

Utjecaj uređaja izvantjelesne membranske oksigenacije (ECMO) na promjenu koncentracije lijeka rokuronij bromid

Lovrinov, Tanja

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:764107>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

Tanja Lovrinov

**UTJECAJ UREĐAJA IZVANTJELESNE
MEMBRANSKE**

**OKSIGENACIJE (ECMO) NA
PROMJENU KONCENTRACIJE
LIJEKA ROKURONIJ BROMID**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

Tanja Lovrinov

**UTJECAJ UREĐAJA IZVANTJELESNE
MEMBRANSKE**

**OKSIGENACIJE (ECMO) NA
PROMJENU KONCENTRACIJE
LIJEKA ROKURONIJ BROMID**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko goranske županije, a uzorci su sakupljeni u Kliničkom bolničkom centru Rijeka

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Željko Jovanović, dr. med., mr. oec.

Rad ima 30 listova i 4 tablice

Zahvale:

Zahvaljujem izv. prof. Željku Jovanoviću, dr. med., mag. oec na stručnom i savjesno vođenom mentorstvu, kao i na pružanju potpore, savjeta i lijepe riječi.

Posebno zahvaljujem dr. sc. Igoru Dubroviću i Nastavnom zavodu za javno zdravstvo PGŽ na iskazanom trudu, razumijevanju i pomoći tijekom izvođenja rada.

Zahvaljujem i svim djelatnicima KZLD Sušak na iskazanom razumijevanju.

I na kraju, ništa manje važno, zahvaljujem svojoj obitelji, sinu Franetu i svojim prijateljima koji su me bodrili i bili uz mene, podržavali me i vjerovali u mene. Hvala Vam!

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Izvantjelesna membranska oksigenacija	1
1.1.1. Povijesni razvoj ECMO potpore.....	1
1.1.2. Osnovni dijelovi ECMO sustava.....	2
1.1.3. Oblici ECMO potpore.....	3
1.1.4. Komplikacije ECMO sustava.....	3
1.2. Miorelaksatori.....	4
1.2.1. Povijest anestezije.....	4
1.2.2. Mehanizam djelovanja relaksansa.....	4
1.2.3. Rokuronij.....	5
1.3. Kromatografija.....	6
1.3.1. Plinska kromatografija.....	7
1.3.2. Masena spektrometrija (MS)	8
1.3.3. Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC/MS)	8
2. HIPOTEZA	9
3. CILJEVI	10
4. MATERIJALI I METODE	11
4.1. Ustroj studije.....	11
4.2. Ispitanici.....	11
4.2.1. Priprema uzoraka.....	11
4.2.2. Kemikalije.....	12
4.3. Metode.....	12
4.3.1. Statističke metode.....	13
5. REZULTATI	14
5.1. Vrijednosti koncentracija lijeka u venskom i arterijskom uzorku.....	14
5.2. Vrijednosti koncentracija lijeka u venskom krvi.....	16
5.3. Vrijednosti koncentracija lijeka u arterijskoj krvi	16
5.4. Razlike u vrijednosti koncentracija lijeka u venskoj i arterijskoj krvi.....	17
6. RASPRAVA	19
7. ZAKLJUČAK	21

8. SAŽETAK.....	22
9. SUMMARY.....	23
10. LITERATURA.....	24
11. ŽIVOTOPIS.....	26

1. UVOD

1.1. Izvantjelesna membranska oksigenacija (engl. Extra Corporeal Membrane Oxygenation, ECMO)

Izvantjelesna membranska oksigenacija (engl. Extra Corporeal Membrane Oxygenation, dalje u tekstu ECMO) je postupak koji omogućuje privremenu mehaničku cirkulaciju i osigurava bolesnicima s neadekvatnim radom pluća i/ili srca respiratornu potporu. Njime se spašavaju životi u kritičnoj fazi kada konvencionalno liječenje više nema rezultata. Glavna svrha primjene ECMO-a je potpora u održavanju hemodinamske i respiracijske stabilnosti pacijenta. Indikacije za uvođenje ECMO potpore su najčešće kod visokorizičnih zahvata na srčanim krvnim žilama, nakon kardiopulmonalne reanimacije te kao potpora do ugradnje mehaničkih cirkulacijskih uređaja ili transplantacije organa. ECMO sustavom se ne liječi osnovna bolest, već se omogućava osiguravanje zadovoljavajuće opskrbe tkiva kisikom i uklanjanje ugljikovog dioksida kao produkta metabolizma.

1.1.1. Povijesni razvoj ECMO potpore

Godine 1971. zabilježena je prva uspješno primijenjena ECMO potpora, a postavljena je pacijentu s traumatskim ARDS-om. Samo četiri godine kasnije torakalni kirurg dr. Barlett u Americi uspješno primjenjuje ECMO postupak na novorođenčetu u slučaju postporođajne aspiracije mekonija (1).

Godine 1979. Kolobow i Gattinoni prvi puta opisuju upotrebu ECMO sustava u svrhu uklanjanja ugljičnog dioksida iz krvi. Nacionalni institut za srce, pluća i krv (National Heart, Lung and Blood Institute) u Sjedinjenim Američkim Državama 1979. godine objavljuje prvu studiju o učinkovitosti izvantjelesne potpore kod pacijenata s respiratornim zatajenjem. Rezultati su bili takvi da se desio privremeni prestanak primjene ECMO podrške u kliničkoj praksi većine bolnica jer 90% ispitanika nije imalo pozitivan ishod. Vrlo malen broj kliničara se odlučivao za provođenje ove metode liječenja kod odraslih, dok je kod dječje populacije ostao u primjeni kod liječenja respiratornih smetnji (2).

Do pojave pandemije gripe H1N1 2009. godine vrlo je malen broj ljudi liječen ECMO potporom, a nakon objave rezultata CESAR ponovno raste interes (3).

Godine 1989. osniva se ELSO udruženje (Extracorporeal Life Support Organizations) koje djeluje do danas s više od 5000 bolničkih centara uključenih u primjenu ECMO liječenja (4).

1.1.2. Osnovni dijelovi ECMO sustava

Osnovni dijelovi ECMO sustava su membranski oksigenator koji vrši izmjenu plinova, centrifugalna pumpa koja pokreće ekstrakorporalni protok, cijevi i kanile pomoću kojih se pacijent spaja na izvantjelesnu cirkulaciju, mješalac plinova i grijaća jedinica.

Izmjena plinova koja ovisi o protoku krvi, brzini protoka zraka i koncentraciji kisika odvija se u oksigenatoru i ne ovisi o bolesnikovoj nativnoj srčanoj i plućnoj funkciji niti o postavkama na mehaničkom ventilatoru. Brzina protoka krvi i koncentracija kisika koji ulazi u oksigenator dominantno određuje razinu kisika koji se isporučuje iz oksigenatora, a brzina protoka kisika određuje razinu ugljičnog dioksida. U početku su membrane oksigenatora bile napravljene od polietilena, dok su današnje silikonske. Membrana sadrži milijune mikropora koje su izgrađene od vlakana hidrofobnih polimera kroz čiji lumen teče kisik, dok oko njih protječe krv. Ovim načinom se krv ne miješa s plinovima. Difuzija i prijenos plinova kroz membranu oksigenatora ovisi o površini membrane i karakteristikama hidrofobnih vlakana, kao i o visini protoka krvi koja ulazi u oksigenator te brzini protoka kisika kroz oksigenator. U novije vrijeme membrane se izrađuju od polimetilpentenskih šupljih vlakana koja pružaju mogućnost bolje oksigenacije krvi na manjoj površini. Glavni cilj u izradi dijelova ECMO sustava je proizvesti dijelove sa što manjom površinom i velikom učinkovitošću i ujedno omogućiti visoku kompatibilnost s krvlju kako bi se izbjegle komplikacije koagulacijskog i imunološkog odgovora. Iskustva s polimetilpentenskim oksigenatorima ustanovili su efikasnost u oksigenaciji s ograničenim upalnim procesima i smanjenim potrebama za transfuzijom (5).

Ispod oksigenatora smještena je centrifugalna pumpa pomoću koje se krv dovodnim linijama usmjerava u oksigenator. Novije pumpe imaju nisku razinu stvaranja hemolize i male su zapremine. Kod dužeg korištenja, zbog velike turbulencije krvi tijekom protoka kroz pumpu,

mogući je nastanak hemolize. Prema istraživanjima, do hemolize može doći i zbog stvaranja mikro mjehurića zraka razvojem visokog negativnog tlaka u dovodnoj liniji (6). Stagnacija i zagrijavanje krvi u centrifugalnoj pumpi mogu dovesti do nastanka tromba. Uzroci stagnacije krvi su najčešće nizak protok ili začepljenje odvodne linije (6, 7).

Drenaža ili odvodna linija odvodi oksigeniranu krv iz oksigenatora, a spaja se na arterijsku (odvodnu) kanilu koja izlazi iz izabrane arterije ili ascendentne aorte, ovisno o ECMO potpore.

Elektronski mješač plinova je uređaj koji daje određeni postotak u oksigenator i željenu brzinu protoka kisika. Cijevima je spojen na regulator kisika i komprimiranog zraka u konzoli te je s cijevi također spojen na oksigenator. Interna baterija, kada je potpuno puna, omogućava rad mješača plinova do 5 sati. Grijaća jedinica kontrolira bolesnikovu temperaturu grijući ili hladeći krv koja prolazi kroz oksigenator.

1.1.3. Oblici ECMO potpore

ECMO potpora može biti konfigurirana na dva načina:

- veno-arterijska (VA),
- veno-venska (VV).

VA ECMO dizajniran je tako da uzima vensku krv preko centralne vene, izmjenjuju se plinovi putem oksigenatora i krv se vraća u tijelo kroz kanilu u arterijski sustav. Uz respiratornu, pacijentu pruža i hemodinamsku potporu. VA ECMO se primjenjuje kod zatajenja srca i/ili srca i pluća. VA ECMO je oblik privremene mehaničke cirkulacijske potpore i istovremene oksigenacije kod akutnih kardiorespiratornih zatajenja (8).

VV ECMO obavlja izmjenu plinova i povratak krvi u venski sustav bez hemodinamske podrške. Koristi se kod bolesnika s izoliranim plućnim zatajenjem, ali s očuvanom srčanom funkcijom (9).

1.1.4. Komplikacije ECMO sustava

S obzirom na invazivnost i brojne nefiziološke karakteristike kao što su nepulzativni krvotok, hemodilucija, dilucija faktora koagulacije, hemoliza i aktivacija sistemskog upalnog odgovora, ECMO potpora ima niz komplikacija koje mogu utjecati na tijek liječenja i potencijalno uzrokovati

smrt. Unaprjeđenjem tehnike, uvođenjem novih materijala i sve većom edukacijom osoblja brojne komplikacije se svode na minimum. Hemoragične i tromboemboličke komplikacije ostaju glavna prijetnja liječenja ECMO potporom i najčešći su uzročnici smrti.

1.2. Miorelaksatori

Mišićni relaksatori su grupa lijekova koja se koristi u anesteziološkom liječenju. Prilikom izvođenja anestezije, osim što pacijent treba biti bez svijesti, ne smije osjećati bolove, ne smije se pomicati i ne smije se sjećati zahvata. Tek kombinacijom anestetika mogu se zadovoljiti ovi uvjeti. Mišićni relaksatori djeluju tako da blokiraju prijenos živčanih impulsa i uzrokuju mišićnu paralizu.

1.2.1. Povijest anestezije

Povijest anestezije seže u daleku prošlost, još u vrijeme kada su Indijanci namakali strelice u otrove amazonskih biljaka i time ubijali svoje neprijatelje. Smrt bi nastupila zbog otrova kurarea koji je djelovao na nikotinske acetilkolinске receptore što bi posljedično vodilo prestanku disanja uz očuvanu svijest. Godine 1932. kurarea se primjenjuje u medicinske svrhe za liječenje tetanusa, a 1942. godine kanadski anesteziolozi Harold Randall Griffith i Enid Johnson prvi puta koriste relaksans d-tubokuranin za opću anesteziju. Od tada kreću promjene u anesteziološkoj praksi. Uz lakšu intubaciju, lakše je i izvođenje kirurških zahvata na relaksiranom trbuhu. Godine 1952. prvi se puta upotrebljava sukcinil-kolin koji ima brzi nastup i kratko trajanje, a pripada skupini depolariziranih relaksansa. U praksu se postepeno uvode pankuronij (1967.), atrakurij i vekuronij (1980.). Rokuronij se uvodi 1990. godine i prvi je nedepolarizirajući relaksans koji se pokazao kao zamjena sukcinil-kolinu za brzu indukciju i prevenciju aspiracije (10).

1.2.2. Mehanizam djelovanja relaksansa

Akson motornog živca i neuromišićna spojnica su ključna mjesta djelovanja relaksansa. Svi enzimi i proteini, komponente membrane i makromolekule potrebne za sintezu, oslobađanje acetil-kolina (ACh) i skladištenje se sintetiziraju u aksonu. Iz acetil CoA i kolina u citoplazmi, posredstvom

kolin-acetil transferaze (CAT), nastaje ACh koji se pohranjuje u mjehuriće. Spoj mišića i živčanog završetka zove se neuromišićna spojnica. Na njezinoj postsinaptičkoj membrani se nalaze nabori s nikotinskim receptorima i Na-kanalima. Kada dođe do akcijskog potencijala živca, aktiviraju se Ca-kanali i kalcij odlazi u živčani završetak. Fosforilacijskim reakcijama iz mjehurića se otpušta ACh koji reagira s nikotinskim receptorima, otvarajući pritom ionske kanale u središtu receptora (ioni Na, Ca prema unutra, K van) izazivajući depolarizaciju ili kontrakciju. U isto vrijeme ACh – esteraza razgrađuje otpušteni ACh na kolin i octenu kiselinu u sinaptičkoj pukotini (10). Nedepolarizirani relaksatori vežu se na ista mjesta, ali ne depolariziraju motoričku ploču. Oni interferiraju sa neuromuskularnim prijenosom na tri načina: sprječavaju vezanje ACh na motoričku ploču, blokiraju kanale fizičkom blokadom, sprječavaju kretanje ACh s mjesta sinteze prema mjestu oslobađanja blokirajući Na kanale (11). Također, kompetitivnom inhibicijom s ACh djeluju na prijenos živčanih impulsa (11, 12). Rasti će koncentracija acetil kolina, a padati koncentracija nedepolarizirajućih relaksatora. Inhalacijski anestetici pojačavaju intenzitet djelovanja mišićne relaksacije, dok stanje hipotermije produžuje učinak zbog smanjenog izlučivanja putem bubrega (11). Da bi ubrzali postupak oporavka od relaksatora, koriste se antagonisti. Oni djeluju tako da povećavaju koncentraciju acetil-kolina inhibicijom kolinesteraze na završnoj ploči. U njih spadaju neostigmin, edrofin i piridostigmin. Preporuka je koristiti ih nakon što se spontano vrati mišićna aktivnost (11).

1.2.3. Rokuronij

Rokuronij pripada nedepolariziranim mišićnim relaksansima. Kompetitivnom inhibicijom acetil-kolina djeluju na neuromuskularnu spojnicu. Dijelimo ih na prirodne alkaloidne i njihove derivate, aminosteroide i benzilizokinolone. Prema dužini djelovanja, dijele se na kratko, srednje i dugo djelujuće (11, 12). Prema ovim podjelama, rokuronij je srednje dugo djelujući aminosteroid. Djelovanje počinje 60-90 sekundi nakon aplikacije, a klinički učinak traje 30-60 minuta. Već nakon 45-90 minuta više od 95% lijeka se razgradi (11, 12). Koristi se kod trahealne intubacije. Nakon njegove primjene, doza lijeka se iz centralnog odjeljka plazme pomiče ka periferiji u razna tkiva. Kako su to polarne molekule, ne prolaze staničnu membranu pa je volumen distribucije podjednak volumenu ekstracelularne tekućine (11). U fazi eliminacije koncentracija lijeka u

plazmi pada i postaje niža nego u tkivima pa, prema koncentracijskom gradijentu, lijek se iz periferije pomiče ka centralnom odjeljku. Rokuronij ima kraće trajanje zbog dvostrukog puta izlučivanja, a to su jetra i bubrezi. Kod bubrežnih bolesti učinak lijeka je produljen, a time i eliminacija lijeka (11, 12).

1.3. Kromatografija

Kromatografija je metoda pomoću koje se razdvaja smjesa tvari na skupine ili pojedinačne komponente (13). Tek tada se može raditi kvantifikacija razdvojenih tvari. Separacija se obavlja na osnovu nekog fizikalno kemijskog svojstva (topivost u mastima, ionski naboj, veličina molekula). Prema tehnici izvođenja kromatografija može biti: tankoslojna, tekućinska i plinska. Kromatografski se sustav dijeli na dvije faze, stacionarne - polarnije i mobilne - manje polarne. Stacionarna faza je kruta, tekuća ili gel. Mobilna može biti tekuća ili plinovita. Kroz stacionarnu fazu prolazi mobilna faza preko kromatografske kolone (13). Sile djeluju na tvar tako da jedna sila zadržava tvar u stacionarnoj fazi, a druga sila djeluje na tvar iz mobilne faze. Tvar se djelovanjem sile veže na stacionarnu fazu, ali isto tako uslijed djelovanja sile iz mobilne faze, prelazi na mobilnu fazu (13). Taj prelazak se stalno izmjenjuje za vrijeme kromatografskog postupka, održavajući tako ravnotežu između dvije faze, tj. teoretski tavan (13). Kod tankoslojne kromatografije o međudjelovanju obje sile govori nam faktor zadržavanja, a kod tekućinske i plinske kromatografije međudjelovanje nazivamo vremenom zadržavanja. To objašnjavamo vremenom između početka procesa razdvajanja i izlaska iz kolone (13). Porastom temperature slabe sile u stacionarnoj fazi i skraćuje se vrijeme zadržavanja. Brzina protoka mobilne faze utječe na brzinu razdvajanja tvari na stacionarnoj fazi. Na početku rada potrebno je izolirati ciljani spoj kako bi povećali osjetljivost i spriječili kontaminaciju kolone (13). Uzorke pripremamo različitim tehnikama kao što su: precipitacija proteina, ekstrakcija tekuće-tekuće, ekstrakcija na čvrstoj fazi, derivacija, hidroliza (13). Nedostatak kromatografije je njena dugotrajnost izvođenja. Najčešće se koristi u toksikologiji i farmakokinetici (13).

1.3.1. Plinska kromatografija

Martin i Signer su 1952. godine uveli plinsku kromatografiju kao tehniku razdvajanja supstanci. Sastoji se od dva dijela. Prvi dio je mobilna faza koja je plin i stacionarna faza koja može biti tekuća ili kruta (13). Plinskom kromatografijom mogu se ispitivati spojevi koji, preneseni u plinsko stanje, dosežu temperaturu nižu od 400°C. Uzorak koji se upari injektira se na početku kolone i, nošen plinom, prolazi kroz kolonu u kojoj se razdvajaju tvari zbog različitih svojstava i različitom brzinom dolaze do detektora. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su: rezervoar za plin, nositelj injektora, kolone s pećnicom, detektor i pisac te računalo koje analizira sve podatke. Najčešće se koriste dušik, helij, vodik ili argon (13). Protok plina mora biti konstantan i imati visoku čistoću. Pomoću injektora se unosi uzorak u kromatograf. On može biti automatski i ručni. Na temperaturi od 30-50°C prevodi lako hlapljive komponente u plinovito stanje. Koja vrsta injektora se koristi ovisi o više čimbenika. Najvažniji su vrsta uzorka, količina i osobine analita, vrsta kolone i stacionarne faze. Vrste injektora su: bez septuma, s hlađenjem, na ventiliranje, s mogućnošću zaobilazanja septuma, injektor kapilarne kolone, za automatsko nanošenje. Kolone mogu biti punjene i kapilarne i one su najvažniji dio kromatografije. Punjene su dužine od 1,5 do 3 metara s promjerom od 2-8 milimetra i mogu biti od čelika, bakra, stakla, aluminijske i plastike. Pećnica služi za temperiranje kolone, a ovisi o vrelištu uzorka. Izotermni, prirodni i linearni su najčešći programi temperiranja (13). Nakon razdvajanja uzorka, detektor mjeri promjene u plinu koji izlazi iz kolone. On mora biti selektivan, osjetljiv, mora imati linearno radno područje i malu varijaciju za niske koncentracije. Minimalna količina koja se može detektirati daje signal. Kada se stacionarna faza otopi u nekom organskom otapalu (eter, aceton, kloroform), dodaje se krutom nosaču. Tada se otapalo do kraja upari u rotavaporu. S tako pripremljenom stacionarnom fazom puni se kolona i zagrijavanjem stabilizira. Nosači stacionarne faze građeni su od silikagela. Površina je prekrivena silanolnim (Si-OH) i siloksan (Si-O-Si) skupinama koje reagiraju s otopinom ili otapalom (14). Da bi se smanjila površinska napetost, potrebno je izvesti kemijsku derivatizaciju s dimetil diklorsilanom ili heksametildisilanom. Efektom razvlačenja, tzv. *tailing* faktor se mjeri inertnost nosača. Što su sitnije čestice nosača to su bolje raspoređene pa je brzina putovanja uzorka kroz kolonu smanjena i posljedično je sposobnost odjeljivanja kolone brža (14). Veličina zrna nosača je u rasponu od 80-100 ili 100-120 mesha. Da bi stacionarna faza bila što djelotvornija prema uzorku bitno je da je nehlapljiva, toplinski stabilna i da je kemijski inertna prema uzorku koji se ispituje. Kako bi odabrali što bolju stacionarnu fazu treba znati sastav

odabranog uzorka. Preporuka su one faze koje imaju što sličniju polarnost kao uzorak (14). Pisači mogu biti jednokanalni ili dvokanalni, ako se istovremeno radi s dva detektora i dvije kolone. Mjereći visinu ili površinu vrška na kromatogramu kvantificiramo koncentraciju (13).

1.3.2. Masena spektrometrija (MS)

Masenom spektrometrijom analiziramo molekule na temelju njihove mase i naboja. Pomoću ionizatora se ioniziraju plinovite molekule nastale udarom elektrona. Masena analiza razdvaja ionske čestice na osnovi razlike mase i naboja. Sve te signale detektira detektor koji ih fotomultiplicira.

1.3.3. Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC/MS)

GC/MS je objedinjeni sustav mjerenja. Pomoću plinske kromatografije se razdvajaju dijelovi uzorka, a masena spektrometrija ih detektira. Kao metoda se najviše koristi u toksikologiji, identifikaciji droga, lijekova, sredstava ovisnosti. GC/MS se koristi i kao potvrdna metoda tekućinske kromatografije (13). Kao postupak izvođenja ta je metoda dugotrajna što joj je nedostatak za rutinsku upotrebu u hitnim laboratorijima.

2. HIPOTEZA

Kod bolesnika liječenih uz potporu uređaja izvantjelesne membranske oksigenacije ECMO sustav značajno smanjuje koncentraciju lijeka rokuronij bromid u arterijskom uzorku.

3. CILJEVI

Ciljevi ovog diplomskog rada bili su:

- pomoću GC/MS metode odrediti koncentraciju rokuronij bromida u venskom i arterijskom uzorku,
- usporediti venske i arterijske koncentracije lijeka rokuronij bromid.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ustroj studije

Istraživanje je ustrojeno po načelu presječne studije (15). Analizirani su podatci dobiveni u određenom trenutku, te je naglasak na povezanosti mjerenih obilježja do kojih je došlo u ovom radu koristeći GC/MS metodu.

4.2. Ispitanici

Nakon odobrenja etičkog povjerenstva KBC Rijeka i Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku u ovo je istraživanje uključeno 5 odraslih bolesnika. Istraživanje je provedeno na pacijentima liječenim u Jedinici intenzivnog liječenja KBC-a Rijeka koji su zbog komplikacija liječenja priključeni na izvantjelesnu membransku oksigenaciju. Identitet pacijenata, kao i njihova zdravstvena dokumentacija zaštićene su i neće se objavljivati. Svakome je pacijentu u istome intervalu uzorkovan venski i arterijski uzorak i to u razmacima 8, 16, 24, 32 i 40 sati nakon postavljanja ECMO uređaja. Korišteno je 5 uzoraka od pojedinog pacijenta. Istraživanje je provedeno od lipnja do rujna 2020. Za istraživanje je uzimana venska i arterijska krv vađena u standardizirani vacutainer s litij-heparinom kao antikoagulansom. Istovremeno su uzimani uzorci venske i arterijske krvi istoga pacijenta, a koja se i uobičajeno uzima u dijagnostičko-terapijske svrhe. Svim se pacijentima na liječenju s ECMO sustavom u svrhu doziranja kisika uzimaju venski i arterijski uzorci za određivanje acidobaznog statusa (ABS). Uzorkuju se u pravilnim intervalima od 8 sati, što je bila i dinamika uzoraka potrebnih za ovaj diplomski rad.

4.2.1. Priprema uzoraka

Uzorci su dostavljeni u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku (KZLD) gdje su zakiseljeni s 1M NaH₂PO₄ zbog očuvanja stabilnosti lijeka. Centrifugirani su na 3000 RPM/10 min, a odvojena plazma pohranjena je na -18°C do analitičkog dijela.

4.2.2. Kemikalije

Kemikalije koje su korištene: 1. i.v. otopina rokuronij bromid (ESMERON, 10 mg/ml, otopina za infuziju-lijek, N.V.Orgon, Nizozemska); 2. etanol; 3. diklormetan; 4. natrijev dihidrogen fosfat; 5. kalijev jodid; 6. voda; 7. aceton GC/MS uređaj koji se koristi u radu GC/MS-QP2010 Plusa, Shimadzu, softverske verzije 4.20.

4.3. Metode

Metoda koja je primijenjena za određivanje koncentracije lijeka rokuronijev bromid je plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC/MS). GC se sastoji od dvije faze: mobilna i stacionarna. Mobilna faza je plin helij koji je nositelj uzorka, a stacionarna faza je kolona kroz koju prolazi uzorak vođen mobilnom fazom do detektora koji je maseni spektrometar. Uzorak se zaledi i prethodno zakiseli te se otopi na sobnoj temperaturi. Dodaje se 1,5 ml kalijeva jodida, 0,2 ml 1M otopine natrij dihidrogen fosfata i 7 ml diklor metana za ekstrakciju uzorka. Nakon toga se 30 minuta ekstrahira na mješalici i potom centrifugira na 300 okretaja kroz 15 minuta. Gornji sloj se prebaci u staklenu tubu u kojoj se nalazi ekstrahirani rokuronij bromid koji se ukoncentrira u rotavaporu kako bi otapalo isparilo i ukoncentriralo uzorak koji se tada otopi sa 1 ml acetona. Pripremljeni uzorak je prebačen u vialu koja se putem autosamplera injektira u injektor GC/MS uređaja. Prilikom uzimanja uzorka temperatura injektora je bila 280°C, a vrijeme uzimanja 30 sekundi. Uzorak je nošen inertnim plinom helijem linearnom brzinom od 46 cm/s. Kolona koja se nalazila na uređaju je DB-5 silica capillary (15m 0,25mm, film 0,25 μ l), protoka 1ml kroz minutu. Tlak kolone iznosio je 26 kPa kroz 5 minuta i za svaku minutu duže rastao je za 6 kPa do granice od 69 kPa. Pećnica je početno bila na temperaturi od 120°C kroz 5 minuta, a zatim je zagrijavana 30 stupnjeva više da bi na kraju postigla 300°C koji su zadržani 10 minuta. Tako razdvojeni fragmenti detektirani su MS-om. Energijom ionizacije od 70 eV uzorak je ioniziran prije nego je krenulo razdvajanje na temelju mase i naboja. Temperatura u MS-u iznosila je 280°C, a brzina detekcije 2000 amu/s. U rasponu od 40-600 Daltona postavljen je spektar snimanja masa iona. Rezultati dobiveni nakon MS kvantifikacije obrađeni su u Excelu. Dobiveni rezultati mjerenja koncentracije lijeka rokuronij bromida izraženi u obliku kromatograma uspoređeni su s postavljenim standardom kako bi se mogli očitati rezultati. Osjetljivost metode prikazana je detektiranjem minimalne koncentracije lijeka u uzorku prikazane kromatografski. Međusobno su

uspoređene vrijednosti dobivene koncentracije venske i arterijske krvi. Niže vrijednosti u arterijskom uzorku koji se nalazi iza oksigenatora potvrdile bi da se molekule lijeka zadržavaju na membrani oksigenatora, što je važno imati na umu kod određivanja optimalnog doziranja.

4.3.1. Statističke metode

Kategorijski podatci su predstavljeni apsolutnim. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom, a zbog malog uzorka koristile su se neparametrijske metode. Numerički podatci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike u koncentraciji lijeka po mjerenjima testirane su Friedmanovim testom (Post hoc Conover), a između arterijske i venske krvi Mann Whitney U testom (16). Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti postavljena je na $\alpha = 0,05$. Za statističku analizu koristio se statistički program MedCalc Statistical Software version 19.1.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2020).

5. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 5 ispitanika, u deset mjerenja. Uzorkovani su uzorci venske i arterijske krvi u pravilnim intervalima od 8 sati. U ovome istraživanju mjerila se koncentracija lijeka rokuronij bomid kod pacijenata koji se nalaze u jedinici intenzivnog liječenja na izvantjelesnoj membranskoj oksigenaciji (ECMO). Nakon analitičkog dijela uspoređene su vrijednosti dobivene u venskom i arterijskom uzorku. Uzeto je po 10 uzoraka od 5 pacijenata i to u pravilnom vremenskom razmaku od 8 sati. Uzorkovani su venski i arterijski uzorak po 2 ml krvi u standardizirani vacutainer s litij heparinom. Ti uzorci se uobičajeno uzimaju za određivanje acidobaznog statusa (ABS), tj. provjere zasićenosti organizma kisikom (O₂). Nakon mjerenja su uzorci dostavljani u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku (KZLD) gdje su centrifugirani, plazma odvojena od stanica, zakiseljeni radi očuvanja stabilnosti lijeka do obrade i pohranjeni na -180C.

5.1. Vrijednosti koncentracija lijeka u venskom i arterijskom uzorku

Vrijednosti koncentracija lijeka u venskom i arterijskom uzorku izraženih u $\mu\text{mol/l}$ iz pripremljenih uzoraka uzorkovanih u 8, 16, 24, 32 i 40 sati su prikazani u Tablici 1.

Pacijent 1 je u vremenu od 8, 32 i 40 sati dobio terapiju rokuronij bromidom više od tri sata prije uzorkovanja, što je i prikazano dobivenim vrijednostima. Vrijednosti su ispod granice kvantifikacije od $5.0 \mu\text{mol/l}$, ali su u rasponu granice detekcije koje su opisane u radovima i iznose $0.0553 \mu\text{mol/l}$ (21). U uzorcima 16 sati nakon uključanja pacijent je dobio lijek 15 minuta prije uzorkovanja i to je njegova najviše dobivena vrijednost i u arterijskom i u venskom uzorku.

Pacijent 2 je u uzorcima od 16, 24 i 40 sati nakon uključanja pokazao vrijednosti koje su u granicama kvantifikacije jer je lijek primio u sva tri slučaja 15-25 minuta prije uzorkovanja. U uzorcima 8 i 32 sata nakon uključanja lijek se razgradio i dobivene vrijednosti venskog i arterijskog uzorka nisu u granicama kvantifikacije, ali su u rasponu detekcije (21).

Pacijent 3 je primio dozu lijeka 15-30 minuta prije uzimanja svih uzoraka osim od 16 sati gdje su vrijednosti u granicama detekcije (21).

Pacijent 4 je u uzorcima 32 i 40 sata dobio rezultate unutar granice detekcije, dok su uzorci 8, 16 i 24 sata u granicama kvantifikacije, što i odgovara vremenu dobivene terapije koja je bila 15-30 minuta prije uzorkovanja (21).

Pacijent 5 u dobivenim mjerenjima, osim uzorka od 32 sata, pokazuje vrijednosti lijeka u granicama kvantifikacije što i odgovara vremenu dobivanja terapije od 15-30 minuta prije uzorkovanja. Uzorak u 32 sata je u rasponu detekcije (21).

Tablica 1. Vrijednosti koncentracija lijeka u venskom i arterijskom uzorku izraženih u $\mu\text{mol/l}$

	Vena /Arterija 8h	Vena /Arterija 16h	Vena/Arterija 24h	Vena/Arterija 32h	Vena/Arterija 40h
Pacijent 1	0.1522	14.1242	9.7844	1.2391	0.1833
	0.0466	11.1352	6.9621	0.1049	0.1038
Pacijent 2	1.1665	8.6637	10.351	0.5863	5.8740
	0.5806	7.4417	8.935	0.5816	3.5214
Pacijent 3	6.6689	1.3250	10.3510	6.3185	12.3514
	4.6245	1.1092	8,7341	5.2141	10.9732
Pacijent 4	12.2883	9.9473	6.5103	1.2584	0.5312
	11.0966	0.6278	5.1352	1.0315	0.1325
Pacijent 5	10.0400	12.1200	8.3457	1.3457	8.3571
	9.3299	11.1000	6.9214	1.1097	7.9180

5.2. Vrijednosti koncentracija lijeka u venskoj krvi

Iako je koncentracija lijeka nakon 16 i 24 sata u venskoj krvi nešto viša, ona se ne razlikuje značajno u odnosu na ostala mjerenja (Tablica 2).

Tablica 2. Vrijednosti koncentracije lijeka u venskoj krvi po mjerenjima

Venska krv	Medijan (interkvartilni raspon) koncentracije lijeka	Minimum – maksimum	P*
mjerenje nakon 8 sati	6,669 (0,913 – 10,602)	0,152 – 12,288	
mjerenje nakon 16 sati	9,947 (6,829 – 12,621)	1,325 – 14,124	
mjerenje nakon 24 sati	9,784 (7,887 – 10,351)	6,510 - 10,351	0,27
mjerenje nakon 32 sati	1,258 (1,076 – 2,589)	0,586 – 6,318	
mjerenje nakon 40 sati	0,587 (0,444 – 9,356)	0,183 - 12,351	

*Friedmanov test

5.3. Vrijednosti koncentracija lijeka u arterijskoj krvi

Koncentracija lijeka u arterijskoj krvi nakon 16 sati ima nešto niže vrijednosti, no one se ne razlikuju značajno u odnosu na ostala mjerenja (Tablica 3).

Tablica 3. Vrijednosti koncentracije lijeka u arterijskoj krvi po mjerenjima

Arterijska krv	Medijan (interkvartilni raspon) koncentracije lijeka	Minimum – maksimum	P*
mjerenje nakon 8 sati	4,624 (0,447 – 9,772)	0,047 – 11,098	
mjerenje nakon 16 sati	9,628 (5,859 – 11,109)	1,109 – 11,135	
mjerenje nakon 24 sati	6,962 (6,475 – 8,784)	5,135 – 8,935	0,49
mjerenje nakon 32 sati	1,031 (0,462 – 2,136)	0,105 – 5,214	
mjerenje nakon 40 sati	3,521 (0,125 – 8,682)	0,104 – 10,973	

*Friedmanov test

5.4. Razlike u vrijednosti koncentracija lijeka u venskoj i arterijskoj krvi

Iako su u prva tri mjerenja nešto veće razlike u koncentraciji lijeka između arterijske i venske krvi, te razlike, iako prisutne, nisu značajne (Tablica 4).

Tablica 4. Razlike u koncentraciji lijeka u venskoj i arterijskoj krvi po mjerenjima

	Medijan (interkvartilni raspon) koncentracije lijeka	Hodger – Lehmann razlika medijana	95% raspon pouzdanosti	P*
Mjerenje nakon 8 sati				
Venska krv	6,669 (0,913 – 10,602)	-0,71	-9,99 do 9,18	0,69
Arterijska krv	4,624 (0,447 – 9,772)			
Mjerenje nakon 16 sati				
Venska krv	9,947 (6,829 – 12,621)	-1,02	-8,84 do 8,30	0,55
Arterijska krv	9,628 (5,859 – 11,109)			
Mjerenje nakon 24 sati				
Venska krv	9,784 (7,887 – 10,351)	-1,42	-4,65 do 0,59	0,17
Arterijska krv	6,962 (6,475 – 8,784)			
Mjerenje nakon 32 sati				
Venska krv	1,258 (1,076 – 2,589)	-0,31	-5,29 do 3,96	0,22
Arterijska krv	1,031 (0,462 – 2,136)			
Mjerenje nakon 40 sati				
Venska krv	0,587 (0,444 – 9,356)	-0,39	-8,83 do 10,9	0,69
Arterijska krv	3,521 (0,125 – 8,682)			

*Mann Whitney U test

6. RASPRAVA

Glavna funkcija ECMO sustava je izvantjelesna oksigenacija tj. metoda liječenja koja posebnim sustavom cijevi i kanila vensku krv iz organizma odvodi iz tjelesne cirkulacije, oksigenira i kao arterijsku vraća u organizam. Osim pumpe koja omogućuje izvantjelesno kolanje krvi, sastoji se i od filtera oksigenatora. Mjereći koncentracije lijeka u venskom i arterijskom uzorku, tj. ispred i iza pumpe oksigenatora, željeli smo vidjeti postoji li razlika u dobivenim vrijednostima i zaostaju li molekule lijeka na membrani oksigenatora.

Prvim dijelom istraživanja obuhvaćano je mjerenje koncentracije lijeka rokuronij bromida na GC/MS-u. Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (HPLC, engl. High-Performance Liquid Chromatography) je metoda opisana u dosadašnjim radovima (17, 18). GC/MS je osjetljivija metoda jer se količine manje od 10^{-12} grama mogu detektirati (19). Uzorci su u ovom radu sakupljeni svakih osam sati kako bi imali kontinuitet u terapijskom doziranju lijeka. Paralelno su uzimani uzorci venske i arterijske krvi. Naime, rokuronij bromid kao miorelaksans je sastavna terapija pacijenata na ECMO podršci, ali nije kontinuirana. Pacijenti su, u kombinaciji s drugim lijekovima, sukladno potrebnim smjernicama liječenja tijekom potpore. Terapija je u dnevnoj upotrebi, ali nepravilnog vremenskog razmaka. Poluvijek rokuronij bromida iznosi 30-60 minuta, a potpuna eliminacija se javlja oko 97 minuta nakon uzimanja (12, 20).

Dobiveni rezultati mogu se usporediti sa dostupnim radovima kojih nema puno (18-24) jer još uvijek nije uvedena standardna metoda određivanja koncentracije rokuronij bromida na ovaj način (20). Kod svih pacijenata u ovom radu, neovisno o vremenu kada je primijenjen rokuronij bromid vrijednosti su u rasponu detekcije koje su opisane u radovima i iznose $0.0553 \mu\text{mol/l}$ (20), što ukazuje na osjetljivost i vrijednost ove metode. Također, kod svih pacijenata vrijednosti su iznad granice kvantifikacije od $5.0 \mu\text{mol/l}$, kada je uzorkovanje obavljeno unutar 30 minuta od primjene rokuronij bromida. Najviša dobivena vrijednost i u arterijskom i u venskom uzorku ostvarena je kod pacijenta koji je dobio lijek 15 minuta prije uzorkovanja .

Vrijednosti koncentracija lijeka u venskoj krvi je obrađena Friedmanovim testom i pokazala je nešto višu koncentraciju (pogotovo u uzorcima od 16 i 24 sata) i ne razlikuje se značajno u odnosu na ostala mjerenja ($p=0.27$). Koncentracija lijeka u arterijskim uzorcima je poprimila nešto niže vrijednosti, ali se značajno ne razlikuje ($p=0.49$). Također je obrađena Friedmanovim testom. Iako

je u nekim uzorcima razlika venskog i arterijskog uzorka bila veća, te razlike, iako prisutne, nisu statistički značajne ($p=(0.17-0.69)$).

Za ovu raspravu dobivenih rezultata važno je uzeti u obzir da i sam ECMO sustav cirkulacije koji osim cijevi, oksigenatora i pumpe povećava površinu koja lijekove može zarobiti i adsorbirati (21). To dovodi do smanjenja vrijednosti koncentracije u plazmi i do povećanja volumena distribucije (Vd). Učinak adsorpcije može se i smanjivati tijekom vremena zbog zasićenja veznog mjesta (21). Zbog toga je nužno primijenjivati veće doze lijekova kako bi se prevladao fenomen adsorpcije koji može dovesti do toksičnosti lijeka (21). Isto tako, cirkulacija unutar ECMO-a može poslužiti kao rezervoar i dovoditi lijek u pacijenta i nakon prestanka primjene lijeka (22). Na uklanjanju lijeka može utjecati i materijal za oksigenaciju, vrste cijevi, starost oksigenatora, sastav otopine za premaz cijevi (21). Iz svega navedenog potvrđuje se opravdanost mjerenja koncentracije lijeka rokuronij bromida kod pacijenata kod kojih je zbog ugroženih vitalnih funkcija neophodna primjena ECMO sustava kako bi doziranje bilo optimalno obzirom na već ionako značajno narušene kardiorespiratorne funkcije takvih pacijenata.

Prema tome, u ovom radu su ostvareni postavljeni ciljevi, pomoću GC/MS metode uspješno je određena koncentraciju rokuronij bromida u venskom i arterijskom uzorku, što pokazuje vrijednost ove metode, pri čemu je usporedba venske i arterijske koncentracije lijeka rokuronij bromid pokazala ovisnost o ECMO sustavu. Ipak, unatoč razlikama koje su uočene u arterijskom i venskom uzorku, te razlike nisu statistički značajne, pa postavljena hipoteza da kod bolesnika liječenih uz potporu uređaja izvantjelesne membranske oksigenacije ECMO sustav značajno smanjuje koncentraciju lijeka rokuronij bromid u arterijskom uzorku nije potvrđena.

Za konačne zaključke mora se naglasiti ograničenje ovog istraživanja. Glavni nedostatak istraživanja je malen uzorak što ograničava snagu zaključaka, ali nedvojbeno GC/MS metoda ima praktičnu vrijednost u terapiji i farmakološkim istraživanjima kada se primjenjuje rokuronij bromid. Obzirom na sve navedeno nameće se i potreba dodatnog istraživanja sa uključivanjem većeg broja pacijenata.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se proizvesti sljedeći zaključci:

- GC/MS je metoda koja je primjenjena za analitičko određivanje koncentracije rokuronij bromida u plazmi pacijenta i kao takva može detektirati i vrlo niske vrijednosti kada istraživani analit pokazuje visok stupanj eliminacije, te ima praktičnu vrijednost u liječenju i farmakološkim istraživanjima
- na učinjenim uzorcima i u svim mjerenjima vrijednosti rokuronij bromida su bile više u venskom nego u arterijskom uzorku, ali zbog malog broja uzoraka i velike varijabilnosti u koncentraciji nije postignuta značajna razlika, te je potrebno provesti dodatna istraživanja s većim uzorkom za konačnu potvrdu utjecaja ECMO sustava na koncentraciju lijeka rokuronij bromid u arterijskom uzorku

8. SAŽETAK

Uvod: Mjerenjem koncentracija lijeka rokuronij bromid prije i poslije oksigenatora ECMO potpore možemo vidjeti utječu li okolnosti i uvjeti izvantjelesne cirkulacije na promjenu koncentracije lijekova. Kao metodu izbora uzimamo GC/MS zbog osjetljivosti i selektivnosti.

Ciljevi istraživanja: Ciljevi ovog diplomskog rada su: pomoću GC/MS metode odrediti koncentraciju rokuronij bromida u venskom i arterijskom uzorku i usporediti venske i arterijske koncentracije lijeka rokuronij bromid.

Materijali i metode: Materijali korišteni u ovom istraživanju su plazme venskih i arterijskih uzoraka 5 pacijenata (po deset uzorka) liječenih rokuronij bromidom, natrij dihidrogen fosfat, kalij jodid, etanol, diklormetan, aceton te GC/MS kao analitička metoda.

Rezultati: Rezultati dobiveni GC/MS analizom mjerenja koncentracije lijeka rokuronij bromid jesu: ako je koncentracija lijeka nakon 16 i 24 sata u venskoj krvi nešto viša, ona se ne razlikuje značajno u odnosu na ostala mjerenja ($p=0.27$).

Koncentracija lijeka u arterijskoj krvi nakon 16 sati poprima nešto niže vrijednosti, ona se ne razlikuje značajno u odnosu na ostala mjerenja ($p=0.49$).

Iako su u prva tri mjerenja nešto veće razlike u koncentraciji lijeka između arterijske i venske krvi, te razlike, iako prisutne, nisu značajne ($p=(0.17-0.69)$).

Zaključak: Analitičkom metodom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom može se mjeriti koncentracija lijeka rokuronij bromid zbog svoje specifičnosti, osjetljivosti i selektivnosti.

Razlike između venskih i arterijskih uzoraka, usprkos nižim i očekivanim vrijednosti u arterijskom uzorku, nemaju statistički značaj zbog malenog broja uzoraka i velike varijabilnosti u izmjerenim koncentracijama.

Ključne riječi: rokuronij, rokuronij bromid, ECMO, GCMS

9. SUMMARY

Introduction: By measuring the concentration of Rocuronium bromide before and after the ECMO support oxygenator, we can observe whether the circumstances and conditions of extracorporeal circulation have effect on changes of the concentration of the drug. The method of selection is GC/MS, due to its sensitivity and selectivity.

Research Objective: Objectives of this thesis are the following: determine the concentration of Rocuronium bromide in venous and arterial samples by using the GC/MS method and compare venous and arterial concentrations of the Rocuronium bromide

Materials and Methods: The materials used in this study are plasmas of venous and arterial samples of 5 patients with 10 samples treated with Rocuronium bromide, monosodium phosphate, potassium iodide, ethanol, dichloromethane, acetone, and GC/MS as the analytical method.

Results: The GC/MS analysis of the Rocuronium bromide concentration showed the following: if the drug concentration is somewhat higher after 16 and 24 hours in venous blood, it does not differ significantly from other measurements $p=0.27$.

The concentration of the drug in arterial blood takes somewhat lower values after 16 hours, which does not differ significantly compared to other measurements $p=0.49$.

Even though the first three measurements showed greater differences in the concentration of drug in terms of arterial and venous blood, those differences, even if present, are not significant $p=0.17-0.69$.

Conclusion: By analytical method of gas chromatography with mass spectrometry it is possible to measure the concentration of Rocuronium bromide due to the method's specificity, sensitivity, and selectivity.

The differences between venous and arterial samples have no statistical significance, despite lower and expected values in the arterial sample, due to a small number of samples and high variability in measured concentrations.

Keywords: rocuronium, rocuronium bromide, ECMO, GCMS

10. LITERATURA

1. G. Makdisi, I-wen Wang. Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) review of a lifesaving technology, *Journal of Thoracic Disease*, Vol.7, July 2015., str. 166-176
2. Vuylsteke A, Brodie D, Combres a, Fowles J-anne, Peek G. *ECMO in the Adult Patient*. Cambridge: University Press; 2017. (Core Critical Care).
3. M. Kutleša, B. Filar, P. Mardešić: Ekstakorporalna membranska oksigenacija u liječenju akutnoga respiratornog distress sindroma uzrokovanog pandemijskim virusom influence H1N1, *Medicus*, Vol.20, 2011., str. 83-86
4. <https://www.elseo.org/AboutUs/Overview.aspx> Datum pristupa: 4.8.2020
5. Peek GJ, Killer HM, Reeves R, Sosnowski AW, Firmin RK. Early experience with a polymethyl pentene oxygenator for adult extracorporeal life support. *ASAIO J.* 2002;48(5):480-2
6. Lequier L, Horton SB, McMullan DM, Bartlett RH. Extracorporeal membrane oxygenation circuitry. *Pediatr Crit Care Med.* 2013;14(5 Suppl 1):S7-S12
7. David Sidebotham, Sara Jane Allen, Alastair McGeorge, Nathan Ibbott, and Timothy Willcox. Venevenous extracorporeal membrane oxygenation in adults.practical aspects of circuits, cannulae, and precedures. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 26(5):893-909, 2012.
8. Keebler ME, Haddad EV, Choi CW, McGrane S, Zalawadiya S, Schlendorf KH, Brinkley DM, Danter MR, Wigger M, Menechem JN, Shah A, Lindenfeld J. Venoarterial extracorporeal membrane oxygenation in cardiogenic shock. *JACC Heart Fail.*2018;6:503-516
9. Murphy DA, Hockings LE, Andrews RK, et al. Extracorporeal membrane oxygenation-hemostatic complications. *Transfus Med Rev* 2015;29:90-101
10. Jurić M, Carev M, Karanović N, Lojpur M. *Anestezija i intenzivna medicina za studente Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet*; 2015;37
11. Šakić Zdravčević K i suradnici. *Klinička anesteziologija, reanimatologija i intenzivno liječenje*, 1. Izd. Osijek: Medicinski fakultet; 2008.

12. Fisher DM. Muscle relaxans. U: Longnecker DE, Murphy FL, ur. Dripps/ Eckenhoff/Vandam: Introduction to Anesthesia, Saunders Co, SAD 1997. Str 110-123.
13. Štraus B, Stavljenić-Rukavina A, Plavšić F i suradnici. Analitičke tehnike u kliničkom laboratoriju, Zagreb: Medicinska naklada; 1997.
14. Gerhards P, Bons U, Sawazki J, Szigan J, Wertmann A, GC/MS in Clinical Chemistry, New York; Chichester; Brisbane; Singapore; Toronto: Wiley-VCH, 1999
15. Marušić M. i sur. Uvod u znanstveni rad u medicini. 4. izd. Udžbenik. Zagreb: Medicinska naklada; 2008.
16. Ivanković D. i sur. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1988.
17. Long Wang, Mai-Tao Zhou, Cai-Yang Chen, Wen Yin, Da-Xiang Wen, Chi-Wai Cheung, Li-Qun Yang, Wei-Feng Yu. Increased Renal Clearance of Rocuronium Compensates for Chronic Loss of Bile Excretion, via upregulation of Oatp, Nature, scientific reports, 2017.
18. Olaf Wegener Guido, Harms, Dietrich A. Volmer, Heiko Hayen. Structural characterization of a degradation product of rocuronium using nanoelectrospray-high resolution mass spectrometry, Drug testing and analysis, 2015.
19. A. Hites R. Development of Gas Chromatographic Mass Spectrometry, Anal Chem. 2016;88: 6955-61
20. Smirčić A. Razvoj i validacija GC/MS metode za određivanje rocuronija u plazmi, 2020
21. Cheng V, Mohd-Hafiz Abdul-Aziz, Jason A. Roberts, Kiran S. Optimising drug dosing in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation, Journal of Thoracic Disease, Vol10, Suppl 5 March 2018.
22. Svetina L. Utjecaj izvantjelesne cirkulacijske potpore na viskoelastična svojstva krvnoga ugruška i funkcije trombocita. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2018.

11. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Tanja Lovrinov

Datum i mjesto rođenja: 13.lipnja 1975. godine, Rijeka

OBRAZOVANJE

2018.-2020. godine, Medicinski fakultet Osijek, Diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2012.-2015. godine, Medicinski fakultet Rijeka, Preddiplomski stručni sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

1989.-1993. godine, Medicinska škola u Rijeci, Zdravstveno laboratorijski tehničar

1981-1989. godine, Osnovna škola u Rijeci

ZAPOSLENJE

1993. godine, Klinički bolnički centar Rijeka, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, biokemija i hematologija