 31). Ekspresija i aktivnost citokroma regulirana je brojnim fiziološkim, patofiziološkim i okolišnim čimbenicima na transkripcijskoj, translacijskoj i epigenetskoj razini, a jedan od važnih čimbenika u regulaciji aktivnosti citokroma jest upala (32).

1.3. Sustavni upalni odgovor i aktivnost citokroma

Operacijski zahvat uzrokuje fiziološki upalni odgovor pacijenta koji se sastoji od kompleksnih metaboličkih, hemodinamskih, hormonskih i imunoloških promjena s ciljem osiguravanja odgovarajućeg oporavka organizma nakon operacijskog zahvata (33). Vrlo rano nakon ozljede dolazi do porasta razine proupalnih citokina, kao što su TNF-α (eng. *tumor necrosis factor-*α), IL-1 i IL-6, te protuupalnih citokina, primjerice IL-10 (34). U fiziološkim uvjetima proupalni i protuupalni odgovor imunološkog sustava na ozljedu jest u homeostazi. Proupalni odgovor ima za cilj „obraniti“ organizam od ozljede i ubrzati cijeljenje rane, dok protuupalni odgovor taj proces nastoji održati na lokalnoj razini (35). U slučaju disregulacije imunološkog sustava s pretjeranom aktivnosti proupalnog odgovora dolazi do razvoja sindroma sustavnog upalnog odgovora (eng. *systemic inflammatory response syndrome* – SIRS). SIRS se javlja u više od 40 % pacijenata tijekom hospitalizacije, a kod hitno hospitaliziranih pacijenata prisutan je u trenutku hospitalizacije u 35 % slučajeva (36, 37). Osobito je čest u kirurškim jedinicama intenzivnog liječenja gdje mu je prevalencija izrazito visoka te pogađa više od 80 % bolesnika. SIRS i sepsa dio su jednog patofiziološkog kontinuuma i kod trećine pacijenta SIRS prelazi u sepsu, koja je po definiciji karakterizirana teškom organskom disfunkcijom zbog disregulacije imunološkog odgovora na infekciju (38, 39).

U stanjima takve sustavne upale koja je praćena visokom razinom proupalnih citokina smanjena je aktivnost CYP3A4 i CYP2D6 enzima (32). Studije na zdravim pojedincima potvrdile su da se kod sporih metabolizatora, uslijed genetski smanjene aktivnosti CYP2D6, metabolizam tramadola dominantno preusmjerava (eng. *metabolic switch*) na *N*-demetilaciju kojom nastaje neaktivni NDT (31, 40). Utjecaj smanjene aktivnosti pojedinih citokroma uslijed sustavne upale na metabolizam tramadola još uvijek je neistražen, a studije o utjecaju proupalnih citokina na aktivnost citokroma nisu konzistentne. Citokini na citokrome djeluju posredno, smanjujući ekspresiju i/ili aktivnost transkripcijskih čimbenika, kao što je primjerice HNF4-α (eng. *hepatic nuclear factor 4-*α) i povećavajući produkciju dušičnog oksida (41-43). Smanjena aktivnost HNF4-α proupalnim citokinima jedan je od razloga smanjene aktivnosti CYP2D6 enzima u stanjima sustavne upale (32). Također, Haas i suradnici dokazali su da poslijeoperacijsko povećanje IL-6 smanjuje aktivnost CYP3A4 enzima (44). S druge strane, CYP2B6, važan u *N*-demetilaciji tramadola, pokazuje drukčiji odgovor

na proupalne citokine. IL-1 ne smanjuju aktivnost CYP2B6, a TGF-β (eng. *transforming growth factor-β*) koji se izlučuje iz jetrenih stanica tijekom ozljede, stresa i upale inducira aktivnost CYP2B6 (43, 45). Trauma tkiva, duljina operacijskog zahvata, anestezija, prijeoperacijsko gladovanje, hitnost operacijskog zahvata i brojni drugi čimbenici pogoduju nastanku poslijeoperacijske sustavne upale (46, 47) te je u takvom patofiziološkom okružju teško predvidjeti metabolizam i analgetski učinak tramadola.

Klinički kriteriji za SIRS predloženi su prije više od dvadeset godina i uključuju prisutnost barem dvaju od sljedećih četiriju pokazatelja: tahikardiju, leukocitozu ili leukopeniju, hipertermiju ili hipotermiju te tahipneju (48). Ti klinički pokazatelji posljedica su patofizioloških kompenzacijskih mehanizama koji se događaju zbog gubitka homeostaze između proupalnih i protuupalnih citokina. Osim kliničkih, brojni su i biološki markeri razvoja sustavne upale, a u rutinskoj kliničkoj praksi najčešća je upotreba C-reaktivnog proteina (CRP) i prokalcitonina (PCT), čija je sinteza potaknuta IL-6 (35). Vrijednosti CRP-a > 50 mg/L i PCT-a > 0,5 μg/L dobar su pokazatelj razvoja sustavne upale bilo kojeg uzroka (49). U posljednjih nekoliko godina ekstenzivno je proučavana uloga kolinergičkog živčanog sustava u održavanju homeostaze tijekom upalnog odgovora, a marker kolinergičkog živčanog sustava lako dostupan u svakodnevnoj kliničkoj praksi jest plazmatska aktivnost kolinesteraze (ChE).

1.4. Sustavni upalni odgovor i plazmatska aktivnost kolinesteraze

Kolinergički živčani sustav ima središnju ulogu u upalnim procesima i eferentni je krak je neuroimunološkog refleksa. Upalni odgovor uzrokovan kirurškom ozljedom stimulira aktivnost parasimpatičkog živčanog sustava i aktivira protuupalni proces u sklopu živčane kontrole prirođene imunosti (50, 51). Kolinergički protuupalni proces posredovan je acetilkolinom (ACh) i djeluje tako da inhibira stvaranje TNF-α i IL-1 te suprimira aktivaciju NF-κB (eng. *nuclear factor-kappa B*). Regulirajući koncentraciju serotonina, dopamina i drugih neuropeptida, ACh djeluje i na neurotransmisiju i na modulaciju imunološkog odgovora (52). ChE hidrolizira ACh i kod čovjeka postoje dvije vrste ovih esteraza. Acetilkolinesteraza (AChE), zvana još i specifična kolinesteraza, hidrolizira estere kolina i njezina koncentracija izrazito je visoka u mozgu, perifernim živcima i eritrocitima. Butirilkolinesteraza (BChE), zvana još i pseudokolinesteraza, osim estera kolina hidrolizira i druge estere te ima važnu ulogu tijekom trovanja organofosfatima. Ima je u gotovo svim tkivima i organima, a u velikoj koncentraciji

nalazi se u plazmi, gušterači i jetri (52-54). AChE sintetizira se *in situ*, na mjestu djelovanja, a BChE primarno se sintetizira u jetri i predstavlja 99 % ukupne kolinesteraze u plazmi. Zbog toga je plazmatska aktivnost ChE-a dobar pokazatelj sintetske funkcije jetre i dio je jetrenih funkcijskih testova (55, 56). Međutim, zbog važne uloge kolinergičkog živčanog sustava tijekom upale, plazmatska ChE aktivnost odraz je i neravnoteže između proupalnog i protuupalnog imunološkog odgovora. U stanjima sustavne upale bilo kojeg uzroka, a koja se viđa kod brojnih pacijenata liječenih u JIL-u, plazmatska je ChE aktivnost smanjena, neovisno o sintetskoj funkciji jetre (57). Snižena plazmatska aktivnost ChE-a kao prognostički čimbenik hospitaliziranih pacijenata ekstenzivno je proučavana te je u brojnim studijama niska ChE aktivnost potvrđena kao nezavisni čimbenik rizika za veći mortalitet, češće poslijeoperacijske komplikacije i lošiju prognozu pacijenata (58-62).

Patofiziološki mehanizam snižene plazmatske aktivnosti ChE-a u stanjima akutne sustavne upale još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Naime, u stanjima kronične upale, koja postoji kod pretilosti, inzulinske rezistencije, metaboličkog sindroma i Alzheimerove bolesti, serumska je aktivnost ChE-a povećana, čime je razina ACh-a kod tih stanja smanjena, što omogućuje nesmetano djelovanje proupalnih citokina (52). Zbog toga su ChE inhibitori jedna od terapijskih mogućnosti u liječenju Alzheimerove bolesti (63). U stanjima akutne upale niskom razinom ChE-a nastoji se održati visoka razina protuupalnog ACh-a te pojačati negativna povratna sprega kolinergičkog živčanog sustava na akutno nastalu upalu. Plazmatska aktivnost ChE-a bila bi odraz kolinergičke, neživčane aktivnosti i neuroimune interakcije, a sniženje plazmatske aktivnost ChE-a signaliziralo bi prekid u hidrolizi ACh-a i poremećaj imunološke homeostaze (50, 64).

2. HIPOTEZA

Pacijenti liječeni u jedinici intenzivnog liječenja nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata imaju promijenjene koncentracije tramadola i njegovih metabolita. Pacijenti s prijeoperacijski niskom plazmatskom aktivnosti kolinesteraze u sklopu sustavnog upalnog odgovora i pacijenti s poslijeoperacijskim razvojem sustavnog upalnog odgovora imaju promijenjen metabolizam tramadola s dominantnom *N*-demetilacijom tramadola i višim plazmatskim koncentracijama tramadola i *N*-demetiltramadola, a nižim plazmatskim koncentracijama *O*-demetiltramadola. Posljedično tome analgezija tramadolom kod tih pacijenata manje je učinkovita.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi su ovoga istraživanja:

- odrediti plazmatske koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata liječenih u JIL-u nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata, a koji pripadaju normalnom metaboličkom fenotipu CYP2D6 enzima
- ispitati utjecaj kliničkih i laboratorijskih parametara sustavne upale i eventualne organske disfunkcije na koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod tih pacijenata
- ispitati utjecaj demografskih osobina pacijenata i hitnosti operacijskog zahvata na plazmatske koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a
- ispitati povezanost plazmatskih koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a i duljine hospitalizacije u JIL-u, ukupno vrijeme hospitalizacije i ishod pacijenta do otpusta iz bolnice.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek i Kliničkog bolničkog centra Osijek te je ustrojeno kao prospektivno opservacijsko istraživanje (ClinicalTrials.gov ID: NCT04004481). Istraživanje je provedeno u Zavodu za intenzivnu medicinu Klinike za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu (ZIM) i Zavodu za abdominalnu kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Osijek od siječnja 2019. do siječnja 2020. godine. Svi pacijenti uključeni u istraživanje potpisali su informirani pristanak. Određivanje plazmatske koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a izvršeno je u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, Odjelu za farmakokinetiku i analitičku toksikologiju, a analiza *CYP2D6* polimorfizma izvršena je u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu, Laboratoriju za molekularnu i HLA dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek.

4.2. Ispitanici

U istraživanje su uključeni pacijenti koji su hospitalizirani u ZIM-u nakon što su podvrgnuti hitnom ili programskom velikom operacijskom zahvatu u abdomenu. Veliki abdominalni operacijski zahvati podrazumijevali su kirurški pristup laparotomijom i resekciju dijela organa probavnog sustava. Odluka o hitnosti operacijskog zahvata bila je u nadležnosti abdominalnog kirurga. U istraživanje su uključeni pacijenti koji su prema klasifikaciji Američkog anesteziološkog društva (eng. *American Society of Anesthesiologist* – ASA) svrstani u skupine II – IV (65). U istraživanje nisu bili uključeni pacijenti mlađi od 18 godina, pacijenti kod kojih je operacijski zahvat izvršen laparoskopski, pacijenti indeksa tjelesne mase (eng. *body mass index* – BMI) < 18 kg/m^2 i > 40 kg/m^2 te pacijenti s ranije poznatim jetrenim zatajenjem bilo kojeg stupnja prema Child-Poughovoj klasifikaciji, kao ni pacijenti s ranije poznatim kroničnim bubrežnim zatajenjem većim od drugog stupnja (66, 67). Također, u istraživanje nisu bili uključeni pacijenti koji su uzimali tramadol tjedan dana prije operacijskog zahvata, kao ni oni koji su na kroničnoj terapiji cimetidinom, paroksetinom, pimozidom, metoklopramidom, amiodaronom, olanzapinom, klorpromazinom, flufenazinom, haloperidolom, tioridazonom, risperidonom ili klozapinom jer ti lijekovi inhibiraju

aktivnosti CYP2D6 enzima (68). Svim pacijentima uključenim u istraživanje prije operacije uzet je uzorak krvi za analizu *CYP2D6* polimorfizma i na osnovi genotipa određen je metabolički fenotip CYP2D6 enzima. Pacijenti kod kojih je PCR pokazao duplikaciju divljeg alela *CYP2D6* gena, kao i homozigoti s dvama neaktivnim alelima, isključeni su iz daljnje analize. Analizirani su samo normalni metabolizatori CYP2D6. Za uočavanje većih razlika u koncentracijama tramadola i njegovih metabolita, uz razinu značajnosti od 0,05 i snagu 0,8 (uz efekt d = 0,35), minimalno je potrebno 40 pacijenta (G*Power, ver. 3.1.2, Franz Faul, Sveučilište Kiel, Njemačka).

4.3. Anesteziološka tehnika i intraoperacijska analgezija

Indukcija u opću anesteziju izvršena je propofolom (Propofol 1 % MCT Fresenius, Fresenius Kabi, Njemačka) i rokuronijem (Esmeron, NV Organon, Nizozemska), dok je kod hemodinamski nestabilnih pacijenata primijenjen etomidat (Hypnomidate, Piramal Critical Care GmbH, Njemačka). Sukcinilkolin (Lysthenon, Takeda, Japan) korišten je kao mišićni relaksator za intubaciju pacijenata koji su podvrgnuti hitnom operacijskom zahvatu. Opća balansirana anestezija održavana je sevofluranom (Sevoflurane, Baxter Healthcare Ltd, Engleska) i mješavinom kisika i zraka, a intraoperacijska analgezija fentanilom (Fentanyl Janssen, Janssen Cilag, Belgija) ili sufentanilom (Sufentanil Renaudin, Laboratoire Renaudin, Francuska) u dozi ovisnoj o hemodinamskom stanju pacijenta, trajanju i vrsti operacijskog zahvata. Svi pacijenti imali su standardni intraoperacijski monitoring saturacije periferne krvi kisikom, EKG s tri kanala te invazivno mjeren arterijski tlak pomoću kanile postavljene u radijalnu ili brahijalnu arteriju. Za intravensku nadoknadu tekućine primjenjivane su balansirane otopine kristaloida u dozi ovisnoj o hemodinamskom stanju pacijenta i vrsti operacijskog zahvata. Krv i krvni pripravci primjenjivali su se ovisno o prijeoperacijskim laboratorijskim nalazima te jačini intraoperacijskog krvarenja. Oko 30 minuta prije kraja operacijskog zahvata primijenjen je bolusno morfin (Morfinklorid Alkaloid, Alkaloid, Sjeverna Makedonija) u dozi od 0,15 – 0,25 mg/kg za preemptivnu analgeziju i sedaciju za potrebe prijevoza iz operacijske sale u ZIM. Svim pacijentima uključenim u studiju zabilježena je ukupna intraoperacijska potrošnja opijata, kristaloida te krvnih derivata.

4.4. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi i dijagnostički kriteriji za sustavnu upalu

Svim pacijentima uključenim u istraživanje prije operacijskog zahvata napravljena je analiza crvene krvne slike te serumska koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP), prokalcitonina (PCT), ureje, kreatinina, alanin aminotransferaze (ALT), aspartat aminotransferaze (AST), gama-glutamiltransferaze (GGT), ukupnog bilirubina, albumina, aktivnosti kolinesteraze (ChE), standardni koagulogram, kao i analiza plinova arterijske krvi i koncentracije laktata. Organskom disfunkcijom smatrali su se klinički i laboratorijski znakovi smanjene bubrežne funkcije mjerene diurezom uz laboratorijski porast serumske razine dušičnih metabolita > 30 % od normalnih vrijednosti. Smanjenom jetrenom funkcijom smatrao se porast jetrenih enzima i bilirubina > 30 % od normalne vrijednosti, a smanjenom jetrenom funkcijom u sklopu sustavne upale bez porasta transaminaza smatrao se pad plazmatske aktivnosti ChE-a < 20 % referentnih vrijednosti (62, 69).

Nakon operacijskog zahvata pacijenti su hospitalizirani u ZIM-u gdje je nastavljena mehanička ventilacija do ekstubacije, kao i standardno praćenje vitalnih parametara. Ovisno o poslijeoperacijskim vitalnim parametrima te ekstenzivnosti operacijskog zahvata, kao dio standardne poslijeoperacijske procedure svim su pacijentima prvog i drugog poslijeoperacijskog dana izmjereni laktat, plinovi arterijske krvi i crvena krvna slika. Vrijeme analize tih parametara nakon zahvata bila je odluka dežurnog specijalista intenzivne medicine.

Razvojem sustane upale i sustavnog upalnog odgovora tijekom prva 24 sata nakon operacijskog zahvata smatrala se prisutnost najmanje dvaju od sljedećih četiriju velikih kriterija: tahikardija > 90 otkucaja/min, temperatura > 38 ^{o}C ili hipotermija < 36 ^{o}C, leukocitoza > 12 000/mm^3 ili leukopenija < 4 000/mm^3 te hiperventilacija praćena padom parcijalnog tlaka CO_2 u arterijskoj krvi < 4,3 kPa (70). Također, prijeoperacijske vrijednosti CRP-a > 50 mg/L i PCT-a > 0,5 μg/L smatrane su sustavnom upalom (49). Kod graničnih vrijednosti upalnih parametara i pri prisutnosti manje od dvaju velikih kriterija za postavljanje dijagnoze sustavne upale koncentracija laktata > 2 mmol/L dulje od četiri sata služila je za potvrdu sustavnog upalnog odgovora (71).

4.5. Poslijeoperacijska analgezija i procjena boli

Nakon prijema u ZIM pacijenti su primili 100 mg tramadola (Tramal, Stada Arzneimittel AG, Njemačka) u 50 ml 0,9 % NaCl-a svakih šest sati u sporom i. v. bolusu tijekom deset minuta. Kao dodatni analgetik primjenjivan je i. v. paracetamol (Paracetamol, B. Braun, Njemačka) u dozi od 1 g svakih šest sati, između bolusa tramadola. Bol je procjenjivana prije i pola sata nakon primjene tramadola. Dakle, ukupno je bilo pet mjernih točaka u skladu s primjenom tramadola, označenih brojevima od 1 do 5 i slovom „A“ (prije tramadola) i „B“ (30 minuta nakon primjene tramadola).

Za pacijente koji su bili pri svijesti i ekstubirani koristila se Numerička ocjenska ljestvica (eng. *numeric rating scale* – NRS) s intervalom od 0 (bez boli) do 10 (najjača bol). NRS $\leq$ 3 smatrao se dobrom analgezijom (72). Kod pacijenata koji su bili intubirani ili u nemogućnosti verbalno iskazati jačinu boli koristila se Opservacijska ocjenska ljestvica boli kritično oboljelih (eng. *critical care pain observational tool* – CPOT) i Bihevioralna ocjenska ljestvica (eng. *behavioral pain scale* – BPS). Procjena boli putem CPOT-a podrazumijeva analizu četiriju pokazatelja: izraza lica, pokreta tijela, tonusa mišića i usklađenosti s respiratorom za intubirane te vokalizacija za ekstubirane pacijente. Svaki se pokazatelj boduje na ljestvici od 0 do 2, tako da je najmanji CPOT zbroj 0, a najveći 8 (73). Bol se putem BPS-a procjenjuje praćenjem triju pokazatelja: izraza lica, pokreta gornjih ekstremiteta i usklađenosti s respiratorom, a svaki se boduje na ljestvici od 1 do 4, tako da je najmanji zbroj 3, a najveći 12 (74). Veći zbroj u CPOT i BPS ljestvici znači jaču razinu boli te se odgovarajućom analgezijom smatrala vrijednost CPOT < 2 i BPS $\leq$ 5 (75). Morfin u dozi od 2 mg i. v. primjenjivan je ako je nakon primjene tramadola analgezija bila neadekvatna te također u tijeku dana na zahtjev pacijenta. Zabilježena je i ukupna potrošnja morfina. Također, bilježena je pojava mučnine i/ili povraćanja unutar pola sata nakon primjene tramadola. U slučaju mučnine i povraćanja primjenjivan je metoklopramid (Metoklopramid, Laboratoire Renaudin, Francuska) u dozi od 10 mg i. v. ili droperidol (Xomolix, Chies Pharmaceuticals, Austrija) 2,5 mg i. v. Procjenu boli i nuspojava tramadola u ZIM-u obavljali su dežurni liječnici i srednje medicinsko osoblje prema pisanim uputama istraživača.

4.6. Analiza *CYP2D6* polimorfizma i određivanje metaboličkog fenotipa

Svim pacijentima iz uzorka krvi uzetog prije operacijskog zahvata napravljena je analiza polimorfizma *CYP2D6.* Za izolaciju genomskog DNK-a korišten je komercijalni set *High Pure PCR Template Preparation Kit* prema uputama proizvođača (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Izolacija DNK-a rađena je iz 200 μL pune krvi s EDTA antikoagulansom. Uzorci DNK-a bili su pohranjeni na -20 °C do analize. Za određivanje alelnih varijanti *CYP2D6*3* (rs35742686), *CYP2D6*4* (rs3892097) i *CYP2D6*5* (delecija cijelog gena) korišten je komercijalni set *LightMix Kit CYP2D6 *3 *4* i **5/*5* prema uputama proizvođača (TibMolbiol, Berlin, Njemačka). Komercijalni setovi *CYP2D6 TaqMan Copy Number Assay*, *TaqMan Copy Number Reference Assay* i *TaqMan Genotyping Master Mix* korišteni su za određivanje duplikacije/amplifikacije i broja kopija *CYP2D6* gena, također prema uputama proizvođača (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, SAD).

U svrhu određivanja koncentracije DNK-a i provjere čistoće uzorka prije genotipizacije i određivanja broja kopija gena *CYP2D6,* uzorci DNK-a spektrofotometrijski su analizirani pomoću uređaja SpectraMax QuickDrop UV-VIS spektrofotometra (Molecular Devices, San Jose, SAD). Alelne varijante i broj kopija gena *CYP2D6* određivane su metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *real time PCR*) pomoću uređaja LightCycler 480II (Roche Life Sciences, Mannheim, Njemačka).

Relativna kvantifikacija (RQ) kopija gena *CYP2D6* (CN) u svakom testiranom uzorku (CN_{GOI}) rađena je pomoću komparativne C_T ($\Delta\Delta C_T$) metode (76). Metoda se temelji na normalizaciji gena od interesa u odnosu na referentni gen ($\Delta C_T = C_{T_GOI} - C_{T_REF}$) te se potom dobivene ΔC_T vrijednosti testiranih uzoraka uspoređuju s ΔC_T vrijednostima kalibratora (uzorak koji sadrži poznati broj kopija gena od interesa) ($\Delta\Delta C_T = \Delta C_T$_uzorka – ΔC_T_kalibratora). Omjer količine gena od interesa dobije se uvrštavanjem u jednadžbu $RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}$, a broj kopija gena od interesa u uzorku dobije se uvrštavanjem u jednadžbu CN_{GOI} = RQ x CN_kalibratora.

Svakom alelu dodana je AS vrijednost ovisno o poznatoj genotipskoj aktivnosti (20). U skladu sa zbrojem AS diplotipa pacijenti su kategorizirani kao spori, srednji, normalni ili ultrabrzi metabolizatori. Pacijenti s AS 0 kategorizirani su kao spori; AS 0,5 srednji; AS 1 i 2 kao normalni; a AS > 2 kao ultrabrzi metabolizatori (21, 77).

4.7. Određivanje plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Jedan, dva i četiri sata nakon prve doze te neposredno prije primjene druge, treće i pete doze tramadola svim pacijentima uključenim u studiju iz intraoperacijski postavljene intraarterijske kanile uzeto je 3 – 4 ml krvi u epruvetu s litij-heparin antikoagulansom za određivanje plazmatske koncentracije tramadola, NDT-a i ODT-a. Ukupno je bilo šest uzorkovanja, a uzorci su označeni brojevima od 1 do 6. Uzorci su prilikom skupljanja pohranjivani u hladnjaku na +4 °C. Kada je skupljeno svih šest uzoraka, u laboratoriju su centrifugirani na 1 000xg tijekom 10 minuta na sobnoj temperaturi, a dobivena plazma pohranjena je na -20 °C do analize. Određivanje koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a iz plazme pacijenata obavljalo se putem tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti (eng. *High-Performance Liquid Chromatography* – HPLC) na uređaju Shimadzu Nexera XR (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) na reverzno-faznom kromatografskom sustavu uz fluorescentnu detekciju (valna duljina ekscitacije bila je 200 nm, a emisije 301 nm). Separacija je provedena na koloni Agilent Zorbax SB-C8; 3,5 μm; 4,6 x 150 mm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) pomoću mobilne faze koja se sastoji od metanola i 1,5 mM H_3PO_4; pH 2,5; u omjeru 19 : 81 (oboje Merck, Darmstadt, Njemačka). Za kalibraciju su korišteni certificirani standardi tramadola, ODT-a i NDT-a (LGC standards, Teddington, Engleska), a kao interni standard korišten je flukonazol (LGC standards, Teddington, Engleska). Limit kvantifikacije (eng. *Limit of Quantitation* – LOQ) metode za tramadol iznosio je 3,90 μg/L, za ODT 4,52 μg/L, a za NDT 3,52 μg/L.

4.8. Statistička analiza

Kategorički podatci prikazani su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci prikazani su medijanom i interkvartilnim rasponom (IQR). Normalnost distribucije numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Za analizu razlika između kategorijskih varijabli koristio se Fisherov egzaktni test. Razlike u numeričkim varijablama između dvaju nezavisnih uzoraka testirane su Mann-Whitneyjevim U testom, dok je za utvrđivanje razlika između zavisnih uzoraka korišten Friedmanov test (Post-hoc Dunn). Korelacija između neparametrijski raspoređenih varijabli ocijenjena je Spearmanovim Rho koeficijentom. Logistička regresija koristila se za analizu nezavisnih prediktora koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a, kao i prediktora pojave

SIRS-a. Sve su P vrijednosti dvostrane. Razina značajnosti postavljena je na $\alpha = 0,05$. Za statističku analizu koristio se program MedCalc Statistical Software version 19.1.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgija; https://www.medcalc.org; 2020) and IBM SPSS (SPSS Inc. Released 2019. SPSS Statistics for Macintosh, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

5. REZULTATI

5.1. Opća i klinička obilježja ispitanika

Od ukupno 50 pacijenata koji su zadovoljili kriterije za uključivanje u istraživanje, analizom *CYP2D6* polimorfizma kod dvaju pacijenata pronađena su oba neaktivna alela *CYP2D6*, dok je jedan pacijent imao duplikaciju divljeg alela, stoga su ti pacijenti isključeni iz analize. Također, tijekom provođenja istraživanja kod triju pacijenata došlo je do tehničke pogreške u uzimanju uzoraka za mjerenje koncentracija tramadola i njegovih metabolita, stoga je istraživanje provedeno na ukupno 44 ispitanika. Demografske osobine ispitanika, ASA status te *CYP2D6* polimorfizam i AS prikazani su u Tablici 5.1.1.

Tablica 5.1.1. Opća obilježja ispitanika†

Spol (muškarci/žene)	28 (63,6)/16 (36,4)
Dob (godine)	66 (57,5 – 73)
BMI (kg/m^2)	26 (23 – 28,5)
ASA status	
II	11 (25)
III	24 (54,5)
IV	9 (20,5)
CYP2D6 polimorfizam	
*1/*4	16 (36,4)
*1/*1	22 (50)
*1/*4xN	3 (6,8)
*1/*3	2 (4,5)
*1/*5	1 (2,3)
AS *CYP2D6*	
AS 1	22 (50 %)
AS 2	22 (50 %)

Legenda: † Kategorijski podatci prikazani su apsolutnim (n) i relativnim (%) frekvencijama, a numerički medijanom i interkvartilnim rasponom; BMI: indeks tjelesne mase; AS: indeks aktivnosti

Većina pacijenata, njih 36 (81,8 %), operirana je zbog karcinoma. Debelo crijevo resecirano je kod 22 (50 %) pacijenta, tanko kod četiri (9,1 %), želudac kod sedam (15,9 %), a osam (18,2 %) pacijenta imalo je resekciju jetre ili gušterače. Kod triju pacijenta (6,8 %) izvršena je resekcija više od jednog organa probavnog sustava.

Blaga bubrežna disfunkcija, mjerena prijeoperacijskim porastom dušičnih metabolita, zabilježena je u osam (18,2 %) pacijenata, dok je blaga jetrena disfunkcija bilježena porastom jetrenih transaminaza u prijeoperacijskim nalazima zabilježena u deset (22,7 %) pacijenata. Nije bilo razlike u prijeoperacijskim laboratorijskim nalazima s obzirom na AS pacijenata, osim većih vrijednosti prijeoperacijskog kreatinina kod pacijenata s AS 1 (Tablica 5.1.2.).

Tablica 5.1.2. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi u odnosu na aktivnost *CYP2D6* gena

	Medijan (IQR) u odnosu na AS		P*
	AS 1 (n = 22)	AS 2 (n = 22)	
Leukociti (x10^3/L)	6,4 (3,7 – 8,5)	6,9 (4,7 – 10,3)	0,43
Eritrociti (x10^9/L)	3,6 (3,4 – 4,0)	3,5 (3,1 – 4,1)	0,38
Hemoglobin (g/L)	105,5 (98,5 – 126)	105,5 (95,2 – 120,7)	0,58
Trombociti (x10^9/L)	211 (166,7 – 261,2)	189 (164 – 275,2)	0,91
Urea (mmol/L)	5,2 (3,7 – 9,2)	4,75 (3,5 – 5,7)	0,37
Kreatinin (μmol/L)	75 (62,5 – 131,5)	56 (51,2 – 78,5)	**0,01**
CRP (mg/L)	22 (2,3 – 83,2)	9,1 (3,2 – 56)	0,47
PCT (μg/L)	0,08 (0,05 – 0,28)	0,07 (0,04 – 0,22)	0,94
AST (U/L)	23,5 (17 – 42)	18 (13,7 – 38,2)	0,29
ALT (U/L)	16,5 (11,7 – 32,5)	16 (9,7 – 22,5)	0,35
GGT (U/L)	23,5 (12 – 58)	16 (12 – 56,2)	0,58
Bilirubin (μmol/L)	11,5 (7,7 – 15,7)	12,5 (9 – 15,5)	0,76
Albumini (g/L)	30,5 (25,1 – 32,1)	30,4 (25,8 – 35,4)	0,41
PV (INR)	0,92 (0,68 – 0,98)	1,1 (1,0 – 1,2)	0,11

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; IQR: interkvartilni raspon; AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*; CRP: C-reaktivni protein; PCT: prokalcitonin; AST: aspartat aminotransferaza; ALT: alanin aminotransferaza; GGT: gama-glutamiltransferaza; PV: protrombinsko vrijeme

5.2. Prijeoperacijska aktivnost kolinesteraze i poslijeoperacijska sustavna upala

Nakon operacijskog zahvata 17 (38,6 %) pacijenata zadovoljilo je kliničke kriterije za SIRS. Ukupno 11 (25 %) pacijenata podvrgnuto je hitnom operacijskom zahvatu, dok je njih 33 (75 %) operirano programski. Hitno operirani pacijenti imali su značajno češće nizak prijeoperacijski ChE, a u poslijeoperacijskom razdoblju pacijenti s prijeoperacijskom niskom aktivnosti ChE-a češće su zadovoljili standardne kriterije za SIRS u prva 24 sata nakon hospitalizacije u ZIM-u (Tablica 5.2.1.).

Tablica 5.2.1. Raspodjela ispitanika prema hitnosti operacijskog zahvata i razvoju SIRS-a u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

	Broj (%) ispitanika u odnosu na prijeoperacijski ChE		P*
	NChE (n = 25)	LChE (n = 18)	
Hitnost operacije	1 (4 %)	10 (55,5 %)	**< 0,001**
SIRS poslijeoperacijski	5 (20 %)	12 (66,6 %)	**0,004**

Legenda: * Fisherov egzaktni test; ChE: kolinesteraza; SIRS: sustavni upalni odgovor; NChE (eng. *normal ChE*): ChE > 4 244 U/L; LChE (eng. *low ChE)*: ChE ≤ 4 244 U/L

Logističkom regresijom ocijenjen je utjecaj više čimbenika na vjerojatnost da će doći do SIRS-a (zavisna varijabla). Za nezavisne varijable odabrali smo prijeoperacijski CRP, PCT, ureju, kreatinin, kolinesterazu i dob. Utjecaj pojedinih prediktora na pojavu SIRS-a prikazan je u Tablici 5.2.2.

Tablica 5.2.2. Predviđanje vjerojatnosti SIRS-a – univarijatna regresijska analiza

Prediktor	β	Wald	P	OR	95 % CI
Dob	0,02	0,54	0,46	1,02	0,96 – 1,09
Urea	0,22	5,08	**0,02**	1,25	1,03 – 1,51
Kreatinin	0,01	2,16	0,14	1,01	0,99 – 1,02
Albumini	-0,25	8,66	**0,003**	0,78	0,66 – 0,92
CRP	0,03	5,78	**0,02**	1,03	1,005 – 1,05
PCT	4,28	2,78	0,10	72,1	0,47 – 10991,04
Kolinesteraza	-0,001	6,49	**0,01**	1,001	1,0 – 1,001

Legenda: β: koeficijent regresije; OR: omjer vjerojatnosti; CI: raspon pouzdanosti; CRP: C-reaktivni protein; PCT: prokalcitonin

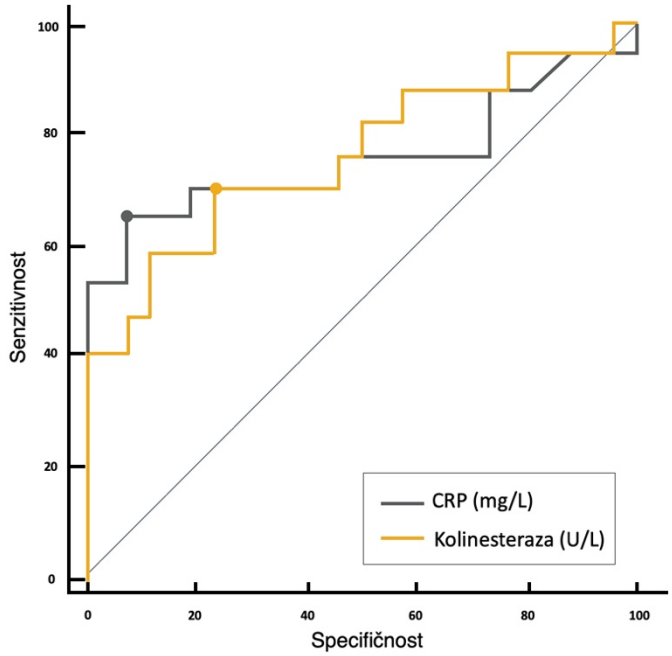
Za izvođenje modela predviđanja SIRS-a primijenjena je multivarijatna logistička regresija. Kod odabira prediktora koristila se postupna (eng. *stepwise*) logistička regresija, primijenio se kriterij statističke značajnosti veće od 0,10; a kriterij u istraživanju odabrana je granična vrijednost od 0,20. Samo je kolinesteraza dala jedinstveni statistički značajan doprinos (Hosmer-Lemeshow test, P = 0,27) u razlučivanju skupina s obzirom na SIRS. Model je u cijelosti statistički značajan ($\chi 2$ = 8,2; P = 0,004) (Tablica 5.2.3.).

Tablica 5.2.3. Predviđanje vjerojatnosti SIRS-a – multivarijatna regresijska analiza

Prediktor	β	Wald	P	OR	95 % CI
Kolinesteraza	-0,001	6,49	**0,01**	1,001	1,001 – 1,010
Konstanta	2,4	4,54	**0,03**		

Legenda: β: koeficijent regresije; OR: omjer vjerojatnosti; CI: raspon pouzdanosti

Da bi se procijenila vrijednost pojedinih parametara za koje smo logističkom regresijom dobili da značajno doprinose SIRS-u, korištena je metoda izračuna krivulje odnosa specifičnosti i osjetljivosti klasifikatora (eng. *receiver operating characteristic curve* - ROC). Mijenjana je točka razlučivanja (engl. *cut-off point*) za pojedinu skupinu prema tome ima li ili nema SIRS kako bi se stvaranjem ROC krivulje moglo objektivno utvrditi koja vrijednost najbolje razlučuje uspoređene skupine (Slika 5.2.1.).



Slika 5.2.1. ROC analiza senzitivnosti, specifičnosti i graničnih vrijednosti prijeoperacijskog CRP-a i kolinesteraze za pojavu poslijeoperacijskog SIRS-a

U našim podatcima prijeoperacijska vrijednost CRP-a (specifičnost 92,6 %, senzitivnost 64,7 %, točka razlučivanja > 54,2 mg/L) i aktivnosti kolinesteraze (specifičnost 76,9 %, senzitivnost 70,6 %, točka razlučivanja ≤ 4 244 U/L) dobri su dijagnostički prediktori SIRS-a (Tablica 5.2.4.).

Tablica 5.2.4. Parametri ROC krivulje s obzirom na vjerojatnost pojave SIRS-a

Parametri	AUC	95 % CI	Senzitivnost	Specifičnost	*Cut-off*	J	*P*
CRP	0,756	0,60 – 0,87	64,7	92,6	> 54,2 mg/L	0,57	**0,005**
Urea	0,659	0,50 – 0,80	47,1	96,3	> 9 mmol/L	0,43	0,10
Kolinesteraza	0,762	0,57 – 0,89	70,6	76,9	≤ 4 244 U/L	0,48	**0,001**

Legenda: AUC: površina ispod krivulje; CI: raspon pouzdanosti; J: Youden indeks; CRP: C-reaktivni protein

Tablica 5.2.5. Prijeoperacijski laboratorijski nalazi u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

	Medijan (IQR) i n (%) u odnosu na prijeoperacijski ChE		P*
	NChE (n = 25)	LChE (n = 18)	
Leukociti (x10^3/L)	5,4 (4,5 – 7,8)	9,8 (6,5 – 12,2)	**0,01**
Eritrociti (x10^9/L)	3,9 (3,6 – 4,1)	3,4 (3,1 – 3,5)	**< 0,001**
Hemoglobin (g/L)	113 (100 – 128)	102 (89,2 – 106,2)	**0,03**
Trombociti (x10^9/L)	187 (159 – 241)	233 (179 – 353)	**0,01**
Urea (mmol/L)	3,9 (3,4 – 5,1)	7,4 (5,1 – 15,9)	**0,02**
Kreatinin (μmol/L)	66 (55 – 80)	80 (47 – 152,5)	0,49
CRP (mg/L)	4 (1,8 – 37,8)	47 (11,5 – 187,9)	**0,005**
PCT (μg/L)	0,06 (0,03 – 0,08)	0,14 (0,07 – 4,42)	**0,002**
AST (U/L)	19 (13,5 – 32,5)	26 (16,2 – 46)	0,22
ALT (U/L)	15 (11 – 26)	19 (10 – 25)	0,73
GGT (U/L)	17 (13 – 38,5)	23,5 (12 – 99,5)	0,64
Bilirubin (μmol/L)	11 (9 – 15)	13 (6,7 – 17,2)	0,72
Albumini (g/L)	32,1 (30,4 – 35,5)	25,1 (23 – 29,1)	**< 0,001**
PV (INR)	1,1 (1,04 – 1,18)	1,1 (1 – 1,3)	0,43
Kolinesteraza (U/L)	6171 (4777 – 6635)	3230 (2837,5 – 2766,5)	**< 0,001**
AS 1 / AS 2	12 (48 %)/13 (52 %)	9 (50 %)/9 (50 %)	> 0,99

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test za numeričke i Fisherov egzaktni test za kategorijske varijable; IQR: interkvartilni raspon; ChE: kolinesteraza; NChE: ChE > 4 244 U/L; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; CRP: C-reaktivni protein; PCT: prokalcitonin; AST: aspartat aminotransferaza; ALT: alanin aminotransferaza; GGT: gama-glutamiltransferaza; PV: protrombinsko vrijeme. AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*

Plazmatsku aktivnost kolinesteraze (ChE) ispod 4 244 U/L imalo je 18 (40,9 %) pacijenata, stoga su ti pacijenti svrstani u LChE skupinu, dok su ostali svrstani u NChE skupinu. Kod jednog pacijenta prijeoperacijska vrijednost ChE-a nije izmjerena. Laboratorijski nalazi pacijenata s obzirom na aktivnost ChE-a prikazani su u Tablici 5.2.5. Nije bilo razlike u demografskim osobina između tih dviju skupina pacijenata, kao ni u prijeoperacijskim vrijednostima jetrenih transaminaza, bilirubina, koagulograma, kreatinina i indeksa aktivnosti *CYP2D6*. Pacijenti koji su imali prijeoperacijski nisku aktivnost ChE-a imali su statistički značajno veće prijeoperacijske vrijednosti upalnih parametara i ureje te su imali značajnije niže albumine i anemiju.

Nije bilo razlike u primijenjenom intraoperacijskom i poslijeoperacijskom volumenu krvi i kristaloida između tih dviju skupina (Tablica 5.2.6.).

Tablica 5.2.6. Primijenjeni intraoperacijski i poslijeoperacijski volumen infuzija u odnosu na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

	Medijan (IQR) u odnosu na prijeoperacijski ChE		P*
	NChE (n = 25)	LChE (n = 18)	
Intraoperacijski volumen (ml)†	2750 (2500 – 3500)	3000 (2875 – 4375)	0,23
Poslijeoperacijski volumen (ml)†	2500 (2000 – 3000)	3000 (2500 – 4050)	0,05

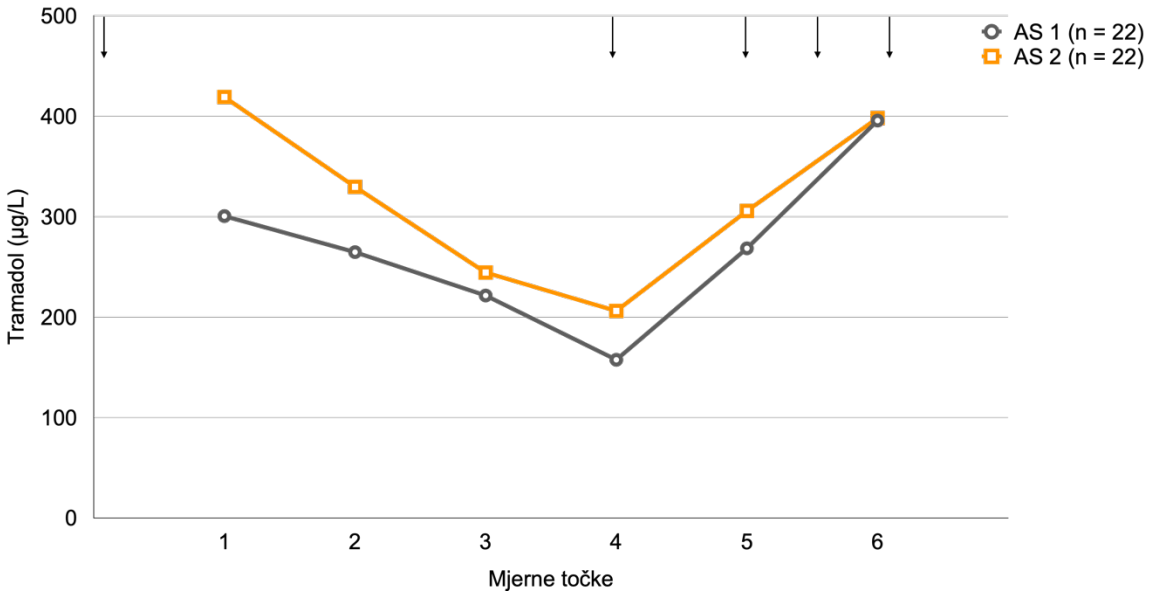
Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; †Ukupni volumen krvi i kristaloida; IQR: interkvartilni raspon; ChE: kolinesteraza; NChE: ChE > 4 244 U/L; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L

5.3. Plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita

5.3.1. Utjecaj različitog genotipa unutar normalnog metaboličkog fenotipa na poslijeoperacijske plazmatske koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Od 44 uključena pacijenta, prema indeksu aktivnosti *CYP2D6* gena, njih 22 (50 %) imalo je AS 1, dok je druga polovica imala AS 2. Kod svih pacijenata nakon primjene prve doze od 100 mg tramadola i. v. $t_{1/2}$ postignut je nakon 6 sati. C_{max} tramadola izmjeren u posljednjoj mjernoj točki iznosio je 395,6 (278,3 – 701,2) μg/L i 398,1 (250,3 – 569,8) μg/L kod pacijenata s AS 1 i AS 2. Friedmanov test za ponavljana mjerenja pokazao je

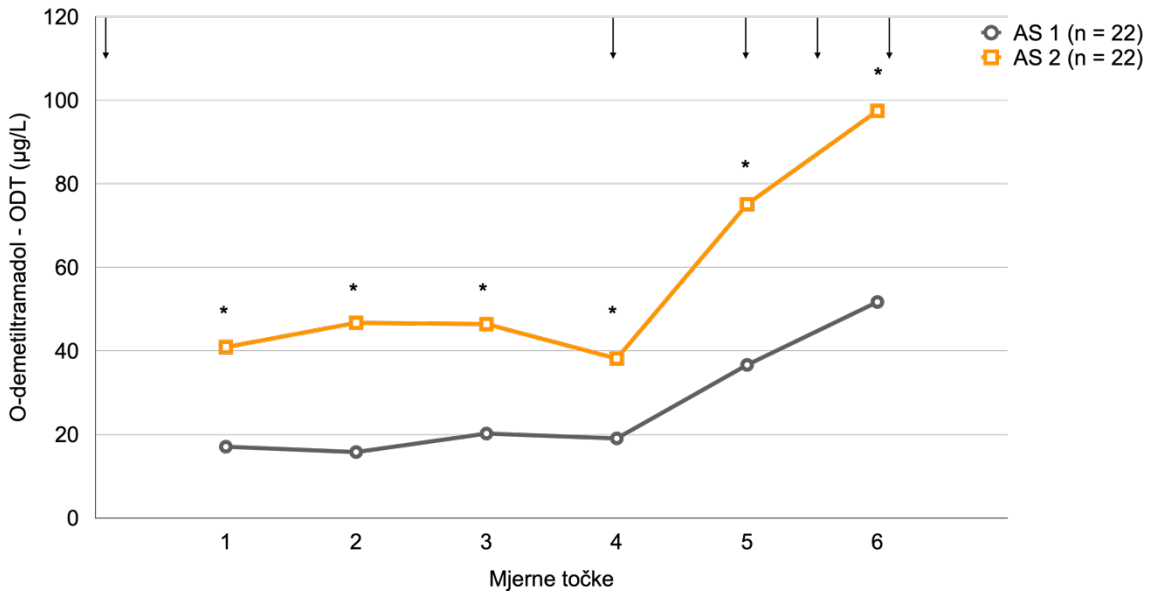
statistički značajne razlike u koncentracijama tramadola u objema skupinama tijekom šest mjerenja, bez obzira na AS (P < 0,001). Nije bilo razlike u koncentracijama tramadola između pacijenata s AS 1 i AS 2 (P > 0,05, Mann-Whitneyjev U test) (Slika 5.3.1.1.).



Slika 5.3.1.1. Koncentracije tramadola kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*;. Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i.v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Koncentracije ODT-a bile su značajno veće u svim mjerenjima kod pacijenata s AS 2 u odnosu na pacijente s AS 1, P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test). Nakon jedne doze tramadola C_{max} ODT-a kod obje skupine pacijenata postignut je nakon 4 sata (mjerna točka 3) i iznosio je 20,21 (12,5 – 40,4) µg/L i 46,42 (31 – 72,6) µg/L kod pacijenata klasificiranih kao AS 1 i AS 2, P = 0,005 (Mann-Whitneyjev U test). Daljnjom primjenom tramadola koncentracije ponovno počinju rasti te je C_{max} ODT-a nakon ponavljanih doza, zabilježen u zadnjem mjerenju, iznosio 51,71 (25,7 – 93,5) µg/L kod AS 1 i 97,46 (52,7 – 139) µg/L kod AS 2, P = 0,03 (Mann-Whitneyjev U test) (Slika 5.3.1.2.).



Slika 5.3.1.2. Koncentracije ODT-a kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*;. Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Friedmanov test za ponavljana mjerenja pokazao je statistički značajne razlike u koncentracijama ODT-a među mjerenjima u objema skupinama, P < 0,001. Značajan rast koncentracije ODT-a kod obiju skupina pacijenata zabilježen je samo nakon primjene druge doze tramadola, P < 0,05 (Post-hoc Dunn).

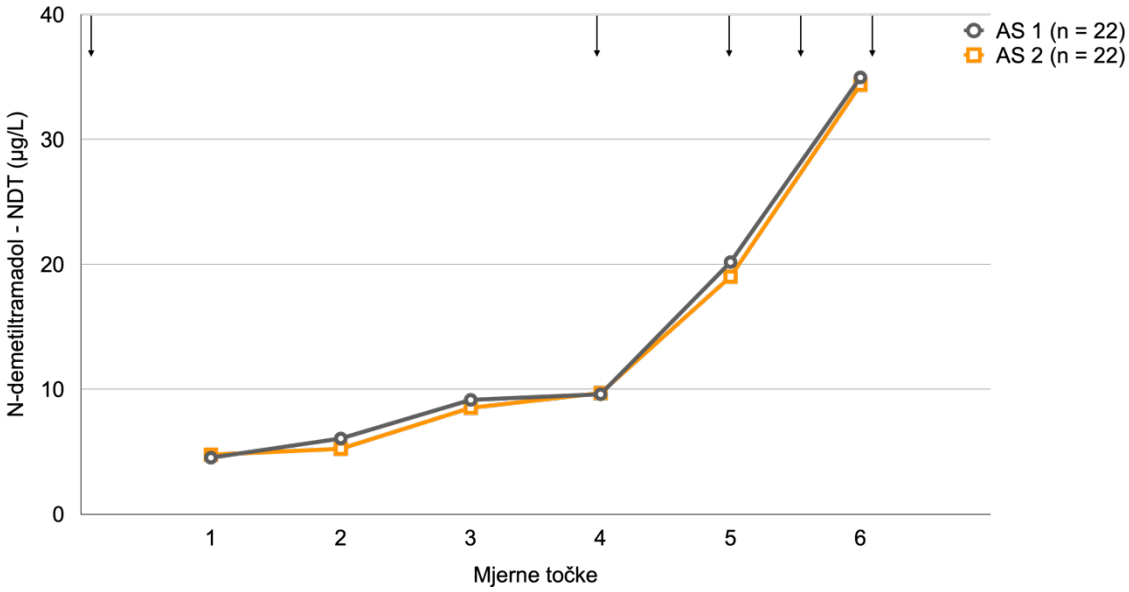
Zbog dvostruko većih koncentracije ODT-a kod pacijenata s AS 2, a gotovo jednakih koncentracija tramadola u odnosu na pacijente s AS 1, između tih dviju skupina pacijenata postojala je statistički značajna razlika u svim mjerenjima u metaboličkom omjeru (eng. *metabolic ratio* – MR) ODT/tramadol, kao što je prikazano u Tablici 5.3.1.1.

Kod obiju skupina ispitanika izmjerene su podjednake koncentracije NDT-a u svim mjerenjima (P > 0,05, Mann-Whitneyjev U test). C_{max} NDT-a izmjeren je u posljednjem mjerenju i iznosio je 34,97 (18,5 – 69,9) µg/L kod AS 1 i 34,39 (18,6 – 72,5) µg/L kod AS 2, P > 0,99 (Mann-Whitneyjev U test) (Slika 5.3.1.3.).

Tablica 5.3.1.1. MR ODT/tramadol kod pacijenata s AS 1 i AS 2

Mjerne točke	Medijan (IQR) MR ODT/TM u odnosu na AS				P*
	AS 1 (n = 22)	P†	AS 2 (n = 22)	P†	
1.	0,05 (0,03 – 0,08)		0,08 (0,07 – 0,12)		**0,009**
2.	0,07 (0,04 – 0,11)		0,16 (0,09 – 0,19)		**< 0,001**
3.	0,1 (0,05 – 0,19)	**< 0,001**	0,19 (0,16 – 0,25)	**< 0,001**	**0,002**
4.	0,13 (0,07 – 0,23)		0,27 (0,19 – 0,31)		**< 0,001**
5.	0,14 (0,08 – 0,21)		0,29 (0,2 – 0,34)		**< 0,001**
6.	0,11 (0,07 – 0,19)		0,25 (0,2 – 0,27)		**< 0,001**

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; †Friedmanov test; MR: metabolički omjer; ODT: *O*-demetiltramadol; TM: tramadol; IQR: interkvartilni raspon; AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*



Slika 5.3.1.3. Koncentracije NDT-a kod pacijenata ovisno o indeksu aktivnosti *CYP2D6*

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; AS: indeks aktivnosti CYP2D6; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

5.3.2. Utjecaj demografskih osobina pacijenata na poslijeoperacijske koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Analiza korelacije plazmatskih koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a s BMI-jem u našem uzorku pacijenata pokazala je negativnu korelaciju među tim varijablama, koja je statističku značajnost dosegla u nekoliko mjernih točaka. Spearmanov Rho koeficijent korelacije među koncentracijama tramadola, ODT-a i NDT-a te BMI-ja prikazan je u Tablici 5.3.2.1.

Tablica 5.3.2.1. Korelacija koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a s BMI-jem

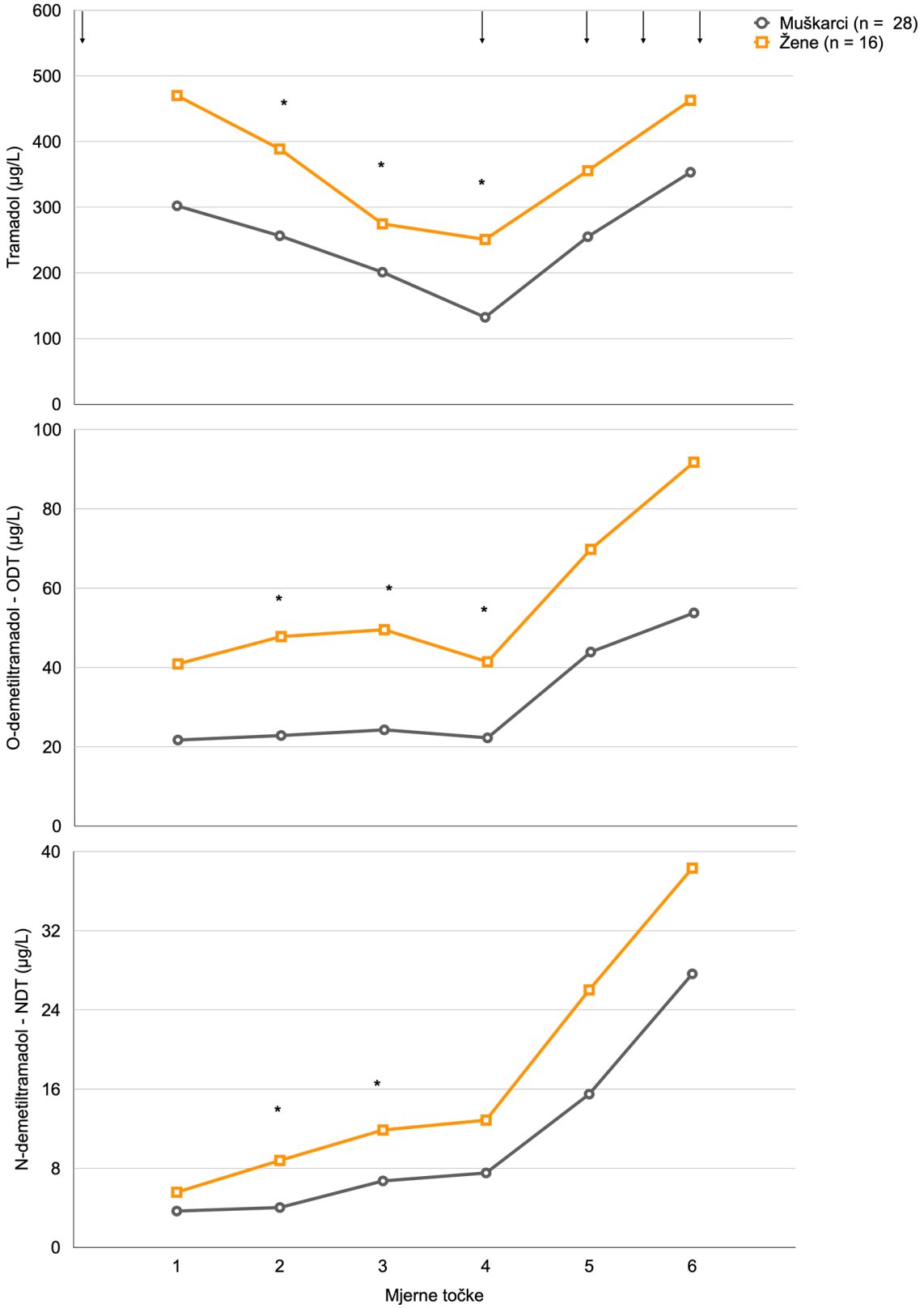
	Mjerna točka	Spearmanov Rho (P vrijednost)		
		TM	ODT	NDT
BMI	1.	-0,375 (**0,01**)	-0,297 (0,05)	-0,375 (**0,01**)
	2.	-0,441 (**0,003**)	-0,380 (**0,01**)	-0,430 (**0,004**)
	3.	-0,315 (**0,04**)	-0,407 (**0,006**)	-0,425 (**0,004**)
	4.	-0,302 (0,05)	-0,420 (**0,005**)	-0,397 (**0,008**)
	5.	-0,198 (0,20)	-0,367 (**0,01**)	-0,448 (**0,002**)
	6.	-0,01 (0,93)	-0,204 (0,18)	-0,366 (**0,02**)

Legenda: BMI: indeks tjelesne mase; TM: tramadol; ODT: *O*-demetiltramadol; NDT: *N*-demetiltramadol

U istraživanje je bilo uključeno 16 (36,4 %) žena te su kod njih u svim mjerenjima izmjerene veće koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a u odnosu na muškarce, koje su u nekim mjernim točkama dosegle razinu statističke značajnosti, $P < 0,05$ (Mann-Whitneyjev U test).

Kod obaju spolova $t_{1/2}$ tramadola nakon jedne doze postignut je nakon 6 sati i kod žena su tad izmjerene koncentracije tramadola od 250,9 (153,7 – 323,4) μg/L, a kod muškaraca 132,4 (94,5 – 223,8) μg/L, $P = 0,006$ (Mann-Whitneyjev U test) (Slika 5.3.2.1.).

Kod obaju spolova Friedmanov test za ponavljana mjerenja (Post-hoc Dunn) nije zabilježio značajan rast koncentracija ODT-a i NDT-a sve do primjene druge doze ($P > 0,05$ između susjednih mjerenja), nakon koje su koncentracije ODT-a i NDT-a počele značajno rasti te je ODT C_{max} kod žena iznosio 91,8 (45 – 136,7) μg/L, a kod muškaraca 53,7 (34,6 – 116,9) μg/L, $P = 0,28$ (Mann-Whitneyjev U test). NDT C_{max} od 38,3 (21,8 – 80,5) μg/L izmjeren je kod žena, a kod muškaraca 27,6 (15,9 – 67,4) μg/L, $P = 0,22$ (Mann-Whitneyjev U test). Koncentracije (medijan) tramadola, ODT-a i NDT-a s obzirom na spol prikazane su na Slici 5.3.2.1.



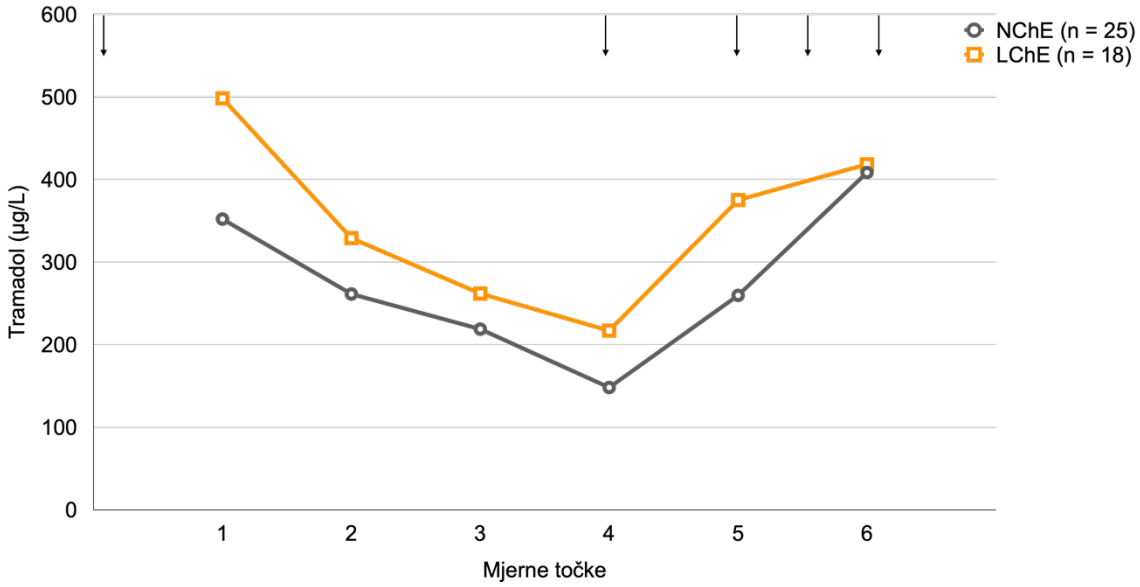
Slika 5.3.2.1. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenta s obzirom na spol

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

5.3.3. Utjecaj prijeoperacijske aktivnosti kolinesteraze na poslijeoperacijske koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Prethodno opisanom logističkom regresijom i ROC analizom dobivena je granična vrijednost prijeoperacijske ChE aktivnosti za predikciju sustavne upale od ≤ 4 244 U/L. Od ukupno 44 pacijenta uključenih u istraživanje, 18 (40,9 %) pacijenata u prijeoperacijskim laboratorijskim nalazima imalo je ChE ≤ 4 244 U/L te je svrstano u podskupinu niskih ChE-a (eng. *low ChE* – LChE). Ukupno 25 (56,8 %) pacijenata svrstano je u podskupinu normalne ChE aktivnosti (eng. *normal ChE* – NChE). Kod jednog pacijenta nije izmjerena prijeoperacijska aktivnosti ChE-a, stoga je on isključen iz ove analize.

Koncentracije tramadola (medijan) s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a prikazane su na Slici 5.3.3.1. Nije bilo razlike u koncentracijama tramadola između LChE i NChE skupine.

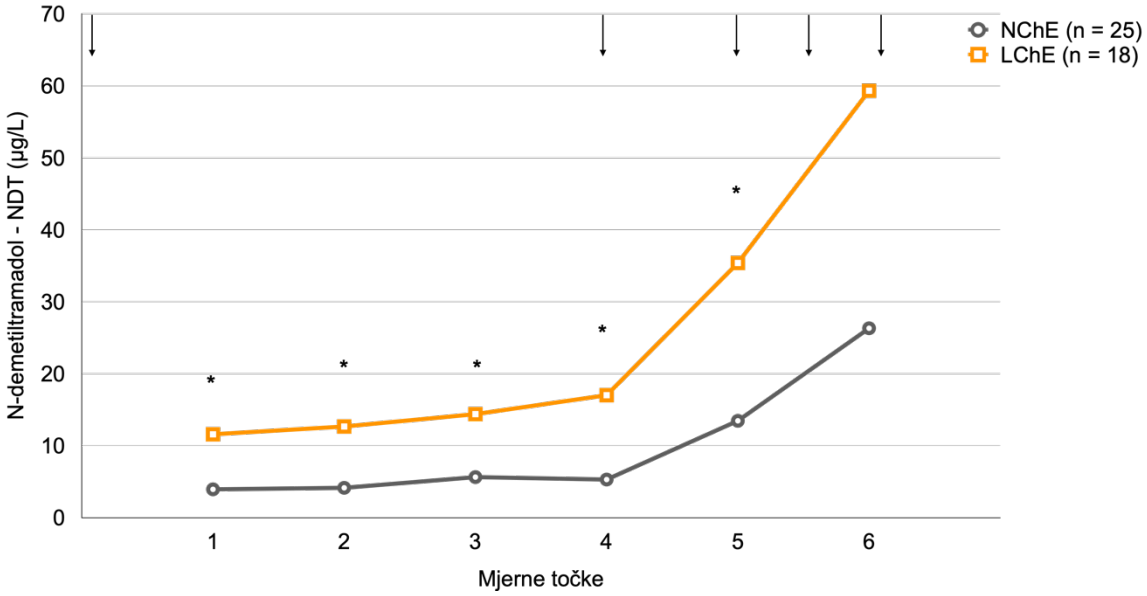


Slika 5.3.3.1. Koncentracije tramadola s obzirom na prijeoperacijsku ChE aktivnost

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; ChE: kolinesteraza; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; NChE: ChE > 4 244 U/L; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

U svim mjerenjima, osim posljednjeg, koncentracije NDT-a bile su statistički značajno veće kod pacijenata unutar LChE skupine u odnosu na pacijente NChE skupine, $P < 0,05$ (Mann-Whitneyjev U test). Koncentracije NDT-a s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a prikazane su na Slici 5.3.3.2.

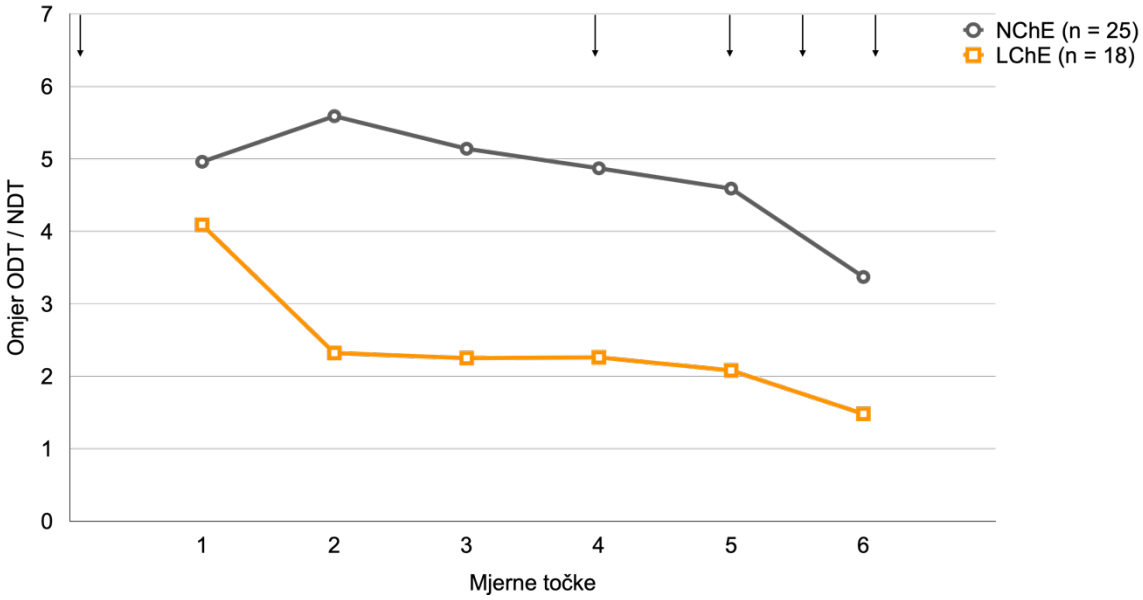
Kod NChE skupine NDT C_{max} nakon prve doze tramadola postignut je nakon 4 sata i iznosio je 5,63 (3,8 – 10,6) μg/L, nakon čega NDT koncentracije padaju do primjene iduće doze tramadola. Kod LChE skupine koncentracije NDT-a rastu svakim mjerenjem i prije primjene iduće doze iznosile su 17,1 (10,4 – 24) μg/L. NDT C_{max} nakon ponavljanih doza tramadola izmjeren je u posljednjem mjerenju, 59,3 (18,5 – 92,6) μg/L kod pacijenata LChE skupine i 26,3 (17,4 – 48,9) μg/L kod pacijenata NChE skupine, P = 0,08 (Mann-Whitneyjev U test).



Slika 5.3.3.2. Koncentracije NDT-a s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); ChE: kolinesteraza; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; NChE: ChE > 4 244 U/L; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Zbog većih koncentracija NDT-a pacijenti unutar LChE skupine u svim mjerenjima imali su manje metaboličke omjere ODT/NDT, no u našem uzorku ispitanika ta razlika nije dosegla razinu statističke značajnosti, kako je i prikazano na Slici 5.3.3.3.



Slika 5.3.3.3. Omjer ODT/NDT s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

Legenda: Prikazani su medijani omjera; ODT: *O*-demetiltramadol; NDT: *N*-demetiltramadol; ChE: kolinesteraza; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; NChE: ChE > 4 244 U/L; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Korelacijska analiza pokazala je slabu do umjerenu, negativnu korelaciju između prijeoperacijskog ChE-a i NDT koncentracija (Tablica 5.3.3.1.).

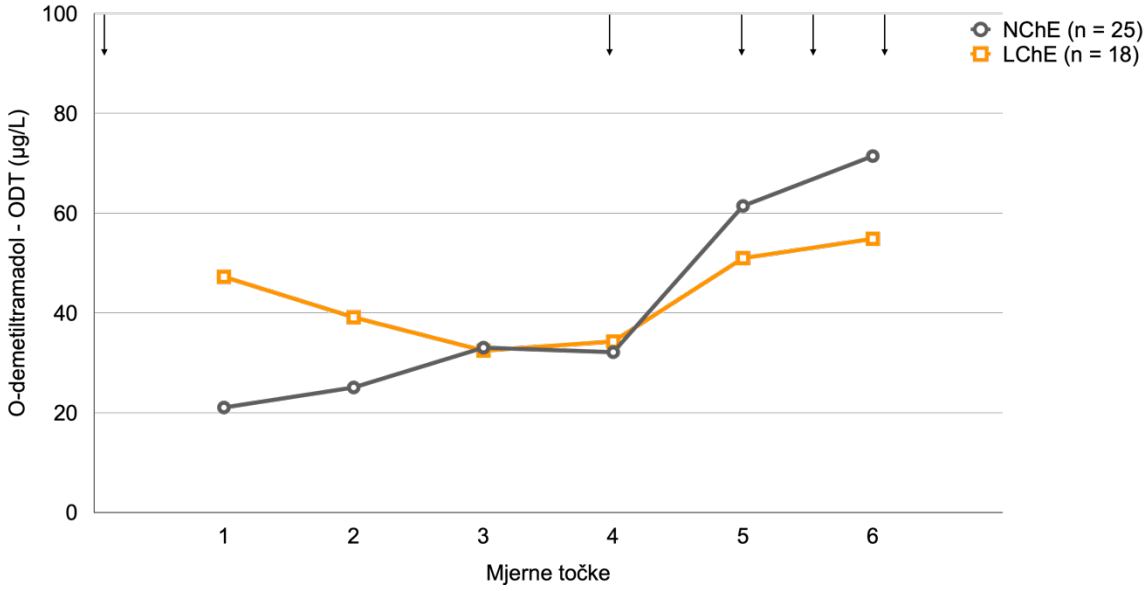
Tablica 5.3.3.1. Korelacija koncentracija NDT-a s prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a

	Mjerna točka	Spearmanov Rho (P vrijednost)	
		NDT	MR NDT/TM
ChE	1.	-0,376 (**0,01**)	-0,345 (**0,02**)
	2.	-0,368 (**0,02**)	-0,274 (0,08)
	3.	-0,386 (**0,01**)	-0,306 (0,05)
	4.	-0,382 (**0,01**)	-0,293 (0,06)
	5.	-0,357 (**0,02**)	-0,286 (0,06)
	6.	-0,219 (0,16)	-0,387 (**0,01**)

Legenda: ChE: kolinesteraza; MR: metabolički omjer; NDT: *N*-demetiltramadol; TM: tramadol

Regresijska analiza s prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a kao nezavisnom varijablom pokazala je statistički značajan utjecaj ChE-a na koncentraciju NDT metabolita u prvom (R^2 = 0,220; F(1,41) = 11,528; P = 0,002), drugom (R^2 = 0,173; F(1,41) = 8,575; P = 0,006) i trećem mjerenju (R^2 = 0,103; F(1,41) = 4,687; P = 0,04).

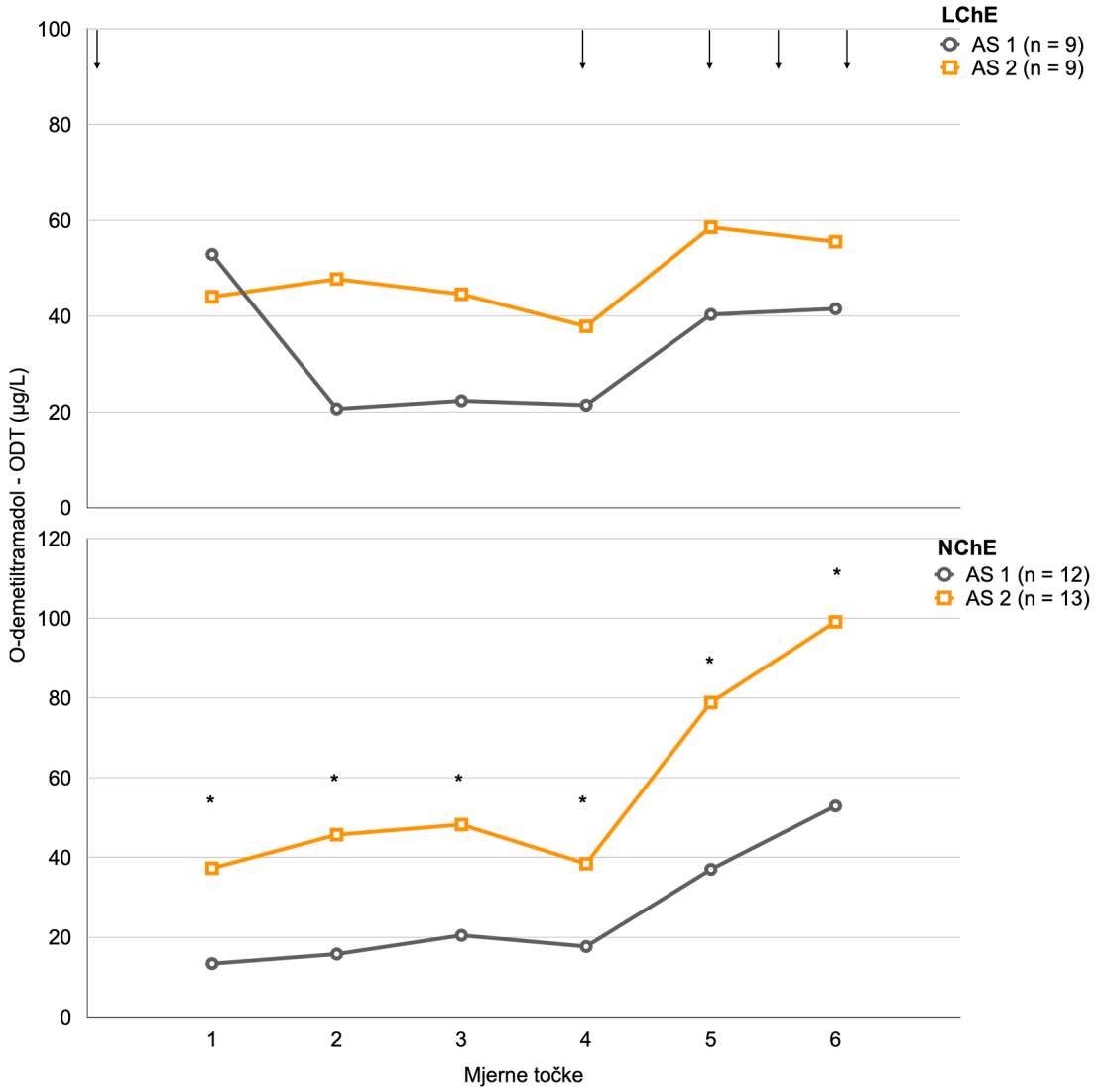
Analizirajući utjecaj ChE-a na ODT koncentracije kod svih pacijenata normalnog metaboličkog fenotipa, nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama ODT-a između LChE i NChE skupine. Sat vremena nakon primjene tramadola koncentracije ODT-a kod pacijenata LChE skupine bile su 47,2 (16,9 – 57,1) μg/L, a 21,0 (11,8 – 40,9) μg/L kod pacijenata NChE skupine, P = 0,07 (Mann-Whitneyjev U test). Koncentracije ODT-a (medijan) s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a prikazane su na Slici 5.3.3.4.



Slika 5.3.3.4. Koncentracije ODT-a s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; ChE: kolinesteraza; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; NChE: ChE > 4 244 U/L; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Zbog važnosti AS-a u sintezi ODT-a utjecaj ChE-a bilo je potrebno sagledati unutar različitih genotipa normalnog metaboličkog fenotipa. Iako je za ovu analizu uzorak bio malen, u svim mjerenjima izgubila se genetski uvjetovana razlika u koncentracijama ODT-a između pacijenata s AS 1 i AS 2 unutar LChE skupine (Slika 5.3.3.5.).



Slika 5.3.3.5. Koncentracije ODT-a s obzirom na ChE aktivnost i AS

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*; ChE: kolinesteraza; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; NChE: ChE > 4 244 U/L; Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i.v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Korelacijska analiza pokazala je slabu negativnu korelaciju prijeoperacijske aktivnosti ChE-a i koncentracija ODT-a koja je u prvom mjerenju bila statistički značajna, Spearmanov Rho -0,318; P = 0,04. Regresijska analiza s prijeoperacijskim ChE-om kao nezavisnom varijablom pokazala je da prijeoperacijska aktivnost ChE-a može objasniti 12,2 % varijabilnosti ODT-a u prvom mjerenju: R^2 = 0,122; F(1,41) = 5,671; P = 0,02.

5.3.4. Utjecaj prijeoperacijskih laboratorijskih pokazatelja jetrene i bubrežne funkcije na koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Korelacijska analiza pokazala je negativnu korelaciju između plazmatskih koncentracija tramadola i prijeoperacijskih vrijednosti jetrenih transaminaza koja je u nekim mjerenjima dosegla razinu statističke značajnosti, P < 0,05 (Spearmanov Rho). Prijeoperacijske vrijednosti ALT-a značajno su korelirale s koncentracijama ODT-a u svim mjerenjima, kao i s MR ODT/tramadol u prvim četirima mjerenjima, dok su prijeoperacijske vrijednosti GGT-a značajno korelirale s koncentracijama tramadola u svim mjerenjima osim prvog i ODT koncentracijama u posljednjim četirima mjerenjima (Tablica 5.3.4.1. i Tablica 5.3.4.2.). Značajne korelacije između tramadola i njegovih metabolita te AST-a nisu pronađene.

Tablica 5.3.4.1. Korelacija prijeoperacijske vrijednosti ALT-a s koncentracijama tramadola, ODT-a i MR ODT/tramadola

	Mjerna točka	Spearmanov Rho (P vrijednost)		
		TM	ODT	MR ODT/TM
ALT	1.	-0,254 (0,10)	-0,456 (**< 0,001**)	-0,462 (**< 0,001**)
	2.	-0,267 (0,08)	-0,425 (**< 0,001**)	-0,429 (**< 0,001**)
	3.	-0,217 (0,16)	-0,427 (**< 0,001**)	-0,39 (**0,01**)
	4.	-0,21 (0,17)	-0,447 (**< 0,001**)	-0,387 (**0,01**)
	5.	-0,306 (**0,04**)	-0,393 (**0,01**)	-0,265 (0,08)
	6.	-0,329 (**0,03**)	-0,405 (**0,01**)	-0,2 (0,19)

Legenda: ALT: alanin aminotransferaza: TM: tramadol; ODT: *O*-demetiltramadol; MR: metabolički omjer

Tablica 5.3.4.2. Korelacija prijeoperacijske vrijednosti GGT-a s koncentracijama tramadola, ODT-a i MR ODT/tramadol

	Mjerna točka	Spearmanov Rho (P vrijednost)		
		TM	ODT	MR ODT/TM
GGT	1.	-0,456 (**< 0,001**)	-0,15 (0,33)	-0,462 (**< 0,001**)
	2.	-0,425 (**< 0,001**)	-0,269 (0,08)	-0,429 (**< 0,001**)
	3.	-0,427 (**< 0,001**)	-0,317 (**0,04**)	-0,39 (**0,01**)
	4.	-0,447 (**< 0,001**)	-0,354 (**0,02**)	-0,387 (**0,01**)
	5.	-0,393 (**0,01**)	-0,448 (**< 0,001**)	-0,265 (0,08)
	6.	-0,405 (**0,01**)	-0,432 (**< 0,001**)	-0,2 (0,19)

Legenda: GGT: gama-glutamiltransferaza; TM: tramadol; ODT: *O*-demetiltramadol; MR: metabolički omjer

Nije pronađen značajan regresijski model u predikciji koncentracije tramadola i njegovih metabolita s ALT-om kao nezavisnom varijablom. Regresijska analiza s GGT-om kao nezavisnom varijablom pokazala je da prijeoperacijski GGT može objasniti 11,2 % i 10,5 % varijabilnosti koncentracije ODT-a u zadnjim dvama mjerenjima: R^2=0,112; F(1,42) = 5,293; P = 0,03 i R^2 = 0,105; F(1,42) = 4,925; P = 0,03.

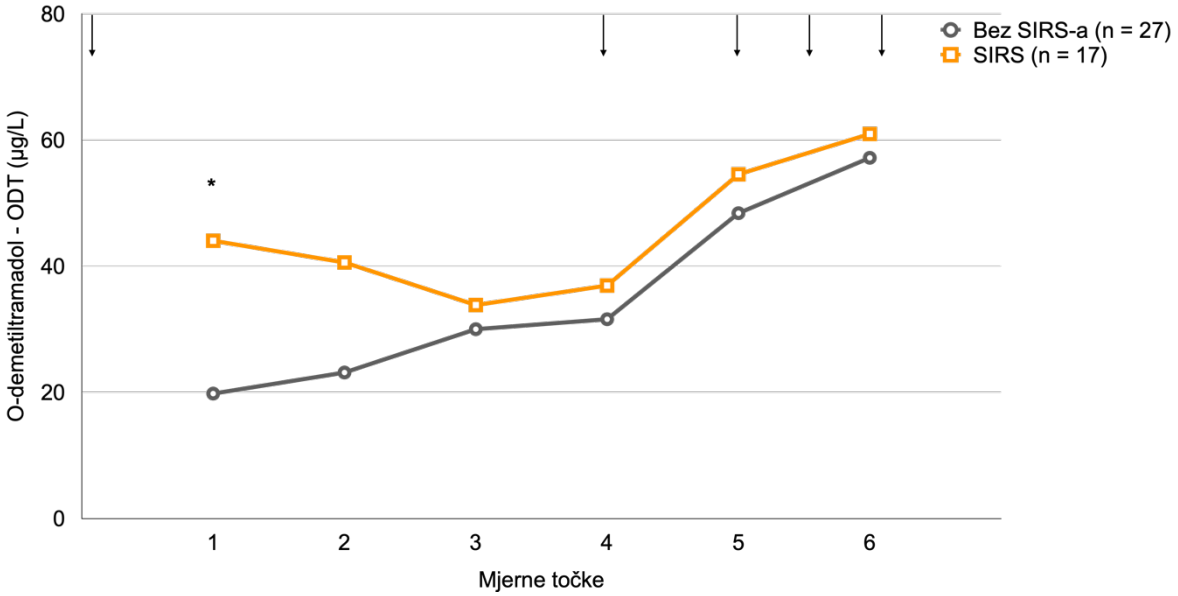
S koncentracijama NDT-a u svim mjerenjima, osim posljednjeg, jedino je značajno korelirala prijeoperacijska aktivnost ChE-a, kako je ranije prikazano u Tablici 5.3.3.2.1.

Postupnom multivarijatnom linearnom regresijom varijabilnost od 31,6 % koncentracija ODT-a u prvom mjerenju može se objasniti modelom značajnih prediktora: ChE (β = -0,01; P < 0,001), ALT-om (β = -0,42; P = 0,01) i albuminima (β = 2,46; P = 0,005). Varijabilnost koncentracija NDT-a od 29,6 % u prvom i 34,1 % u drugom mjerenju može se objasniti modelom značajnih prediktora: ChE ($\beta_{1.}$ = -0,002; P = 0,01 i $\beta_{2.}$ = -0,002; P = 0,04) i urejom ($\beta_{1.}$ = 0,23; P = 0,01 i $\beta_{2.}$ = 0,39; P = 0,001).

5.3.5. Utjecaj kliničkih znakova sustavne upale i hitnosti operacijskog zahvata na koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Ukupno 17 (38,6 %) pacijenata tijekom prva 24 sata nakon hospitalizacije u ZIM-u zadovoljilo je kliničke kriterije sustavne upale, dok ona nije postojala kod 27 (61,4 %) pacijenata. Nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama tramadola među tim pacijentima, P > 0,05 (Mann-Whitneyjev U test). Kod pacijenata sa SIRS-om u svim mjerenjima postojale su veće koncentracije ODT-a koje su statističku značajnost

dosegle samo u prvom mjerenju, 44 (19 – 54,7) μg/L, nasuprot 19,8 (10,5 – 44,5) μg/L, P = 0,04 (Mann-Whitneyjev U test), kao što je prikazano na Slici 5.3.5.1.



Slika 5.3.5.1. Koncentracije ODT-a s obzirom na razvoj sustavne upale

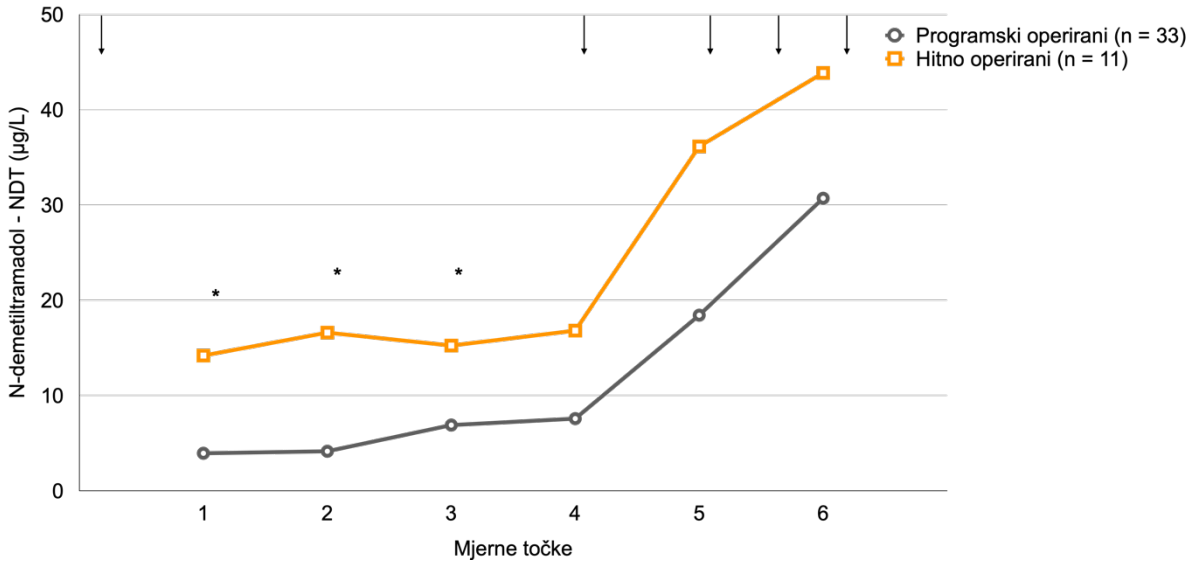
Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); SIRS: sustavni upalni odgovor (eng. *systemic inflammatory response syndrome*); Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

Analizirajući utjecaj sustavne upale na ODT koncentracije kod različitog genotipa unutar normalnog metaboličkog fenotipa, uočen je jednak gubitak genotipski određenih razlika u sintezi ODT-a između AS 1 i AS 2 koji je uočen i kod niskog ChE-a. U posljednjem mjerenju pacijenti s AS 1 imali su čak i nešto veće koncentracije ODT-a od pacijenata s AS 2, no razlika nije bila značajna: 65,6 (35,4 – 146) μg/L nasuprot 60,9 (37 – 144,9) μg/L.

Pacijenti sa SIRS-om imali su veće koncentracije NDT-a u prvom mjerenju: 8,04 (4,7 – 17,7) μg/L kod pacijenata sa SIRS-om i 3,7 (3,5 – 6,8) μg/L kod pacijenata bez SIRS-a, P = 0,02 (Mann-Whitneyjev U test).

Hitno operirani pacijenti imali su veće koncentracije ODT-a u svim mjerenjima u odnosu na pacijente koji su operirani programski. Statistička značajnost postojala je u prvom mjerenju, 52,9 (32,8 – 85,4) μg/L nasuprot 21 (11,1 – 47,4) μg/L, P = 0,02 (Mann-Whitneyjev U test), i u drugom mjerenju, 60,3 (37,6 – 99,1) μg/L nasuprot 23,1 (12,5 – 46,8) μg/L, P = 0,02 (Mann-Whitneyjev U test). Također, koncentracije NDT-a

bile su veće kod hitno operiranih pacijenata u odnosu na programski operirane pacijente i to statistički značajno u prvim trima mjernim točkama. Koncentracije NDT-a izmjerene sat vremena nakon primjene prve doze tramadola kod hitno operiranih pacijenata iznosile su 14,9 (5,7 – 27,3), a kod programski operiranih 3,9 (3,5 – 7) μg/L, P = 0,002 (Mann-Whitneyjev U test) (Slika 5.3.5.2.).



Slika 5.3.5.2. Koncentracije NDT-a s obzirom na hitnost operacijskog zahvata

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; * P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test); Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i.v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

5.4. Analiza poslijeoperacijske boli

Ukupno je bilo pet procjena boli, prije i 30 minuta nakon primjene tramadola. Kod pacijenata koji su bili budni i mogli verbalno iskazati jačinu boli, bol je procjenjivana NRS ljestvicom, dok je kod intubiranih pacijenata korištena CPOT i BPS ljestvica. Srednja vrijednost CPOT-a i BPS-a kod intubiranih pacijenata iznosila je 0 i 3 u svim mjerenjima s vrlo malim interkvartilnim rasponom, stoga te vrijednosti nisu bile adekvatne za statističku analizu. U konačnici je poslijeoperacijska bol i učinkovitost analgezije tramadolom analizirana samo kod ekstubiranih pacijenata, kojih je u trenutku prve procijene boli bilo 9 (20,5 %), druge 37 (84,1 %), treće i četvrte 41 (93,2 %) te pete procijene boli 42 (95,5 %).

Nije bilo značajnih razlika u percepciji boli ni analgetskom učinku tramadola između muškaraca i žena. Kod obaju spolova analgezija tramadolom nije bila učinkovita u smanjenju poslijeoperacijske boli samo u prvoj mjernoj točki (P > 0,05, Wilcoxon test). Također, nije bilo razlike u analgetskom učinku tramadola s obzirom na AS (P > 0,05; Mann-Whitneyjev U test) te se tramadol pokazao učinkovit u smanjenju boli kod svih pacijenata uključenih u ovo istraživanje (Tablica 5.4.1.).

Tablica 5.4.1. Vrijednosti NRS-a po mjerenjima s obzirom na AS

NRS‡		Medijan (IQR) NRS vrijednosti					P*
		n	AS = 1		n	AS = 2	
				P†			P†	
1.	A	5	5 (3 – 10)	0,07	4	7 (4 – 7,75)	0,59	> 0,99
	B	8	5 (3 – 6)		5	5 (4,5 – 6,5)		0,52
2.	A	18	5 (3,75 – 6)	**0,001**	19	5 (3 – 7)	**0,001**	0,71
	B	18	3 (1 – 4)		19	2 (1 – 5)		0,91
3.	A	20	3,5 (2,25 – 5)	**< 0,001**	21	3 (2 – 5)	**< 0,001**	0,78
	B	20	2 (1 – 3)		21	2 (0,5 – 3)		> 0,99
4.	A	20	3,5 (2 – 5)	**0,004**	21	3 (2 – 5)	**0,002**	0,66
	B	20	2 (1 – 4)		20	2 (1 – 3,75)		0,69
5.	A	20	3 (2 – 5,75)	**0,004**	22	3,5 (2,75 – 5,25)	**< 0,001**	0,48
	B	19	2 (0 – 5)		22	2 (0,75 – 3)		0,86

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; † Wilcoxon test; ‡ NRS: numerička ocjenska ljestvica boli; A: prije tramadola; B: nakon tramadola; IQR: interkvartilni raspon; AS: indeks aktivnosti *CYP2D6* gena

Pacijenti koji su prijeoperacijski imali nisku aktivnost ChE-a primili su tijekom operacijskog zahvata manju dozu opijata, iskazanu u miligramima (mg) morfinskog ekvivalenta. Nije bilo značajne razlike u poslijeoperacijskoj potrošnji morfina između pacijenata s prijeoperacijski niskom i normalnom aktivnosti ChE-a (Tablica 5.4.2.).

Tablica 5.4.2. Potrošnja opijata ovisno o prijeoperacijskoj aktivnosti ChE-a

	Medijan (IQR) u odnosu na prijeoperacijski ChE				P*
	n	NChE	n	LChE	
Intraoperacijska doza opijata (mg)†	17	79 (65 – 94,7)	24	50 (39 – 67,5)	**< 0,001**
Poslijeoperacijska doza morfina (mg)	18	6 (2 – 10)	25	2 (0 – 8)	0,15

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; †doza je iskazana kao mg morfinskog ekvivalenta; IQR: interkvartilni raspon; ChE: kolinesteraza; NChE: ChE > 4 244 U/L; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L

Tramadol se pokazao učinkovitim u smanjenju boli kod svih pacijenata, neovisno o prijeoperacijskoj aktivnosti ChE-a. Pacijenti s prijeoperacijski niskom aktivnosti ChE-a imali su manji iskaz boli u drugoj i trećoj procjeni u odnosu na pacijente s normalnim ChE-om, P < 0,05 (Mann-Whitneyjev U test). Percepcija boli iskazana NRS ljestvicom s obzirom na aktivnost ChE-a prikazana je u Tablici 5.4.3.

Tablica 5.4.3. Vrijednosti NRS-a po mjerenjima ovisno o prijeoperacijskoj aktivnosti ChE-a

NRS‡		Medijan (IQR) NRS vrijednosti					P*
		n	LChE	P†	n	NChE	P†	
1	A	2	6 (5 –)	-	6	5 (3 – 8,5)	0,22	0,86
	B	2	5 (3 –)		10	5 (3,75 – 6)		0,90
2	A	13	4 (2,5 – 5)	**0,02**	23	5 (4 – 7)	**< 0,001**	**0,02**
	B	13	2 (0,5 – 3,5)		23	4 (2 – 5)		**0,03**
3	A	15	3 (1 – 4)	**0,001**	25	4 (3 – 5)	**< 0,001**	**0,03**
	B	15	2 (0 – 2)		25	2 (1,5 – 4)		**0,04**
4	A	15	3 (2 – 4)	**0,01**	25	4 (2 – 5)	**0,001**	0,33
	B	15	2 (1 – 4)		24	2,5 (1 – 4)		0,88
5	A	16	3 (1,25 – 5)	**0,005**	25	3 (2,5 – 6)	**< 0,001**	0,47
	B	16	1,5 (0 – 2)		24	3 (1 – 3,75)		0,18

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; † Wilcoxon test; ‡ NRS: numerička ocjenska ljestvica boli; A: prije tramadola; B: nakon tramadola; IQR: interkvartilni raspon; ChE: kolinesteraza; NChE: ChE > 4 244 U/L; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L

Korelacijska analiza pokazala je statistički značajnu negativnu korelaciju percepcije boli nakon primjene druge doze tramadola (NRS 2B) s plazmatskim

koncentracijama tramadola (Spearmanov Rho = -0,527; P = 0,001) i NDT-a (Spearmanov Rho = -0,569; P < 0,001) izmjerenih u plazmi pacijenata netom prije primjene tramadola. Značajne korelacije ODT-a i percepcije boli u našem uzorku pacijenata nisu pronađene.

Analizirajući pacijente koji su imali neadekvatnu analgeziju tramadolom (NRS > 3 nakon primjene tramadola), uočene su statistički značajne razlike u korespondentnim koncentracijama tramadola, ODT-a ili NDT-a između pacijenata s adekvatnom i neadekvatnom analgezijom tijekom druge, treće i pete procjene boli. Pacijenti koji su imali neadekvatnu analgeziju u drugoj i trećoj mjernoj točki imali su značajno niže koncentracije tramadola i/ili NDT-a prije primjene tramadola, dok su koncentracije ODT-a prije primjene tramadola bile značajno niže kod pacijenata koji su imali neadekvatnu analgeziju tramadolom u posljednjoj procjeni boli (Tablica 5.4.4.).

Tablica 5.4.4. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata koji su imali adekvatnu i neadekvatnu analgeziju tramadolom tijekom druge, treće i pete procjene boli

NRS 2 B†			Medijan (IQR) koncentracija		P*
			NRS > 3 (n = 15)	NRS ≤ 3 (n = 22)	
Mjerna točka	3.	TM	130 (99,5 – 202,2)	268,3 (218,3 – 396,1)	**< 0,001**
		NDT	4,05 (3,5 – 6,9)	11,9 (7 – 20,1)	**0,003**
	4.	TM	106,3 (74,4 – 128,9)	222,1 (149,5 – 313)	**< 0,001**
		NDT	3,5 (3,5 – 7,6)	12,8 (7,7 – 23,9)	**0,001**
NRS 3 B†			Medijan (IQR) koncentracija		P*
			NRS > 3 (n = 8)	NRS ≤ 3 (n = 33)	
Mjerna točka	5.	NDT	8,1 (4,3 – 12,8)	28,3 (14,4 – 48)	**0,001**
NRS 5 B†			Medijan (IQR) koncentracija		P*
			NRS > 3 (n = 9)	NRS ≤ 3 (n = 32)	
Mjerna točka	6.	ODT	48,1 (25,4 – 56,4)	93,4 (41,8 – 154,9)	**0,04**

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; † Numerička ocjenska ljestvica boli (NRS) u drugoj, trećoj i petoj procjeni boli 30 minuta nakon primjene tramadola (B); Mjerna točka 3: dva sata prije primjene druge doze tramadola; Mjerna točka 4: prije primjene druge doze tramadola; Mjerna točka 5: prije primjene treće doze tramadola; Mjerna točka 6: prije primjene pete doze tramadola. IQR: interkvartilni raspon; TM: tramadol; ODT: *O*-demetiltramadol; NDT: *N*-demetiltramadol

Pronađena je slaba, ali značajna negativna korelacija između NRS 3B i koncentracija NDT-a u uzorcima prije primjene treće doze tramadola, tj. u trećem (Spearmanov Rho -0,348; P = 0,03), četvrtom (Spearmanov Rho -0,376; P = 0,02) i petom mjerenju (Spearmanov Rho -0,328; P = 0,04). Pacijenti koji su nakon primljene treće doze tramadola (NRS 3B) imali neadekvatnu analgeziju imali su značajno veće omjere ODT/NDT, a značajno manje omjere NDT/tramadol od pacijenata kod kojih je tramadol bio učinkovit, kako je prikazano u Tablici 5.4.5.

Tablica 5.4.5. Razlike u MR-u između pacijenata s adekvatnom i neadekvatnom analgezijom tramadolom u trećoj procjeni boli

NRS 3 B†			Medijan (IQR) metaboličkog omjera		P*
			NRS > 3 (n = 8)	NRS ≤ 3 (n = 33)	
Mjerna točka	1.	ODT/NDT	5,8 (5,1 – 9,9)	3,4 (1,3 – 7)	**0,03**
	2.	ODT/NDT	7,5 (5,8 – 11)	3,5 (1,3 – 6,3)	**0,004**
	3.	ODT/NDT	8,6 (5,4 -11,7)	2,7 (1,1 – 6,2)	**0,001**
		NDT/TM	0,02 (0,01 – 0,03)	0,04 (0,02 -0,08)	**0,002**
	4.	ODT/NDT	8,7 (5,6 – 13,9)	2,9 (1 – 5)	**< 0,001**
		NDT/TM	0,03 (0,02 – 0,04)	0,05 (0,04 – 0,1)	**0,002**
	5.	ODT/NDT	8,5 (5,8 – 12,3)	2,2 (0,8 – 4,6)	**< 0,001**
		NDT/TM	0,03 (0,02 – 0,04)	0,07 (0,05 – 0,2)	**< 0,001**
	6.	ODT/NDT	5,1 (3,4 – 9,9)	1,6 (0,4 – 3,4)	**0,001**
		NDT/TM	0,04 (0,03 – 0,05)	0,09 (0,06 – 0,2)	**< 0,001**

Legenda: * Mann-Whitneyjev U test; † Numerička ocjenska ljestvica boli (NRS) u trećoj procjeni boli 30 minuta nakon primjene tramadola (B); Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze. IQR: interkvartilni raspon; MR: metabolički omjer; ODT: *O*-demetiltramadol; NDT: *N*-demetiltramadol.

5.5. Analiza poslijeoperacijske mučnine i povraćanja

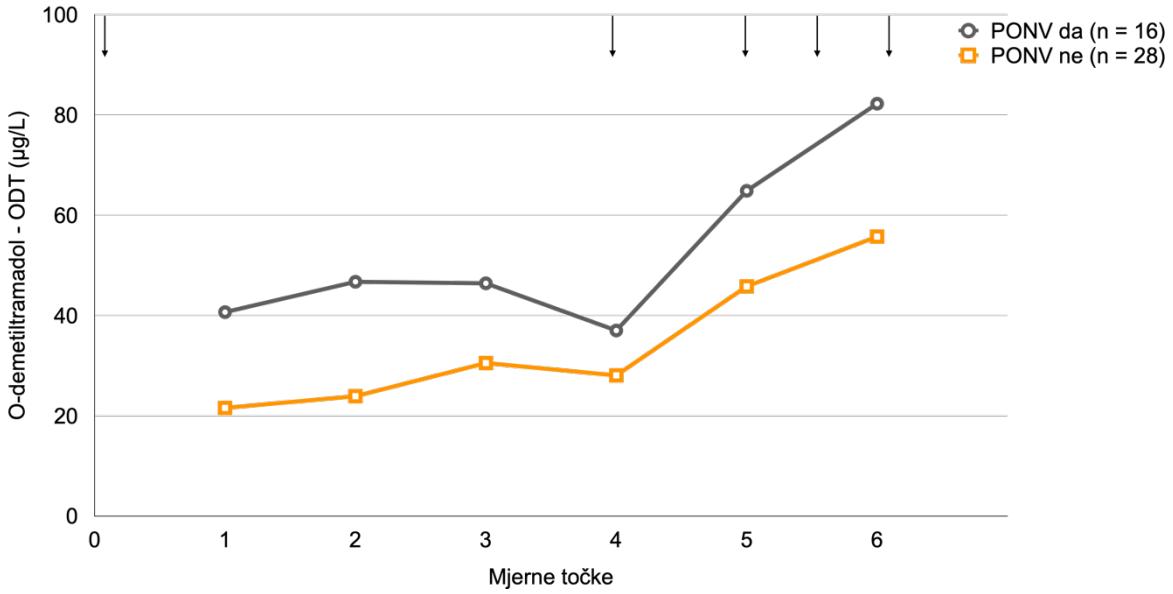
Barem jednu epizodu poslijeoperacijske mučnine i/ili povraćanja (eng. *postoperative nausea and vomiting* – PONV) doživjelo je 16 (36,3 %) pacijenata. PONV jednako se često javljao kod muškaraca i kod žena (P = 0,20). Nije bilo razlike u primijenjenoj intraoperacijskoj dozi opijata među pacijentima s i bez PONV, međutim PONV značajno se češće javio kod pacijenata koji su imali AS 2 u odnosu na pacijente s AS 1, P = 0,03 (Mann-Whitneyjev U test) (Tablica 5.5.1.).

Tablica 5.5.1. Razlike u AS-u te intraoperacijskoj i poslijeoperacijskog dozi opijata s obzirom na poslijeoperacijsku pojavu mučnine i/ili povraćanja

	Medijan (IQR) i N u odnosu na PONV		P*
	PONV (n = 16)	Bez PONV (n = 28)	
AS 1 / AS 2	4/12	18/10	**0,03**
Intraoperacijska doza opijata (mg)†	75 (60 – 110)	65 (47 – 85)	0,07
Poslijeoperacijska doza morfina (mg)	2 (0,5 – 5,5)	5 (0,5 – 9,5)	0,18

Legenda: numeričke varijable prikazane su medijanom i interkvartilnim rasponom (IQR), a kategorijske apsolutnim frekvencijama (N); * Mann-Whitneyjev U test ili Fisherov egzaktni test; † doza je iskazana kao mg morfinskog ekvivalenta; PONV: poslijeoperacijska mučnina i povraćanje; AS: indeks aktivnosti *CYP2D6*

Nije bilo značajnih razlika u koncentracijama tramadola, ODT-a i NDT-a među pacijentima koji su unutar 30 minuta nakon primjene tramadola imali PONV. Pacijenti s barem jednom epizodom mučnine i/ili povraćanja u prva 24 sata imali su u svim mjerenjima veće koncentracije ODT-a, no u našem uzorku pacijenata ta razlika nije dostigla razinu statističke značajnosti (Slika 5.5.1.).



Slika 5.5.1. Pojava PONV-a u prva 24 sata i koncentracije ODT-a

Legenda: Prikazani su medijani koncentracija; PONV: poslijeoperacijska mučnina i povraćanje (barem jedna epizoda u prva 24 sata poslije operacije). Strelice predstavljaju primjenu 100 mg tramadol i. v. Mjerne točke od 1 do 3 su jedan, dva i četiri sata nakon primjene prve doze tramadola, a od 4 do 6 neposredno prije primjene druge, treće i pete doze.

5.6. Poslijeoperacijski ishod pacijenta i koncentracije tramadola i njegovih metabolita

Pacijenti koji su prijeoperacijski imali nisku plazmatsku aktivnost ChE-a u odnosu na pacijente s normalnom ChE aktivnosti imali su značajno dulje poslijeoperacijsko vrijeme mehaničke ventilacije, dulji boravak u ZIM-u, dulje vrijeme ukupne hospitalizacije te su imali značajno veći mortalitet (Tablica 5.6.1.).

Tablica 5.6.1. Poslijeoperacijski ishod pacijenata s obzirom na prijeoperacijsku aktivnost ChE-a

	Medijan (IQR) i N u odnosu na prijeoperacijski ChE		P*
	NChE (n = 25)	LChE (n = 18)	
Trajanje mehaničke ventilacije (minute)	125 (62,5 – 255)	262,5 (115 – 746,2)	**0,004**
Duljina hospitalizacije u ZIM-u (dani)	1 (1 – 1)	1,5 (1 – 6)	**0,01**
Duljina hospitalizacije u bolnici (dani)	10 (7 – 14)	12,5 (10 – 19,5)	**0,04**
Umrli (da/ne) †	1/24	7/11	**0,006**

Legenda: numeričke varijable prikazane su medijanom i interkvartilnim rasponom (IQR), a kategorijske apsolutnim frekvencijama (N); * Mann-Whitneyjev U test za numeričke varijable i Fisherov egzaktni test za kategorijske varijable; † Umrli tijekom hospitalizacije; ChE: kolinesteraza; NChE: ChE > 4 244 U/L; LChE: ChE ≤ 4 244 U/L; ZIM: Zavod za intenzivnu medicinu

Pacijenti s manjim omjerom ODT/tramadol, kao i ODT/NDT dulje su bili hospitalizirani. Korelacijski koeficijenti između duljine hospitalizacije i navedenih omjera prikazani su u Tablici 5.6.2.

U našem uzorku ispitanika nisu pronađene značajne korelacije koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a s duljinom mehaničke ventilacije, kao ni s duljinom hospitalizacije u ZIM-u. Nije bilo značajnih razlika u koncentracijama tramadola i metabolita u prva 24 sata poslije operacije između pacijenata koji su umrli i onih koji su preživjeli do otpusta iz bolnice.

Tablica 5.6.2. Korelacija duljine hospitalizacije s MR ODT/TM i MR ODT/NDT

	Mjerna točka	Spermanov Rho (P vrijednost)	
		ODT/TM	ODT/NDT
Duljina hospitalizacije	1.	-0,161 (0,29)	-0,370 (**0,01**)
	2.	-0,259 (0,09)	-0,381 (**0,01**)
	3.	-0,314 (**0,04**)	-0,327 (**0,03**)
	4.	-0,311 (**0,04**)	-0,337 (**0,03**)
	5.	-0,288 (0,06)	-0,387 (**0,01**)
	6.	-0,234 (0,12)	-0,337 (**0,03**)

Legenda: MR: metabolički omjer; ODT: *O*-demetiltramadol; NDT: *N*-demetiltramadol; TM: tramadol

6. RASPRAVA

Tijekom ovog istraživanja izmjerene su koncentracije tramadola i njegovih metabolita u prva 24 sata kod pacijenata nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata. Rezultati istraživanja potvrdili su da se koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod tih pacijenata razlikuju od koncentracija ranije izmjerenih kod nekirurških pacijenata te da sustavni upalni odgovor utječe na metabolizam tramadola u ranom poslijeoperacijskom razdoblju.

6.1. Utjecaj demografskih osobina pacijenata i indeksa aktivnosti *CYP2D6* gena na metabolizam tramadola i koncentracije tramadola i metabolita

Broj funkcionalnih alela i AS *CYP2D6* gena važan je čimbenik u *O*-demetilaciji i farmakokinetici tramadola, što je potvrđeno brojnim istraživanjima. Pojedinci s dvama neaktivnim alelima *CYP2D6* gena (*CYP2D6*3, *4, *5, *6)* imaju najniže koncentracije ODT-a i dominantno metaboliziraju tramadol u NDT, dok su najveće koncentracije ODT-a zabilježene kod ultrabrzih metabolizatora s duplikacijom divljeg alela *CYP2D6* (22, 78-81). Pojedinci s bar jednim divljim, potpuno funkcionalnim alelom (*CYP2D6*1, *2*) pripadaju normalnim metabolizatorima, dok srednji metabolizatori imaju oba alela smanjene funkcije (*CYP2D6*9, *10, *17, *41*) ili kombinaciju alela smanjene funkcije i neaktivnog alela (20, 21). Među istraživačima ne postoji konsenzus oko kategorizacije metaboličkih fenotipova pacijenata s AS 1, te ih neki istraživači svrstavaju u srednje, a drugi u normalne metabolizatore (77, 82).

S obzirom na različite kategorizacije metaboličkih fenotipova u dostupnoj literaturi, u ovom djelu rasprave koristit ćemo se indeksom aktivnosti *CYP2D6* gena kao najuniverzalnijim i najtočnijim pokazateljem funkcije CYP2D6 enzima. Svi ispitanici uključeni u ovo istraživanje imali su barem jedan ili oba divlja alela *CYP2D6* gena. Koncentracije ODT-a u svim mjerenjima bile su značajno veće kod pacijenata s dvama funkcionalnim alelima (AS 2) nego kod heterozigota s jedinim funkcionalnim i jednim neaktivnim alelom (AS 1). To je i u skladu s istraživanjem Stamera i suradnika koji su utvrdili da su koncentracije ODT-a 180 minuta nakon i. v. primjene 3 mg/kg tramadola dvostruko veće kod ispitanika s AS 2 u odnosu na AS 1 (22).

Ovo je prvo istraživanje poslijeoperacijskih koncentracija tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata liječenih u JIL-u. Podatci o koncentracijama tramadola i njegovih

metabolita dostupni u literaturi dobiveni su većinom na zdravim ispitanicima, volonterima, te su koncentracije mjerene najčešće nakon primjene jednokratne doze tramadola. Zbog toga se podatci dobiveni u našem istraživanju samo dijelom mogu usporediti s onima dostupnim u literaturi. Usporedbu s ranijim istraživanjima otežava i činjenica da brojni istraživači nisu određivali polimorfizam *CYP2D6* gena, stoga se uzrok uočenih razlika u koncentracijama ODT-a među ispitanicima u ovom i pojedinim ranijim istraživanjima ne može sa sigurnošću odrediti.

Kirchheiner i suradnici primijenili su jednokratnu oralnu dozu tramadola od 100 mg i kod pacijenata s AS 2 izmjerili C_{max} tramadola i ODT C_{max} od 208 μg/L i 106 μg/L (79). Ardakani i suradnici izmjerili su C_{max} tramadola od 314,4 μg/L, ODT-a 88,6 μg/L i NDT-a 33,4 μg/L kod žena nakon jednokratne doze od 100 mg tramadola (30). Međutim, u posljednjem istraživanju nije ispitan polimorfizam *CYP2D6* gena. Istražujući pacijente s kroničnim pankreatitisom, Siepsiak-Polom i suradnici nakon jednokratne primjene 100 mg tramadola izmjerili su nakon dva sata C_{max} tramadola od 226 μg/L, a nakon dva i pol sata ODT C_{max} od 55,6 μg/L. Metabolički omjer ODT/tramadol u prosjeku je iznosio oko 0,3 te su istraživači zaključili da kod kroničnog pankreatitisa metabolizam tramadola nije promijenjen (83). Također, u tom istraživanju nije određen polimorfizam *CYP2D6* niti su mjerene koncentracije NDT-a.

Približno slične koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a naši ispitanici postigli su tek nakon ponavljanih i. v. doza tramadola. Tako je primjerice ODT C_{max} nakon prve doze tramadola postignut nakon četiri sata i kod pacijenta s AS 2 iznosio je 46,7 μg/L, što je 4,5 puta niže od koncentracije postignute nakon samo jedne oralne doze tramadola kod zdravih ispitanika u istraživanju Kirchheinera i suradnika (79). C_{max} NDT-a nakon jedne doze tramadola u našem uzorku ispitanika bio je gotovo tri puta niži od C_{max} kod zdravih volontera (30).

Na uzorku više od 300 operiranih pacijenata Musshoff i suradnici nakon primjene 3 mg/kg tramadola unutar 4 sata zabilježili su izrazito visoke koncentracije tramadola od 863 μg/L s velikim interindividualnim varijacijama, dok je srednja vrijednost koncentracije ODT-a iznosila 58,5 μg/L (84). Tako visoke koncentracije tramadola posljedica su vjerojatno visokih početnih doza tramadola (150 – 300 mg) te ponavljanja doza na zahtjev pacijenta.

U istraživanju Lu i suradnika nakon i. v. primjene 375 mg tramadola tijekom 24 sata postignut je AUC_{0-24} (eng. *area under the curve*) koncentracija tramadola od

9932 μg ·h/L (10), dok je kod naših ispitanika izračunat medijan AUC_{0-24} koncentracija tramadola od 6960,1 μg ·h/L. Isti autori mjerili su i veće koncentracije ODT-a iskazane kao ODT AUC_{0-24} od 1608 μg ·h/L (u našem uzorku medijan ODT AUC_{0-24} iznosio je 1041,1 μg ·h/L). Lu i suradnici u svom istraživanju također nisu određivali polimorfizam *CYP2D6*, kao ni Mussohoff u svom radu, stoga veće koncentracije ODT-a mogu biti uzrokovane većom frekvencijom ispitanika s većim indeksom aktivnosti *CYP2D6* gena. Međutim, kako su u našem istraživanju zabilježene niže koncentracije ne samo ODT-a nego i tramadola te NDT-a, čija koncentracija ne ovisi toliko o *CYP2D6* polimorfizmu, vjerojatniji je uzrok tih razlika veći volumen distribucije koji potencijalno postoji kod kritično oboljelih pacijenata.

Veliki operacijski zahvati praćeni su porastom proupalnih citokina s posljedičnom vazodilatacijom i povećanom vaskularnom permeabilnosti, te dolazi do prelaska intravaskularne tekućine u ekstravaskularni odjeljak. Kapilarna hiperpermeabilnost dodatno je potencirana porastom onkotskog tlaka uzrokovanog prelaskom albumina u intersticij (85, 86). Osim toga, oštećenje glikokaliksa endotela krvnih žila, koje se događa vrlo rano tijekom upale, dodatno remeti integritet vaskulature i doprinosi vaskularnoj hiperpermeabilnosti i upali (87, 88). Oštećenje endotela i poremećaj vaskularne permeabilnosti u kombinaciji s volumnom nadoknadom može značajno povećati volumen distribucije hidrofilnih lijekova s posljedičnim smanjenjem plazmatske koncentracije (89). Zbog velikog operacijskog zahvata i obilne volumne nadoknade (u prosjeku 6 000 ml tekućine tijekom operacijskog zahvata i u prva 24 sata nakon operacije) niže plazmatske koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a izmjerene u našem uzorku pacijenata vjerojatno su posljedica povećanog volumena distribucije tramadola.

Razlika u volumenu distribucije vjerojatno je uzrokom i većih koncentracija tramadola i njegovih metabolita zabilježenih kod žena u odnosu na muškarce u našem uzorku ispitanika. Naime, istraživanja koncentracije tramadola i njegovih metabolita s obzirom na spol nisu konzistentna. Ardakani i suradnici nisu uspjeli utvrdili razlike u koncentracijama s obzirom na spol nakon oralne primjene 100 mg tramadola i klasifikacije pacijenata prema metaboličkom fenotipu (31). Međutim, Hui-Chen i suradnici utvrdili su veće koncentracije tramadola i ODT-a kod žena u odnosu na muškarce, ali u tom istraživanju pacijenti nisu bili klasificirani prema metaboličkom fenotipu (90).

U našem istraživanju koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a bile su veće kod žena u odnosu na muškarce, dok između spolova nije bilo razlike u frekvencijama s obzirom na AS *CYP2D6*. Razlike se dijelom mogu objasniti manjom tjelesnom masom i većim postotkom masnog tkiva koji inače postoji kod žena (91), čemu u prilog govore i rezultati značajne negativne korelacije između indeksa tjelesne mase i koncentracija tramadola i mjerenih metabolita. Iako žene imaju manju aktivnosti CYP2D6 i veću aktivnost CYP2B6 i CYP3A4 enzima (92, 93), za očekivati bi bilo da su koncentracije ODT-a kod žena manje, no konstitucijske razlike vjerojatno u ovom slučaju imaju veći utjecaj na koncentracije tramadola i njegovih metabolita.

6.2. Prijeoperacijska aktivnost ChE-a i sustavni upalni odgovor

Ideja o kolinergičkom sustavu kao važnom dijelu prirođene imunosti i poremećaju parasimpatičkog živčanog sustava u stanjima sustavne upale rodila se početkom 2000. godine kada je kolinergički sustav prepoznat kao eferentni krak neuroimunog refleksa (51, 94-96). Utjecajem sustavne upale na ChE aktivnost najviše se bavio Živković te je još 2014. zaključio da je niska ChE aktivnost dobar dijagnostički pokazatelj sustavne upale kod pacijenata u JIL-u, neovisno o sintetskoj funkciji jetre (57). Isti autor dokazao je da aktivnost ChE-a nakon traumom potaknute sustavne upale u plazmi pada prije nego počnu rasti standardni proupalni biomarkeri te da je ona važan čimbenik u ranoj dijagnozi sustavne upale (64, 97).

Zhao i suradnici početkom 2020. godine na uzorku od gotovo 400 pacijenata sa septičkim šokom došli su do zaključka da pacijenti s niskim ChE-om (< 4 000 U/L) imaju veći mortalitet unutar mjesec dana od hospitalizacije u odnosu na pacijente s normalnom plazmatskom aktivnosti ChE-a. Međutim, isti autori u svom radu nisu uspjeli potvrditi da ti pacijenti imaju lošiji dugoročni ishod, iskazan kao dvogodišnji mortalitet, kao ni da imaju duže vrijeme hospitalizacije u JIL-u (58). Do istog zaključka došli su i Peng i suradnici u svom radu, retrospektivno analizirajući pacijente sa sepsom (62).

Također, na uzorku od gotovo 600 pacijenata Li i suradnici dokazali su da je niska aktivnost ChE-a u vrijeme hospitalizacije neovisan čimbenik rizika za smrt kod pacijenata s ishemijskim inzultom (59). Regresijskom analizom zaključili su da je aktivnost ChE-a ispod 4 000 U/L *cut-off* vrijednost za povećani mortalitet pacijenata s ishemijskim inzultom te su u svom istraživanju uspjeli potvrditi da pacijenti s niskom

aktivnosti ChE-a kod prijema imaju dulje vrijeme hospitalizacije. Autori nisu uočili razliku u vrijednostima jetrenih transaminaza među tim pacijentima, no pacijenti s niskom aktivnosti ChE-a imali su veće vrijednosti CRP-a, niže albumine i bili su češće anemični.

Retrospektivnom analizom više od 500 pacijenata Yamamoto i suradnici 2019. godine dokazali su da je niska plazmatska aktivnost ChE-a, osobito ako je praćena hipoalbuminemijom, loš prognostički čimbenik za petogodišnje preživljenje pacijenata s kolorektalnim karcinomom (60).

Analizirajući kliničke znakove sustavne upale, ovim istraživanjem utvrdili smo da je niska prijeoperacijska aktivnost ChE-a (u našem uzorku ≤ 4 244 U/L) dobar prognostički čimbenik nastanka sustavne upale u poslijeoperacijskom razdoblju kod pacijenata liječenih u JIL-u nakon velikih abdominalnih operacija. Također, potvrdili smo da je uz prijeoperacijsku aktivnost ChE-a vrijednost CRP-a > 54,2 mg/L dobar prediktor sustavne upale u poslijeoperacijskom razdoblju, što je u skladu s opservacijom Castellija i suradnika (49). Pacijenti s niskim prijeoperacijskim ChE-om imali su značajno duže vrijeme mehaničke ventilacije, duže vrijeme hospitalizacije u JIL-u, kao i duže vrijeme ukupne hospitalizacije. Također, pacijenti s niskim prijeoperacijskim ChE-om imali su lošiji ishod, odnosno veći mortalitet u odnosu na pacijente s normalnom prijeoperacijskom ChE aktivnosti. Važno je napomenuti da nije bilo razlike u laboratorijskim pokazateljima jetrene funkcije između pacijenata s niskom i onih s normalnom prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a, stoga se niski ChE u našem uzorku ispitanika može interpretirati kao posljedica promjena kolinergičkog živčanog sustava u stanjima sustavne upale.

6.3. Utjecaj prijeoperacijske aktivnosti ChE-a, kliničkih znakova sustavne upale i hitnosti operacijskog zahvata na metabolizam tramadola

Istraživanja o utjecaju sustavne upale na aktivnost citokroma većinom su provedena *in vitro* na kulturama hepatocita, dok su kliničke studije na ljudima rijetke. Utjecaj upale na aktivnost citokroma, iako tada još nije bio prepoznat, prikazan je još 1953. godine u radu istraživača Samarasa i Deitza, koji su utvrdili da je učinak fenobarbitala pojačan kod štakora nakon aktivacije imunološkog sustava tripanskim modrilom, a gotovo 20 godina poslije u istraživanju Rentona i suradnika postavljena je hipoteza da infekcija i upala mogu promijeniti metabolizam lijekova (98-100). Od tada

su na staničnim kulturama i životinjskim modelima provedena brojna istraživanja, a dobiveni rezultati govore u prilog inhibiciji citokroma proupalnim citokinima. *In vitro* studije na kulturama ljudskih hepatocita dokazale su da IL-1 i IL-6 smanjuju aktivnost CYP3A4 za gotovo 90 % (45).

Jedno od rijetkih istraživanja utjecaja sustavne upale na CYP3A4 nakon kirurškog zahvata proveli su Haas i suradnici. Iako na malom broju kirurški pacijenata, ERMBT metodom (eng. *^{14}C-erythromycin breath test*) dokazali su da kirurški zahvat i akutna upala koja ga prati smanjuju aktivnost CYP3A4 enzima, a ta inhibicija najizraženija je trećeg dana nakon operacije (44). Također, analizom triju studija o farmakokinetici midazolama Morcos i suradnici došli su do zaključka da pacijenti s kroničnim hepatitisom C, bez znakova jetrene bolesti, imaju usporen metabolizam midazolama, što su pripisali inhibiciji CYP3A4 u stanjima upale (101). Inhibiciju miješanih citokroma u stanjima sepse, analizirajući metabolizam antipirina kod djece, u svom radu dokazali su Carcillo i suradnici, a u kasnijem istraživanju zaključili su da je inhibicija citokroma P450 obratno razmjerna jačini sustavne upale (102, 103). Istražujući varijabilnost metaboličkih enzima, Jones i suradnici zaključili su da je aktivnost CYP3A4 kod HIV pozitivnih pojedinaca smanjena za 18 %, dok je aktivnost CYP2D6 smanjena za čak 90 %, što može dovesti do toga da se HIV pozitivni pojedinci koji su prema polimorfizmu *CYP2D6* gena kategorizirani kao ultrabrzi metabolizatori tijekom akutne infekcije zbog inhibicije CYP2D6 enzima ponašaju kao spori metabolizatori (104).

Točan mehanizam inhibicije citokroma sustavnom upalom još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da proupalni citokini na citokrome djeluju posredno, smanjujući ekspresiju transkripcijskih čimbenika. HNF4-α (eng. *hepatocyte nuclear factor 4-α*) odgovoran je za transkripciju *CYP2D6* gena, a supresija HNF4-α smanjuje koncentraciju mRNA *CYP2D6* (105). Također, taj transkripcijski čimbenik ima važnu ulogu i u aktivaciji transkripcije *CYP3A4* gena (106). Inhibicija HNF4-α proupalnim citokinima jedan je od načina smanjenja aktivnosti citokroma u stanjima sustavne upale (32, 43). Osim toga, u stanjima upale povećano je stvaranje dušičnog oksida (NO) zbog indukcije jetrene NO-sintetaze citokinima, a NO inhibira vezanje transkripcijskog čimbenika HNF4-α na *CYP2D6* (107). Međutim, CYP2B6, važan u *N*-demetilaciji tramadola u NDT, za razliku od CYP2D6 i CYP3A4, pokazuje drugačiji odgovor na proupalne citokine. Tako primjerice IL-1, koji je snažan inhibitor CYP3A4, nema utjecaja na inhibiciju CYP2B6. TGF-β (eng. *transforming growth factor-β*), koji se

izlučuje iz hepatocita tijekom stresa i upale, inducira aktivnost CYP2B6 gotovo dva i pol puta, što nije primijećeno s CYP3A4 i CYP2D6 (43, 45).

Kao što je ranije spomenuto, sustavni upalni odgovor čest je kod pacijenata u kirurškom JIL-u i prevalencija mu je skoro 80 % (38). Do sada nije provedeno niti jedno istraživanje metabolizma tramadola kod pacijenata sa znakovima akutne sustavne upale te je ovo prvo istraživanje toga tipa. Utjecaj kronične upale na metabolizam tramadola istraživali su Tanaka i suradnici 2018. godine na onkološkim pacijentima i zaključili su da se kod visokih koncentracija IL-6 tramadol dominantno metabolizira *N*-demetilacijom te je pronađena pozitivna korelacija između koncentracija IL-6 i omjera NODT/ODT. Isto tako, pronašli su slabu, ali negativnu korelaciju koncentracije IL-6 s NDT-om, što su objasnili inhibicijom CYP3A4 enzima IL-6 (108). To je u suprotnosti s rezultatima dobivenim u našem uzorku ispitanika kod kojih je postojala negativna korelacija u gotovo svim mjerenjima između prijeoperacijske aktivnosti ChE-a i koncentracija NDT-a. Drukčiji rezultati dobiveni u našem istraživanju u odnosu na Tanakino istraživanje mogu biti posljedica različitih citokina koji se izlučuju u stanjima akutne i kronične upale te njihovog utjecaja na citokrome važne u metabolizmu tramadola.

Osim toga, koncentracije NDT-a bile su veće i kod pacijenata s utvrđenim kliničkim znakovima akutne sustavne upale, kao i kod pacijenata koji su podvrgnuti hitnim operacijskim zahvatima. Hitno operirani pacijenti češće su imali nisku aktivnost ChE-a i kliničke znakove sustavne upale. Ta posljednja opservacija u skladu je s ranijim istraživanjima (46, 109).

Dominantna *N*-demetilacija tramadola kod pacijenta s prijeoperacijski niskom aktivnosti ChE-a prema dosadašnjim saznanjima može biti posljedica inhibicije CYP2D6 i CYP3A4 proupalnim citokinima te izostanka inhibicije CYP2B6 enzima, čime jedan put *N*-demetilacije tramadola u stanjima sustavne upale ostaje i dalje u normalnoj funkciji. U našem uzorku pacijenata koncentracije NDT-a bile su u svim mjernim točkama veće kod pacijenata s niskom prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a, što se može objasniti ranije navedenim mehanizmima.

Dio hipoteze o utjecaju niske prijeoperacijske aktivnosti ChE-a na *O*-demetilaciju tramadola nije potvrđen, posljedično velikoj heterogenosti polimorfizma *CYP2D6* gena unutar normalnog metaboličkog fenotipa. Naime, *O*-demetilacija tramadola u ODT pod važnim je utjecajem polimorfizma *CYP2D6*, što je potvrđeno ranijim istraživanjima metabolizma tramadola. Abdel-Rahman i suradnici 2002. godine, analizirajući

metabolizam dekstrometorfana i tramadola, dokazali su da postoje velike razlike u formaciji ODT-a unutar normalnog metaboličkog fenotipa, ovisno o broju funkcionalnih alela *CYP2D6* gena (40). Rezultati našeg istraživanja također su potvrdili da među pacijentima koji su kategorizirani kao normalni metabolizatori broj funkcionalnih *CYP2D6* alela iskazan kao indeks aktivnosti *CYP2D6* gena ima najveći utjecaj na koncentracije ODT metabolita. Zbog tih razlika među normalnim metabolizatorima utjecaj niske prijeoperacijske aktivnosti ChE-a na sintezu ODT-a u našem uzorku pacijenata nije mogao biti dokazan. Međutim, iako uzorak pacijenata za ovu analizu nije bio dovoljan, ovo istraživanje pokazalo je da se prije opisana genetski determinirana razlika koja postoji u sintezi ODT-a među normalnim metabolizatorima gubi u stanjima sustavne upale. Gubitak te razlike vjerojatno je uzrokovan različitim intenzitetom inhibicije CYP2D6 enzima ovisno o alelnoj varijantni *CYP2D6* gena jer bi u protivnom, da je inhibicija enzima u stanjima sustavne upale jednaka, i dalje postojala razlika u koncentracijama ODT-a između AS 1 i AS 2. Zbog istog razloga nije postignuta statistički značajna razlika u omjeru ODT/NDT kod pacijenata s normalnom i niskom aktivnosti ChE-a iako je taj omjer bio manji u svim mjerenjima unutar LChE skupine, posljedično većim koncentracijama NDT-a.

Važan rezultat ovog istraživanja razlike su u koncentracijama ODT-a i NDT-a koje su uočene kod hitno operiranih pacijenata. Hitno operirani pacijenti kod prijema u operacijsku salu često već imaju kliničke znakove sustavne upale praćene visokim vrijednostima upalnih parametara te veće koncentracije IL-6, IL-1 i niže koncentracije IL-10 (110, 111). Taj rezultat većih koncentracija ODT-a kod hitno operiranih pacijenata, koji nije uočen kod pacijenata s niskom prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a, jedinim dijelom može se objasniti mogućim većim koncentracijama citokina. Naime, ChE aktivnost pada vrlo rano u tijeku sustavne upale, čak i prije nego što počnu rasti standardni markeri sustavne upale (64). Odnos dinamike aktivnosti ChE-a i dinamike citokina u stanjima upale nepoznat je i do sad još uvijek nije istražen.

Veće koncentracije ODT-a i NDT-a koje su uočene kod hitno operiranih pacijenata u nekim mjerenjima, kao i kod pacijenata sa znakovima sustavne upale, mogu biti uzrokovane kombinacijom dvaju važnih patofizioloških mehanizama u stanjima sustavne upale. S jedne strane, u stanjima praćenim visokim razinama proupalnih citokina postoji inhibicija pojedinih citokroma, kao što je ranije opisano u ovoj raspravi, te bi u skladu s tim koncentracija ODT-a trebala biti smanjena zbog inhibicije CYP2D6. Međutim, osim na aktivnost citokroma, citokini djeluju i na transportere lijekova na

staničnoj membrani. Istraživanje Tzvetkova i suradnika utvrdilo je da se ODT u jetrene stanice transportira putem organskog kationskog transportera 1 (OCT1) i da unos ODT-a u hepatocite ovisi o ekspresiji OCT1. Zdravi volonteri s gubitkom funkcije OCT1 posljedično polimorfizmu *OCT1* gena imaju veće plazmatske koncentracije ODT-a i pojačan učinak tramadola (112). Dosadašnja istraživanja pokazala su da proupalni citokini smanjuju ekspresiju brojnih transportera lijekova na hepatocitima (113, 114). Izlaganje hepatocita IL-6 i TNF-α smanjuje ekspresiju OCT1 te visoke razine tih citokina mogu biti uzrokom većih koncentracija ODT-a (115) u stanjima sustavne upale koja je zabilježena kod hitno operiranih pacijenata.

Kompleksan utjecaj sustavne upale, s jedne strane na volumen distribucije lijekova, a s druge strane na ekspresiju citokroma važnih u metabolizmu tramadola i transportera za metabolite tramadola, vjerojatno je uzrokom razlika u koncentracijama ODT-a i NDT-a koje smo uočili kod pacijenata liječenih u JIL-u.

6.4. Utjecaj prijeoperacijskih pokazatelja bubrežne i jetrene funkcije na koncentracije tramadola i metabolita

Tramadol se metabolizira u jetri te eliminira bubrezima i jetrenim metabolizmom, stoga zatajenje jetre i bubrega može dovesti do usporene eliminacije i akumulacije tramadola i njegovih metabolita. Produljenje poluvremena eliminacije te akumulacija tramadola i njegovih metabolita kod zatajenje bubrega i jetre blago je sve dok je barem jedan od organa važnih u eliminaciji tramadola relativno intaktan (8). Najčešće korišteni sustav za procjenu težine jetrenog zatajenja u kliničkoj praksi jest Child-Poughova klasifikacija koja uključuje tri laboratorijske varijable: serumski bilirubin, albumine i protrombinsko vrijeme, te dvije kliničke: prisutnost ascitesa i encefalopatiju (66).

Kriterij za neuključivanje pacijenta u ovo istraživanje bila je poznata jetrena bolest bilo kojeg stupnja prema Child-Pughovoj klasifikaciji jer su dosadašnja istraživanja pokazala da se metabolizam i farmakokinetika tramadola kod tih pacijenata značajno mijenjaju. Kod pacijenata s jetrenim zatajenjem plazmatske koncentracije i poluvrijeme eliminacije tramadola veći su za dva do tri puta u usporedbi sa zdravim volonterima, a renalna ekskrecija nepromijenjenog tramadola povećana je na 30 % (9). Zbog smanjene biotransformacije tramadola moguće je da je analgetski učinak tramadola kod tih pacijenata smanjen, no to još uvijek nije potvrđeno kliničkim studijama (116, 117).

Jetrena je disfunkcija kod pacijenata u JIL-u česta, no točan mehanizam nastanka jetrene disfunkcije kod pacijenata bez kronične jetrene bolesti i dalje nije u potpunosti razjašnjen (118). Jedan je od mogućih razloga nastanka jetrene disfunkcije kritično oboljelih difuzna hepatocelularna nekroza uzrokovana hipoksemijom te kolestatska jetrena disfunkcija kod kritično oboljelih koja podrazumijeva neopstruktivnu akumulaciju žučnih kiselina i praćena je porastom bilirubina iznad 34 μmol/L (119, 120). Smatra se da 11 % kritično oboljelih ima jetrenu disfunkciju, a jetrene transaminaze i bilirubin stabilni su markeri jetrenog oštećenja (121). U našem uzorku 10 pacijenata (22,7 %) imalo je prijeoperacijske laboratorijske pokazatelje jetrenog oštećenja mjerene porastom jetrenih transaminaza i/ili bilirubina za više od 30 % od referentnih vrijednosti. Korelacijska analiza pokazala je da postoji značajna negativna korelacija prijeoperacijskih vrijednosti ALT-a i GGT-a s koncentracijama ODT-a, što podržava ranije spomenutu tezu da je kod jetrenog oštećenja smanjena biotransformacija tramadola u aktivni metabolit. Za analizu analgetskog učinka tramadola kod pacijenata s blagom jetrenom disfunkcijom uzorak ispitanika nije bio dovoljan da bi se sa sigurnošću mogao donijeti nekakav zaključak.

Također, kronično bubrežno zatajenje bilo je isključni kriterij za ovo istraživanje, no blaga bubrežna disfunkcija mjerena porastom dušičnih metabolita česta je u perioperacijskom razdoblju, osobito ako se radi o hitnim operacijama (122, 123). Među našim ispitanicima nije pronađena značajna korelacija s prijeoperacijskim koncentracijama dušičnih metabolita i koncentracijama tramadola, ODT-a i NDT-a. Međutim, u modelu multivarijatne regresije ureja se, zajedno s ChE-om, pokazala kao jedan od značajnih čimbenika u varijabilnosti koncentracija NDT-a u prvim mjerenjima. U našem uzorku ispitanika povišena ureja vjerojatno je bila odraz smanjene perfuzije bubrega posljedično smanjenom intravaskularnom volumenu prije operacijskog zahvata. Zbog toga veće koncentracije NDT-a u prvim mjerenjima mogu biti odraz „relativne hemokoncentracije“ u odnosu na druge pacijente. Osim što je ureja odraz deplecije intravaskularnog volumena, Arihan i suradnici, analizirajući više od 4 000 pacijenata primljenih u JIL, zaključili su da su pacijenti s većim koncentracijama ureje prilikom prijema najčešće stariji, teže bolesni, češće septični i imaju lošiji ishod, neovisno o razlogu prijema u JIL (124). Time bi se mogao dijelom protumačiti i rezultat multivarijatne regresije dobiven u našem istraživanju. Međutim, taj rezultat treba sagledati s određenim oprezom jer je samo sedam pacijenata imalo koncentracije

ureje iznad 30 % od referentnih vrijednosti (iznad 10 mmol/L), te bi se utjecaj ureje na NDT svakako trebao istražiti na većem broju pacijenata.

6.5. Analiza analgetskog učinka tramadola te poslijeoperacijske mučnine i povraćanja

Bol je subjektivan osjećaj i egzaktna procjena boli nije moguća te je bol jaka onoliko koliko je pacijent osjeća. Budući da je bol jedan od izvora stresa kod pacijenata liječenih u JIL-u, procjena boli i adekvatna analgezija izuzetno su važne (125). Kod intubiranih pacijenata, koji su bez svijesti i ne mogu prijaviti intenzitet boli, koriste se dvije ljestvice za procjenu boli: BPS i CPOT (73, 74). Iako su istraživanja utvrdila da su obje spomenute ljestvice dobar način procjene boli kod pacijenata u JIL-u koji nisu pri svijesti (126-128), u našem uzorku ispitanika te dvije ljestvice nisu bile pogodne za procjenu boli odmah nakon operacijskog zahvata. Naime, prilikom prijema u JIL naši pacijenti su i dalje bili pod utjecajem anestetika, intraoperacijski primijenjenih opijata i mišićnih relaksatora. Zbog tih razloga bol je u većine naših pacijenata u tijeku prve procjene CPOT i BPS ljestvicom bila izrazito niska s malim interkvartilnim rasponom, stoga te dvije ljestvice nisu bile pogodne za statističku analizu. Nakon buđenja i ekstubacije, što se kod većine pacijenta dogodilo unutar dva do četiri sata nakon prijema, korištena je NRS ljestvica (72).

Medijan dobi pacijenata uključenih u naše istraživanje iznosio je 66 godina. Uspoređujući različite načine procjene poslijeoperacijske boli između mlađe i starije populacije, Gagliese i suradnici zaključili su da je NRS preferirana ljestvica za procjenu boli među pacijentima, čija točnost nije ovisna o dobi (129). Bol iskazana NRS-om kao jednaka ili manja od 3 u većini provedenih studija pokazala se kao zadovoljavajuća poslijeoperacijska bol kod koje pacijentima nije bio potreban dodatni analgetik (72, 130).

Prema nekim istraživanjima žene imaju jaču percepciju boli i slabiji učinak analgetika u odnosu na muškarce. Te razlike uvjetovane su genetskim čimbenicima, o čemu je dijelom bilo govora prije, te hormonalnim, socijalnim i psihološkim čimbenicima (131, 132). Uspoređujući pacijente uključene u ovo istraživanje, nije bilo razlike u percepciji boli iskazane NRS-om između muškaraca i žena prije i nakon primjene tramadola te se tramadol kod obaju spolova pokazao kao učinkovit analgetik za smanjenje akutne poslijeoperacijske boli. Također, iako je ženski spol najsnažniji

prediktor rizika za PONV (133), u našem uzroku ispitanika nismo uočili razliku u PONV-u između spolova tijekom prva 24 sata nakon operacije.

Učinak *CYP2D6* polimorfizma na farmakokinetiku i metabolizam tramadola dokumentiran je brojnim studijama, a neke od njih već su prije opisane u ovoj raspravi. Međutim, studije kliničkih posljedica *CYP2D6* polimorfizma s obzirom na učinak tramadola nisu toliko brojne.

Enggaard i suradnici proveli su randomiziranu, dvostruko slijepu studiju kojom su ispitali analgetski učinak i.v. bolusa 100 mg tramadola u odnosu na placebo u ovisnosti o *CYP2D6* genotipu. Izazivajući bolni podražaj kod volontera 15, 30, 60 i 90 minuta nakon primjene lijeka (ili placeba), istraživači su došli do zaključka da analgetski učinak tramadola ovisi o koncentraciji ODT-a jer se neugoda izazvana bolnim podražajem smanjila samo kod pojedinaca koji su bili EM, dok je taj analgetski učinak izostao kod PM-a (134).

Stamer i suradnici dokazali su na uzorku od 300 pacijenata koje su kategorizirali prema *CYP2D6* polimorfizmu u PM (AS 0) ili EM (AS 1 ili AS 2) da je poslijeoperacijska analgezija tramadolom bila neučinkovita kod PM-a. PM-ovi su zahtijevali veću početnu dozu tramadola i imali su ukupnu veću potrošnju tramadola u prvih 48 sati nakon zahvata. Incidencija PONV-a iznosila je 18 % te istraživači nisu uočili razliku u pojavi PONV-a s obzirom na metabolički fenotip (135). U ovom istraživanju nisu uspoređivani pacijenti s obzirom na genotip unutar istog metaboličkog fenotipa. Kirchheiner i suradnici u svom istraživanju utvrdili su da pacijenti koji pripadaju UM-u imaju češće PONV u odnosu na EM nakon oralne primjene 100 mg tramadola (79).

Iz našeg istraživanja isključeni su pacijenti koji su fenotipski pripadali PM-u i UM-u, a analizirajući samo EM, PONV se češće javljao kod pacijenata s AS 2 u odnosu na AS 1. U našem uzorku ispitanika koncentracije ODT-a bile su veće u svim mjerenjima kod ispitanika koji su imali PONV u prva 24 sata, no zbog velikih interindividualnih varijacija u koncentracijama ODT-a te razlike nisu dosegle razinu statističke značajnosti.

U našem uzorku ispitanika nije bilo razlike u analgetskom učinku tramadola s obzirom na AS *CYP2D6* gena te se tramadol kod svih ispitanika pokazao kao dobar analgetik za smanjenje poslijeoperacijske boli. Pomoću početne doze tramadola od 50 – 200 mg i.v., ovisno o poslijeoperacijskoj boli, i pacijentom kontrolirane analgezije (eng. *patient-controlled analgesia* – PCA) uz dozu na zahtjev od 20 mg tramadola, te učestalim mjerenjem plazmatskih koncentracija tramadola i ODT-a prije isporuke

svake doze na zahtjev, Lehmann i suradnici došli su do zaključka da je minimalna efektivna plazmatska koncentracija tramadola i ODT-a 287 μg/L i 36,2 μg/L (136). Ta koncentracija tramadola postignuta je kod većine naših ispitanika neovisno o AS-u, no minimalna efektivna koncentracija ODT-a postignuta je već kod prvog mjerenja samo kod AS 2, dok su pacijenti s AS 1 tu koncentraciju postigli tek u posljednjem mjerenju. Unatoč tim razlikama, kod obiju skupina ispitanika analgezija tramadolom bila je učinkovita te je moguće da je minimalna efektivna koncentracija ODT-a kod pacijenata u JIL-u ipak manja.

Neadekvatna analgezija nakon primjene tramadola (NRS > 3) zabilježena je kod nekih pacijenata tijekom druge, treće i pete procjene boli. Važna je opservacija u ovom istraživanju da je plazmatska koncentracija ODT-a bila značajno manja kod pacijenata s neadekvatnom analgezijom samo kod posljednje procjene boli, što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima koja govore u prilog tezi da je analgetski učinak tramadola ovisan o koncentracijama ODT-a. Također, rezultati našeg istraživanja pokazali su da pacijenti s neučinkovitom analgezijom tramadolom u nekim mjernim točkama imaju značajno manje koncentracije neaktivnog NDT-a i posljedično tome značajno veći omjer ODT/NDT. Taj rezultat vjerojatno je posljedica manje percepcije boli kod pacijenata koji imaju sustavnu upalu i visoke koncentracije NDT-a. Naime, u našem uzorku pacijenata utvrđena je statistički značajno slabija percepcija boli u pojedinim mjernim točkama kod pacijenata s niskim prijeoperacijskim ChE-om u odnosu na pacijente s normalnim ChE-om. To se dijelom može objasniti moždanom disfunkcijom koja može postojati u stanjima sustavne upale. Tako su McGrane i suradnici u svom istraživanju utvrdili da su visoke vrijednosti proupalnih biomarkera dobar prediktor akutne moždane disfunkcije te zaključili da je sustavna upala važan mehanizam u patofiziologiji moždane disfunkcije kritično oboljelih (137). Iako u ovom istraživanju nismo analizirali razlike u srednjem arterijskom tlaku, pacijenti sa sustavnom upalom posljedično visokim razinama citokina češće su hipotenzivni te zahtijevaju češću upotrebu vazopresora koja može biti odgovorna za poremećaj autoregulacije moždanog protoka, kvalitativni poremećaj svijesti, a samim time i manju percepciju boli (138, 139). Rezultati o analgetskom učinku tramadola bili bi pouzdaniji da je tramadol bio jedini analgetik u poslijeoperacijskom razdoblju, no kombinacija opijatnog i neopijatnog analgetika preporučena je metoda analgezije u kliničkoj praksi jer smanjuje potrošnju i nuspojave opijata te poboljšava analgeziju (140). Slijedom navedenog, dio hipoteze o slabijem analgetskom učinku tramadola kod pacijenata sa

sustavnom upalom nije potvrđen. Analgetski učinak tramadola kod svih pacijenata uključenih u istraživanje bio je adekvatan unatoč promjeni metabolizma tramadola prema neaktivnom metabolitu kod pacijenata sa sustavnom upalom. Dobra analgezija tramadolom kod tih pacijenata dijelom je uzrokovana smanjenom percepcijom boli koja je posljedica ranije opisanih mehanizama koji se događaju razvojem sustavne upale.

6.6. Analiza ishoda pacijenata i poslijeoperacijskih koncentracija tramadola i njegovih metabolita

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da pacijenti kod kojih se tramadol dominantno metabolizira u neaktivni metabolit, što se odražava u manjem omjeru ODT/tramadol i ODT/NDT, imaju dulje vrijeme hospitalizacije. Ta korelacija može se objasniti sustavnom upalom i njezinim utjecajem na duljinu hospitalizacije koja je potvrđena brojim istraživanjima. Retrospektivnom analizom više od 200 000 pacijenata, Churpek i suradnici utvrdili su da pacijenti s kliničkim znakovima sustavne upale imaju značajno dulje vrijeme hospitalizacije u odnosu na pacijente bez znakova sustavne upale (36). Isto su potvrdili i NeSmith i suradnici retrospektivnom analizom politraumatiziranih pacijenata u svom istraživanju na više od 200 pacijenata (141). Osim toga, Živković i suradnici u svom su istraživanju 2019. godine utvrdili da su pacijenti koji su imali inicijalno niske vrijednosti ChE-a nakon traumatske ozljede mozga imali težu kliničku sliku bolesti i također značajno dulje vrijeme hospitalizacije u JIL-u (97). Zbog velikih varijacija u koncentracijama tramadola i njegovih metabolita te relativnom malom uzorku pacijenata, osobito onih sa smrtnim ishodom, ovim istraživanjem nismo uočili razlike u koncentracijama tramadola i metabolita s obzirom na ishod pacijenata.

6.7. Ograničenja i znanstveni doprinos istraživanja

Važna su ograničenja ovoga istraživanja (I.) velika heterogenost uključenih pacijenata s obzirom na ekstenzivnosti operacijskog zahvata i različit genotip unutar istog metaboličkog fenotipa te (II.) veličina uzorka. Ta heterogenost uzrok je velikih interindividualnih varijacija u koncentracijama ODT-a posljedično čemu veličina uzorka nije bila dovoljna za donošenje valjanog zaključka o utjecaju sustavne upale na

koncentracije ODT-a. Kako plazmatska aktivnost ChE-a ima vrlo brzu dinamiku tijekom sustavne upale (97), promjene metabolizma tramadola bilo bi dobro sagledati u istraživanju koje bi usporedno s dinamikom promjene aktivnosti ChE-a pratilo dinamiku promjena koncentracija proupalnih citokina u razdoblju duljem od 24 sata.

Osim toga, važno ograničenje ovoga istraživanja jest procjena boli BPS i CPOT ljestvicom koja kod naših pacijenata nije bila moguća u ranom poslijeoperacijskom razdoblju. Naime, kako se te ljestvice temelje većinom na opservaciji pokreta, a intraoperacijski kod pacijenata nije praćena jačina neuromuskularne blokade, niske vrijednosti tih ljestvica rano nakon prijema nisu nužno odraz niske razine boli, nego moguće i rezidualne neuromišićne blokade.

Personalizirana medicina ima za cilj individualizirati terapiju te prilagoditi liječenje pacijenata temeljeno na genotipu s ciljem maksimalne učinkovitosti liječenja uz najmanji rizik neželjenih reakcija. Zbog toga je Društvo za kliničku implementaciju farmakogenetike (eng. *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* – CPIC) izdalo brojne smjernice koje stimuliraju primjenu lijekova temeljenu na genotipu (142). Citokromi pripadaju najvažnijoj klasi jetrenih enzima za biosintezu i razgradnju endogenih spojeva i sudjeluju u metabolizmu brojnih lijekova (143). To i brojna druga istraživanja potvrdili su da je aktivnost citokroma pod snažnim utjecajem genetskih i mnogih patofizioloških čimbenika, od kojih je jedan sustavna upala. Kako je sustavna upala česta kod pacijenata u JIL-u, ovim istraživanjem stvorili smo temelje za daljnja istraživanja utjecaja akutne sustavne upale na metabolizam brojnih drugih lijekova koji se koriste kod pacijenata u JIL-u. Osim toga, ovo istraživanje pokazalo je da sustavna upala, osim što djeluje na metabolizam tramadola, mijenja i percepciju boli. Eventualne modifikacije analgetske terapije kod kritično oboljelih bit će potrebno dodatno istražiti nekim drugim studijama, na većem broju pacijenata i tijekom duljeg razdoblja. Zbog svega navedenog, u jednom uvodniku autor Shah (144) s pravom se pita: *Je li upala prikrivena prijetnja učinkovitoj terapiji temeljenoj na genotipu?*

7. ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja potvrdili su hipotezu da je metabolizam tramadola kod pacijenata liječenih u JIL-u nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata promijenjen. Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata liječenih u JIL-u nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata manje su od koncentracija izmjerenih u zdravih ispitanika, vjerojatno posljedično velikom volumenu distribucije.
- Prijeoperacijska aktivnosti ChE-a dobar je prediktor sustavnog upalnog odgovora u prva 24 sata nakon operacije te nije odraz smanjene sintetske funkcije jetre, nego je posljedica neuroimune interakcije.
- Najvažniji je čimbenik u *O*-demetilaciji tramadola *CYP2D6* polimorfizam te plazmatske koncentracije ODT-a pokazuju velike interindividualne varijacije unutar normalnog metaboličkog fenotipa, posljedično različitom genotipu.
- Važan je čimbenik u *N*-demetilaciji tramadola kod pacijenata u JIL-u sustavna upala te pacijenti s perioperacijskim kliničkim i laboratorijskim znakovima sustavne upale dominantno metaboliziraju tramadol u neaktivni NDT.
- Unatoč pojačanoj *N*-demetilaciji tramadola i nižim plazmatskim koncentracijama tramadola i metabolita, tramadol je učinkovit analgetik za liječenje akutne poslijeoperacijske boli kod pacijenata u JIL-u, neovisno o postojanju sustavne upale.
- Pacijenti s kliničkim i laboratorijskim pokazateljima sustavne upale mogu imati manju percepciju poslijeoperacijske boli mjerenu NRS-om.

8. SAŽETAK

Uvod: Cilj istraživanja bio je ispitati koncentracije tramadola, *O*-demetiltramadola (ODT) i *N*-demetiltramadola (NDT) kod pacijenata liječenih u jedinici intenzivnog liječenja (JIL) nakon velikih abdominalnih operacijskih zahvata te utjecaj sustavne upale na metabolizam tramadola u prva 24 sata nakon operacije.

Ispitanici i metode: U istraživanje su uključena 44 pacijenta podvrgnuta hitnom ili programskom velikom abdominalnom operacijskom zahvatu. Svim pacijentima uključenim u istraživanje određen je polimorfizam i indeks aktivnosti (eng. *activity score* – AS) *CYP2D6* gena. Svi pacijenti imali su barem jedan funkcionalni alel *CYP2D6* (AS = 1) ili su bili homozigoti s dvama funkcionalnim alelima (AS = 2). Dijagnoza sustavnog upalnog odgovora temeljena je na prijeoperacijskim laboratorijskim pokazateljima: koncentracijama C-reaktivnog proteina (CRP), prokalcitonina (PCT), broja leukocita i prijeoperacijskoj aktivnosti kolinesteraze (ChE); te na poslijeoperacijskim kliničkim pokazateljima: tahikardija > 90 otkucaja/min, hipotermija < 36 ^{o}C ili hipertermija > 38 ^{o}C te hipokapnija < 4,3 kPa. Nakon operacijskog zahvata pacijenti su smješteni u JIL te su primili intravenski 100 mg tramadola svakih 6 sati za poslijeoperacijsku analgeziju. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a mjerene su iz uzorka arterijske krvi jedan, dva i četiri sata nakon prve doze tramadola te neposredno prije druge, treće i pete doze metodom tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti. Bol je procjenjivana prije i 30 minuta nakon primjene tramadola brojčanom ocjenskom ljestvicom (eng. *numeric rating scale* – NRS).

Rezultati: S obzirom na *CYP2D6* polimorfizam, 22 (50 %) pacijenta uključena u istraživanje imala su AS 1, dok je druga polovica imala AS 2. Nije bilo razlike u koncentracijama tramadola i NDT-a između tih dviju skupina pacijenata. C_{max} tramadola izmjeren nakon 24 sata iznosio je 397,8 (271,9 – 668,4) μg/L, a C_{max} NDT-a 34,9 (18,9 – 68,7) μg/L. Koncentracija ODT-a u svim mjerenjima bila je statistički značajno veća kod pacijenata s AS 2 u odnosu na pacijente s AS 1, s maksimalno postignutom koncentracijom u posljednjem mjerenju od 97,4 (52,5 – 139) μg/L i 51,7 (25,7 – 93,5) μg/L, P = 0,03. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata nakon velikih abdominalnih operacija niže su od koncentracija do sada izmjerenih u zdravoj

populaciji, posljedično većem volumenu distribucije. Unatoč nižim koncentracijama, tramadol se pokazao kao učinkovit analgetik za liječenje poslijeoperacijske boli kod tih pacijenata. Postupnom linearnom regresijom prijeoperacijska plazmatska aktivnost ChE-a $\leq$ 4 244 U/L postavljena je kao granična vrijednost za predikciju sustavne upale. U svim mjerenjima osim posljednjeg koncentracije NDT-a bile su značajno veće ($P < 0,05$) kod pacijenta s niskom prijeoperacijskom ChE aktivnosti (LChE skupina, n = 18) u odnosu na pacijente s normalnom ChE aktivnosti (NChE skupina, n = 25). Raspon NDT koncentracija od prvog do petog mjerenja kod LChE i NChE skupine iznosio je 11,58 – 59,3 μg/L i 3,9 – 26,3 μg/L. Genetski determinirana razlika u koncentracijama ODT-a s obzirom na AS izgubljena je kod svih pacijenata unutar LChE skupine. Analgezija tramadolom bila je učinkovita kod svih pacijenata neovisno o ChE aktivnosti, no pacijenti unutar LChE skupine imali su značajno manju percepciju boli prije i nakon primjene tramadola u drugoj i trećoj procjeni ($P < 0,05$).

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja potvrdili su da je polimorfizam *CYP2D6* gena najvažniji čimbenik u *O*-demetilaciji tramadola, dok je sustavna upala praćena niskom prijeoperacijskom aktivnosti ChE-a značajan čimbenik koji doprinosi *N*-demetilaciji tramadola. Koncentracije tramadola, ODT-a i NDT-a kod pacijenata nakon velikih abdominalnih operacija niže su od koncentracija do sada izmjerenih u nekirurških pacijenata.

Ključne riječi: CYP2D6, intenzivno liječenje, sustavni upalni odgovor, tramadol.

9. SUMMARY

Plasma concentrations of tramadol, *O*-demethyltramadol and *N*-demethyltramadol in patients admitted to the intensive care unit after major abdominal surgery

Introduction: The aim of the study was to examine the concentrations of tramadol, *O*-demethyltramadol (ODT) and *N*-demethyltramadol (NDT) in patients admitted to the intensive care unit (ICU) after major abdominal surgery, and the impact of systemic inflammation on tramadol metabolism in the first 24 postoperative hours.

Subjects and methods: The study included 44 patients who underwent emergency or elective major abdominal surgery. All patients included in the study were assigned according to *CYP2D6* gene polymorphism and activity score (AS). All patients had at least one functional *CYP2D6* allele (AS = 1), or were homozygous with two functional alleles (AS = 2). The diagnosis of systemic inflammatory response is based on preoperative laboratory parameters: concentrations of C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), leukocyte count and preoperative cholinesterase activity (ChE), and postoperative clinical indicators: tachycardia > 90 beats/min, hypothermia < 36 ^{o}C or hyperthermia > 38 ^{o}C, and hypocapnia < 4.3 kPa. After surgery, patients were admitted to the ICU and received intravenous 100 mg of tramadol every 6 hours for postoperative analgesia. Concentrations of tramadol, ODT and NDT were measured from an arterial blood sample 1, 2 and 4 hours after the first dose of tramadol, and immediately before the second, third and fifth doses by high performance liquid chromatography. Pain was assessed before and 30 minutes after tramadol administration using a numeric rating scale (NRS).

Results: According to *CYP2D6* polymorphism, 22 (50%) patients included in the study had AS 1, while the other half had AS 2. There was no difference in tramadol and NDT concentrations between these two groups of patients. Tramadol and NDT C_{max} after 24 hours were 397.8 (271.9 – 668.4) μg/L and 34.9 (18.9 – 68.7) μg/L, respectively. The ODT concentration in all measurements was statistically significantly higher in patients with AS 2 compared to patients with AS 1, with the maximum

concentration achieved in the last measurement of 97.4 (52.5 – 139) μg/L and 51.7 (25.7 – 93.5) μg/L, respectively, P = 0.03. Concentrations of tramadol, ODT and NDT in patients after major abdominal surgeries are lower than the concentrations measured so far in the healthy population, due to the larger volume of distribution. Despite lower concentrations, tramadol has been shown to be an effective analgesic for the treatment of postoperative pain in these patients. By stepwise linear regression, the preoperative plasma ChE activity ≤ 4 244 U/L was set as the cut-off value for the prediction of systemic inflammation. In all measurements except the last, NDT concentrations were significantly higher (P < 0.05) in patients with low preoperative ChE activity (LChE group, n = 18) compared to patients with normal ChE activity (NChE group, n = 25). The range of NDT concentrations from the first to the fifth measurement in the LChE and NChE groups was 11.58 – 59.3 μg/L and 3.9 – 26.3 μg/L, respectively. The genetically determined difference in ODT concentrations with respect to AS was lost in all patients within the LChE group. Tramadol analgesia was effective in all patients regardless of ChE activity, but patients within the LChE group had significantly lower pain perception before and after tramadol administration in the second and third pain assessments (P < 0.05).

Conclusion: The results of this study confirmed that *CYP2D6* gene polymorphism is the most important factor in *O*-demethylation of tramadol, while systemic inflammation accompanied by low preoperative ChE activity is a significant factor contributing to *N*-demethylation of tramadol. Concentrations of tramadol, ODT, and NDT in patients after major abdominal surgery are lower than those measured so far in non-surgical patients.

Key words: critical care, CYP2D6, systemic inflammatory response, tramadol.

10. LITERATURA

1. Houmes RJ, Voets MA, Verkaaik A, Erdmann W, Lachmann B. Efficacy and safety of tramadol versus morphine for moderate and severe postoperative pain with special regard to respiratory depression. Anesth Analg. 1992;74(4):510-4.

2. Grond S, Radbruch L, Meuser T, Loick G, Sabatowski R, Lehmann KA. High-dose tramadol in comparison to low-dose morphine for cancer pain relief. J Pain Symptom Manage. 1999;18(3):174-9.

3. Scott LJ, Perry CM. Tramadol: a review of its use in perioperative pain. Drugs. 2000;60(1):139-76.

4. Urkmez S, Erdogan E, Utku T, Dikmen Y. Sedation Practices and Preferences of Turkish Intensive Care Physicians: A National Survey. Turk J Anaesthesiol Reanim. 2019;47(3):220-7.

5. Stamer UM, Maier C, Grond S, Veh-Schmidt B, Klaschik E, Lehmann KA. Tramadol in the management of post-operative pain: a double-blind, placebo- and active drug-controlled study. Eur J Anaesthesiol. 1997;14(6):646-54.

6. Martinez V, Guichard L, Fletcher D. Effect of combining tramadol and morphine in adult surgical patients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. Br J Anaesth. 2015;114(3):384-95.

7. Barakat A. Revisiting Tramadol: A Multi-Modal Agent for Pain Management. CNS Drugs. 2019;33(5):481-501.

8. Grond S, Sablotzki A. Clinical pharmacology of tramadol. Clin Pharmacokinet. 2004;43(13):879-923.

9. Lee CR, McTavish D, Sorkin EM. Tramadol. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute and chronic pain states. Drugs. 1993;46(2):313-40.

10. Lu L, Ryan M, Harnett M, Atiee GJ, Reines SA. Comparing the Pharmacokinetics of 2 Novel Intravenous Tramadol Dosing Regimens to Oral

Tramadol: A Randomized 3-Arm Crossover Study. Clin Pharmacol Drug Dev. 2020;9(4):537-46.

11. Klotz U. Tramadol--the impact of its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties on the clinical management of pain. Arzneimittelforschung. 2003;53(10):681-7.

12. Tegeder I, Lotsch J, Geisslinger G. Pharmacokinetics of opioids in liver disease. Clin Pharmacokinet. 1999;37(1):17-40.

13. Pham PC, Toscano E, Pham PM, Pham PA, Pham SV, Pham PT. Pain management in patients with chronic kidney disease. NDT Plus. 2009;2(2):111-8.

14. Jeong HC, Bae SH, Bae JW, Lee S, Kim A, Jang Y, i sur. Evaluation of the Effect of CYP2D6 Genotypes on Tramadol and O-Desmethyltramadol Pharmacokinetic Profiles in a Korean Population Using Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling. Pharmaceutics. 2019;11(11):618.

15. Wu WN, McKown LA, Liao S. Metabolism of the analgesic drug ULTRAM (tramadol hydrochloride) in humans: API-MS and MS/MS characterization of metabolites. Xenobiotica. 2002;32(5):411-25.

16. Gillen C, Haurand M, Kobelt DJ, Wnendt S. Affinity, potency and efficacy of tramadol and its metabolites at the cloned human mu-opioid receptor. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2000;362(2):116-21.

17. Fulton CR, Zang Y, Desta Z, Rosenman MB, Holmes AM, Decker BS, i sur. Drug–gene and drug–drug interactions associated with tramadol and codeine therapy in the INGENIOUS trial. Pharmacogenomics J. 2018;20(6):397-408.

18. Smith DM, Weitzel KW, Elsey AR, Langaee T, Gong Y, Wake DT, i sur. CYP2D6-guided opioid therapy improves pain control in CYP2D6 intermediate and poor metabolizers: a pragmatic clinical trial. Genet Med. 2019;21(8):1842-50.

19. Dagostino C, Allegri M, Napolioni V, D'Agnelli S, Bignami E, Mutti A, i sur. CYP2D6 genotype can help to predict effectiveness and safety during opioid

treatment for chronic low back pain: results from a retrospective study in an Italian cohort. Pharmgenomics Pers Med. 2018;11:179-91.

20. Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, Bradford LD, Kennedy MJ, Leeder JS. The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. Clin Pharmacol Ther. 2008;83(2):234-42.

21. Gaedigk A, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Klein T, Leeder JS. Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. Genet Med. 2017;19(1):69-76.

22. Stamer UM, Musshoff F, Kobilay M, Madea B, Hoeft A, Stuber F. Concentrations of tramadol and O-desmethyltramadol enantiomers in different CYP2D6 genotypes. Clin Pharmacol Ther. 2007;82(1):41-7.

23. Smith DM, Weitzel KW, Cavallari LH, Elsey AR, Schmidt SO. Clinical application of pharmacogenetics in pain management. Per Med. 2018;15(2):117-26.

24. Poulsen L, Arendt-Nielsen L, Brosen K, Sindrup SH. The hypoalgesic effect of tramadol in relation to CYP2D6. Clin Pharmacol Ther. 1996;60(6):636-44.

25. Dong H, Lu SJ, Zhang R, Liu DD, Zhang YZ, Song CY. Effect of the CYP2D6 gene polymorphism on postoperative analgesia of tramadol in Han nationality nephrectomy patients. Eur J Clin Pharmacol. 2015;71(6):681-6.

26. Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Leeder JS, Klein TE, Caudle KE, i sur. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450 2D6 genotype and codeine therapy: 2014 update. Clin Pharmacol Ther. 2014;95(4):376-82.

27. Miotto K, Cho AK, Khalil MA, Blanco K, Sasaki JD, Rawson R. Trends in Tramadol: Pharmacology, Metabolism, and Misuse. Anesth Analg. 2017;124(1):44-51.

28. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, i sur. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. Clin Pharmacol Ther. 2012;92(4):414-7.

29. Garcia Quetglas E, Azanza JR, Cardenas E, Sadaba B, Campanero MA. Stereoselective pharmacokinetic analysis of tramadol and its main phase I metabolites in healthy subjects after intravenous and oral administration of racemic tramadol. Biopharm Drug Dispos. 2007;28(1):19-33.

30. Ardakani YH, Rouini MR. Pharmacokinetics of tramadol and its three main metabolites in healthy male and female volunteers. Biopharm Drug Dispos. 2007;28(9):527-34.

31. Hosseinzadeh Ardakani Y, Lavasani H, Rouini MR. Gender Dependency in Streoselective Pharmacokinetics of Tramadol and Its Phase I Metabolites in Relation to CYP2D6 Phenotype in Iranian Population. Iran J Pharm Res. 2018;17(2):767-82.

32. He ZX, Chen XW, Zhou ZW, Zhou SF. Impact of physiological, pathological and environmental factors on the expression and activity of human cytochrome P450 2D6 and implications in precision medicine. Drug Metab Rev. 2015;47(4):470-519.

33. Finnerty CC, Mabvuure NT, Ali A, Kozar RA, Herndon DN. The surgically induced stress response. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2013;37 Suppl 5:21S-9S.

34. Hsing CH, Wang JJ. Clinical implication of perioperative inflammatory cytokine alteration. Acta Anaesthesiol Taiwan. 2015;53(1):23-8.

35. Paruk F, Chausse JM. Monitoring the post surgery inflammatory host response. J Emerg Crit Care Med. 2019;3:47.

36. Churpek MM, Zadravecz FJ, Winslow C, Howell MD, Edelson DP. Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients. Am J Respir Crit Care Med. 2015;192(8):958-64.

37. Comstedt P, Storgaard M, Lassen AT. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: a cohort study. Scand J Trauma Resusc Emerg Med. 2009;17:67.

38. Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. Intensive Care Med. 2000;26 Suppl 1:S64-74.

39. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, i sur. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):801-10.

40. Abdel-Rahman SM, Leeder JS, Wilson JT, Gaedigk A, Gotschall RR, Medve R, i sur. Concordance between tramadol and dextromethorphan parent/metabolite ratios: the influence of CYP2D6 and non-CYP2D6 pathways on biotransformation. J Clin Pharmacol. 2002;42(1):24-9.

41. Renton KW. Cytochrome P450 regulation and drug biotransformation during inflammation and infection. Curr Drug Metab. 2004;5(3):235-43.

42. Carlson TJ, Billings RE. Role of nitric oxide in the cytokine-mediated regulation of cytochrome P-450. Mol Pharmacol. 1996;49(5):796-801.

43. Babeu JP, Boudreau F. Hepatocyte nuclear factor 4-alpha involvement in liver and intestinal inflammatory networks. World J Gastroenterol. 2014;20(1):22-30.

44. Haas CE, Kaufman DC, Jones CE, Burstein AH, Reiss W. Cytochrome P450 3A4 activity after surgical stress. Crit Care Med. 2003;31(5):1338-46.

45. Aitken AE, Morgan ET. Gene-specific effects of inflammatory cytokines on cytochrome P450 2C, 2B6 and 3A4 mRNA levels in human hepatocytes. Drug Metab Dispos. 2007;35(9):1687-93.

46. Becher RD, Hoth JJ, Miller PR, Meredith JW, Chang MC. Systemic inflammation worsens outcomes in emergency surgical patients. J Trauma Acute Care Surg. 2012;72(5):1140-9.

47. Rizvanovic N, Nesek Adam V, Causevic S, Dervisevic S, Delibegovic S. A randomised controlled study of preoperative oral carbohydrate loading versus fasting in patients undergoing colorectal surgery. Int J Colorectal Dis. 2019;34(9):1551-61.

48. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, i sur. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American

College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992;101(6):1644-55.

49. Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuani A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. Crit Care. 2004;8(4):234-42.

50. Zivkovic AR, Tourelle KM, Brenner T, Weigand MA, Hofer S, Schmidt K. Reduced serum cholinesterase activity indicates splenic modulation of the sterile inflammation. J Surg Res. 2017;220:275-83.

51. Tracey KJ. Understanding immunity requires more than immunology. Nat Immunol. 2010;11(7):561-4.

52. Das U. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. Med Sci Monit. 2007;13(12):214-21.

53. Masson P, Lockridge O. Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. Arch Biochem Biophys. 2010;494(2):107-20.

54. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. Pharmacol Ther. 2015;148:34-46.

55. Gokani R, Jadav P, Nadeem S, Shah R, Chhatriwala M, Patel B. Serum cholinesterase as diagnostic marker of liver disease. Int J of Biomed and Adv Res. 2014;5(9):439-42.

56. Salama S, El-Bahnasawy B, Hashish M, Al Ebiary M. Serum Cholinesterase Level as a Biomarker in Detecting Liver Injury in patients with Chronic Hepatitis C. Egypt J Hosp Med. 2019;76(7):4662-8.

57. Zivkovic AR, Schmidt K, Brenner T, Hofer S. Plasma cholinesterase activity as diagnostic marker for systemic inflammation: Crit Care. 2014;18 Suppl 1:219.; 2014.

58. Zhao R, Zhang X, Wang H, Zhang R, Duan X, Liu S, i sur. [Value of serum cholinesterase in the prognosis of septic shock]. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2020;32(1):44-9.

59. Li M, Chen Y, Zhang Y, Liu X, Xie T, Yin J, i sur. Admission serum cholinesterase concentration for prediction of in-hospital mortality in very elderly patients with acute ischemic stroke: a retrospective study. Aging Clin Exp Res. 2020.

60. Yamamoto M, Saito H, Uejima C, Tanio A, Tada Y, Matsunaga T, i sur. Combination of Serum Albumin and Cholinesterase Levels as Prognostic Indicator in Patients ith Colorectal Cancer. Anticancer Res. 2019;39(2):1085-90.

61. Matsuo M, Yamagami T. Low serum cholinesterase predicts complication risk after orthopedic surgery in elderly patients: an observational pilot study. JA Clin Rep. 2019;5(1):39.

62. Peng ZL, Huang LW, Yin J, Zhang KN, Xiao K, Qing GZ. Association between early serum cholinesterase activity and 30-day mortality in sepsis-3 patients: A retrospective cohort study. PLoS One. 2018;13(8):e0203128.

63. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). Mol Med Rep. 2019;20(2):1479-87.

64. Zivkovic AR, Bender J, Brenner T, Hofer S, Schmidt K. Reduced butyrylcholinesterase activity is an early indicator of trauma-induced acute systemic inflammatory response. J Inflamm Res. 2016;9:221-30.

65. Owens WD. American Society of Anesthesiologists Physical Status Classification System in not a risk classification system. Anesthesiology. 2001;94(2):378.

66. Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. J Hepatol. 2005;42 Suppl(1):S100-7.

67. Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group M. Evaluation and management

of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. Ann Intern Med. 2013;158(11):825-30.

68. Bahar MA, Setiawan D, Hak E, Wilffert B. Pharmacogenetics of drug-drug interaction and drug-drug-gene interaction: a systematic review on CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6. Pharmacogenomics. 2017;18(7):701-39.

69. Santarpia L, Grandone I, Contaldo F, Pasanisi F. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2013;4(1):31-9.

70. Marik PE, Taeb AM. SIRS, qSOFA and new sepsis definition. J Thorac Dis. 2017;9(4):943-5.

71. Cicarelli DD, Veiera JE, Bensenor FEM. Lactate as a Predictor of Mortality and Multiple Organ Failure in Patients with the Systemic Inflammatory Response Syndrome. Rev Bras Anestesiol. 2007;57(6):630-8.

72. Gerbershagen HJ, Rothaug J, Kalkman CJ, Meissner W. Determination of moderate-to-severe postoperative pain on the numeric rating scale: a cut-off point analysis applying four different methods. Br J Anaesth. 2011;107(4):619-26.

73. Gelinas C, Fillion L, Puntillo KA, Viens C, Fortier M. Validation of the critical-care pain observation tool in adult patients. Am J Crit Care. 2006;15(4):420-7.

74. Payen JF, Bru O, Bosson JL, Lagrasta A, Novel E, Deschaux I, i sur. Assessing pain in critically ill sedated patients by using a behavioral pain scale. Crit Care Med. 2001;29(12):2258-63.

75. Barr J, Fraser GL, Puntillo K, Ely EW, Gelinas C, Dasta JF, i sur. Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the intensive care unit. Crit Care Med. 2013;41(1):263-306.

76. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001;25(4):402-8.

77. Gaedigk A, Dinh JC, Jeong H, Prasad B, Leeder JS. Ten Years' Experience with the CYP2D6 Activity Score: A Perspective on Future Investigations to Improve Clinical Predictions for Precision Therapeutics. J Pers Med. 2018;8(2):15.

78. Haage P, Kronstrand R, Josefsson M, Calistri S, van Schaik RHN, Green H, i sur. Enantioselective pharmacokinetics of tramadol and its three main metabolites; impact of CYP2D6, CYP2B6, and CYP3A4 genotype. Pharmacol Res Perspect. 2018;6(4):e00419.

79. Kirchheiner J, Keulen JT, Bauer S, Roots I, Brockmoller J. Effects of the CYP2D6 gene duplication on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol. J Clin Psychopharmacol. 2008;28(1):78-83.

80. Gan SH, Ismail R, Wan Adnan WA, Zulmi W. Impact of CYP2D6 genetic polymorphism on tramadol pharmacokinetics and pharmacodynamics. Mol Diagn Ther. 2007;11(3):171-81.

81. Lee J, Yoo HD, Bae JW, Lee S, Shin KH. Population pharmacokinetic analysis of tramadol and O-desmethyltramadol with genetic polymorphism of CYP2D6. Drug Des Devel Ther. 2019;13:1751-61.

82. Hicks JK, Swen JJ, Gaedigk A. Challenges in CYP2D6 phenotype assignment from genotype data: a critical assessment and call for standardization. Curr Drug Metab. 2014;15(2):218-32.

83. Siepsiak-Połom M, Szałek E, Porażka J, Karbownik A, Grabowski T, Mziray M, i sur. Ketoprofen and tramadol pharmacokinetics in patients with chronic pancreatitis. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23:4044-51.

84. Musshoff F, Madea B, Stuber F, Stamer UM. Enantiometric Determination of Tramadol and O-desmethyltramadol by Liquid Chromatography-Mass Spectometry and Application to Postoperative Patient Receiving Tramadol. J Anal Toxicol. 2006;30:463-7.

85. T'oft P, E To. The systemic inflammatory response to anaesthesia and surgery. Curr Anaesth Crit Care. 2008;19(5):349-53.

86. Blot SI, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient - concepts appraised by the example of antimicrobial agents. Adv Drug Deliv Rev. 2014;77:3-11.

87. Van Teeffelen JW, Brands J, Stroes ES, Vink H. Endothelial glycocalyx: sweet shield of blood vessels. Trends Cardiovasc Med. 2007;17(3):101-5.

88. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. Crit Care. 2019;23(1):16.

89. Charlton M, Thompson JP. Pharmacokinetics in sepsis. BJA Education. 2019;19(1):7-13.

90. Hui-Chen L, Yang Y, Na W, Ming D, Jian-Fang L, Hong-Yuan X. Pharmacokinetics of the enantiomers of trans-tramadol and its active metabolite, trans-O-demethyltramadol, in healthy male and female chinese volunteers. Chirality. 2004;16(2):112-8.

91. Meibohm B, Beierle I, Derendorf H. How important are gender differences in pharmacokinetics? Clin Pharmacokinet. 2002;41(5):329-42.

92. Tanaka E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. J Clin Pharm Ther. 1999;24(5):339-46.

93. Zanger UM, Klein K. Pharmacogenetics of cytochrome P450 2B6 (CYP2B6): advances on polymorphisms, mechanisms, and clinical relevance. Front Genet. 2013;4:24.

94. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, i sur. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. Nature. 2000;405(6785):458-62.

95. Borovikova LV, Ivanova S, Nardi D, Zhang M, Yang H, Ombrellino M, i sur. Role of vagus nerve signaling in CNI-1493-mediated suppression of acute inflammation. Auton Neurosci. 2000;85(1-3):141-7.

96. van Westerloo DJ, Giebelen IA, Florquin S, Daalhuisen J, Bruno MJ, de Vos AF, i sur. The cholinergic anti-inflammatory pathway regulates the host response during septic peritonitis. J Infect Dis. 2005;191(12):2138-48.

97. Zivkovic AR, Schmidt K, Stein T, Munzberg M, Brenner T, Weigand MA, i sur. Bedside-measurement of serum cholinesterase activity predicts patient morbidity and length of the intensive care unit stay following major traumatic injury. Sci Rep. 2019;9(1):10437.

98. Renton KW. Regulation of drug metabolism and disposition during inflammation and infection. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2005;1(4):629-40.

99. Renton KW, Mannering GJ. Depression of the hepatic cytochrome P-450 mono-oxygenase system by administered tilorone (2,7-bis(2-(diethylamino)ethoxy)fluoren-9-one dihydrochloride). Drug Metab Dispos. 1976;4(3):223-31.

100. Samaras SC, Deitz N. Physiopathology of detoxification of pentobarbital sodium. Fed Am Soc Exp Biol. 1953;12:400.

101. Morcos PN, Moreira SA, Brennan BJ, Blotner S, Shulman NS, Smith PF. Influence of chronic hepatitis C infection on cytochrome P450 3A4 activity using midazolam as an in vivo probe substrate. Eur J Clin Pharmacol. 2013;69(10):1777-84.

102. Carcillo JA, Doughty L, Kofos D, Frye RF, Kaplan SS, Sasser H, i sur. Cytochrome P450 mediated-drug metabolism is reduced in children with sepsis-induced multiple organ failure. Intensive Care Med. 2003;29(6):980-4.

103. Carcillo JA, Podd B, Aneja R, Weiss SL, Hall MW, Cornell TT, i sur. Pathophysiology of Pediatric Multiple Organ Dysfunction Syndrome. Pediatr Crit Care Med. 2017;18(3 Suppl 1):S32-S45.

104. Jones AE, Brown KC, Werner RE, Gotzkowsky K, Gaedigk A, Blake M, i sur. Variability in drug metabolizing enzyme activity in HIV-infected patients. Eur J Clin Pharmacol. 2010;66(5):475-85.

105. Gopisankar MG. CYP2D6 pharmacogenomics. Egypt J Med Hum Genet. 2017;18(4):309-13.

106. Tirona RG, Lee W, Leake BF, Lan LB, Cline CB, Lamba V, i sur. The orphan nuclear receptor HNF4alpha determines PXR- and CAR-mediated xenobiotic induction of CYP3A4. Nat Med. 2003;9(2):220-4.

107. Hara H, Adachi T. Contribution of hepatocyte nuclear factor-4 to down-regulation of CYP2D6 gene expression by nitric oxide. Mol Pharmacol. 2002;61(1):194-200.

108. Tanaka H, Naito T, Sato H, Hiraide T, Yamada Y, Kawakami J. Impact of CYP genotype and inflammatory markers on the plasma concentrations of tramadol and its demethylated metabolites and drug tolerability in cancer patients. Eur J Clin Pharmacol. 2018;74(11):1461-9.

109. Smajic J, Tupkovic LR, Husic S, Avdagic SS, Hodzic S, Imamovic S. Systemic Inflammatory Response Syndrome in Surgical Patients. Med Arch. 2018;72(2):116-9.

110. Capri M, Yani SL, Chattat R, Fortuna D, Bucci L, Lanzarini C, i sur. Pre-Operative, High-IL-6 Blood Level is a Risk Factor of Post-Operative Delirium Onset in Old Patients. Front Endocrinol (Lausanne). 2014;5(173):173.

111. Catena F, Ansaloni L, Avanzolini A, Di Saverio S, D'Alessandro L, Maldini Casadei M, i sur. Systemic cytokine response after emergency and elective surgery for colorectal carcinoma. Int J Colorectal Dis. 2009;24(7):803-8.

112. Tzvetkov MV, Saadatmand AR, Lotsch J, Tegeder I, Stingl JC, Brockmoller J. Genetically polymorphic OCT1: another piece in the puzzle of the variable pharmacokinetics and pharmacodynamics of the opioidergic drug tramadol. Clin Pharmacol Ther. 2011;90(1):143-50.

113. Cressman AM, Petrovic V, Piquette-Miller M. Inflammation-mediated changes in drug transporter expression/activity: implications for therapeutic drug response. Expert Rev Clin Pharmacol. 2012;5(1):69-89.

114. Aitken AE, Richardson TA, Morgan ET. Regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters in inflammation. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2006;46:123-49.

115. Le Vee M, Lecureur V, Stieger B, Fardel O. Regulation of drug transporter expression in human hepatocytes exposed to the proinflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha or interleukin-6. Drug Metab Dispos. 2009;37(3):685-93.

116. Bosilkovska M, Walder B, Besson M, Daali Y, Desmeules J. Analgesics in patients with hepatic impairment: pharmacology and clinical implications. Drugs. 2012;72(12):1645-69.

117. Soleimanpour H, Safari S, Shahsavari Nia K, Sanaie S, Alavian SM. Opioid Drugs in Patients With Liver Disease: A Systematic Review. Hepat Mon. 2016;16(4):e32636.

118. Kluge M, Tacke F. Liver impairment in critical illness and sepsis: the dawn of new biomarkers? Ann Transl Med. 2019;7 Suppl 8:S258.

119. Fuhrmann V, Kneidinger N, Herkner H, Heinz G, Nikfardjam M, Bojic A, i sur. Hypoxic hepatitis: underlying conditions and risk factors for mortality in critically ill patients. Intensive Care Med. 2009;35(8):1397-405.

120. Jenniskens M, Langouche L, Vanwijngaerden YM, Mesotten D, Van den Berghe G. Cholestatic liver (dys)function during sepsis and other critical illnesses. Intensive Care Med. 2016;42(1):16-27.

121. Kramer L, Jordan B, Druml W, Bauer P, Metnitz PG. Incidence and prognosis of early hepatic dysfunction in critically ill patients--a prospective multicenter study. Crit Care Med. 2007;35(4):1099-104.

122. Hobson C, Ruchi R, Bihorac A. Perioperative Acute Kidney Injury: Risk Factors and Predictive Strategies. Crit Care Clin. 2017;33(2):379-96.

123. Park JT. Postoperative acute kidney injury. Korean J Anesthesiol. 2017;70(3):258-66.

124. Arihan O, Wernly B, Lichtenauer M, Franz M, Kabisch B, Muessig J, i sur. Blood Urea Nitrogen (BUN) is independently associated with mortality in critically ill patients admitted to ICU. PLoS One. 2018;13(1):e0191697.

125. Marra A, Pandharipande PP, Patel MB. Intensive Care Unit Delirium and Intensive Care Unit-Related Posttraumatic Stress Disorder. Surg Clin North Am. 2017;97(6):1215-35.

126. Pinheiro A, Marques RMD. Behavioral Pain Scale and Critical Care Pain Observation Tool for pain evaluation in orotracheally tubed critical patients. A systematic review of the literature. Rev Bras Ter Intensiva. 2019;31(4):571-81.

127. Gelinas C, Puntillo KA, Joffe AM, Barr J. A validated approach to evaluating psychometric properties of pain assessment tools for use in nonverbal critically ill adults. Semin Respir Crit Care Med. 2013;34(2):153-68.

128. Gelinas C, Harel F, Fillion L, Puntillo KA, Johnston CC. Sensitivity and specificity of the critical-care pain observation tool for the detection of pain in intubated adults after cardiac surgery. J Pain Symptom Manage. 2009;37(1):58-67.

129. Gagliese L, Weizblit N, Ellis W, Chan VW. The measurement of postoperative pain: a comparison of intensity scales in younger and older surgical patients. Pain. 2005;117(3):412-20.

130. Ahlers SJ, van Gulik L, van der Veen AM, van Dongen HP, Bruins P, Belitser SV, i sur. Comparison of different pain scoring systems in critically ill patients in a general ICU. Crit Care. 2008;12(1):R15.

131. Packiasabapathy S, Sadhasivam S. Gender, genetics, and analgesia: understanding the differences in response to pain relief. J Pain Res. 2018;11:2729-39.

132. Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL, 3rd. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. J Pain. 2009;10(5):447-85.

133. Apfel CC, Heidrich FM, Jukar-Rao S, Jalota L, Hornuss C, Whelan RP, i sur. Evidence-based analysis of risk factors for postoperative nausea and vomiting. Br J Anaesth. 2012;109(5):742-53.

134. Enggaard TP, Poulsen L, Arendt-Nielsen L, Brøsen K, Ossig J, Sindrup SH. The analgesic effect of tramadol after intravenous injection in healthy volunteers in relation to CYP2D6. Anesth Analg. 2006;102(1):146-50.

135. Stamer UM, Lehnen K, Hothker F, Bayerer B, Wolf S, Hoeft A, i sur. Impact of CYP2D6 genotype on postoperative tramadol analgesia. Pain. 2003;105(1-2):231-8.

136. Lehmann KA, Kratzenberg U, Schroeder-Bark B, Horrichs-Haermeyer G. Postoperative patient-controlled analgesia with tramadol: analgesic efficacy and minimum effective concentrations. Clin J Pain. 1990;6(3):212-20.

137. McGrane S, Girard TD, Thompson JL, Shintani AK, Woodworth A, Ely EW, i sur. Procalcitonin and C-reactive protein levels at admission as predictors of duration of acute brain dysfunction in critically ill patients. Crit Care. 2011;15(2):R78.

138. Berg RM, Plovsing RR, Bailey DM, Holstein-Rathlou NH, Møller K. The Dynamic cerebral autoregulatory adaptive response to noradrenaline is attenuated during systemic inflammation in humans. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2015;42(7):740-6.

139. Skelly DT, Griffin É W, Murray CL, Harney S, O'Boyle C, Hennessy E, i sur. Acute transient cognitive dysfunction and acute brain injury induced by systemic inflammation occur by dissociable IL-1-dependent mechanisms. Mol Psychiatry. 2019;24(10):1533-48.

140. Wilder-Smith CH, Hill L, Spargo K, Kalla A. Treatment of severe pain from osteoarthritis with slow-release tramadol or dihydrocodeine in combination with NSAID's: a randomised study comparing analgesia, antinociception and gastrointestinal effects. Pain. 2001;91(1-2):23-31.

141. NeSmith EG, Weinrich SP, Andrews JO, Medeiros RS, Hawkins ML, Weinrich M. Systemic inflammatory response syndrome score and race as predictors of length of stay in the intensive care unit. Am J Crit Care. 2009;18(4):339-46.

142. Caudle KE, Klein TE, Hoffman JM, Muller DJ, Whirl-Carrillo M, Gong L, i sur. Incorporation of pharmacogenomics into routine clinical practice: the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline development process. Curr Drug Metab. 2014;15(2):209-17.

143. Gao J, Wang J, Gao N, Tian X, Zhou J, Fang Y, i sur. Prediction of cytochrome P450-mediated drug clearance in humans based on the measured activities of selected CYPs. Biosci Rep. 2017;37(6).

144. Shah RR. Pharmacogenetics and precision medicine: Is inflammation a covert threat to effective genotype-based therapy? Ther Adv Drug Saf. 2017;8(9):267-72.

11. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODATCI

Nenad Nešković

Trg slobode 8, 31 000 Osijek
tel: +385 (0) 99 67 87 250
e-mail: nneskov@gmail.com

RADNO ISKUSTVO

2018. – trenutno	Asistent na katedri za anesteziologiju i intenzivnu medicinu Medicinski fakultet Osijek
2012. – trenutno	Specijalist anesteziologije i intenzivne medicine Klinički bolnički centar Osijek
2009. – 2012.	Asistent na katedri za anatomiju i neuroznanost Medicinski fakultet Osijek

OBRAZOVANJE

2015. – 2018.	Specijalistički poslijediplomski studij iz anesteziologije Medicinski fakultet Osijek
2002. – 2008.	Studij medicine Medicinski fakultet Osijek

CERTIFIKATI

Svibanj 2019.	*European trauma course*, Rijeka, Croatia
Ožujak 2019.	*Low flow and minimal flow anesthesia and ventilation*, Zagreb, Croatia
Ožujak 2018.	*Intermediate Training Course in Transplant Procurement Management*, Trogir, Croatia

Veljača 2017. *Ultrasound guided peripheral nerve block in regional anesthesia and pain medicine*, Osijek, Croatia

Lipanj 2016. *Patient Blood Management - Focus on perioperative bleeding management*, Krems, Austria

Listopad 2015. *Postgraduated course of mechanical respiratory support*, Dubrovnik, Croatia

Rujan 2015. *Ultrasound in emergency and intensive medicine*, Rijeka, Croatia

Travanj 2013. *Generic Instructor Course of European Resuscitation Council*, Rijeka, Croatia

Siječanj 2013. *ALS Provider Course of European Resuscitation Council*, Slavonski Brod, Croatia

PUBLIKACIJE _____

1. Vrselja Z, Šram M, Selthofer-Relatić K, Lekšan I, Nešković N, Radić R. Increased thickness of epicardial adipose tissue associated with central adiposity but not with CAD // Obesity Facts. 2012. (poster, Internetional recension, Scientific Abstract)
2. Nešković N, Perić Kačarević Ž, Radić R. Peripheral expression of adipocytokines and role of sympathetic nervous system in function of perivascular adipose tissue and vascular reactivity // Biopolymers & Cell / Anna V. El' Skaya (ur.). Kijev, Ukrajina : Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, 2012. 91-91 (poster, International recension, Abstract)
3. Šnajder D, Nešković N, Perić Kačarević Ž, Radić R. Impact of high-fat diet on fertility in Sprague Dawley rats // Biopolymers & Cell / Anna V. El' Skaya (ur.). Kijev, Ukrajina : Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, 2012. 96-96 (poster, International recension, Abstract)

4. Nešković N, Ivić D. Time Course of Changes in Serum Concentration of Procalcitonin, Interleukin-6 and C-Reactive Protein after Abdominal Surgery. 9. međunarodni kongres o hemodinamskom monitoriranju, KB Dubrava. Veljača 2016. (poster)

5. Nešković N, Škiljić S, Kristek G, Kvolik S. Intoksikacija gama-butirolaktonom (GBL) // Zbornik radova Drugog Beogradskog anestezija foruma: novine u anesteziologiji, reanimatologiji i intenzivnom lečenju, april 2017. Beograd, Str. 260. Urednik Nevena Kalezić, ISBN / Nevena Kalezić (ur.).Beograd : Lajkovac : La Pressing, 2017, 2017. 260 (poster,međunarodna recenzija,sažetak,stručni).

6. Škiljić S, Kristek G, Nešković N, Azenić D, Kvolik S. Postreanimacijska terapijska hipotermija endovaskularnom metodom hlađenja –prikaz slučaja // Zbornik radova Drugog Beogradskog anestezija foruma: novine u anesteziologiji, reanimatologiji i intenzivnom lečenju / Kalezić, Nevena (ur.). Beograd : Lajkovac : La Pressing, 2017, 2017. 232-235 (međunarodna recenzija,objavljeni rad).

7. Nešković N, Ivić D. Prediction of a possible cause of sepsis due to changes in serum levels of procalcitonin. Medica Jadertina, Vol.47 No.Suplement July2017.

8. Kristek G, Radoš I, Kristek D, Škiljić S, Nešković N, Haršanji Drenjančević I, Tot OK. Usporedba učinkovitosti epiduralne i intravenske pacijentom kontrolirane analgezije u starijih bolesnika nakon operativnog liječenja prijeloma bedrene kosti. Knjiga sažetaka 4. hrvatskog kongresa iz liječenja boli s međunarodnim sudjelovanjem, Osijek, Svibanj 2018.

9. Nešković N, Kvolik S, Mandić D, Debeljak Ž. Differences in the metabolism of tramadol in critically ill patient in the icu – pilot study. Knjiga sažetaka 4. hrvatskog kongresa iz liječenja boli s međunarodnim sudjelovanjem, Osijek, Svibanj 2018.

10. Kristek G, Radoš I, Kristek D, Kapural L, Nešković N, Škiljić S. The influence of postoperative analgesia on systemic inflammatory response

and postoperative cognitive dysfunction after femoral fractures surgery: randomized controlled trial. Reg Anesth Pain Med. 2019;44(1):59-68.

11. Kristek G, Rados I, Kristek D, i sur. Response to 'Might complications of analgesic regimen affect cognitive assessment and how to diagnose POCD?' by Sungur and Senturk [published online ahead of print, 2020 Mar 25]. Reg Anesth Pain Med. 2020;rapm-2020-101420.

12. Kristek G, Kvolik S, Škiljić S, Kristek D, Haršanji Drenjančević I, Nešković N, Majdenić Štaba A. Short bowel syndrome in septic patients: a case report. Liječ Vjesn 2020;142:6–10

13. Škiljić S, Kristek G, Majdenić Štaba A, Haršanji Drenjančević I, Nešković N, Kvolik S. Uloga kontinuirane metode bubrežnoga nadomjesnog liječenja u bolesnika s teškom rabdomiolizom i multiorganskim zatajenjem nastalim zbog zlouporabe metandriola. Liječ Vjesn 2020;142:14–16.