

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**1.LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



**AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE**

**OVLIVNĚNÍ POOPERAČNÍ ANALGÉZIE TYPEM  
PŘEDOPERAČNÍ A POOPERAČNÍ MEDIKACE A  
JEJÍ OBJEKTIVNÍ HODNOCENÍ  
EXPERIMENTÁLNÍ A KLINICKÁ STUDIE**

**MUDr.Jitka Fricová**

Praha 2010

## **Doktorské studijní programy v biomedicině**

*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof.MUDr.Jaroslav Pokorný DrSc

Školící pracoviště: KARIM, 1.LF UK a VFN

Autor: MUDr.Jitka Fricová

Školitel: Doc.MUDr.Martin Stříteský, CSc

Školitel konsultant: Prof.MUDr.Richard Rokyta, DrSc

Oponenti: Prof.MUDr.Stanislav Štípek, DrSc  
Prof.MUDr.Miloslav Kršiak, DrSc

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba se koná dne: 16.12.2010 v 10.00 hod.

kde: Fyziologický ústav 1.LF UK, Albertov 5, Praha 2

S disertací je možno se seznámit na děkanátě  
1.Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

## **Obsah**

### **Souhrn**

### **Summary**

#### **1.Úvod**

1.1.Oxidační stres, volné radikály a antioxidanty

1.2.Bolest

1.3.Herniotomie

#### **2.Cíle studie**

#### **3.Hypotézy**

#### **4.Materiál a metodika**

4.1. Experimentální část studie –laboratorní potkani

4.2. Klinická část studie – pacienti

4.3. Přímé měření volných radikálů -EPR Metodika

4.4. Biochemické metody

4.5.Statistické metody

#### **5.Výsledky**

5.1. Experimentální část

5.2. Klinická část

#### **6.Diskuze**

#### **7.Literatura**

#### **8.Seznam vlastních publikací**

## **Seznam zkratek**

CRP- C-reaktivní protein

EPR-Elektron paramagnetická rezonance

GLM- General Linear Model pro opakovaná měření

GPX- Glutathionperoxidáza

HDL- High-density lipoprotein

LDL-Low density lipoprotein

MDA-Malondialdehyd

NADPH- Nikotinamid adenin dinukleotid fosfát

RNS- reactive nitrogen species

ROS-reactive oxygen species

SOD- superoxiddismutáza

SPSS- Statistical Package for the Social Sciences

VAS-Vizuální analogová škála

## **Souhrn**

Naším cílem bylo posoudit změny volných radikálů a dalších biochemických ukazatelů po nociceptivní stimulaci u různých experimentálních animálních modelů. U pacientů jsme zjišťovali, zda preemptivní analgezie má pozitivní účinek na akutní pooperační bolest. Snažili jsme se nalézt možnosti jak objektivně zhodnotit intenzitu akutní bolesti a pooperačního stresu.

Realizovali jsme experimentální studie s použitím mechanické, zánětlivé a viscerální nocicepce a zjistili jsme, že zejména hydroxylové a nitroxidové volné radikály a singletový kyslík se výrazně zvýšily po bolestivé nociceptivní stimulaci. Toto zvýšení může být potlačeno antioxidanty. Současně jsme prokázali, že některé parametry metabolismu lipidů, sacharidů a bílkovin byly rovněž změněny. Měřili jsme zejména volné hydroxylové radikály a singletový kyslík metodou EPR v ocase živých a anestezovaných laboratorních potkanů. Tato metoda je zcela prioritní a nebyla nikdy před námi použita. Již naše dřívější experimentální výsledky byly částečně ověřeny s použitím různých typů akutní a chronické bolesti u lidí (akutní pankreatitida, zlomeniny, cholecystitida, bolesti viscerálního původu a bolestí dolních zad). Všechny tyto bolestivé syndromy mají různé biochemické změny, které v našich studiích předkládáme.

Naším dalším cílem bylo nalézt nejúčinnější analgetickou kombinaci pro efektivní léčbu akutní pooperační bolesti. Studovali jsme pooperační analgezii a její účinky zahrnující různé typy předoperační a pooperační medikace a její objektivní hodnocení. Zaměřili jsme se na objektivní hodnocení bolesti pomocí různých biochemických parametrů, zejména na volné radikály, které se výrazně měnily během akutní bolesti. Ukázalo se, že Morfin je nejvhodnější analgetikum v indikaci preemptivní analgezie před výkonem s předpokládanou středně silnou bolestí. Morfin ve srovnání s Pethidinem a skupinou bez premedikace jako jediný snížil signifikantně hladinu volných radikálů 24 hodin po operaci. V diskuzi jsme se pokusili vysvětlit vztah pooperační bolesti a oxidačního stresu. Podařilo se nám objektivizovat biochemické změny při akutní pooperační bolesti na podkladě pooperačního stresu. Tato studie představuje kombinaci experimentálního přístupu k řešení změn vznikajících při různých typech bolesti a klinické aplikace vlivu preemptivní analgezie na průběh pooperační bolesti.

## Summary

The aim of our study was to assess the changes of free radicals and other biochemical parameters after nociceptive stimulation in different experimental animal models. In patients we detected whether preemptive analgesia had a positive effect on acute postoperative pain. Objective evaluation of pain intensity is a long-term problem because the objectification of using electrophysiological and imaging methods is currently difficult and expensive, and therefore in laboratories in the Czech Republic and many other places are used the evaluation by means biochemical methods.

We implemented large experimental studies using mechanical, inflammatory and visceral nociception and we found out in particular that nitroxid and hydroxyl free radicals and singlet oxygen increased significantly after nociceptive stimulation. This increase can be suppressed by antioxidants. At the same time, we showed that some parameters of metabolism lipids, carbohydrates and proteins have also been changed. In particular, we measured the free hydroxyl radicals and singlet oxygen by EPR method in the tail of living and anesthetized rats. This method is absolutely a priority and has never been used before. Earlier experimental results were partially clinically verified using different types of acute and chronic pain in humans (acute pancreatitis, fractures, cholecystitis, the pain of visceral origin and low back pain). In all these pain syndromes are different biochemical changes.

Our next goal was to find the most effective combination for the effective analgesic treatment of acute postoperative pain.

We studied postoperative analgesia and the effects of various types, including preoperative and postoperative medication and its objective evaluation. We focused on an objective assessment of pain using different biochemical parameters, especially the free radicals that are significantly changed during acute pain. It was shown that morphine is the best indication in preemptive analgesia prior to surgery with an expected moderate pain. Morphine in comparison with Pethidine and the group without premedication and the only Morphine significantly reduced levels of free radicals 24 hours after surgery . In the discussion we tried to explain the relationship of postoperative pain and oxidative stress.

This study combines experimental approach to deal with the changes due to the different types of pain and clinical applications of the impact of preemptive analgesia on postoperative pain course.

## 1. Úvod

Dobrá analgésie hraje nezanedbatelnou roli při zlepšování dlouhodobých funkčních výsledků po velkých chirurgických výkonech a má velký význam pro pacienty a následně také pro poskytovatele zdravotní péče (Weill 2009). Nedávné průzkumy naznačují, že akutní až subakutní bolest trvající několik týdnů po operaci představuje často opomíjenou oblast klinického výzkumu s relativně chudými vědeckými daty. Kromě toho poslední vývoj v oblasti fast-tracku a sledování metodiky ukázal, že je třeba podstatně zlepšit analgézii k efektivnějšímu využití časné rehabilitace ke snížení délky hospitalizace a rekonvalescence.

### 1.1. Oxidační stres, volné radikály a antioxidanty

Existence volných radikálů byla potvrzena v 60 letech, kdy McCord a Fridovich (1968, 1969) objevili enzym superoxiddismutázu. Pod vedením Fridoviche (McCord a Fridovich 1968) byl použit jaterní extrakt, kde oxidaci sulfitů katalyzuje xantinoxidáza a prostředníkem této reakce je radikál superoxid. Dalším důležitým poznatkem je, že radikál nemůže existovat volně, ale že během reakce zůstává vázán na enzym (Holeček et al., 2007).

*Antioxidanty* můžeme rozdělit podle různých kritérií na hydrofilní a lipofilní, na intracelulární a extracelulární a nebo na přirozené a umělé. Podle jejich účinků je rozdělujeme takto:

Tabulka 1 Rozdělení antioxidantů (podle Štípka et al., 2000)

<b>Antioxidanty</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Odstraňující neradikálové hydroperoxydy a peroxid vodíku</i></li></ul>
Kataláza, Glutathionperoxidáza, Glutathion-S-transferáza (jsou zejména intracelulární)
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Vážíci kovy chelátem</i></li></ul>
Transferin, Haptoglobin, Hemopexin, Ceruloplazmin, Albumin
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Blokující aktivní kyslík</i></li></ul>
Superoxiddismutáza, Karotenoidy, Vitamin E
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Scavengery zastavující řetězové reakce</i></li></ul>
Vitamin E, Ubichinol, Karotenoidy, Vitamin C, Kyselina močová, Bilirubin, Albumin
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Enzymy opravující a rekonstituující poškozené membrány</i></li></ul>
Lipáza, Proteázy, Enzymy opravující DNA, Transferázy
<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Adaptační enzymy</i></li></ul>

*Oxidační stres* je definován jako relativní převaha volných radikálů nad oxidační obranou.

Tato situace může být vyvolána nadměrnou produkcí RNS (reactive nitrogen species), nedostatečnou funkcí antioxidačního systému nebo kombinací obou.

**1.2. Bolest** a to především akutní provokuje stresové reakce a nastartuje vznik oxidačního stresu. Oxidační stres vzniká porušením rovnováhy mezi volnými radikály a antioxidanty. Volné radikály mohou poškodit buněčné funkce a to reakcemi jako je lipoperoxidace, oxidace proteinů, destrukce DNA a nitrace albuminu. Opakovaně bylo potvrzeno, že se při bolesti zvyšují volné frakce kyslíku ROS, singletového kyslíku a samozřejmě také volných radikálů hydroxylových a nitroxidových. Existují dvě možná vysvětlení jak se tyto reakce a volné radikály vůbec uplatňují po bolestivé stimulaci. Po intenzivní bolestivé stimulaci vzniká zánět se všemi doprovodnými známkami jako je wash out fagocytů a aktivace komplementu (Khan et al., 1994). Protilátky tvoří ve tkáních imunokomplexy, které stimulují produkci volných radikálů a ROS (např. singletového kyslíku a ozónu, Peng et al., 2006).

Studie, která byla provedena u pacientů s frakturami kostí a během akutní pankreatitidy sledovala stejné parametry cholesterol, HDL a LDL cholesterol, triglyceridy, celkové bílkoviny, albumin, C-reaktivní protein (CRP), apolipoprotein B, alfa lipoprotein, beta-lipoprotein, pre-beta lipoprotein a glukózu (Křikava et al., 2004).

U zvířat a lidí byly měřeny změny MDA (malondialdehydu) a vliv antioxidantů na hladinu volných radikálů, které se charakteristicky mění jak u bolestivých animálních modelů, tak u lidí s různými bolestivými syndromy (Rokyta et al., 2004). Měřeny byly volné nitroxidové radikály, volné hydroxylové radikály a singletový kyslík. Měření bylo prováděno také po aplikaci melatoninu (Pekárková et al., 2001).

### **1.3. Herniotomie**

Operace tříselné kýly (herniotomie) patří mezi nejčastěji prováděné operace s počtem 800.000 za rok ve Spojených státech amerických (Rutkow 2003). Až u 10% pacientů má za následek vznik chronických bolestí, které ovlivňují každodenní činnost pacienta.

Tříselná herniotomie je ideálním modelem pro zkoumání patogenních mechanismů podílejících se na vzniku perzistentní chronické pooperační bolesti, protože pacienti obvykle nemají žádná konkomitantní onemocnění. Kromě toho, pooperační zánět nebo implantovaná mřížka (síťka) mohou přispívat k mechanické bolesti, která je přímo závislá na pohybu (Aasvang 2005). Bolest může vzniknout a následně být udržována v důsledku zánětu v okolí nervových vláken a to při neporušeném axonálním těle (Bove 2003).



## 2. Cíle studie

Objektivní evaluace intenzity bolesti je dlouhodobý problém, protože objektivizace elektrofyziologickými metodami je zatím stále náročná a drahá, proto je na několika pracovištích v České republice a ve světě rozvíjena evaluace metodami biochemickými. Byly provedeny rozsáhlé experimentální studie na modelech mechanické, zánětlivé nocicepce a zjistili jsme, že zejména, hydroxylové a nitroxidové volné radikály a singletový kyslík se výrazně zvýšily po bolestivé stimulaci. Zvýšenou aktivitu volných radikálů lze potlačit antioxidanty. Volné radikály byly měřeny přímou metodou EPR (elektron paramagnetickou rezonancí). Také bylo prokázáno, že se zvyšují některé parametry lipidového, sacharidového a proteinového metabolismu (Rokyta et al., 2003). Tyto experimentální výsledky byly částečně verifikovány u různých typů bolestí akutních i chronických u lidí (akutní pankreatitida, zlomeniny, cholecystitidy, bolesti cévního původu a bolesti zad. Křikava et al., 2004). Všechny tyto bolestivé syndromy mají různý odraz v biochemických parametrech a dosud nikdy nebyly sledovány změny v pre, peri a pooperačním období.

Primárním cílem předložené studie byla optimalizace a zkvalitnění léčby akutní pooperační bolesti s důrazem na preemptivní analgézi. Naším dalším cílem bylo nalézt nejučinnější analgetickou kombinaci pro efektivní léčbu akutní pooperační bolesti.

Studovali jsme pooperační bolest, nastartování oxidačního stresu po operaci a účinky tří nejběžnějších typů předoperační medikace. Zaměřili jsme se na objektivní hodnocení bolesti pomocí různých biochemických parametrů jako je LDL cholesterol, HDL cholesterol, celkový cholesterol, albumin, prealbumin, apolipoprotein A, apolipoprotein B, kyselina močová, glukóza, CRP a volné radikály. Hladiny volných radikálů se výrazně měnily během akutní bolesti. Kromě nalezení optimální preemptivní a částečně také pooperační analgézie, jsme se pokusili vysvětlit společné mechanismy pooperační bolesti a oxidačního stresu. Chtěli jsme objektivizovat biochemické změny při akutní pooperační bolesti na podkladě pooperačního stresu.

**Tato studie představuje kombinaci experimentálního přístupu k řešení změn vznikajících při různých typech bolesti a klinické aplikace vlivu preemptivní analgezie na průběh pooperační bolesti.**

### 3.Hypotézy

1. Jak působí akutní bolest na organizmus a je možné tyto změny změřit a popsat?
2. Je možná objektivní evaluace akutní bolesti použitím různých biochemických parametrů a zejména volných radikálů?
3. Kterým typem analgetik dosáhneme kvalitní preemptivní a následně pooperační analgésie?
4. Zda kromě nalezení optimální preemptivní a pooperační analgésie lze rovněž objasnit společné mechanismy pooperační bolesti a oxidačního stresu.

### 4.Materiál a metodiky

#### 4.1. Experimentální část studie –laboratorní potkani

Všechny pokusy provedené na laboratorních potkanech byly schváleny Komisí pro ochranu pokusných zvířat 3. Lékařské fakulty UK v Praze, které jsou v souladu s předpisy IASP (Mezinárodní asociace pro studium bolesti), pokyny NIH (Národního ústavu zdraví) USA pro péči a používání laboratorních zvířat a Direktivou Rady Evropské Unie z 24.11 1986 (86/6090/EEC). Pro experimenty jsme použili 31 dospělých samců potkanů (kmene Wistar). Zvířata o váze 250-300 gramů byla chována v plastových akváriích s měkkou podestýlkou. Měla volný přístup k potravě a vodě a byla ustájena v režimu 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Použili jsme dva typy animálních modelů pro opakovanou akutní bolest mechanickou stimulací, při níž byla zvířata byla stimulována 10 minut 5 po sobě jdoucích dnů pomocí svorek umístěných na obou zadních končetinách. Během měření EPR byli potkani v celkové anestézii s použitím směsí Ketaminu a Xylazinu a byly měřeny hydroxylové a nitroxidové volné radikály a singletový kyslík.

Cílem studie bylo prokázat, že jsou možná přímá měření hydroxylových radikálů a singletového kyslíku v ocasu živých laboratorních potkanů. Rovněž jsme se snažili prokázat účinky antioxidantů, které byly měřeny v ocase potkanů. Druhým zmíněným animálním modelem akutní pooperační bolesti u laboratorních potkanů byla laparotomie. Po sutuře a dokončení laparotomie se zvířata začala budit během 30-60 minut. Následně byli potkani ponecháni v klidu po dobu 2-3 hodin a před měřením EPR jim byla podána anestézie a byl sledován účinek antioxidantů na hydroxylové radikály a singletový kyslík v krvi v ocase potkanů. Laparotomie byla provedena v celkové anestézii, opět s použitím kombinace Xylazinu a Ketaminu. Antioxidační směs: vitamin A( $\beta$  karoten) 0,5 mg / kg,

vitamin C 3,5 mg / kg, vitamin E (Trolox  $\alpha$  - tokoferol ve vodě rozpustný vit. E) 5 mg / kg a Selen ve formě  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,25  $\mu\text{g}$  / kg byla podáván intramuskulárně před laparotomií. Všechna měření EPR byla provedena v ocasu znecitlivěných zvířat.

#### **4.2.Klinická část studie - pacienti**

Studii tvořili pacienti s diagnózou hernia inguinalis, u kterých bylo možné po operaci očekávat bolest s intenzitou větší než 5 měřenou pomocí VAS (Vizuální analogová škála). Celkem bylo do studie zařazeno 67 pacientů (55 mužů a 12 žen) hospitalizovaných na chirurgické klinice. Modelovým chirurgickým výkonem akutní pooperační bolesti byla herniotomie tříselné kýly. Pacienti byli náhodně rozděleni do tří skupin dle podávané preemtivní analgezie (Pethidin n=26, Morfin n=16, bez premedikace n=25). Pethidin byl podáván v dávce 0,5-0,7 mg/kg intramuskulárně a 1% Morfin v dávce 0,1-0,2 mg/kg intramuskulárně čtyřicet minut před výkonem. Tyto typy analgezie byly cíleně vybrány, protože jsou nejčastěji indikovány pacientům před chirurgickými výkony. Pro hodnocení intenzity bolesti a její objektivizaci jsme použili metody subjektivní a objektivní:

1. subjektivní hodnocení bolesti: VAS-vizuální analogová škála

2. objektivní hodnocení bolesti:

a) měření změn spekter lipidů, sacharidů a proteinů

b) měření změn metabolitů volných radikálů (NADPH oxidáza, SOD, GPX, Thioredoxin)

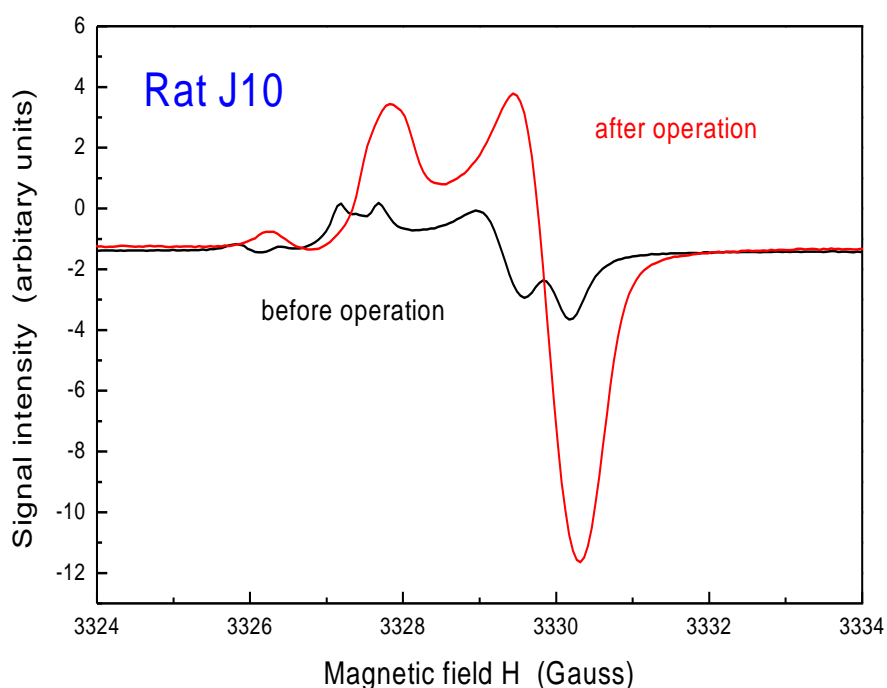
c) měření volných radikálů přímou metodou EPR (elektronová paramagnetická rezonance)

Krev pacientů jsme odebírali v následujícím časovém schématu, které jsme postupně testovali:

1. před premedikací a výkonem
2. 4 hodiny po výkonu
3. 24 hodin po výkonu

### 4.3. Přímé měření volných radikálů -EPR Metodika

Elektronová paramagnetická (spinová) rezonanční spektroskopie využívá interakce magnetického pole a mikrovlnné energie k identifikaci a stanovení volných radikálů, paramagnetických komplexů a excitovaných stavů. Volný radikál je částice s jedním případně i více nepárovými elektrony a zpravidla je velmi reaktivní. Pro studium krátkodobě žijících radikálů (nanosekundy) se využívá metoda spinového záchytu.



Obr.1. EPR spektrum hydroxylových radikálů v ocase laboratorního potkana, před a po laparotomii

### 4.4. Biochemické metody

*Superoxiddismutáza* je jeden z nejvýznamnějších enzymů v metabolismu reaktivních forem kyslíku (ROS). Katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku.

*Glutathionperoxidáza* nejvýznamnější scavenger peroxidu vodíku ve většině tkání (dnes se tato úloha přičítá peroxiredoxinům), nepochybně se však podílí na odstraňování této látky, pokud její koncentrace dosáhne patologicky vysokých hodnot. Při oxidativním stresu se aktivita GPx kompenzatorně zvyšuje, větší stres však poškozuje enzym a snižuje jeho aktivitu.

*NADPH oxidáza* se dnes považuje za jeden z nejdůležitějších producentů reaktivních forem kyslíku (ROS) v cévní stěně.

*Thioredoxin* je součástí peroxiredoxinového systému, který dle nových poznatků má klíčovou roli v odstraňování peroxidu vodíku. Při oxidačním stresu se prudce zvyšuje plasmatická koncentrace thioredoxinu.

Kromě těchto speciálních biochemických metod jsme sledovali běžné biochemické spektrum lipidového, sacharidového a proteinového metabolismu (LDL cholesterol, HDL cholesterol, celkový cholesterol, albumin, prealbumin, apolipoprotein A, apolipoprotein B, kyselina močová, glukóza, CRP).

#### **4.5. Statistické metody**

Pro statistické zpracování výsledků na experimentálních laboratorních potkanech byl použit párový T-test. Statistické zpracování výsledků u pacientů bylo provedeno programem SPSS s využitím modulů GLM (General Linear Model pro opakovaná měření).

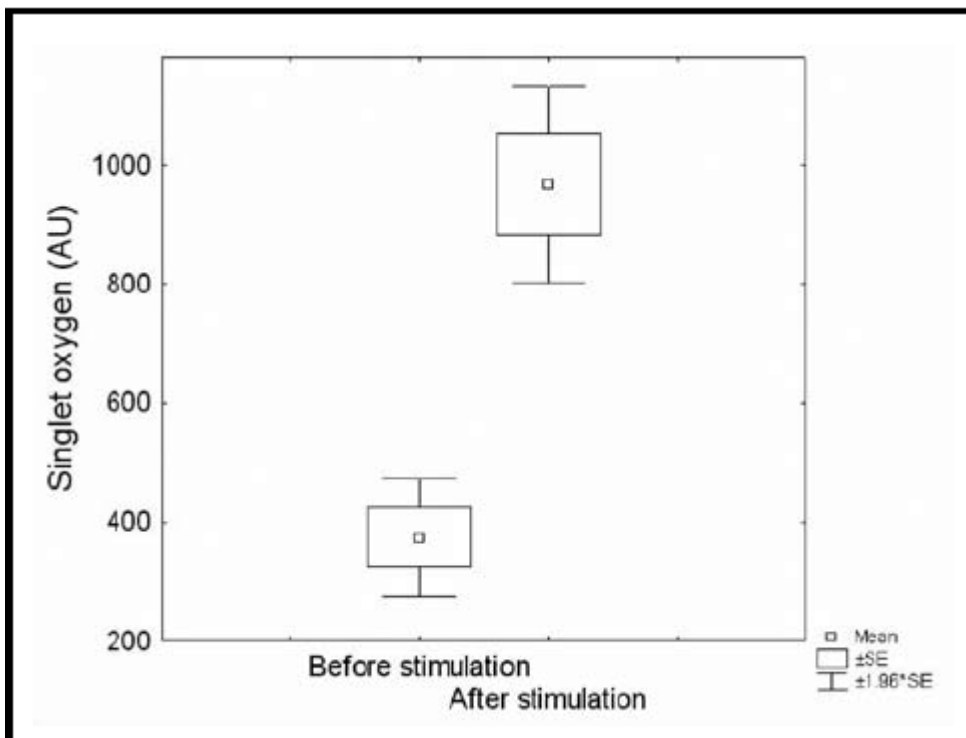
## 5. Výsledky

### 5.1. Výsledky experimentální části

Akutní bolest byla nejprve sledována na animálních modelech. Naše výsledky na laboratorních potkanech potvrdili předchozí nálezy o zvyšování volných radikálů po bolestivé stimulaci a jejich opětovné snížení po aplikaci antioxidantů. Prioritním nálezem jsou změny volných radikálů měřených přímou metodou EPR u živých anestetizovaných zvířat.

Po bolestivé stimulaci jsme prokázali výrazný nárůst hydroxylových radikálů ( $p=0.6$ )

A rovněž se vysoce signifikantně ( $p<0.01$ ) zvýšily hodnoty singletového kyslíku.



Obr 2. Hladina singletového kyslíku před a po nociceptivní stimulaci

Po podání směsi antioxidantů (viz metodika) se snižuje nocicepcí zvýšená hladina volných radikálů ( $p=0.04$ ).

V druhé části animálních experimentů jsme použili metodiku akutní bolesti somatické a viscerální vyvolané laparotomií u laboratorních potkanů. Měřili jsme hydroxylové radikály a singletový kyslík před a po operaci a po podání antioxidantů. Po laparotomii se hladina volných hydroxylových radikálů vysoce signifikantně zvyšuje ( $p=0.0003$ , tabulka 1).

Hladina singletového kyslíku (tabulka 1) byla také zvýšena po nociceptivní stimulaci-laparotomii.

	Mean ± SD	N	T test	p
<b>Hydroxyl radical</b>				
Before operation	771 ± 702	21	-4.41	0.0003
After operation	1368 ± 653			
	Mean ± SD	N	T test	p
<b>Singlet oxygen</b>				
Before operation	457 ± 259	11	-2.42	0.036
After operation	597 ± 141			

Tabulka 1. Hladina hydroxylových a singletového kyslíku hydroxylových radikálů před a po laparotomii (Mean-průměr SD-směrodatná odchylka, N-počet zvířat, p-hladina významnosti)

Jedné skupině laboratorních potkanů jsme podávali směs antioxidantů během pěti po sobě následujících dnů. Ve skupině potkanů, kterým byla aplikována antioxidační směs jsme zaznamenali nižší hladiny volných radikálů (tabulka 2).

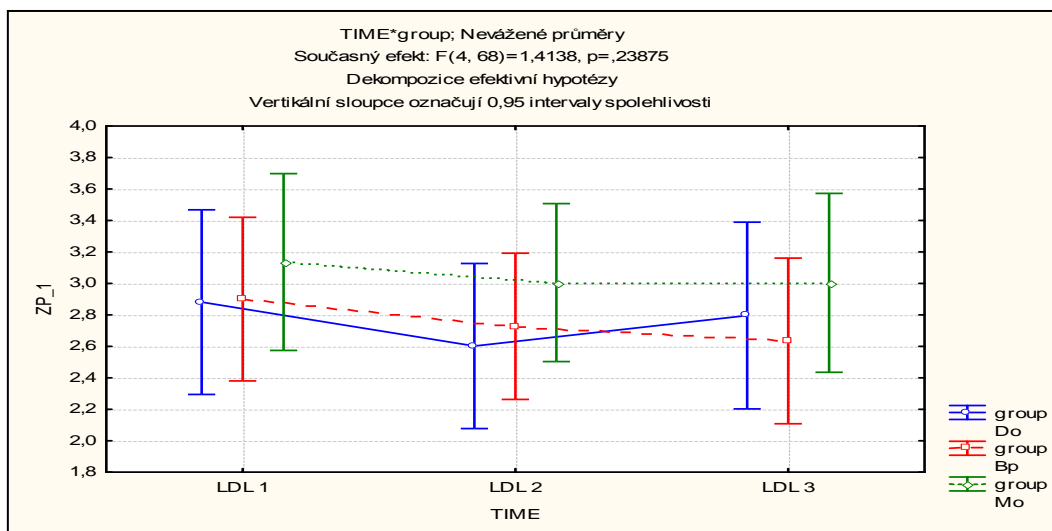
	Mean ± SD	N	T test	p
<b>Hydroxyl radical after operation and after antioxidants</b>				
After operation	405 ± 244	11	-2.50	0.031
After antioxidants	293 ± 238			

Tabulka 2. Průměrné hodnoty volných hydroxylových radikálů měřených v ocase potkanů po bolestivé stimulaci a po podání antioxidantů (Mean-průměr SD-směrodatná odchylka, N-počet zvířat, p-hladina významnosti).

## 5.2. Výsledky klinické části

### LDL cholesterol

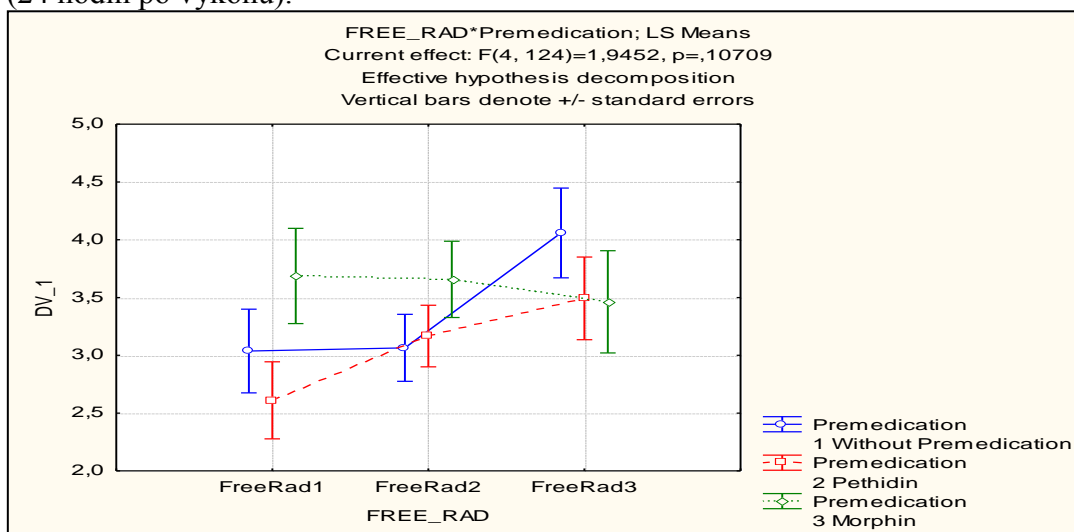
Pokles indexů pro LDL cholesterol je statisticky významný ve skupině pacientů s premedikací Morfin / $p=0.013$  u Friedmanova testu/, snížení je patrné rovněž ve skupině pacientů bez premedikace. Pro všechny tři skupiny pacientů dle premedikací klesá LDL cholesterol, nejvíce mezi prvním (před výkonem) a druhým odběrem (4 hodiny po výkonu).



Obr. 3. Hladiny LDL cholesterolu měřeného před operací, 4 hodiny po operaci a 24 hodin po operaci u pacientů rozdělených do 3 skupin dle premedikací Pethidin, Morfin a bez premedikace.

### Volné radikály

Hladiny volných radikálů se zvyšují u jednotlivých odběrů během pooperačního průběhu u pacientů s premedikací Pethidinu a bez premedikace. Po Morfinu se nesignifikantně snižují zejména ve třetím odběru. Nárůst naměřených hodnot volných radikálů je statisticky významný u pacientů bez premedikace mezi druhým (4 hodiny po výkonu) a třetím odběrem (24 hodin po výkonu).

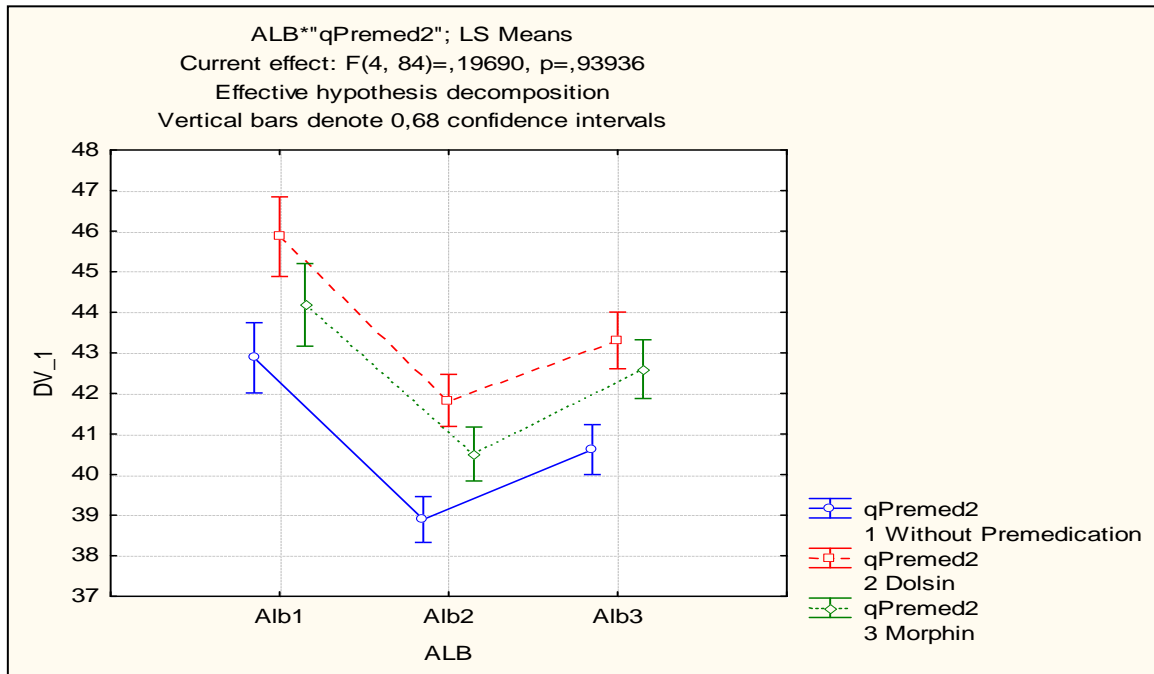


Obr. 4. Hladiny volných radikálů měřených před operací, 4 hodiny po operaci a 24 hodin po operaci u pacientů rozdělených do 3 skupin dle premedikací Pethidin, Morfin a bez premedikace.



## Albumin

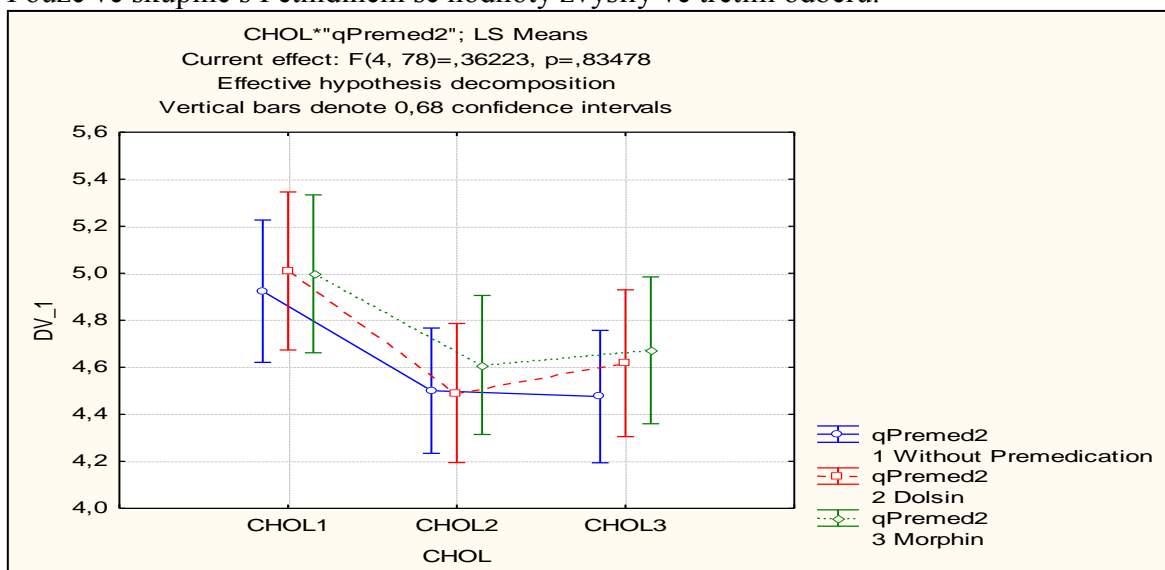
Statisticky významné jsou vyšší hodnoty albuminu u oběru krve pacientů před operací pro všechny typy premedikací / $p < 0.001$ . Signifikantně se zvyšuje hladina albuminu po třetím odběru (24 hodin po operaci).



Obr. 5. Hladiny albuminu měřeného před operací, 4 hodiny po operaci a 24 hodin po operaci u pacientů rozdělených do 3 skupin dle premedikací Pethidin, Morfin a bez premedikace.

## Celkový cholesterol

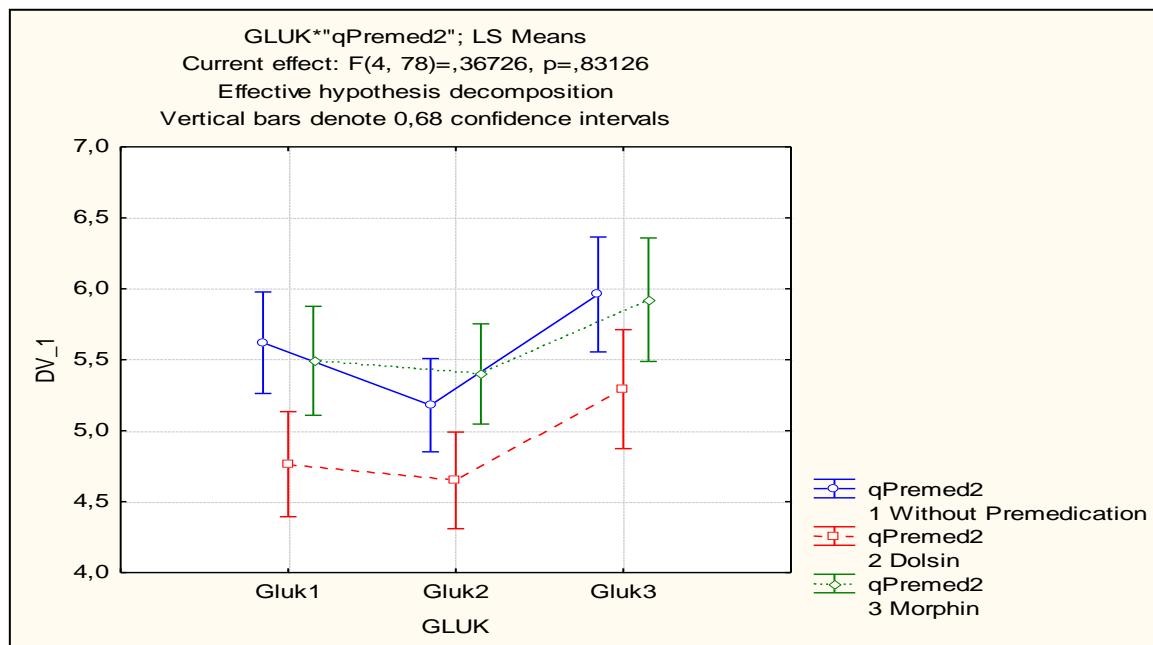
Hladina cholesterolu klesá mezi prvním a druhým odběrem pro pacienty se všemi druhy premedikací (Pethidin, Morfin, bez premedikace). Pokles hodnot u pacientů po operaci se jeví jako statisticky významný pro pacienty pro pacienty se všemi druhy premedikace. Pouze ve skupině s Pethidinem se hodnoty zvýšily ve třetím odběru.



Obr. 6. Hladiny celkového cholesterolu měřené před operací, 4 hodiny po operaci a 24 hodin po operaci u pacientů rozdělených do 3 skupin dle premedikací Pethidin, Morfin a bez premedikace.

## Glukosa

Nárůst hodnot byl vyhodnocen jako statisticky významný pro všechny tři druhy premedikací a stoupá mezi druhým (4 hodiny po výkonu) a třetím odběrem (24 hodin po výkonu).



Obr. 7. Hladiny glukózy měřené před operací, 4 hodiny po operaci a 24 hodin po operaci u pacientů rozdělených do 3 skupin dle premedikací Pethidin, Morfin a bez premedikace.

## VAS

Hodnoty VAS se statisticky významně liší při obou měření, před premedikací a 24 hodin po operaci ( $p < 0,001$ ). Při srovnání skupin pacientů dle premedikací se statisticky významně liší odpovědi pacientů po Morfinu a bez premedikace před operací, 24 hodin po operaci se lišily nejvýznamněji ( $p < 0,001$ ) hodnoty VAS ve skupinách s premedikacemi Morfinu vůči Pethidinu.

**Další statisticky významné rozdíly jsme změřili u prealbuminu, apolipoproteinu A, apolipoproteinu B, CRP.**

**Statisticky nevýznamné rozdíly jsme změřili u kyseliny močové, HDL cholesterolu, triacylglycerolu, celkové bílkoviny.**

## 6. Diskuze

### V naší studii jsme odpověděli na hypotézy takto

1. Jak působí akutní bolest na organismus a je možné tyto změny změřit a popsat?  
Akutní bolest zvyšuje volné radikály zejména hydroxylové a nitroxidové a také další marker oxidačního stresu singletový kyslík. To jsme prokázali experimentálně u laboratorních potkanů. Prioritním nálezem je zavedení metody přímého měření volných radikálů a singletového kyslíku v ocase živých anestetizovaných zvířat.
2. Je možná objektivní evaluace akutní bolesti použitím různých biochemických parametrů a zejména volných radikálů? Objektivní evaluace bolesti je možná nejen u akutní bolesti, ale i u opakované akutní bolesti a velmi pravděpodobně i u bolesti chronické. Důležitým nálezem je i možnost sledování průběhu změn volných radikálů a singletového kyslíku po podání antioxidantů. Prokázali jsme, že námi navržená kombinace antioxidantů snižuje bolesti zvýšené volné hydroxylové radikály a singletový kyslík.
3. Kterým typem analgetik dosáhneme kvalitní preemtivní a následně pooperační analgésie? Idea, že akutní pooperační bolest může být intenzifikována a fixována stavem neurální hyperexcitability, která byla způsobena chirurgickým výkonem byla objevena už v roce 1913 a následně za mnoho let myšlenku formuloval Wall (1988), který také předpokládal, že preemtivní předoperační analgésie může pomoci blokovat centrální neuronální senzitivizaci a redukovat akutní pooperační bolest. Preemtivní analgésie a její skutečný vliv na vznik a vývoj pooperační bolesti je diskutován několik let. Stejně tak definice preemtivní analgésie není jednotná a v současné době se více uvažuje o termínu preventivní analgézii. Preemtivní analgésie je a byla často označována různými termíny jako protektivní analgésie, balancovaná preemtivní analgésie, preemtivní předoperační analgésie.
4. Zde kromě nalezení optimální preemtivní a pooperační analgésie lze rovněž objasnit společné mechanismy pooperační bolesti a oxidačního stresu. Je známo, morfin má silný antioxidační efekt in vitro oproti různým antioxidantům v jako je Tokoferol. Z našich výsledků vyplývá, že antioxidační aktivita morfinu byla závislá na jeho koncentraci a na inhibici lipidové peroxidace. Pethidin je syntetická látka s velmi silným analgetickým účinkem. Pethidin se ukázal jako

jeden z neúčinnějších léčebných prostředků k zabránění pooperačního třesu (Terasako 2000). V současné době je však jeho používání v indikaci preemptivní analgezie a léčby bolesti obecně značně sporné a to nejen vzhledem k jeho nežádoucím účinkům.

**Práce byla podpořena Výzkumným záměrem 0021620816, Patofyziologie neuropsychiatrických onemocnění a její klinické aplikace.**

## **7.Literatura**

Aasvang E, Kehlet H. Chronic postoperative pain-the case of inguinal herniorrhaphy. Br J Anaesth 2005;95,69–76.

Bove GM, Ransil BJ, Lin H, Leem J. Inflammation induces ectopic mechanical sensitivity in axons of nociceptors innervating deep tissues. J Neurophysiol 2003;90:1949–55.

Holeček V, Rokyta R, Stopka P, Vlasák V, Singletový kyslík ( $^1O_2$ ), jeho přeměny a biologické účinky, Československá fyziologie 2007;56,4,152-157

Khan AU., Kasha M. Singlet molecular oxygen in the Haber-Weiss reaction. Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 1994; 91 (26),12365-12367

Křikava K., Kalla K., Yamamotová A., Rokyta R. Blood serum changes in patients with pain during bone fractures and acute pancreatitis. Neuroendocrinology Letters 2004; 25 (1/2),62-69

McCord, JM Fridovich, I: The reduction of cytochrome c by mlk xantine oxidase. J.Biol. Chem. 1968; 243,5753-5760

Peng KJ., Huang YS., An LN., Han XQ., Zhang JG., Wang QL., Sun J., Wang SR. Effect of ozone production from antibody catalyzed water oxidation on pathogenesis of atherosclerosis. Acta Biochim., Biophys. Sin. (Shanghai) 2006; 38 (6), 417-422

Pekárková I., Parara S., Holeček V., Stopka P., Trefil L., Racek J. Does exogenous melatonin influence the metabolism of free radicals and pain sensation in the rat? Physiological Research 2001; 50: 595-602

Rokyta R., Holeček V., Pekárková I., Krejčová J., Racek J., Trefil L., Yamamotová A. Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. Neuroendocrinology Letters 2003; 24, 5, 304-309

Rokyta R., Stopka P., Holeček V., Křikava K., Pekárková I. Direct measurement of free radicals in the brain cortex and the blood serum after nociceptive stimulation, Neuroendocrinology Letters 2004; 25 (4), 252-256

Rokyta R. et al, monografie Bolest, Tigris 2006; 77-97

Rutkow IM. Demographic and socioeconomic aspects of hernia repair in the United States in 2003. *Surg Clin North Am* 2003;83,1045–51

Štípek Stanislav et al: *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*, Grada, 2000

Terasako K, Yamamoto M. Comparison between pentazocine, pethidine and placebo in the treatment of postanesthetic shivering. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2000;44,311-312.

Weil JA., Bolton JR., Wertz JE. *Electron Paramagnetic Resonance. Elementary Theory and Practical Applications*. In: J. Wiley and Sons, N. Y. 1994; 492-518

## 8. Seznam vlastních publikací

1. Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace s impact factorem

**The evaluation of nociceptive intensity by using free radicals, direct measurement by EPR method in the tail of anaesthetized rats**

Richard Rokyta, Pavel Stopka, Eva Kafaňková, Jana Křížová, Jitka Fricová, Neuroendocrinology Letters 2008;29(6), 1007-1014, IF: 1,404

**The effect of laparotomy on hydroxyl radicals, singlet oxygen and antioxidants measured by EPR method in the tails of rats**

Jitka Fricová, Pavel Stopka, Jana Krizova, Anna Yamamotova, Richard Rokyta, Neuroendocrinol Letters 2009; 30(3):1-000, 153-157, IF:1,359

**The influence on postoperative analgesia by preemptive analgesia and its objective evaluation**

Jitka Fricova, Martin Vejražka, Pavel Stopka, Jana Krizova, Jaromír Běláček, Richard Rokyta, Archives of Medical Sciences 2010; 6,5: In press, IF:1,012

bez impact faktoru

**Léčba akutní pooperační bolesti -doporučený postup České společnosti anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny**

Pavel Ševčík, Jiří Málek, David Bejšovec, Jitka Fricová, Tomáš Gabrhelík, Jitka Fricová, Ivo Křikava, Jan Lejčko, Dušan Mach, Vladimír Mixa, Michaela Vojtišková, Bolest 2008;11,3

2. Publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

bez IF

**Bolest pacienta chronickou ránou** Fricová J, Koutná M, Bolest 2010; 13,3, 128-134

**Stimulace motorické mozkové kůry-nový pohled** Masopust V, Ostrý S, Beneš V, Fricová J, Bolest 2010;13,3, 135-139

**Intranazální fentanyl-nová léková forma pro léčbu průlomové bolesti u onkologických pacientů** Fricová J, Remedia 2009;19,6,469-471

**Postherpetická neuralgie** Fricová J, Bolest 2009;12,3,144-145

**Aplikace hyázy v léčbě pooperační epidurální fibrózy – review** Masopust V, Häckel M, Fricová J., Bolest 2007; 10,4, 207-210

**Videotorakoskopická hrudní sympatektomie v léčbě refrakterní anginy pectoris** Dobiáš M., Demeš R., Semrád M., Fricová J., Buncová M., Stříteský M. Bolest 2007;10, 1, 35-43

**rTMS v léčbě bolesti** Fricová J, Lékařské listy 2007;15,14, Příloha Zdravotnických novin 2007; 56, 35-36

**Implantabilní intravenózní porty** Fricová J, Stříteský M, Bolest 9, 3,2006, 176-183

**Implantabilní porty v léčbě chronické bolesti** Fricová J, Stříteský M, Medical Tribune, 2006 ;II, 28

**Port- nový trend v aplikaci léčiv** Stříteský M, Fricová J, Jak na bolest, příloha časopisu Bolest určená pro pacient), 2006,42-50

**Etika a léčba bolesti** Fricova J, Postgraduální medicína 2005;4,7:příloha:Bolest pro praktické lékaře,63-66

**Etika a léčba bolesti** Fricova J, Sanguis 2005;41,28-30

**Léčba bolesti jako součást hojení ran** Fricova J, Sestra 2005;11,Mimořádná příloha: Hojení ran, 6-7

**Pooperační a poúrazová bolest** Fricova J, Jak na bolest, příloha časopisu Bolest určená pro pacienty,2005;1,24-29

### 3. Abstrakta

#### **Refrakterní angina pectoris v ordinaci algeziologa**

Fricova J Bolest 2010; 13,suppl 2, Československé dialogy o bolesti Olomouc, 2010

#### **rTMS jako neinvazivní neuromodulační metoda**

Fricová J, Klířová M, Šoš P, Tišlerová B, Häckel M, Masopust V, Novák T, Rokyta Bolest 2010; 13,suppl 2, Československé dialogy o bolesti Olomouc, 2010

#### **Repetitive transcranial stimulation in chronic orofacial neurogenic pain treatment**

Fricová J, Klířová M, Šoš P, Tišlerová B, Häckel M, Masopust V, Novák T, Rokyta R, Congress on Pain, WIP, NY, 2009

#### **Role of antioxidants on elevated hydroxyl radicals and singlet oxygen measured by EPR method in the tail of living rats**

Fricova J, 6th Congress of IASP, EFIC Pain, Lisbon, Portugal, 2009

#### **Repetitivní transkraniální magnetická stimulace v léčbě chronické bolesti**

Fricová J, Šoš P, Tišlerová B, Häckel M, Masopust V, Novák T, Rokyta R, Bolest 2009; 12, suppl 2, Československé dialogy o bolesti Brno, 2009

#### **rTMS v léčbě neuropatické bolesti**

Fricová J, Šoš P, Tišlerová B, Häckel M, Masopust V, Novák T, Rokyta R, Bolest, 2009; 12, 2. Neuromodulační den, Praha, 2009

#### **Polyneuropatie indukovaná chemoterapií**

Fricová J, Bolest 2008; 11, suppl 2, Československé dialogy o bolesti Nitra, 2008

#### **Free radicals changes after surgical interventions with different types of premedications**

Fricová J, Vejražka M, Stopka P, Křížová J, Rokyta R, 12<sup>th</sup> World Congress on Pain, Glasgow, 2008

#### **The direct measurement of free radicals by using the EPR method for the evaluation of pain intensity**

Rokyta R, Holeček V, Hálová J, Křížová E, Stopka P, Fricová J, Physiological Research, 2008; 57, 2

#### **Repetitivní transkraniální magnetická stimulace rTMS v léčbě chronických bolestí**

Rokyta R, Fricová J, Häckel M, Klířová M, Masopust V, Neradilek F, Bolest 2007; 10, 4, 1. Neuromodulační den Praha, 2007

#### **Změny volných radikálů u různých druhů premedikace u chirurgických výkonů**

Fricová J, Vejražka M, Stopka P, Křížová J, Hálová J, Hrabánek J, Rokyta R, Bolest 2007; 10, suppl 2, Československé dialogy o léčbě bolesti, Štrbské Pleso, 2007

#### **Direct measurement of free radicals using the EPR method for the evaluation of nociception**

Fricova J., Stopka P., Křížová E., Holeček V., Rokyta R. 3<sup>rd</sup> International Forum on pain Medicine, Montreal, 2007

#### **Direct measurement of free radicals in the tail of anaesthetized rats by using the EPR method**

Fricová J, Stopka P, Křížová E, Yamamotová A, Rokyta R, 5<sup>th</sup> congress of the European Federation of IASP Chapters (EFIC), Istanbul, 2006

#### **Naše zkušenosti s videotorakoskopickou sympatektomií v léčbě refrakterní anginy pectoris**

Dobiáš M, Fricová J, Demeš R, Střítecký M, Buncová M, Bolest, 2006; 9, suppl 2 Československé dialogy o léčbě bolesti, České Budějovice, 2006

#### **Endoscopic thoracic sympathectomy in the treatment of pain in patients with refractory angina**

Stříteský M, Dobiáš M, Fricová J. 11<sup>th</sup> World congress on Pain, IASP, Sydney 2005

**The possible use of implantable ports in the treatment of chronic pain**

Fricová J., Stříteský M., 11<sup>th</sup> World congress on Pain, IASP, Sydney, 2005

**Biochemické změny u chronické bolesti u onkologických a neonkologických pacientů**

Rokyta R, Yamamotová A, Fricová J, Haklová O., Bolest 2005;8, suppl 2, Československé dialogy o bolesti Bojnice, 2005

4. Kapitoly v monografiích

**Praktický rádce pro onkologické pacienty** Jana Karešová a kolektiv, Maxdorf, 2010

Fricová J, Stříteský M Když zlobí žíly, 44-70

**Bolest a jak s ní zacházet** Richard Rokyta a kolektiv, Grada, 2009

Akutní a chronická bolest 32-40

Bolesti hlavy 41-49,

Bolesti břicha 57-65,

rTMS 121-123,

Diagnostika a výhledy léčby bolesti 153-155,

**Bolest:** Rokyta R, Kršiak M, Kozák J, Tigis, 2006

Fricová J, Šimek J: Etika a léčba bolesti, 35-40,

Fricová J, Stříteský M: Implantabilní porty v léčbě bolesti, 579-587