

Univerza v Ljubljani  
*Veterinarska* fakulteta



Katerina Tomšič

**VPLIV ANESTEZIJE S PROPOFOLOM IN SEVOFLURANOM  
NA OKSIDATIVNI STRES PRI PSIH Z MIKSOMATOZNO  
DEGENERACIJO MITRALNE ZAKLOPKE**

Doktorska disertacija

Ljubljana, 2017

Ta stran je namenoma prazna.

Univerza v Ljubljani  
*Veterinarska* fakulteta



Interdisciplinarni študijski program Biomedicina

**UDK 636.7.09:616.12-089.5:615.211.065:577.15/.16(043.3)**

Katerina Tomšič, dr. vet. med.

**VPLIV ANESTEZIJE S PROPOFOLOM IN SEVOFLURANOM  
NA OKSIDATIVNI STRES PRI PSIH Z MIKSOMATOZNO  
DEGENERACIJO MITRALNE ZAKLOPKE**

Doktorska disertacija

**THE INFLUENCE OF PROPOFOL AND SEVOFLURANE  
ANAESTHESIA ON OXIDATIVE STRESS IN DOGS WITH  
MYXOMATOUS MITRAL VALVE DEGENERATION**

Doctoral dissertation

Ljubljana, 2017

Katerina Tomšič

**Vpliv anestezije s propofolom in sevofluranom na oksidativni stres pri psih z miksomatozno degeneracijo mitralne zaklopke**

Delo je bilo opravljeno na:

- Kliniki za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani,
- Inštitutu za varno hrano, krmo in okolje Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani,
- Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani,
- Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Javni zagovor je bil opravljen v Ljubljani, dne: \_\_\_\_\_

**Mentorica:** doc. dr. Alenka Seliškar

**Somentorica:** izr. prof. dr. Alenka Nemec Svete

Izjava o delu:

Izjavljam, da je doktorska disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela, da so rezultati korektno navedeni in nisem kršila avtorskih pravic in intelektualne lastnine drugih. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu.

**Člani strokovne komisije za oceno in zagovor:**

**Predsednica:** izr. prof. dr. Aleksandra Domanjko Petrič (VF)

**Članica:** izr. prof. dr. Silvestra Kobal (VF)

**Član:** prof. dr. Mirt Kamenik (MF, UMB)

## **VPLIV ANESTEZIJE S PROPOFOLOM IN SEVOFLURANOM NA OKSIDATIVNI STRES PRI PSIH Z MIKSOMATOZNO DEGENERACIJO MITRALNE ZAKLOPKE**

### **IZVLEČEK**

Ključne besede: Pes, bolezni; anestezija, splošna; srce, napake prirojene – kirurgija; kardiokirurški postopki – škodljivi učinki; propofol – farmakologija; metil eter – farmakologija; oksidativni stres – učinki zdravil; malondialdehid – kri; E vitamin – kri; glutation peroksidaza – kri; superoksid dismutaza – kri, antioksidanti – kri; psi

Namen raziskave je bil ovrednotiti oksidativni stres pri psih z ali brez miksomatozne degeneracije mitralne zaklopke (MDMZ), anesteziranih zaradi stomatološkega posega s propofolom in sevofluranom ter pri psih z MDMZ, anesteziranih s propofolom. Želeli smo ugotoviti, ali anestezija s propofolom, ki naj bi deloval antioksidativno, povzroči manjši oksidativni stres kot anestezija s propofolom in sevofluranom pri psih, pri katerih je oksidativni stres prisoten zaradi MDMZ. V raziskavo smo vključili 30 lastniških psov s parodontalno boleznijo (12 brez in 18 z MDMZ), pri katerih smo opravili stomatološki poseg v splošni anesteziji. Pse brez MDMZ in 8 psov z MDMZ smo anestezirali s propofolom in sevofluranom, ostalih 10 psov z MDMZ pa samo s propofolom.

Oksidativni stres smo vrednotili z določanjem izbranih pokazateljev oksidativnega stresa, in sicer vitamina E, encimov glutation peroksidaze (GPX) in superoksidne dismutaze (SOD), antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov (ACW) in antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov (ACL) ter malondialdehida (MDA).

Vzorce krvi smo odvzeli pred anestezijo ter 5, 60 minut in 6 ur po uvodu v anestezijo.

Pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom, smo ugotovili značilno višje vrednosti vitamina E in ACL, pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ pri vseh odvzemih krvi, medtem ko so bile vrednosti MDA značilno višje pri psih z MDMZ le med in po anesteziji. S primerjavo anestezije s propofolom in anestezije s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ smo ugotovili, da z izjemo ACW med anesteziskima protokoloma ni bilo značilnih razlik v vrednostih parametrov oksidativnega stresa. Anestezija s propofolom in sevofluranom je povzročila večji obseg oksidativnega stresa pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ. Anestezija s propofolom ni povzročila manjšega obsega oksidativnega stresa v primerjavi z anestezijo s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ. Oba anesteziskska protokola lahko s stališča vpliva na oksidativni stres enako varno uporabimo pri psih z MDMZ.

## THE INFLUENCE OF PROPOFOL AND SEVOFLURANE ANAESTHESIA ON OXIDATIVE STRESS IN DOGS WITH MYXOMATOUS MITRAL VALVE DEGENERATION

### ABSTRACT

Key words: Dog diseases; anaesthesia, general; heart defects, congenital – surgery; cardial surgical procedures – adverse effects; propofol – pharmacology; methyl ethers – pharmacology; oxidative stress – drug effects; malondialdehyde – blood; E vitamin – blood; glutathion peroxidase – blood; superoxide dismutase – blood; antioxidants – blood; dogs

The aim of this study was to evaluate the oxidative stress in dogs with or without myxomatous mitral valve degeneration (MMVD), anaesthetized for a dental procedure with propofol and sevoflurane and in dogs with MMVD, anaesthetized with propofol. We investigated whether anaesthesia with propofol, which is believed to have antioxidant properties, causes less oxidative stress in comparison to anaesthesia with propofol and sevoflurane in dogs in which oxidative stress is present due to MMVD. Thirty client-owned dogs with periodontal disease (12 without and 18 with MMVD) undergoing a dental procedure under general anaesthesia were included in the study. The dogs without MMVD and 8 of the dogs with MMVD were anaesthetized with propofol and sevoflurane, the remaining 10 dogs with MMVD were anaesthetized with propofol only. Oxidative stress was evaluated by measuring selected parameters of oxidative stress, namely vitamin E, antioxidant enzymes glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD), the antioxidant capacity of water soluble antioxidants (ACW), the antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (ACL) and malondialdehyde (MDA). Blood samples were taken before anaesthesia, and 5, 60 minutes and 6 hours after induction of anaesthesia. In dogs anaesthetized with propofol and sevoflurane, vitamin E and ACL values were significantly higher at all sampling times in dogs with MMVD in comparison to dogs without MMVD, while MDA values were significantly higher in dogs with MMVD only during and after anaesthesia. In dogs with MMVD, anaesthesia with propofol did not significantly differ, except for ACW, from anaesthesia with propofol and sevoflurane regarding the values of selected oxidative stress parameters. Anaesthesia with propofol and sevoflurane caused oxidative stress to a greater extent in dogs with MMVD in comparison to dogs without MMVD. Anaesthesia with propofol did not induce less oxidative stress comparing to anaesthesia with propofol and sevoflurane in dogs with MMVD. Both anaesthetic protocols can safely be used in dogs with early stage MMVD with regard to oxidative stress.

## KAZALO VSEBINE

<b>IZVLEČEK</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>KAZALO VSEBINE</b> .....	<b>7</b>
<b>KAZALO TABEL</b> .....	<b>10</b>
<b>KAZALO SLIK</b> .....	<b>12</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>13</b>
<b>1 UVOD</b> .....	<b>15</b>
1.1 NAMEN RAZISKAVE.....	17
1.2 HIPOTEZI.....	17
<b>2 PREGLED LITERATURE</b> .....	<b>18</b>
2.1 REAKTIVNE KISKOVE ZVRSTI.....	18
2.2 ANTIOKSIDANTI .....	20
2.2.1 Superoksidna dismutaza .....	21
2.2.2 Glutation peroksidaza.....	22
2.2.3 Vitamin E .....	22
2.2.4 Antioksidativna kapaciteta .....	23
2.3 OKSIDATIVNI STRES IN OKSIDATIVNE POŠKODBE .....	24
2.4 OKSIDATIVNI STRES IN PARODONTALNA BOLEZEN.....	25
2.5 OKSIDATIVNI STRES IN SRCE .....	26
2.5.1 Miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke.....	27
2.6 PROPOFOL.....	27
2.6.1 Propofol in oksidativni stres .....	28
2.7 SEVOFLURAN .....	29
2.7.1 Sevofluran in oksidativni stres .....	30
2.8 SPLOŠNA ANESTEZIJA IN OKSIDATIVNI STRES .....	31
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>36</b>
3.1 ŽIVALI.....	36

<b>3.1.1 Kriteriji za vključitev psov v raziskavo .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1.2 Določitev zdravstvenega statusa psov .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 ANESTEZIJSKI PROTOKOLI.....</b>	<b>39</b>
<b>3.3 RAZDELITEV PSOV GLEDE NA STANJE USTNE VOTLINE IN ZOB .....</b>	<b>40</b>
<b>3.4 ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV KRVI .....</b>	<b>41</b>
<b>3.5 METODE DOLOČANJA KRVNIH PARAMETROV .....</b>	<b>42</b>
<b>3.5.1 Hematološke in biokemijske preiskave .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5.2 Določanje vitamina E in lipidna standardizacija vitamina E.....</b>	<b>43</b>
<b>3.5.3 Določanje koncentracije malondialdehida v plazmi.....</b>	<b>44</b>
<b>3.5.4 Določanje aktivnosti superoksidne dismutaze v hemolizatu eritrocitov ..</b>	<b>44</b>
<b>3.5.5 Določanje aktivnosti glutation peroksidaze v polni krvi.....</b>	<b>44</b>
<b>3.5.6 Določanje antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov .....</b>	<b>45</b>
<b>3.6. STATISTIČNE METODE .....</b>	<b>45</b>
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1 OSNOVNE ZNAČILNOSTI SKUPIN .....</b>	<b>47</b>
<b>4.2. VITAMIN E .....</b>	<b>48</b>
<b>4.3 LIPIDNO STANDARDIZIRANI VITAMIN E .....</b>	<b>50</b>
<b>4.4 MALONDIALDEHID.....</b>	<b>52</b>
<b>4.5 SUPEROKSIDNA DISMUTAZA.....</b>	<b>54</b>
<b>4.6 GLUTATION PEROXIDAZA .....</b>	<b>56</b>
<b>4.7 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V MAŠCOBACH TOPNIH ANTIOKSIDANTOV ..</b>	<b>58</b>
<b>4.8 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V VODI TOPNIH ANTIOKSIDANTOV .....</b>	<b>60</b>
<b>4.9 HOLESTEROL .....</b>	<b>63</b>
<b>4.10 TRIGLICERIDI .....</b>	<b>65</b>
<b>5 RAZPRAVA .....</b>	<b>67</b>
<b>5.1 VPLIV ANESTEZIJE NA KONCENTRACIJO VITAMINA E .....</b>	<b>68</b>
<b>5.2 VPLIV ANESTEZIJE NA KONCENTRACIJO MALONDIALDEHIDA.....</b>	<b>70</b>
<b>5.3 VPLIV ANESTEZIJE NA AKTIVNOST ANTIOKSIDATIVNIH ENCIMOV .....</b>	<b>71</b>
<b>5.4 VPLIV ANESTEZIJE NA ANTIOKSIDATIVNO KAPACITETO PLAZME.....</b>	<b>72</b>

<b>5.6 OMEJITVE RAZISKAVE.....</b>	<b>74</b>
<b>6 ZAKLJUČKI.....</b>	<b>76</b>
<b>7 POVZETEK .....</b>	<b>77</b>
<b>8 SUMMARY .....</b>	<b>78</b>
<b>9 ZAHVALE.....</b>	<b>79</b>
<b>10 LITERATURA.....</b>	<b>82</b>
<b>11 PRILOGE.....</b>	<b>104</b>
11.1 IZJAVA LASTNIKA O VKLJUČITVI PSA V RAZISKAVO .....	104
11.2 VPRAŠALNIK O ZDRAVSTVENEM STATUSU PSA.....	105
11.3 IZBRANI HEMATOLOŠKI PARAMETRI PSOV V RAZISKAVI .....	106
11.4 IZBRANI BIOKEMIJSKI PARAMETRI PSOV V RAZISKAVI .....	107
11.5 IZBRANI EHOKARDIOGRAFSKI PARAMETRI PSOV Z MIKSOMATOZNO DEGENERACIJO MITRALNE ZAKLOPKE .....	108
11.6 PODATKI O ZDRAVSTVENEM STANJU USTNE VOTLINE IN ZOB PSOV PO AVDC KLASIFIKACIJI .....	109

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Starost, spol, pasma in telesna masa psov

*Table 1: Age, sex, breed and body weight of dogs* ..... 36

Tabela 2: Koncentracija vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 2: Vitamin E concentration ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 48

Tabela 3: Vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E (vitamin E (LS)) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 3: Lipid standardized vitamin E values (vitamin E (LS)) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 51

Tabela 4: Koncentracija malondialdehida (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 4: Malondialdehyde concentration (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 53

Tabela 5: Aktivnost superoksidne dismutaze (SOD; U/g Hgb) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 5: Superoxide dismutase activity (SOD; U/g Hgb) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 55

Tabela 6: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX; U/g Hgb) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 6: Glutathione peroxidase activity (GPX; U/g Hgb) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 57

Tabela 7: Antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (ACL; nmol/mL) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 7: Antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (ACL; nmol/mL) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 59

Tabela 8: Antioksidativna kapaciteta vodotopnih antioksidantov (ACW; nmol/mL) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 8: Antioxidant capacity of water soluble antioxidants (ACW; nmol/mL) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia* ..... 61

Tabela 9: Koncentracija holesterola (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

<i>Table 9: Cholesterol concentration (mmol/L) (mean ± SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia.....</i>	63
Tabela 10: Koncentracija trigliceridov (mmol/L) (povprečje ± SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji	
<i>Table 10: Triglyceride concentration (mmol/L) (mean ± SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia .....</i>	65

## KAZALO SLIK

Slika 1: Koncentracija vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 1: Vitamin E concentration (<math>\mu\text{mol/L}</math>) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	50
Slika 2: Vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E (vitamin E (LS)) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 2: Lipid standardized vitamin E values (vitamin E (LS)) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	52
Slika 3: Koncentracija malondialdehida (MDA; $\mu\text{mol/L}$ ) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 3: Malondialdehyde concentration (MDA; <math>\mu\text{mol/L}</math>) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	54
Slika 4: Aktivnost superoksidne dismutaze (SOD; U/g Hgb) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 4: Superoxide dismutase activity (SOD; U/g Hgb) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	55
Slika 5: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX; U/g Hgb) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 5: Glutathione peroxidase activity (GPX; U/g Hgb) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	58
Slika 6: Antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (ACL; nmol/mL) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 6: Antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (ACL; nmol/mL) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	60
Slika 7: Antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov (ACW; nmol/mL) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 7: Antioxidant capacity of water soluble antioxidants (ACW; nmol/mL) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	62
Slika 8: Koncentracija holesterola (mmol/L) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 8: Cholesterol concentration (mmol/L) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	64
Slika 9: Koncentracija trigliceridov (mmol/L) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ	
<i>Figure 8: Triglyceride concentration (mmol/L) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD</i>	66

## SEZNAM OKRAJŠAV

Acetil-CoA	acetil koencim A
ACL	antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (angl., <i>antioxidative capacity of lipid soluble antioxidants</i> )
ACW	antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov (angl., <i>antioxidative capacity of water soluble antioxidants</i> )
ATP	adenozin trifosfat
CAT	katalaza
CO <sub>2</sub>	ogljikov dioksid
EDTA	etilendiamintetraocetna kislina
EEG	elektroencefalogram
PE'CO <sub>2</sub>	delni tlak ogljikovega dioksida na koncu izdiha (angl., <i>end-tidal carbon dioxide partial pressure</i> )
FE'Sevo	koncentracija sevoflurana na koncu izdiha (angl., <i>end-tidal sevoflurane concentration</i> )
DNA	deoksiribonukleinska kislina
FADH <sub>2</sub>	flavinadenindinukleotid (reducirana oblika)
GABA	gama-aminomaslena kislina (angl., <i>gamma-aminobutyric acid</i> )
GPX	glutation peroksidaza
GSH	glutation (reducirana oblika)
GSSG	glutation (oksidirana oblika)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	vodikov peroksid
HCIO	hipoklorna kislina
Hgb	hemoglobin
IP	ishemična predpriprava (angl., <i>ischemic preconditioning</i> )
i.v.	<i>intra venam</i> , v žilo
K <sub>3</sub> EDTA	trikalijeva sol etilendiamintetraocetne kisline
MDA	malondialdehid
MDMZ	miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke
NADH	nikotinamidadenindinukleotid (reducirana oblika)
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfat (reducirana oblika)
NADP+	nikotinamidadenindinukleotidfosfat (oksidirana oblika)
NO	dušikov oksid

$^1\text{O}_2$	singletni kisik
$\text{O}_2^-$	superoksidni radikal
$\cdot\text{OH}$	hidroksilni radikal
$\text{ONOO}^-$	peroksinitritni anion
PDGF	trombocitni rastni dejavnik (angl., <i>platelet-derived growth factor</i> )
PIVA	popolna intravenska anestezija
ROO $\cdot$	peroksilni radikal
RKZ	reaktivne kisikove zvrsti
SOD	superoksidna dismutaza
s.c.	<i>sub cutis</i> , pod kožo
SD	standardni odklon (angl., <i>standard deviation</i> )
TNF	tumor nekrotični dejavnik (angl., <i>tumor necrosis factor</i> )
U	enote (angl., <i>units</i> )
vitamin E (LS)	lipidno standardizirani vitamin E
VNMK	večkrat nenasicene maščobne kisline
4-HNE	4-hidroksinonenal

## 1 UVOD

V klinični praksi se pogosto srečamo s psi z boleznjijo srca, pri katerih je potrebno opraviti poseg v splošni anesteziji. Najpogosteja pridobljena bolezen srca pri psih je miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke (MDMZ), pri kateri pride do degenerativnih sprememb lističev mitralne zaklopke, ki vodijo v njeno popuščanje (Ware, 2007). Pri anesteziji psov z MDMZ se pogosto uporablja kombinacija intravenskega anestetika propofola za uvod v anestezijo in hlapnega anestetika sevoflurana za vzdrževanje anestezije (Steinbacher in Dörfelt, 2013). Prednost uporabe sevoflurana za vzdrževanje anestezije je hitro prebujanje po posegu zaradi nizkega porazdelitvenega koeficiente med plinom in krvjo, kar pomeni, da se le zanemarljive količine sevoflurana kopijo v maščobnem tkivu (Smith in sod., 1996). V primerjavi s sevofluranom se propofol počasneje presnavlja, vendar omogoča hitrejši in mirnejši uvod v anestezijo, saj je ekscitacijska faza zelo kratka in običajno nezaznavna (Vanlersberghe in Camu, 2008).

Presnova anestetikov, spremembe v prekrvitvi in oksigenaciji tkiv med anestezijo ter kirurška travma pospešijo nastajanje reaktivnih kisikovih zvrsti (RKZ) (De La Cruz in sod., 1999; Bogra in sod., 2007; Tsuchiya in sod., 2008). To so zelo reaktivni, nestabilni prosti radikali in reaktivne kisikove spojine, ki reagirajo in poškodujejo biološko pomembne molekule, kot so lipidi celičnih membran, DNA, beljakovine in ogljikovi hidrati. Reaktivne kisikove zvrsti redno nastajajo v procesih aerobne presnove, zato so organizmi razvili antioksidativne obrambne mehanizme, s katerimi odstranjujejo RKZ. V fizioloških pogojih so RKZ v dinamičnem ravnotežju z antioksidativnimi obrambnimi mehanizmi, vendar se to ravnotežje lahko poruši zaradi presežka RKZ in/ali zmanjšanja antioksidativnih obrambnih mehanizmov, kar vodi v stanje oksidativnega stresa (Valko in sod., 2007; Mandelker, 2008).

Pri psih je, tako kot pri ljudeh s srčnim obolenjem, ravnovesje med RKZ in antioksidanti že porušeno (Freeman in sod., 2005; Lakshmi in sod., 2009; Sagols in Priymenko, 2011; Siti in sod., 2015), zato lahko dodatni oksidativni stres zaradi posega v splošni anesteziji bistveno prispeva k poslabšanju srčne funkcije ali celo vodi v odpoved srca (Kevin in sod., 2005). Izbera anestetikov je zelo pomembna, saj se njihov učinek na oksidativni stres razlikuje. Nekateri anestetiki povečajo nastajanje RKZ, medtem ko drugi delujejo antioksidativno (Allaouchiche in sod., 2001; Kevin in sod., 2005). Intravenski

anestetik tiopental je barbiturat, ki naj bi deloval kot lovilec prostih kisikovih radikalov (Murphy in sod., 1996; Kim in sod., 2013) ter zaviral oksidativni izbruh nevtrofilcev (Nishina in sod., 1998), vendar je njegovo antioksidativno delovanje v primerjavi s propofolom zanemarljivo (Murphy in sod., 1996; De La Cruz in sod., 1999; Yagmurdur in sod., 2004; Kevin in sod., 2005; Lee, 2012). Ketamin, nekompetitivni antagonist N-Metil-D-aspartat receptorjev, naj bi spodbujal nastajanje RKZ pri podganah (Kevin in sod., 2005; de Oliveira in sod., 2009; Venâncio in sod., 2015). Pri ljudeh so primerjali učinek ketamina in propofola v odmerkih za indukcijo na pokazatelje oksidativnega stresa. Pri ljudeh, pri katerih so za uvod v anestezijo uporabili propofol sta bila obseg peroksidacije lipidov ter aktivnost antioksidativnih encimov glutation peroksidaze (GPX) in superoksidne dismutaze (SOD) manjša, antioksidativna kapaciteta plazme pa večja v primerjavi s skupino ljudi, pri katerih so za uvod v anestezijo uporabili ketamin (Khoshraftar in sod., 2014). Lokalni anestetiki naj bi motili delovanje mitohondrijev in spodbujali nastajanje RKZ (Nouette-Gaulain in sod., 2011). Povečano nastajanje RKZ ob uporabi bupivakaina, naj bi vodilo v nastanek miopatij (Nouette-Gaulain in sod., 2011) in poškodb živčnih celic (Park in sod., 2005), kar so potrdili v študijah *in vitro* (Kovacic in Somanathan, 2011). Ultrakratko delujoči hipnotik propofol je alkilni fenol (2, 6-diizopropilfenol). Vsebuje fenolno hidroksilno skupino, podobno kot vitamin E, ki ščiti celične membrane pred lipidno peroksidacijo (Hans in sod., 1996). Sevofluran (flurometyl 2,2,2-triflurid-1-(trifluorometil) etil eter) je novejši halogenirani hlapni anestetik, ki se v majhnem odstotku (2–5 %) presnavlja v jetrih s pomočjo izooblike encima citokroma P450 CYP2E1 (Kharasch, 1995; Smith in sod., 1996). Sevofluran naj bi pospešil nastajanje RKZ preko svoje presnove (Kharasch, 1995) tako kot tudi preko vpliva na energijske procese v mitohondrijih (Kevin in sod., 2003; Sedlic in sod., 2009).

Vpliv anestetikov na oksidativni stres pri psih je deležen velikega zanimanja zaradi kratkoročnih in dolgoročnih posledic, ki jih povzroča povečano nastajanje RKZ, vendar v obstoječi literaturi nismo zasledili raziskav, ki bi nudile vpogled v dinamiko oksidativnega stresa med anestezijo psov z MDMZ.

## 1.1 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je ovrednotiti oksidativni stres pri psih brez MDMZ in s parodontalno boleznijo, anesteziranih s kombinacijo propofola in sevoflurana, ter pri psih z MDMZ in parodontalno boleznijo, anesteziranih samo s propofolom ali s kombinacijo propofola in sevoflurana. Na ta način želimo ugotoviti, ali popolna intravenska anestezija s propofolom, ki naj bi deloval antioksidativno, povzroči manjši oksidativni stres ali ga celo zmanjša v primerjavi s sevofluranom pri psih, pri katerih je oksidativni stres prisoten zaradi MDMZ.

Oksidativni stres pri psih v splošni anesteziji bomo ovrednotili z ugotavljanjem izbranih pokazateljev antioksidativnega statusa, in sicer vitamina E, aktivnosti antioksidativnih encimov GPX in SOD, antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov (ACW) in antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov (ACL). Kot pokazatelja obsega lipidne peroksidacije bomo spremljali koncentracijo plazemskega malondialdehida (MDA).

Izsledki raziskave bodo pripomogli k izboljšanju smernic pri izbiri anestezijskih protokolov pri psih z MDMZ.

## 1.2 HIPOTEZI

V okviru raziskave smo si postavili sledeči hipotezi:

1. Pri psih s parodontalno boleznijo anestezija s propofolom in sevofluranom povzroči večji obseg oksidativnega stresa pri tistih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ.
2. Pri psih s parodontalno boleznijo in MDMZ anestezija s propofolom povzroči manjši obseg oksidativnega stresa kot kombinacija propofola in sevoflurana.

## 2 PREGLED LITERATURE

### 2.1 REAKTIVNE KISKOVE ZVRSTI

Reaktivne kiskove zvrsti so kisikovi prosti radikali kot na primer superoksid ( $O_2^-$ ), hidroksilni radikal ( $\cdot OH$ ) in peroksilni radikal ( $ROO\cdot$ ) ter reaktivne kiskove spojine, med katere prištevamo singletni kisik ( $^1O_2$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) in hipoklorino kislino ( $HClO$ ) (Valko in sod., 2007; Halliwell in Gutteridge 2015a).

Primarni kisikov prosti radikal je superoksid, ki nastane, ko molekula kisika, ki je že sama po sebi radikal z dvema neparnima elektronoma, sprejme elektron. Glavno mesto nastajanja superoksidov v celici so mitohondriji, kjer prihaja do uhajanja elektronov iz kompleksov I in III elektronske transportne verige v notranji membrani mitohondrija (Quijano in sod., 2016). Superoksid nastaja v organizmu tudi v presnovnih procesih encimskih sistemov ksantinske oksidaze in dehidrogenaze, oksidaze nikotinamidadenindinukleotidfosfata (NADPH), lipooksigenaze, sintaze dušikovega oksida (NO), citokromov P450 ter z avtooksidacijo kateholaminov (Kevin in sod., 2005; Valko in sod., 2007).

Vodikov peroksid nastane z dismutacijo superoksidov bodisi s pomočjo katalitičnega delovanja SOD bodisi spontano. Vodikov peroksid nastaja tudi v peroksisomih, kjer se uporabi v oksidacijskih procesih, vendar je ravnovesje med nastanjem vodikovega peroksidu in njegovo porabo zelo natančno regulirano s prisotnostjo encima katalaze (CAT), ki ga razgraje na vodo in kisik. Vodikov peroksid spada med manj reaktivne RKZ, vendar lahko poškoduje beljakovine (npr. mioglobin in hemoglobin) in sprosti železo, ki se nadalje vključi v Fentonovo reakcijo, kjer nastaja hidroksilni radikal (Valko in sod., 2007). V primerjavi s superoksidom je razpolovna doba vodikovega peroksidu daljša, poleg tega lahko prehaja preko lipidnega dvosloja celičnih membran bodisi z difuzijo bodisi preko ionskih kanalčkov (npr. akvaporinov). V nizkih koncentracijah se vodikov peroksid vključuje v celične signalne poti, ki so odgovorne za rast in preživetje celic (Lubos in sod., 2011).

Hidroksilni radikal je izredno majhna, vodotopna molekula, ki nastane pri Fentonovi reakciji, kjer vodikov peroksid reagira z železovim ionom in pri Haber-Weissovi reakciji,

Kjer reagira z bakrovim ali drugim kovinskim ionom. Hidroksilni radikal je izredno reaktiv, saj takoj reagira in poškoduje katerokoli molekulo v bližini (Valko in sod., 2007; Mandelker, 2008; Ayala in sod., 2014).

Peroksilni radikal je protonirana oblika superokside, ki nastane v citosolu. Peroksilni in hidroksilni radikal poškodujeta predvsem lipidne molekule in sprožita kaskado lipidne peroksidacije (Ayala in sod., 2014).

Hipoklorna kislina nastaja iz vodikovega perokside s pomočjo encima mieloperoksidaze. Proizvajajo jo predvsem aktivirani nevtrofilci v oksidativnem izbruhu za uničenje patogenih organizmov (Klebanoff, 2005).

Dušikov oksid (NO) je dokaj stabilna molekula in nastaja z oksidacijo L-arginina s katalitičnim delovanjem sintaze dušikovega oksida (Bahorun in sod., 2006). Dušikov oksid deluje kot signalna molekula v različnih fizioloških procesih živčnega, kardiovaskularnega in imunskega sistema (Bahorun in sod., 2006; Valko in sod., 2007), vendar lahko reagira s superoksidom, pri čemer nastane bolj reaktiv peroksinitritni anion ( $\text{ONOO}^-$ ), ki povzroči oksidacijo lipidov in fragmentacijo DNA (Valko in sod., 2007).

Reaktivne kisikove zvrsti nastajajo endogeno, med metabolnimi procesi v mitohondrijih in peroksisomih, med vnetnim celičnim odgovorom in pri katalitičnem delovanju citohromov P450. Med zunanje dejavnike, ki povzročijo nastajanje RKZ, prištevamo sevanja (ultravijolični, rentgenski in gama žarki), cigaretni dim, ultravijolično svetlobo, zdravila, kemijske reagente, industrijska topila in druge onesnaževalce okolja (Zadák in sod., 2009; Bhattacharya, 2015).

V fizioloških okvirjih se RKZ vključujejo v pomembne biološke procese, kot so celično signaliziranje, adaptacija organizma na stres (Ray in sod., 2012) in celična obramba (Kohchi in sod., 2009). V patoloških pogojih pa večje količine RKZ vodijo v poškodbe biološko pomembnih molekul, kot so lipidi, DNA in beljakovine (Valko in sod., 2007).

## 2.2 ANTIOKSIDANTI

Antioksidant je katerakoli snov, ki zakasni, prepreči ali odstrani oksidativno poškodbo ciljne molekule (Halliwell in Gutteridge, 2015b). Antioksidativni mehanizmi preprečujejo nastanek RKZ in jih odstranjujejo (preventivni mehanizmi), odstranjujejo posledice delovanja prostih radikalov (reparacijski mehanizmi) ter omogočijo okrepitev antioksidativne obrambe na mestih večjega nastajanja prostih radikalov (adaptacijski mehanizmi) (Lobo in sod., 2010).

Med preventivne mehanizme prištevamo sekvestracijo prehodnih kovinskih ionov (npr. železa in bakra) v oblike, ki ne reagirajo in ne tvorijo RKZ. Pri tem igrajo pomembno vlogo beljakovine – kelatorji, ki vežejo železove in bakrove ione in tako onemogočijo, da bi bili na razpolago za reakcijo z vodikovim peroksidom (Lobo in sod., 2010). Ceruloplazmin je na primer kelator in prenašalec bakrovih ionov v plazmi (Prohaska in Gybina, 2004), medtem ko je transferin kelator in prenašalec železovih ionov v plazmi (Ghio in sod., 2006), feritin pa v celicah (Theil, 2003).

Glede na izvor ločimo endogene antioksidante, ki jih organizem proizvaja sam, ter eksogene antioksidante, ki se v organizem vnašajo s hrano. Glede na topnost v bioloških medijih ločimo v vodi topne antioksidante in v maščobi topne antioksidante. Antioksidante delimo tudi glede na način delovanja na encimske in neencimske (lovilci prostih radikalov) (Lobo in sod., 2010).

Endogeni antioksidativni sistem sestavlja antioksidativni encimi in neencimski antioksidanti. Antioksidativni encimi, kot so SOD, GPX in CAT, pospešijo prehod RKZ v bolj stabilne produkte. Nekateri minerali, kot so selen, baker, mangan in cink, predstavljajo jedro antioksidativnih encimov, zato je njihova razpoložljivost v organizmu zelo pomembna (Zadák in sod., 2009). V presnovnih procesih organizma nastajajo še neencimski antioksidanti melatonin, glutation, ubikinon (koencim Q<sub>10</sub>), lipoična in sečna kislina, ki delujejo kot lovilci prostih radikalov (Valko in sod., 2007; Lobo in sod., 2010). Podobno nalogu imajo tudi plazemski albumini, ki poleg tega delujejo tudi kot kelatorji kovinskih ionov in hema (Quinlan in sod., 2005).

Med eksogene lovilce kisikovih radikalov prištevamo alfa tokoferol (vitamin E), askorbinsko kislino (vitamin C) in karotenoide, ki se v organizem vnašajo s hrano (Valko in sod., 2007; Zadák in sod., 2009).

### 2.2.1 Superoksidna dismutaza

Superoksidna dismutaza je ime za družino encimov, ki so vsi metaloproteini in katalizirajo dismutacijo superoksidov v vodikov peroksid. Za aktivnost SOD je odgovoren kovinski ion, ki v procesu dismutacije superoksidov deluje kot oksidant in reducent (Matés, 2000; Fukai in Ushio-Fukai, 2011).

Obstajajo tri različne oblike SOD, ki se razlikujejo tako v kovinskem ionu na aktivnem mestu kot tudi v sami strukturi beljakovine, kar kaže na različni filogenetski razvoj teh encimov. V eni izmed SOD se na aktivnem mestu encima nahaja nikljev (Ni) ion (predvsem pri prokariontih), v drugi sta za aktivnost encima potrebna tako bakrov (Cu) kot cinkov (Zn) ion, tretja družina SOD pa ima na aktivnem mestu manganov (Mn) ion, ki se lahko tudi zamenja z železovim (Fe) ionom, vendar je aktivnost encima manjša (Miller, 2012).

Pri sesalcih se pojavljajo tri oblike SOD izoencimov, ki se razlikujejo tako v kovinskem ionu na aktivnem mestu kot tudi v aminokislinski zgradbi, številu podenot in lokaciji encima. Citosolni encim CuZn-SOD ali SOD1 je znotrajcelični encim, katerega večji del se nahaja v citosolu, v manjšem obsegu pa tudi v notranjem membranskem prostoru v mitohondrijih, jedru, lizosomih in peroksisomih jeter, ledvic, rdečih krvnih celic in osrednjega živčevja. Cinkov ion je pri CuZn-SOD potreben za pravilno zvijanje in stabilnost encima, nadomesti ga lahko tudi kobaltov ali bakrov ion, medtem ko je baker na aktivnem mestu nenačeljiv. V mitohondrijskem matriksu srca, možganov, jeter in ledvic se nahaja encim SOD2 z mangano na aktivnem mestu (MnSOD), ki je odgovoren za dismutacijo superoksidov, ki nastaja v mitohondrijski dihalni verigi. Ekstracelularna SOD (EC-SOD), SOD3, je sekretorni zunajcelični encim, primarno lociran v tkivih in zunajceličnem matriksu in na površini celic, v manjšem obsegu tudi prosto v plazmi in zunajceličnih tekočinah. Večina SOD3 se nahaja v krvnih žilah, pljučih, ledvicah, maternici in v manjšem obsegu v srcu (Matés, 2000; Fukai in Ushio-Fukai, 2011; Miller, 2012).

Izoencimi SOD imajo različne biološke funkcije. Zaradi svojega antioksidativnega delovanja neposredno ščitijo celice pred škodljivimi učinki RKZ, posredno pa se preko uravnavanja koncentracije vodikovega peroksidu vključujejo v celične signalne poti (Fukai in Ushio-Fukai, 2011; Miller, 2012).

### **2.2.2 Glutation peroksidaza**

Glutation peroksidaze so družina filogenetsko sorodnih encimov (Brigelius-Flohé in Maiorino, 2013), ki katalizirajo redukcijo vodikovega peroksida in drugih peroksidov v kisik in vodo. V reakciji je kot kosubstrat vključen glutation (GSH), ki preide v oksidirano obliko (GSSG). Štiri znane oblike GPX vsebujejo aminokislino selenocistein na aktivnem mestu (Arthur, 2000; Matés, 2000).

Celična GPX1 je tetramerna beljakovina s štirimi enakimi podenotami, ki vsebujejo po en ostanek selenocisteina. Najdemo jo v citoplazmi in mitohondriih vseh celic, največ pa v eritrocitih, ledvicah in jetrih. Odgovorna je za katabolizem vodikovega peroksida in nekaterih organskih peroksidov (peroksidi holesterola in dolgoverižne maščobne kisline), pri čemer je za redukcijo maščobnih peroksidov vezana na delovanje fosfolipaze A, ki sprosti maščobne kisline (Arthur, 2000). Gastrointestinalna citosolna GPX2 ima podobno tetramerno obliko in vlogo kot GPX1, vendar ni vpletena v katabolizem fosfolipidnih vodikovih peroksidov. Nahaja se v epiteliju prebavne cevi in je odgovorna za uravnavanje absorpcije vodikovega peroksida iz prebavil (Wingler in Brigelius-Flohé, 1999). Plazemska tetramerna GPX3 je glikoprotein z ekstracelularnim delovanjem, nahaja se pretežno v ledvicah, najdemo jo tudi v srcu, placenti, pljučih, v celicah prebavil, v ščitnici in tudi v mlečni žlezi, saj se izloča z mlekom (Arthur, 2000). Monomerna GPX4 je odgovorna za katalizo fosfolipidnih hidroperoksidov. Nahaja se predvsem v mitohondriih in je odgovorna za zaščito membran pred oksidacijo fosfolipidov (Arthur, 2000). Pri sesalcih obstajajo tudi encimi s podobno aktivnostjo kot GPX, ki pa vsebujejo molekulo cisteina namesto selenocisteina. V obmodku podgan, miši, prašičev, opic in ljudi se nahaja GPX5, v vohalnem aparatu pa GPX6 (Arthur, 2000).

### **2.2.3 Vitamin E**

Vitamin E zajema skupino osmih izomernih molekul, derivatov tokola, z značilnim kromanolskim obročem in stransko verigo. Tokoferoli imajo na stranski verigi nasičene vezi, medtem ko tokotrienoli vsebujejo tri nenasičene vezi. Alfa, beta, gama in delta tokoferoli in tokotrienoli se razlikujejo na podlagi števila in položaja metilnih skupin na benzenovem obroču. Značilni kromanolski obroč s hidroksilno skupino daruje vodikov atom za redukcijo prostih radikalov, hidrofobna stranska veriga pa omogoča obstoj v bioloških membranah (Wang in Quinn, 1999).

Glavna vloga tokoferolov je, da lovijo proste peroksilne radikale, ki nastajajo pri verižni reakciji lipidne peroksidacije (Traber in Atkinson, 2007). Alfa in gama tokoferol (aktivni oblici vitamina E) sta pomembna neencimska lipofilna antioksidanta, ki ščitita membrane pred oksidacijo. Alfa tokoferol prestreže peroksilni radikal, preden reagira z lipidnim substratom in pri tem nastane tokoferoksilni radikal. Ta reakcija poteče hitreje kot reakcija lipidnega peroksilnega radikala z lipidnim substratom. S tem pride do nevtralizacije in odstranitve prostih radikalov in zaustavitve reakcije (Wang in Quinn, 1999; Ayala in sod., 2014). Tokoferoli lahko reagirajo tudi z drugimi RKZ, kot so singletni kisik, aloksilni radikali, peroksinitriti, dušikov oksid, ozon in superoksid. Pri tem je gama tokoferol bolj učinkovit lovilec reaktivnih dušikovih spojin. Po reakciji z radikalom nastane neškodljiv oksidiran tokoferoksilni radikal, ki se z drugimi antioksidanti, kot so vitamin C, retinol in ubikinon, ponovno pretvori v reducirano obliko (Wang in Quinn, 1999). Poleg antioksidativnega učinka se vitamin E vključuje v določene segmente lipidnega dvosloja in vpliva na stabilnost in preureditev celičnih membran (Wang in Quinn, 1999).

Ker vitamin E vpliva na celični odziv na oksidacijski stres tudi s spremenjanjem signalnih transdukcijskih poti (Bramley in sod., 2000), so vse bolj pogoste raziskave, ki preučujejo njegov vpliv na ravni genoma.

#### **2.2.4 Antioksidativna kapaciteta**

Antioksidativna kapaciteta je parameter, ki nam daje vpogled v antioksidativno zmogljivost plazme ali drugih telesnih tekočin in je neposredni pokazatelj vpliva okolja, presnove, fiziološkega ali patološkega stanja organizma in vnosa antioksidantov s hrano na redoks status organizma (Ghiselli in sod., 2000; Yeum in sod., 2004; Niki, 2010).

Za merjenje antioksidativne kapacitete plazme obstajajo številne metode in njihove različice, zato je rezultate težko primerjati (Prior in Cao, 1999; Niki, 2010; Rubio in sod., 2016; Tomšič in sod., 2016), saj ena sama metoda ne more zajeti vseh segmentov antioksidativnega učinka različnih antioksidantov. Vodotopni antioksidanti, kot so sečna kislina, askorbinska kislina, beljakovine ter drugi nizkomolekularni antioksidanti, se zadržujejo v vodnih predelih plazme, medtem ko so v maščobi topni antioksidanti (na primer vitamin E in karotenoidi) skriti v lipoproteinah (Yeum in sod., 2004). Antioksidativna kapaciteta je odvisna tudi od hitrosti reakcije med antioksidanti in prostimi radikali ter od nadaljnje reakcije nastalih antioksidantnih radikalov, od interakcije med antioksidanti, od koncentracije in premičnosti antioksidantov v mediju ter od absorpcije, porazdelitve,

zadrževanja in metabolizma posameznih antioksidantov (Niki, 2010). Iz navedenih razlogov sta ugotavljanje antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov (Popov in Lewin, 1994) in antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov (Popov in Lewin, 1996) bolj občutljivi metodi, ki omogočata natančnejši vpogled v antioksidativno zmogljivost plazme.

### 2.3 OKSIDATIVNI STRES IN OKSIDATIVNE POŠKODBE

Z izrazom oksidativni stres opisujemo stanje, pri katerem se je ravno vesje med oksidanti in antioksidanti porušilo v korist oksidantov. Zaradi škodljivega delovanja RKZ pride do poškodb molekul DNA, beljakovin in lipidov ter motenj v redoks signalizaciji (Sies in Jones, 2007).

Pri poškodbah DNA se RKZ vključijo v strukturo dušikovih baz, modificirajo pentoze in sprožijo nastanek križnih povezav med baznimi pari in beljakovinami. Hidroksilni radikal se zaradi svojega elektrofilnega značaja vključi v dvojne vezi purinov in pirimidinov predvsem na mestih, kjer je veliko elektronov, in povzroči oksidacijo baz, abazna mesta, nastanek DNA-DNA aduktov, prekinitev DNA verig ter navzkrižne povezave med DNA in beljakovinami (Cadet in sod., 1999; Cooke in sod., 2003).

Oksidativni procesi zajamejo tudi beljakovine. Oksidacija beljakovin lahko poteka z oksidativno modifikacijo določene aminokisline, RKZ lahko posredujejo pri razgradnji beljakovine ali pa nastanejo navzkrižne vezi med beljakovinami in produkti lipidne peroksidacije (Lobo in sod., 2010).

Oksidativni stres poruši presnovo kalcija v celicah. Kalcijevi ioni so vpleteni v številne fiziološke procese, vključno s celično proliferacijo (Mandelker, 2008) in posredovanjem pri celični poškodbi. Zaradi tega vsaka motnja, ki prizadene znotrajcelični in zunajcelični gradient kalcija, njegov transport ali difuzijo, resno ogrozi celično delovanje. Poškodbe, ki nastanejo zaradi delovanja RKZ, motijo tvorbo energije v celicah, kar celici onemogoči, da bi vzdrževala homeostazo kalijevih, natrijevih in kalcijevih ionov (Zadák in sod., 2009).

Reaktivne kisikove zvrsti povzročijo peroksidacijo lipidov. V začetni fazì kaskade lipidne peroksidacije RKZ, predvsem hidroksilni radikal, reagirajo z večkrat nenasičenimi

maščobnimi kislinami (VNMK), pri čemer nastane lipidni peroksilni radikal, ki v fazi širjenja reagira s sosednjo lipidno molekulo, pri čemer nastane nov lipidni peroksilni radikal. Kaskadna reakcija se nadaljuje do zaključne faze, ko antioksidanti (kot je na primer vitamin E) oddajo vodikov atom in se reakcija konča. Peroksidni modifikaciji so podvrženi tudi glikolipidi, fosfolipidi in holesterol (Ayala in sod., 2014). Zaradi lipidne peroksidacije pride do sprememb v strukturi in pretočnosti celične membrane, kar vpliva na različne segmente membranske funkcije, kot so ionski transport, receptorski sistem, celično signaliziranje in osmotski gradient (Stark, 2005; Yajima in sod., 2009). Med sekundarne produkte lipidne peroksidacije prištevamo tudi aldehide, kot so MDA, propanal, heksanal, 4-hidroksinonenal (4-HNE) (Ayala in sod., 2014).

Malondialdehid je nizkomolekularni aldehid, ki nastaja kot sekundarni produkt razgradnje arahidonske kisline (encimsko) in peroksidacije VNMK (neencimsko). Razgradnja MDA poteka s pomočjo encimov, vendar lahko reagira in poškoduje celične in tkivne beljakovine ali pride v stik z DNA bazami, pri čemer se tvorijo DNA adukti (Ayala in sod., 2014). Povišana koncentracija MDA je bila dokazana pri različnih boleznih, poleg tega je MDA tudi občutljiv pokazatelj kratkotrajnega delovanja zunanjih onesnaževalcev, kot so na primer ksenobiotiki (Grotto in sod., 2009).

## 2.4 OKSIDATIVNI STRES IN PARODONTALNA BOLEZEN

Parodontalna bolezen je najpogostejša kronična okužba obzobnih tkiv pri psih in vodi v izgubo prirastišča zoba in posledično v izgubo zoba (Kyllar in Witter, 2005; Marshall in sod., 2014). Glavni etiološki dejavnik parodontalne bolezni so bakterije v zobnem plaku, ki s svojim delovanjem izzovejo vnetni odgovor organizma (Dahiya in sod., 2013). Bakterijski lipopolisaharidi sprožijo nastajanje in sproščanje vnetnih citokinov iz obzobnih tkiv, ki privabijo polimorfonuklearne levkocite na mesto okužbe. Slednji proizvedejo RKZ s pomočjo NADPH oksidaze, ki poleg patogenov poškodujejo tudi tkiva gostitelja (Dahiya in sod., 2013). Vnetni procesi v ustni votlini (parodontalna bolezen, okužba koreninskega kanala in periapikalno vnetje) vplivajo na sistemsko vnetje (Rawlinson in sod., 2011; Nemec in sod., 2013) in s tem na oksidativni stres (Tomofuji in sod., 2008; Liu in sod., 2014). Študije, ki so bile namenjene ugotavljanju sistemskega vpliva parodontalne bolezni na oksidativni stres so pokazale zmanjšano celokupno antioksidativno kapaciteto seruma pri ljudeh (Brock in sod., 2004; Liu in

sod., 2014) in psih (Pavlica in sod., 2004) s parodontalno boleznijo. Študije pri ljudeh s parodontalno boleznijo so pokazale povečan obseg lipidne peroksidacije in posledično povišano koncentracijo MDA v slini (Khalili in Biloklytska, 2008; Liu in sod., 2014) in gingivalni tekočini (Akalin in sod., 2007), ne pa tudi v serumu pacientov (Akalin in sod., 2007; Baltacıoğlu in sod., 2014). Kale in sod. (2012) so ugotovili značilno povečano aktivnost eritrocitne SOD pri ljudeh s parodontalno boleznijo v primerjavi z zdravimi ljudmi ter povečano aktivnost pripisali povečanemu oksidativnemu stresu zaradi parodontalne bolezni.

## 2.5 OKSIDATIVNI STRES IN SRCE

Srčna mišica pridobiva energijo iz različnih substratov, kot so maščobne kisline, glukoza, laktat, ketoni in aminokisline. V fizioloških pogojih, ko je substrata dovolj, se presnova nanaša predvsem na maščobne kisline, iz katerih nastanejo acetil koencim A (acetil-CoA), NADH in FADH<sub>2</sub>. Acetil koencim A se vključi v Krebsov cikel, nastane še več NADH in FADH<sub>2</sub>. V procesu glikolize nastaneta ATP in piruvat. Slednji se vključi v Krebsov cikel, kjer ponovno nastajata NADH in FADH<sub>2</sub>, ki se kot kofaktorja v redoks procesih vključujeta v transportno verigo elektronov v mitohondrijih, kjer se v procesu oksidativne fosforilacije tvori ATP. Končni prejemnik elektronov je kisik, in če pride do pomanjkanja le-tega, pride do nezadostne oskrbe srčne mišice z energijo (Giordano, 2005; Nagoshi in sod., 2011).

Visoka energetska zmogljivost in visok delež aerobne presnove sta povezana tudi s stalnim nastajanjem RKZ, predvsem zaradi uhajanja elektronov iz transportne verige v mitohondrijih. Poleg že naštetih mehanizmov nastanka RKZ v celicah lahko nastanek RKZ v srcu spodbudijo tudi citokini in rastni faktorji. Angiotenzin II, trombocitni rastni dejavnik PDGF (angl., *platelet-derived growth factor*) in tumor nekrotični dejavnik TNF (angl., *tumor necrosis factor*) lahko na primer sprožijo nastanek vodikovega peroksida in superoksida preko aktivacije NAD(P)H oksidaze tako v gladki mišičnini žil kot tudi v drugih celicah, vključno s celicami miokarda (Giordano, 2005).

Srčno tkivo je neprestano podvrženo nastajanju in delovanju RKZ, zato so antioksidativni mehanizmi, predvsem antioksidativni encimi SOD, GPX in CAT, zelo pomembni pri omejevanju škodljivih učinkov RKZ (Singal in sod., 1998; Siti in sod., 2015).

Vsak akutni ali kronični stres lahko poruši občutljivo ravnovesje med RKZ in antioksidanti v srčni miščnini in povzroči oksidativni stres. Spremenjena celična presnova vodi v funkcionalne spremembe in poškodbe srčne mišice, kar se izrazi kot aritmije in miokardna disfunkcija. Stresni dejavniki, ki vplivajo na redoks ravnovesje v srcu, delujejo preko spremenjenega dotoka kisika do srčne miščnine (hipoksija, ishemija, reperfuzija), preko avtooksidacije kateholaminov in presnove ksenobiotikov (Singal in sod., 1998).

Srčna miščnina v popuščanju je izredno občutljiva na oksidativni stres, poleg tega je tvorba RKZ v taki miščnini povečana (Singal in sod., 1998, Giordano in sod., 2005; Siti in sod., 2015). Zaradi tega pride do poškodbe pomembnih biomolekul, ki spremenijo obliko in funkcionalnost celice. Kontraktilnost miokarda se zmanjša in nastane začaran krog (Tsutsui in sod., 2011). Zaradi pospešene apoptoze celic pride do disfunkcije miokarda in v končni fazi do odpovedi srca (Cesselli in sod., 2001).

### **2.5.1 Miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke**

Miksomatozna degeneracija zaklopk je najpogostejše obolenje srca pri psih (Ware, 2007; Olsen in sod., 2010). V večini primerov gre za degeneracijo mitralne zaklopke, prizadeta je lahko tudi trikuspidalna zaklopka. Najbolj pogosto se pojavi pri srednje starih do starih, majhnih do srednje velikih psih (Ware, 2007).

Novejše raziskave pri ljudeh (Hagler in sod., 2013) in psih (Freeman in sod., 2005; Freeman in sod., 2006; Reimann in sod., 2014) so pokazale prisotnost oksidativnega stresa pri MDMZ, vendar so molekularni mehanizmi in pomen oksidativnega stresa pri MDMZ še nepojasnjeni.

## **2.6 PROPOFOL**

Propofol je ultrakratko delajoči hipnotik, ki ga uporabljamo za uvod v splošno anestezijo, za kratkotrajne diagnostične in kirurške posege, za pomiritev in za vzdrževanje splošne anestezije s tehniko PIVA (popolna intravenska anestezija). Upočasni disociacijski nevrotransmiterja gama-aminomaslene kisline (GABA; angl., *gamma-aminobutyric acid*) od GABA receptorjev in poveča njegov zaviralni učinek na motorično aktivnost in budnost, kar povzroči hipnozo in amnezijo (Ying in Goldstein, 2005). Njegove

farmakokinetične lastnosti omogočajo hiter učinek, kratkotrajno delovanje ter dokaj hitro izločenje iz organizma (Vanlersberghe in Camu, 2008).

Propofol je bela vodna emulzija, ki poleg aktivne učinkovine (10 mg/mL propofola) vsebuje še sojino olje, glicerol, jajčni lecitin in natrijev hidroksid (Baker in Naguib, 2005).

Propofol izredno hitro prehaja skozi krvno možgansko bariero, kar omogoča hitro učinkovanje. Zelo hitro se prerazporedi v ostala, manj prekravljena tkiva, kot so mišice in maščobno tkivo (Nolan in Reid, 1993; Zoran in sod., 1993). Presnova in izločenje iz organizma sta izredno hitra, kar omogoča hitro zbujanje in okrevanje po anesteziji (Nolan in Reid, 1993; Zoran in sod., 1993; Short in Bufalari, 1999). Propofol se presnavlja v jetrih (Vanlersberghe in Camu, 2008), vendar je bilo pri ljudeh dokazano, da se presnavlja tudi v ledvicah (Hiraoka in sod., 2005). Prva faza presnove propofola pri psih poteka s pomočjo sistema citokromov P450, in sicer CYP2B11 (Hay Kraus in sod., 2000), pri čemer nastaja neaktivni metabolit hidroksipropofol. Sledi glukuronidacija s pomočjo uridin difosfat glukuronosiltransferaze I ali vezava s sulfatnimi konjugati. Presnovni produkti propofola se izločajo pretežno z urinom, v manjši meri tudi z žolčem (Simons in sod., 1991). Propofol prehaja skozi posteljico in vstopi v krvotok plodov, vendar se iz njega tudi hitro izloči (Funkquist in sod., 1997).

Propofol povzroči zmanjšanje sistemskega tlaka z neposrednim učinkom na žilni tonus in učinkuje negativno inotropno na miokard (Pagel in Warltier, 1993; Wouters in sod., 1995; Whitwam in sod., 2000). Zmanjša intrakranialni tlak, perfuzijski tlak in porabo kisika v možganih (Pinaud in sod., 1990; Tobias, 2000).

### **2.6.1 Propofol in oksidativni stres**

Z biokemičnega vidika je propofol alkilni fenol (2, 6-diizopropilfenol), saj vsebuje fenolno OH-skupino, podobno kot vitamin E, s katero reagira s prostimi radikali in tvori fenoksilni radikal, kar je značilno za vse fenolne lovilce radikalov (Marik, 2004; Vasileiou in sod., 2009). Tako kot vitamin E tudi propofol deluje sinergistično z askorbinsko kislino, vodotopnim antioksidantom, ki pretvori propofolov radikal v fenolno obliko (Tsuchiya in sod., 2002). Intralipid, topilo za propofol, ima sicer antioksidativno aktivnost, vendar je ta v kliničnih koncentracijah zanemarljiva (Demiryürek in sod., 1998; Vanlersberghe in Camu, 2008).

Raziskave *in vitro* so pokazale, da propofol zaradi svojega lipofilnega značaja lahko poveča fluidnost bioloških membran in še dodatno utrdi varovalne mehanizme celične membrane proti fizikalnim in hemodinamskim stresorjem (Tsuchiya in sod., 2002; Bahri in sod., 2007; Tsuchiya in sod., 2010).

Raziskave *in vitro* so tudi pokazale, da bi propofol lahko celo nadomestil vitamin E v določenih okoliščinah, predvsem kadar so zaloge vitamina E akutno iztrošene in jih je treba na hitro nadomestiti (Hans in sod., 1996). Deloval naj bi kot učinkovit inhibitor peroksidacije lipidov, predvsem pri anesteziji za kardiovaskularno in transplantacijsko kirurgijo ali za pomiritev kritičnih, umetno ventiliranih pacientov v intenzivni oskrbi s sepso, hudimi opeklinami in podobno (Aarts in sod., 1995; Zhang in sod., 2004).

Zaščitno antioksidativno delovanje propofola je bilo dokazano v eksperimentalnih modelih poškodbe nekaterih pomembnih organov, kot so možgani, jetra in srce (Kokita in Hara, 1996; Young in sod., 1997; De La Cruz in sod., 1998; Navapurkar in sod., 1998; Javadov in sod., 2000; Kotani in sod., 2008) ter v kliničnih raziskavah pri anesteziranih ljudeh (De La Cruz in sod., 1999).

Na kulti endotelnih celic človeških popkovnih ven so dokazali, da propofol lahko zmanjša toksičnost peroksidnega radikala z inhibicijo endotelijske sintaze dušikovega oksida, ne more pa preprečiti poškodbe celic zaradi vpliva endotoksinov (Peng in sod., 2003).

Poleg tega, da propofol reagira z organoperoksilnimi radikali, je bilo dokazano, da je propofol tudi lovilec peroksinitritov. Njegovo antioksidativno delovanje se izraža bodisi v reakciji s peroksilnimi radikali in tvorbo manj škodljivih fenoksilnih radikalov bodisi v reakciji s peroksinitriti (Kahraman in Demiryürek, 1997; Mouithys-Mickalad in sod., 1998). Acquaviva in sod. (2004) so z raziskavo na celicah astroglije dokazali nevroprotективni učinek propofola med anestezijo, saj ima antiapoptotičen učinek, zmanjša citotoksičnost in prepreči poškodbo DNA zaradi peroksinitritov.

## 2.7 SEVOFLURAN

Glede na kemično sestavo je sevofluran fluorometil 2,2,2,-trifluoro-1-(trifluorometil) etil eter. Gre za v maščobi topno molekulo, ki prehaja skozi alveolarno membrano, saj so pljuča vstopno in izstopno mesto anestetika (Shityakov in sod., 2015).

Sevofluran je slabo topen v krvi in v tkivnih razdelkih, kar omogoča hiter uvod v anestezijo in hitro prebujanje iz anestezije. Odstotek presnove sevoflurana je nekoliko

višji kot pri izofluranu (2 do 5 %), čeprav hitro izločanje učinkovine iz pljuč občutno zmanjša količino anestetika, ki se presnovi v telesu (Smith in sod., 1996; Nishiyama in Hanaoka, 1998). V prvi fazi presnove sevoflurana pride do oksidativne dehalogenacije in O-dealkilacije s katalitičnim učinkom encimov sistema citohromov P450 (CYP2E1), ki so prisotni predvsem v jetrih. V drugi fazi se nastali produkti združijo s kemičnimi spojinami, kot so glukuronska kislina, glicin, sulfatna ali metilna skupina. Spojine, ki nastanejo pri teh konjugacijah, se izločijo preko jeter in ledvic (Martis in sod., 1981; Kharasch, 1995).

Učinki sevoflurana na srčno žilni sistem so podobni učinkom izoflurana in so odvisni od količine vdihanega anestetika (Bennet in sod., 2008; Abed in sod., 2014). Zaradi vagolitične aktivnosti sevoflurana se pri psih zveča frekvenca srca (Picker in sod., 2001), zaviranje barorefleksne aktivnosti pa povzroči zmanjšanje sistemskega žilnega upora in posledično zmanjšanje krvnega tlaka (Bennett in sod., 2008).

### **2.7.1 Sevofluran in oksidativni stres**

Halogenati sprožijo fenomen ishemične predpripriprave (Erturk, 2014). To je prilagoditveni odgovor na kratkotrajne, subletalne epizode ishemije, ki omogoča zaščito miokarda pred kasnejšo smrtno nevarno ishemijo. Ishemična predpripriprava hlapnih anestetikov deluje po poti celične signalizacije, pri kateri so udeleženi od ATP-ja odvisni kalijevi kanalčki v mitohondrijski membrani, RKZ, apoptotična kaskada, dušikov oksid in znotrajcelični presežek kalcijevih ionov. Pri tem naj bi hlapni anestetiki povzročili nastanek prostih kisikovih radikalov, ki delujejo kot začetniki signalne kaskade, ki zmanjša proizvajanje prostih kisikovih radikalov v mitohondrijih v času ishemije. Reaktivne kisikove zvrsti namreč povzročijo aktivacijo mitohondrijskih, od kalija odvisnih ATP kanalčkov domnevno preko aktivacije določene izooblike proteinske kinaze C. Posledica tega je manjša depolarizacija mitohondrijskega membranskega potenciala in zmanjšan elektrokemijski gradient za kalcijeve ione. Ishemična predpripriprava zmanjša nalaganje kalcijevih ionov v mitohondrijih ter odprtje mitohondrijskih por, kar zaščiti mitohondrije pred poškodbo. Poleg tega se biorazpoložljivost ATP poveča, nastanek RKZ v ishemični fazi pa zmanjša (Kunst in Klein, 2015).

Hlapni anestetiki zmanjšajo krčljivost miokarda in potrebo miokarda po kisiku, kar še dodatno zaščiti srčno mišico pred reperfuzijsko poškodbo (Suleiman in sod., 2008).

Na izoliranih srcih buder je bilo dokazano, da hlapni anestetiki tudi zmanjšajo adhezijo nevtrofilcev (Heindl in sod., 1999) in trombocitov na žilno steno (Heindl in sod., 1998), kar zmanjša nastanek RKZ zaradi vnetnega odgovora (Lee in sod., 2015). Raziskave na živalskih modelih ishemičnega srca, med katerimi so tudi psi (Kunst in Klein, 2015), so pokazale, da aplikacija halotana (Davis in sod., 1983), enflurana (van Ackern in sod., 1985) ali izoflurana (Kersten in sod., 1997) pred prekinitvijo prekrvitve miokarda s stisnjencem koronarne arterije zmanjša poškodbo miokarda po reperfuziji. Podobno učinkovanje sevoflurana so pokazale raziskave na miših (Redel in sod., 2009), budrah (Riess in sod., 2005), psih (Toller in sod., 1999) in ljudeh (Yildirim in sod., 2009). Hlapni anestetiki se priporočajo pri anesteziji pacientov za kardiološke posege, saj omogočajo boljšo zaščito miokarda kot intravenski anestetiki (Landoni in sod., 2009). V tem primeru gre bolj za preprečitev oziroma zmanjšanje nastajanja prostih radikalov zaradi ishemije in reperfuzije kot za direktni antioksidativni učinek.

## 2.8 SPLOŠNA ANESTEZIJA IN OKSIDATIVNI STRES

Znano je, da pri zdravih psih (Lee, 2012; Lee, 2013) in ljudeh (Tsuchiya in sod., 2008; Kotzampassi in sod., 2009) splošna anestezija in operativni posegi v splošni anesteziji povzročijo povečan nastanek RKZ in oksidativni stres.

V nadaljevanju so izpostavljene pomembnejše klinične raziskave, ki obravnavajo učinek različnih anestetikov in anestezijskih protokolov na oksidativni stres pri ljudeh in pri živalih, zlasti pri psih. Literaturni podatki se nanašajo predvsem na ljudi z obolenjem srca in zdrave pse, saj literaturnih podatkov o vplivu anestezije na oksidativni stres pri psih s srčnim obolenjem nismo našli.

Splošna anestezija naj bi vplivala na koncentracijo vitamina E. Naziroğlu in Günay (1999) sta ugotovila značilno znižanje koncentracije vitamina E v serumu zdravih psov, ki so bili anestezirani dve uri s hlapnim anestetikom enfluranom. Ceylan in sod. (2009) so primerjali učinek anestezije s propofolom in desfluranom na koncentracijo vitamina E v serumu ljudi. Ugotovili so, da se je koncentracija vitamina E med anestezijo z desfluranom značilno znižala. Pri anesteziji s propofolom se koncentracija vitamina E med anestezijo ni značilno spremenila, vendar ni bilo značilnih razlik v primerjavi z anestezijo z desfluranom. Tudi Eroglu in sod. (2010) so ugotovili značilno znižanje

koncentracije vitamina E v pooperacijskem obdobju pri ljudeh, ki so bili anestezirani z desfluranom. Braz in sod. (2015) so ugotovili značilno znižano koncentracijo vitamina E tako pri anesteziji z izofluranom kot pri anesteziji s propofolom, čeprav je pri anesteziji s propofolom prišlo do značilnega zvišanja koncentracije gama tokoferola. Hans in sod. (1991) so primerjali koncentracijo vitamina E ter vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E (vitamin E (LS)) med anestezijo ljudi, pri katerih je bilo potrebno opraviti kirurški poseg na hrbtenici. Primerjali so PIVA s propofolom ter anestezijo s tiopentalom za uvod in izofluranom za vzdrževanje anestezije. Vrednosti vitamina E in vitamina E (LS) so ostale v mejah referenčnih vrednosti ne glede na anesteziski protokol.

Veliko raziskav o vplivu anestezije na oksidativni stres tako pri psih kot tudi pri ljudeh je osnovanih na ugotavljanju sprememb v celokupni antioksidativni kapaciteti. Določali so učinek različnih anesteziskih protokolov na celokupno antioksidativno (in oksidativno) kapaciteto pri ljudeh (Baysal in sod., 2009; Yalcin in sod., 2013; Erbas in sod., 2015) in psih (Lee, 2012; Lee, 2013). Pri psih so ugotavljali učinek propofola in tiopentala v indukcijskih odmerkih, pri čemer so anestezijo vzdrževali z izofluranom. Izkazalo se je, da je bil propofol bolj učinkovit pri ohranjanju celokupne antioksidativne kapacitete, vendar je prišlo do povišane oksidativne kapacitete in zmanjšane antioksidativne kapacitete pri obeh indukcijskih sredstvih, saj so bili psi v nadaljevanju anestezirani z izofluranom 80 do 130 minut (Lee, 2012). Rezultati raziskave, kjer je bilo 12 psov pasme beagle anesteziranih eno uro samo z izofluranom, so pokazali, da je imel izofluran prooksidativni učinek in da je zmanjšal antioksidativno kapaciteto plazme, odvisno od časa izpostavljenosti in koncentracije vdihanega anestetika (Lee, 2013). Braz in sod. (2015) so ugotavljali antioksidativno zmogljivost plazme ter plazemske koncentracijo posameznih lipofilnih antioksidantov, med njimi alfa in gama tokoferola. Ugotovili so, da je prišlo do povečane antioksidativne zmogljivosti v plazmi pri obeh anestetikih, med anestetikoma pa ni bilo razlik. Koncentracija alfa tokoferola se je pri obeh anestetikih znižala, vendar med njima tudi tu ni bilo razlik. Koncentracija gama tokoferola se je zvišala pri ljudeh, ki so bili anestezirani s propofolom, medtem ko je ostala nespremenjena pri ljudeh, ki so bili anestezirani z izofluranom (Braz in sod., 2015). Erbas in sod. (2015) so ugotovili povišano celokupno antioksidativno kapaciteto pri ljudeh, ki so bili anestezirani s propofolom ali sevofluranom, medtem ko je prišlo do povišane oksidativne kapacitete v plazmi ljudi, ki so bili anestezirani z desfluranom. Yalcin in sod. (2013) so primerjali anestezijo s sevofluranom in desfluranom pri

ženskah, pri katerih so opravili carski rez v splošni anesteziji. Značilnih razlik v celokupni antioksidativni kapaciteti niso ugotovili, vendar sta oba anestetika povzročila zmanjšanje celokupne oksidativne kapacitete, pri čemer je bil sevofluran bolj uspešen.

Antioksidativna encima GPX in SOD sta prva obrambna linija proti škodljivim učinkom RKZ (Valko in sod., 2007). Med raziskavamimi, ki so jih izvedli na poskusnih živalih, je najbolj znana raziskava Allaouchiche in sodelavcev (2001) na prašičih. Primerjali so učinek anestezije s propofolom, sevofluranom in desfluranom na parametre oksidativnega stresa (MDA, GPX in SOD) tako v plazmi kot v bronhialnem izpirku. Po štiriurni anesteziji niso ugotovili značilnih sprememb aktivnosti SOD v plazmi in bronhialnem izpirku pri nobenem anesteziskem protokolu. Aktivnost GPX se je značilno zmanjšala v obeh medijih pri anesteziji z desfluranom. Nasprotno pa je pri anesteziji s propofolom prišlo do značilno povišane aktivnosti GPX v obeh medijih, medtem ko sevofluran ni povzročil značilnih sprememb (Allaouchiche in sod., 2001).

Raziskav, kjer so ugotavljali učinek anestezije na aktivnost GPX in SOD pri psih, ni veliko. Naziroğlu in Günay (1999) nista ugotovila značilnih sprememb v aktivnosti GPX v serumu psov, ki so bili anestezirani dve uri z enfluranom. Lee in Kim (2012) sta primerjala tri anesteziskske protokole: v prvi skupini so za uvod in vzdrževanje anestezije uporabili izofluran, v drugi skupini so za uvod v anestezijo uporabili propofol, anestezijo pa so vzdrževali z izofluranom, pri tretji skupini pa so za uvod in vzdrževanje anestezije uporabili propofol. Anestezija je trajala eno uro. Pri nobeni skupini psov ni prišlo do značilnih sprememb v aktivnosti GPX. Aktivnost GPX se je pri psih, pri katerih so anestezijo vzdrževali z izofluranom, s trajanjem anestezije manjšala, medtem ko se je aktivnost GPX pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom povečevala, vendar spremembe niso bile značilne. Aktivnost SOD se je značilno zmanjšala le pri psih, pri katerih so anestezijo vzdrževali z izofluranom.

Koksal in sod. (2004) so primerjali učinke anestezije s sevofluranom in desfluranom pri ljudeh na koncentracijo MDA in na aktivnost SOD v plazmi pred indukcijo v anestezijo, pred kirurškim vrezom in na koncu anestezije. Ugotovili so povečano aktivnost SOD v plazmi pri tistih, ki so bili anestezirani z desfluranom, medtem ko pri ljudeh, ki so bili anestezirani s sevofluranom, ni prišlo do značilnih sprememb. Türkan in sod. (2004) so primerjali vpliv anestezije s halotanom, enfluranom in izofluranom na aktivnost SOD in GPX tako v plazmi kot v lizatu eritrocitov. Izsledki raziskave kažejo na različne učinke preiskovanih anestetikov na antioksidativne encime tako v plazmi kot v eritrocitih, pri

čemer so bile večje spremembe vidne v aktivnosti encimov v hemolizatih eritrocitov. Tri dni po uvodu v anestezijo s halotanom in enfluranom je bila aktivnost GPX v plazmi značilno povečana, medtem ko je prišlo do značilnega zmanjšanja aktivnosti GPX v eritrocitih pri anesteziji s halotanom in izofluranom eno uro, en dan in tri dni po uvodu v anestezijo. Aktivnost SOD v eritrocitih je bila značilno manjša eno uro po uvodu v anestezijo s halotanom in enfluranom. Ceylan in sod. (2009) so ugotavljali aktivnost GPX in SOD eno uro in 12 ur po uvodu v anestezijo v serumu ljudi, ki so bili anestezirani samo s propofolom ali z desfluranom po uvodu v anestezijo s propofolom. Aktivnost encimov GPX in SOD se ni značilno spremenila. Akın in sod. (2015) so ugotavljali učinek anestezije s sevofluranom, desfluranom in propofolom po uvodu v anestezijo s propofolom na aktivnost GPX po koncu posega, 24 ur in 48 ur po posegu. Aktivnost GPX je bila značilno večja pri anesteziji s sevofluranom in propofolom, medtem ko pri anesteziji z desfluranom ni prišlo do značilnih sprememb v aktivnosti GPX.

Malondialdehid je pokazatelj stopnje lipidne peroksidacije in posredno tudi obsežnosti oksidativnih poškodb lipidov (Akın in sod., 2015). Pri psih, ki so bili anestezirani z enfluranom, se je koncentracija MDA med anestezijo značilno zvišala (Naziroğlu in Günay, 1999). Yarsan in sod. (2010) so primerjali učinek halotana in izoflurana na plazemske koncentracije MDA pri psih, ki so bili anestezirani zaradi različnih kirurških posegov. Spremembe v koncentraciji MDA niso bile značilne, vendar je bila koncentracija MDA pri anesteziji s halotanom nižja kot pri anesteziji z izofluranom, vrednosti pa so se vrstile na začetni nivo v 24 urah. Simeonova in sod. (2004) so primerjali učinek treh anesteziskih protokolov na lipidno peroksidacijo pri psih. Ugotovili so, da anestezija s halotanom povzroči značilno povišanje koncentracije plazemske MDA v primerjavi s psi, ki so bili anestezirani s kombinacijo fentanila in halotana, ter s psi, ki so prejeli lumbosakralno epiduralno anestezijo. Allaouchiche in sod. (2001) so na prashičih ugotovili višjo koncentracijo MDA pri anesteziji z desfluranom in celo znižano koncentracijo MDA pri anesteziji s propofolom. Anestezija s sevofluranom ni povzročila značilnih sprememb v koncentraciji MDA. Učinek sevoflurana na koncentracijo MDA v plazmi ljudi so ugotavljali tudi Orosz in sod. (2014), ki niso ugotovili značilnih sprememb v koncentraciji MDA po krajšem kirurškem posegu. Raziskave pri ljudeh so pokazale značilno višje koncentracije MDA pri anesteziji z desfluranom v primerjavi z anestezijo s sevofluranom (Koksal in sod., 2004; Sivaci in sod., 2006). Podobno povišanje MDA so Ceylan in sod. (2009) ugotovili pri anesteziji z desfluranom v primerjavi s propofolom,

pri čemer so se vrednosti MDA med anestezijo s propofolom celo znižale. Akın in sod. (2015) so s primerjavo anestezije s sevofluranom, desfluranom in propofolom na koncentracijo MDA pri ljudeh ugotovili, da so bile koncentracije MDA dva dni po anesteziji s sevofluranom in propofolom nižje v primerjavi z anestezijo z desfluranom.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 ŽIVALI

V raziskavo smo vključili 30 lastniških psov s parodontalno boleznijo (12 brez in 18 z MDMZ), pri katerih smo opravili stomatološki poseg v splošni anesteziji. Starost, spol, pasma in telesna masa psov so prikazani v Tabeli 1.

Pred vključitvijo psa v raziskavo smo lastnika seznanili s potekom in namenom raziskave in pridobili pisno soglasje za sodelovanje v raziskavi (Priloga 1). Raziskavo je odobrila Nacionalna etična komisija. Vsi postopki so potekali v skladu z veljavno slovensko zakonodajo (Zakon o zaščiti živali UL RS, 43/2007).

Tabela 1: Starost, spol, pasma in telesna masa psov

*Table 1: Age, sex, breed and body weight of dogs*

SKUPINA <i>Group</i>	ŠT. PSA <i>Dog No</i>	STAROST (meseci) <i>Age (months)</i>	SPOL <i>Sex</i>	PASMA <i>Breed</i>	TELESNA MASA (kg) <i>Body weight (kg)</i>
PS/K <i>(n = 8)</i>	K1	140	M (K)	X	8,08
	K3	67	M	CKCŠ	12,34
	K5	114	Ž (S)	X	31,7
	K9	125	M	BIG	20,5
	K10	120	M	NKP	23,2
	K12	70	Ž	BT	23,7
	K13	87	M	MO	13,8
	K18	87	M (K)	BC	28,1
P/K <i>(n = 10)</i>	K6	106	Ž	TT	11,2
	K7	108	Ž	JKP	7
	K8	61	Ž	CKCŠ	9,74
	K11	62	M	PŠ	8,38
	K14	181	M (K)	X	10,26
	K15	108	M	BC	17,86
	K16	158	M	X	13,04
	K17	146	M	IS	31,65
	K29	53	Ž (S)	FCR	32,3
	K31	76	Ž	RWD	12,45

PS/Z (n = 12)	19	9	M	BT	24,65
	20	107	M	BT	29,5
	21	97	Ž (S)	LR	36
	22	55	Ž (S)	GH	25,1
	23	52	M (K)	X	18,9
	24	63	Ž (S)	X	17,44
	25	63	M (K)	BC	24,3
	26	61	Ž (S)	KCŠ	7,98
	27	83	Ž (S)	MN	23,75
	28	52	M	NO	39,7
	30	89	Ž (S)	X	13,4
	32	116	M	RWD	16,58

LEGENDA: PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; n – število psov v skupini; M – moški spol; M (K) – samec, kastriran; Ž – ženski spol; Ž (S) – samica, sterilizirana; BC – mejni ovčar; BIG – beagle; BT – bulterier; CKCŠ – kavalir kralja Karla; FCR – gladkodlaki prinašalec; GH – veliki angleški hrt; IS – irski seter; JKP – kratkodlaki pritlikavi jazbečar; KCŠ – španjel kralja Karla; LR – labradorec; MN – belgijski ovčar malinois; MO – mops; NKP – nemški kratkodlaki ptičar; NO – nemški ovčar; PŠ – pritlikavi šnavcer; RWD – romanski vodni pes; TT – tibetanski terier; X – mešanec.

LEGEND: PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; n – number of dogs in the group; M – male; M (K) – male, castrated; Ž – female; Ž (S) – female, neutered; BC – border collie; BIG – beagle; BT – bullterrier; CKCŠ – cavalier King Charles spaniel; FCR – flat coated retriever; GH – greyhound; IS – irish setter; JKP – miniature dachshund; KCŠ – King Charles spaniel; LR – labrador retriever; MN – malinois; MO – pug; NKP – german short-haired pointing dog; NO – german shepherd; PŠ – miniature schnauzer; RWD – romagna water dog; TT – tibetan terrier; X – mixed breed.

### 3.1.1 Kriteriji za vključitev psov v raziskavo

V raziskavo smo vključili pse, pri katerih je bilo potrebno opraviti stomatološki poseg zaradi parodontalne bolezni (čiščenje zobnih oblog ter zdravljenje in/ali izdiranje parodontalno prizadetih in/ali travmatsko poškodovanih zob) v splošni anesteziji, ki je trajala vsaj eno uro.

Pogoj za vključitev v raziskavo je bila odsotnost drugih kroničnih sistemskih bolezni

(alergiene, kronične nefropatije, endokrinopatije, hepatopatije), onkoloških obolenj, akutnih bolezenskih stanj (infekcijske bolezni, poškodbe, vnetna stanja), drugih obolenj srca razen MDMZ ACVIM B1 in B2 (po klasifikaciji Ameriškega kolegija za interno veterinarsko medicino (ACVIM; angl., *American College of Veterinary Internal Medicine*) (skupini PS/K in P/K, 18 psov) oziroma odsotnost bolezni srca (skupina PS/Z, 12 psov) ter starost nad 9 mesecev in manj kot 14 let. Izključitveni kriterij so bila tudi cepljenja, anestezije ali kakršnokoli zdravljenje mesec dni pred vključitvijo v raziskavo, aplikacija antiparazitikov do 14 dni pred posegom ter aplikacija vitaminsko-mineralnih dodatkov do en mesec pred anestezijo in znane neželene reakcije na propofol, sevofluran ali katerokoli od uporabljenih učinkovin.

### **3.1.2 Določitev zdravstvenega statusa psov**

Zdravstveni status psov smo ovrednotili na podlagi anamneze, kliničnega pregleda in krvnih preiskav. Z ambulantnim pregledom ustne votline smo ocenili, ali pes potrebuje stomatološki poseg. Anamnestične podatke smo pridobili s pomočjo vprašalnika (Priloga 2), ki smo ga izpolnili skupaj z lastnikom psa. Pri kliničnem pregledu smo se osredotočili na splošni izgled živali, barvo sluznic in čas polnjenja kapilar, temperaturo, frekvenco srca in perifernega pulza, frekvenco in vzorec dihanja ter avskultacijo srca in pljuč. Rezultati izbranih hematoloških in biokemijskih parametrov (povprečja  $\pm$  standardni odklon (SD; angl., *standard deviation*)) so prikazani v Prilogah 3 in 4. Vrednosti izbranih hematoloških in biokemijskih parametrov so bile znotraj referenčnih vrednosti (Bush, 1991; Moritz in sod., 2004; Nemec Svete in Frangež, 2013).

V kontrolno skupino smo vključili 12 psov brez MDMZ, medtem ko smo pri 18 psih, pri katerih je bil ugotovljen šum 2. do 3. stopnje na levi strani prsnega koša, opravili kardiološki pregled, ki je vključeval ponovno avskultacijo srca in natančen ultrazvočni pregled. Rezultati meritev ultrazvočnih parametrov za potrditev in uvrstitev psov po klasifikaciji ACVIM (Atkins in sod., 2009) so strnjeni v Prilogi 5. Razmerje med premerom levega preddvora in korena aorte (LA/Ao; angl., *left atrium:aortic root ratio*) smo izmerili v desnem parasternalnem prečnem dvodimenzionalnem preseku (2D). Iztisni delež levega prekata (LVEF; angl., *left ventricular ejection fraction*) smo izmerili z metodo diskov po Simpsonu v desnem (2D) vzdolžnem parasternalnem preseku. Srčno frekvenco smo določili iz povprečja treh frekvenc med ultrazvočnimi meritvami,

hitrost E vala mitralnega pritoka (MVE Vel; *mitral E wave velocity*) pa smo merili v levem apikalnem preseku štirih votlin. Ultrazvočni pregled srca smo opravili z aparatom Vivid E9 ali Vingmed System Five (Vingmed System Five ali VIVID E9, General Electric Healthcare, Fairfield, Connecticut, ZDA). Ultrazvočne preglede je opravil isti izkušen pregledovalec.

### 3.2 ANESTEZIJSKI PROTOKOLI

Anestezijski protokoli so vključevali minimalni spekter učinkovin, vendar znotraj meja strokovnosti in etičnosti, da smo psom zagotovili ustrezni potek anestezije ter ustrezno medoperacijsko in pooperacijsko analgezijo.

Psi so bili tešči vsaj 12 ur, vodo pa so imeli na razpolago do posega. Premedicirali smo jih z morfijem (0,3 mg/kg s.c.; Morphinijev Chl., Alkaloid Skopje, Republika Makedonija). Tik pred uvodom v anestezijo, to je 15 minut po premedikaciji, smo pse preoksigenirali 5 minut s 100 % kisikom (2 L/min). V anestezijo smo jih uvedli s propofolom (3–6 mg/kg i.v.; Norofol, Norbrook Laboratories Ltd, Newry, Severna Irska). Po izgubi zavesti in grlnega refleksa smo uvedli tubus v sapnik in pse priključili na krožni dihalni sistem. Med anestezijo so spontano dihali 100 % kisik (2 L/min). Po uvodu v anestezijo smo pse z MDMZ naključno razdelili v dve skupini: pri P/K skupini (10 psov) smo anestezijo vzdrževali s propofolom i.v. (0,3–0,6 mg/kg/min), pri skupini PS/K (8 psov) pa s sevofluranom (FE'Sevo 2–3 %; Sevorane, Abbott Laboratories, UK). Pri kontrolni skupini psov brez MDMZ PS/Z (12 psov) smo anestezijo, enako kot pri PS/K skupini, vzdrževali s sevofluranom. Med anestezijo so vsi psi prejemali vzdrževalno tekočinsko terapijo, in sicer sestavljen natrijev laktat (5 mL/kg/h; Hartmannova raztopina, B. Braun, Melsungen AG, Nemčija). Med posegom smo po potrebi (izboljšanje medoperacijske analgezije) injicirali ketamin (0,5 mg/kg i.v.; Narketan, Vétoquinol GmbH, Ravensburg, Nemčija) in/ali levobupivakain (1–2 mg/kg perinevrально; Chirocaine, AbbVie S.r.l., Campoverde LT, Italija), ki smo ga uporabili za inferiorno alveolarno in/ali infraorbitalno regionalno blokado. Psom smo aplicirali antibiotik cefazolin (20 mg/kg i.v.; Cefamezin, Krka d.d., Novo mesto, Slovenija), in sicer po uvodu v anestezijo ter dve uri po prvi aplikaciji, če je bilo klinično indicirano.

Med anestezijo smo spremljali koncentracijo CO<sub>2</sub> na koncu izdiha (PE'CO<sub>2</sub>), koncentracijo hlapnega anestetika v vdihani in izdihani plinski zmesi (RGM 5250;

Ohmeda, Louisville CO, ZDA), telesno temperaturo (digitalni termometer FT 15/1; Beurer GmbH, Ulm, Nemčija), elektrokardiografsko aktivnost srca in srčni utrip (M7000 Portable Vet Monitor; Guangdong Biolight Meditech Co., Ltd., Zhuhai, Kitajska) ter neinvazivno merili krvni tlak s pomočjo Dopplerjevega meritca krvnega tlaka (model 811, Parks Medical Electronics, Beaverton, Oregon, USA).

Po posegu so psi prejemali sestavljen natrijev laktat (2 mL/kg i.v.) do odpusta. Odvisno od posega in pooperacijskih zahtev smo psom aplicirali morfij (0,3 mg/kg na 3 do 4 ure s.c.), 6 ur po uvodu v anestezijo (po zadnjem odvzemenu krvi) pa so prejeli še karprofen (4 mg/kg i.v.; Rimadyl, Orion Pharma Animal Health, Sollentuna, Švedska).

Vsi psi so bili najkasneje v 12 urah po posegu odpuščeni v domačo oskrbo z ustrezno protibolečinsko in antibiotično terapijo; njeno trajanje je bilo odvisno od invazivnosti posega in klinične indikacije.

### 3.3 RAZDELITEV PSOV GLEDE NA STANJE USTNE VOTLINE IN ZOB

V splošni anesteziji smo pri vseh psih najprej opravili natančen pregled ustne votline, zob in obzobnih tkiv, vključno z rentgenskim slikanjem vseh zob. Na podlagi kliničnega in rentgenskega izvida smo v skladu z uradno veljavno nomenklaturo Ameriškega kolegija za veterinarsko stomatologijo (AVDC; angl., *American Veterinary Dental College*) za vsak zob določili stopnjo napredovanja parodontalne bolezni in/ali travmatskih poškodb zob (zlomljeni in zabarvani zobje). Pri prvi stopnji parodontalne bolezni (PD1) je prisotno vnetje dlesni brez izgube prirastišča zoba. Pri zgodnjem parodontitisu (2. stopnja parodontalne bolezni, PD2) je izgubljenega do 25 % prirastišča zoba, pri zmernem parodontitisu (3. stopnja parodontalne bolezni, PD3) je izgubljenega 25 % do 50 % prirastišča zoba, medtem ko je pri napredovalem parodontitisu (4. stopnja parodontalne bolezni, PD4) izgubljenega več kot 50 % prirastišča zoba (AVDC Nomenclature Committee, 2016). V raziskavo smo vključili le pse, ki so imeli večino zob. Za potrebe statistične analize smo jih razdelili v dve skupini na podlagi števila prizadetih zob (bodisi s parodontitism in/ali travmatsko poškodbo zob): pse, ki so imeli prizadetih manj ali enako kot 25 % zob ( $P1 \leq 25\%$ ) in pse, ki so imeli prizadetih več kot 25 % zob ( $P2 > 25\%$ ). Podatki o zdravstvenem stanju ustne votline psov so navedeni v Prilogi 6.

### 3.4 ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV KRVI

Kri za določanje pokazateljev oksidativnega stresa ter hematoloških in biokemijskih preiskav smo odvzeli iz jugularne in/ali cefalne vene.

Vzorce krvi za določanje pokazateljev oksidativnega stresa (vitamin E, ACW, ACL, MDA, SOD in GPX) in koncentracije holesterola in trigliceridov (za potrebe lipidne standardizacije vitamina E) smo odvzeli štirikrat, in sicer tik pred uvodom v anestezijo (bazalne vrednosti), 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo. Vzorce krvi za hematološke in biokemijske preiskave smo odvzeli le enkrat, to je pred vključitvijo živali v raziskavo (Prilogi 3 in 4).

Vzorce krvi za hematološke preiskave (krvna slika z diferencialno belo krvno sliko) smo odvzeli v 0,5-mL epruvete z antikoagulantom trikalijeva sol etilendiamintetraocetne kisline (K3EDTA) (BD Microtainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, ZDA). Analize vzorcev smo opravili v roku ene ure po odvzemu krvi. Krvna slika vključuje številčno koncentracijo levkocitov, številčno koncentracijo eritrocitov, koncentracijo hemoglobina v vzorcu, hematokrit ter številčno koncentracijo trombocitov. Diferencialna bela krvna slika zajema številčno koncentracijo nevtrofilcev, limfocitov, monocitov, eozinofilcev, bazofilcev in število heterogenih celic brez peroksidazne aktivnosti (LUC; angl., *large unstained cells*).

Vzorce krvi za pridobitev seruma, v katerem smo določili biokemijske parametre (koncentracijo elektrolitov (natrij (Na), kalij (K), klorid (Cl)), glukoze, sečnine, kreatinina, kalcija, celokupnih beljakovin, albuminov, holesterola in trigliceridov ter aktivnost alkalne fosfataze in alanin aminotransferaze), smo odvzeli v 4-mL epruvete s separacijskim gelom in dodatkom aktivatorja koagulacije (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija). Za pridobitev seruma smo vzorce centrifugirali 10 minut pri 1300 x g pri sobni temperaturi. Biokemijske preiskave smo opravili na dan odvzema vzorcev.

Kri za določanje plazemske koncentracije MDA smo odvzeli v 2-mL epruvete s K<sub>3</sub>EDTA antikoagulantom (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija) in jo takoj po odvzemu centrifugirali 15 minut pri 1500 x g pri temperaturi 4 °C. Po končanem centrifugiranju smo odpipetirali 2-krat 300 µL plazme v epruvetke za zamrzovanje. Vzorce plazme smo do analize takoj zamrznili pri temperaturi -80 °C.

Kri za določanje aktivnosti GPX v hemolizatu polne krvi smo odvzeli v 2-mL epruvete z antikoagulantom litijevim heparinom (Greiner Bio-One Vacuette, Kremsmünster, Avstrija). Dvakrat po 300 µL polne heparinske krvi smo odpipetirali v epruvetke za zamrzovanje in vzorce do analize zamrznili pri temperaturi -80 °C.

Kri za določanje aktivnosti SOD v hemolizatu eritrocitov smo odvzeli v 2-mL epruvete z antikoagulantom litijevim heparinom (Greiner Bio-One Vacuette, Kremsmünster, Avstrija). Hemolizateritrocitov smo pripravili v skladu z navodili proizvajalca reagenčnega kompleta Ransod (RANDOX, Crumlin, Velika Britanija), ki smo ga uporabili za določanje aktivnosti SOD. V dve 15-mL centrifugirki smo odpipetirali po 500 µL polne heparinske krvi in vzorec centrifugirali 10 minut pri 1300 × g, pri temperaturi 4 °C. Po centrifugiranju smo plazmo zavrgli, sediment krvnih celic pa 4-krat sprali s 3 mL fiziološke raztopine (0,9 % natrijev klorid; Braun, Melsungen, Nemčija) ohlajene pri temperaturi 4 °C. Vzorce smo po vsakem dodatku fiziološke raztopine rahlo premešali in centrifugirali 10 minut pri 1300 × g, pri temperaturi 4 °C. Po četrtem centrifugiranju smo sedimentu celic dodali 2 mL redestilirane vode (Aqua redestilata, Pliva, Zagreb, Hrvaška), ohlajene pri temperaturi 4 °C ter 15 minut inkubirali v hladilniku pri temperaturi 2–8 °C. Tako pripravljeni vzorce hemolizata eritrocitov smo razdelili v epruvetki za zamrzovanje in vzorce hemolizata do analize shranili v zamrzovalniku pri temperaturi -80 °C.

Kri za določanje koncentracije vitamina E, ACW in ACL smo odvzeli v 2 mL epruveto z antikoagulantom litijevim-heparinom (Greiner Bio-One Vacuette, Kremsmünster, Avstrija). Vzorce krvi smo centrifugirali 15 minut pri 1500 × g pri temperaturi 4 °C. Po centrifugiranju smo plazmo odpipetirali v epruvetke za zamrzovanje (2 x po 250 µL za ACW in ACL; 1 x po 250 µL za vitamin E). Vzorce smo do analize zamrznili pri temperaturi -80 °C.

### 3.5 METODE DOLOČANJA KRVNIH PARAMETROV

Hematološke in biokemijske preiskave ter določanje aktivnosti GPX in SOD smo opravili v diagnostičnem laboratoriju Klinike za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. Določanje koncentracije vitamina E v plazmi smo opravili v laboratoriju Inštituta za varno hrano, krmo in okolje Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. Določanje koncentracije MDA smo opravili v laboratoriju na Katedri za biofarmacijo in

farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani. Določanje koncentracije ACL in ACW smo opravili v kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehnične fakultete Univerze v Ljubljani.

### **3.5.1 Hematološke in biokemijske preiskave**

Hematološke preiskave smo izvedli na avtomatskem hematološkem analizatorju Advia 120 (Siemens, München, Nemčija), ki deluje po principu pretočne citometrije z lasersko svetlobo in je namenjen uporabi v veterinarski medicini. Biokemijske parametre, z izjemo določitve koncentracije Na, K in Cl, smo določali z avtomatskim biokemijskim analizatorjem RX Daytona (RANDOX, Crumlin, Velika Britanija). Koncentracijo Na, K in Cl smo določili z analizatorjem za elektrolite (Ilyte Na/K/Cl; Instrumentation Laboratory, Lexington, MA, ZDA), katerega meritve koncentracij temeljijo na ionoselektivnih elektrodah.

### **3.5.2 Določanje vitamina E in lipidna standardizacija vitamina E**

Za določanje vitamina E smo uporabili nekoliko modificiran analizni postopek, opisan v literaturi (Zhao in sod., 2004; Sivertsen in sod., 2005). V epruveto smo prenesli 0,1 mL vzorca plazme in ga zmešali z 1 mL etanola. Epruveto smo stresali na vorteksu 10 sekund. Mešanici smo dodali 3 mL n-heksana in jo ponovno tresli na vorteksu 10 sekund. Ko sta se plasti ločili, smo odpipetirali 2 mL zgornje heksanske faze in jo posušili do suhega pri približno 35 °C pod vakuumom (Syncore Reactor R-48, Büchi, Flawil, Switzerland). Suh ostanek smo raztopili v 2 mL metanola. Koncentracijo vitamina E smo določili s tekočinsko kromatografijo (HPLC; angl., *high performance liquid chromatography*) s fluorescenčno detekcijo. Rezultate smo ovrednotili s pomočjo umeritvene krivulje, ki smo jo pripravili z uporabo standardnih raztopin alfa-tokoferola (Sigma, St Louis, MO, USA). Uporabili smo sistem za tekočinsko kromatografijo (Waters Alliance 2695, Waters, Milford, MA, USA), opremljen s kolono μBondapak C18, 10 µm, 3.9 x 300 mm (Waters), fluorescenčnim detektorjem Waters 474 in programom Millennium za vodenje sistema in obdelavo podatkov. Za mobilno fazo smo uporabili metanol s pretokom 2 mL/min. Injekcijski volumen je bil 20 µL, ločevanje na koloni je potekalo pri sobni temperaturi, za detekcijo pa smo uporabili valovno dolžino vzbujanja 295 nm in emisije 330 nm. Koncentracijo vitamina E smo izrazili v mikromolih na liter plazme (µmol/L).

Vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E smo izračunali kot razmerje med plazemsko koncentracijo vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) in vsoto koncentracij celokupnega holesterola ( $\text{mmol/L}$ ) in trigliceridov ( $\text{mmol/L}$ ) v serumu (Thurnham in sod., 1986; Winbauer in sod., 1999).

### **3.5.3 Določanje koncentracije malondialdehida v plazmi**

Koncentracijo MDA v plazmi smo določili s tekočinsko kromatografijo (LC; angl., *Liquid Chromatography*), sklopljeno s tandemskim masnim spektrometrom (MS/MS). Vzorce plazme smo derivatizirali z 2,4-dinitrofenilhidrazinom (Czauderna in sod., 2011) in derivat MDA analizirali s sistemom Agilent 1290 Infinity LC, sklopljeno z Agilent 6460 trojnim kvadrupolnim masnim analizatorjem, opremljenim z JetStreamTM virom elektrorazprševalne ionizacije (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, ZDA). Za kvantifikacijo derivata smo izbrali multirezidualno metodo vzorčenja, pri čemer smo spremljali masni prehod  $m/z$  iz 235,1 na 159,2. Koncentracijo MDA smo izrazili v mikromolih na liter plazme ( $\mu\text{mol/L}$ ).

### **3.5.4 Določanje aktivnosti superoksidne dismutaze v hemolizatu eritrocitov**

Aktivnost SOD smo določali spektrofotometrično na avtomatskem biokemijskem analizatorju (RX-Daytona, Randox, Crumlin, Velika Britanija) z reagenčnim kompletom Ransod (Ransod kit, Randox, Crumlin, Velika Britanija). Reagenčni komplet temelji na metodi McCorda in Fridovicha (1969). V uporabljeni metodi je sistem za proizvodnjo superoksidnih radikalov pripravljen iz ksantina in ksantin oksidaze. Indikatorska spojina je 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolijev klorid (INT), ki reagira s superoksidnim radikalom v rdeče barvilo formazan. Aktivnost SOD smo merili s stopnjo inhibicije te reakcije. Iz umeritvene krivulje odstotka inhibicije standardnih raztopin (kalibratorja) in z desetiškim logaritmom koncentracije ( $\text{U/mL}$ ) smo določili aktivnosti SOD v naših vzorcih. Aktivnost SOD smo izrazili v enotah (U; angl., *units*) na gram hemoglobina ( $\text{U/g Hgb}$ ).

### **3.5.5 Določanje aktivnosti glutation peroksidaze v polni krvi**

Aktivnost GPX v vzorcu polne krvi smo določili spektrofotometrično na avtomatskem biokemijskem analizatorju (RX-Daytona, Randox, Crumlin, Velika Britanija) z reagenčnim

kompletom Ransel (Ransel kit, Randox, Crumlin, Velika Britanija). Uporabljeni reagenčni komplet temelji na metodi, ki sta jo kot prva opisala Paglia in Valentine (1967). Metoda določanja temelji na posrednem določanju aktivnosti GPX. Ta katalizira oksidacijo reducirane glutationa s sintetičnim kumen hidroperoksidom. Pri tej reakciji nastali oksidirani glutation disulfid se v indikatorski reakciji z glutation reduktazo in ob prisotnosti reducirane oblike koencima nikotinamidadenindinukleotidfosfata (NADPH) prevede v reducirani glutation in oksidirano obliko koencima nikotinamidadenindinukleotidfosfata (NADP<sup>+</sup>). Hitrost oksidacije NADPH, ki jo merimo kot padec absorbance pri 340 nm, je prenosorazmerna aktivnosti GPX v vzorcu. Aktivnost glutation peroksidaze smo izrazili v enotah na g hemoglobina (U/g Hgb).

### **3.5.6 Določanje antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov**

Metoda določanja antioksidativne kapacitete, ACW in ACL, temelji na kemiluminiscenčnem merjenju z aparatujo PHOTOCHEM (Analytik Jena, Jena, Nemčija) in uporabo ustreznih reagenčnih kompletov. Vzorce plazme smo najprej odtalili ter jih nato premešali z vrtinčnikom. V 1,5 mL plastično posodico s pokrovčkom smo odpipetirali 100 µL metanola in 100 µL plazme. Vzorce smo v vrtinčniku stresali 10 minut in jih nato centrifugirali pri 25000 obratih/minuto 10 minut pri 4°C. Vzorce smo do analize hranili v temnem hladnem prostoru nad ledom. Antioksidativno kapaciteto (ACW in ACL) smo v vzorcih plazme določali na pretočni merilni celici PHOTOCHEM® (Analytik Jena, Jena, Nemčija) z uporabo reagenčnih kompletov (ACL in ACW reagenčna kompleta; Analytik Jena, Jena, Nemčija). Rezultate meritev ACW smo podali v nanomolih ekvivalentov askorbinske kisline v mL vzorca (nmol/mL) ter rezultate meritev ACL v nanomolih ekvivalentov troloxa v mL vzorca (nmol/mL).

## **3.6. STATISTIČNE METODE**

Za statistično analizo podatkov in za izdelavo grafov smo uporabili statistični program R (R Core Team 2015, R Foundation for Statistical Computing, Dunaj, Avstrija).

Starost in dolžino anestezije smo med posameznimi skupinami psov (PS/K, P/K in PS/Z) primerjali z Mann-Whitneyjevim testom. V primeru opisnih spremenljivk, kot so parodontalni status, uporaba antibiotikov, ketamina in lokalnih blokov, smo primerjave opravili s Fisherjevim eksaktnim testom.

Sledila je primerjava vrednosti preiskanih parametrov oksidativnega stresa znotraj posamezne skupine (PS/K, P/K in PS/Z) in med skupinami (P/K s PS/K in PS/Z s PS/K) z uporabo linearnih mešanih modelov (Pinheiro in sod., 2015). Post-hoc parne primerjave med skupinami (P/K s PS/K in PS/Z s PS/K) smo opravili s Holm-Bonferronijevim popravkom za večkratno testiranje.

Za potrebe statistične analize smo pse z MDMZ razdelili v dve skupini na podlagi števila prizadetih zob (bodisi s parodontitisom in/ali travmatsko poškodbo zob): pse, ki so imeli prizadetih manj ali enako kot 25 % zob ( $P1 \leq 25\%$ ) in pse, ki so imeli prizadetih več kot 25 % zob ( $P2 > 25\%$ ). Za primerjavo vrednosti merjenih parametrov (vitamin E, vitamin E (LS), MDA, GPX, SOD, ACW in ACL) med omenjenima skupinama psov pred anestezijo smo uporabili Mann-Whitney test. Statistično analizo smo opravili s pomočjo računalniškega programa SPSS (SPSS 22.0 for Windows, IBM, Chicago, Illinois, ZDA). Rezultate smo podali kot povprečje  $\pm$  SD. Mejo statistične značilnosti smo postavili pri  $p < 0,05$ .

## 4. REZULTATI

### 4.1 OSNOVNE ZNAČILNOSTI SKUPIN

Zaradi morebitnega vpliva zdravstvenega stanja ustne votline, uporabe dodatnih zdravil in trajanja anestezije ter starosti psov na izbrane parametre oksidativnega stresa smo preverili, ali so se vse skupine (PS/K, PS/Z in P/K) med seboj razlikovale v zgoraj navedenih spremenljivkah. Pri psih z MDMZ (skupini PS/K in P/K) smo preverili ali se pred anestezijo vrednosti merjenih parametrov (vitamin E, vitamin E (LS), MDA, SOD, GPX, ACL in ACW) razlikujejo glede na parodontalni status (P1, P2).

Med posameznimi skupinami (PS/K, PS/Z in P/K) nismo ugotovili značilnih razlik v parodontalnem statusu ( $p = 0,443$ ), uporabi antibiotikov ( $p = 0,443$ ) in v trajanju anestezije ( $p = 0,245$ ).

Pred anestezijo, pri psih z MDMZ nismo ugotovili značilnih razlik v vrednosti merjenih parametrov (vitamin E, vitamin E (LS), MDA, SOD, GPX, ACL in ACW) med skupinama (PS/K in P/K) glede na parodontalni status, P1 in P2.

Statistično mejna razlika je bila pri starosti psov ( $p = 0,054$ ), saj so bili psi brez MDMZ nekoliko mlajši (povprečna starost  $\pm$  SD, 5 let in 11 mesecev  $\pm$  2 leti in 5 mesecev; minimalna starost 9 mesecev, maksimalna starost 10 let in 6 mesecev) v primerjavi s psi z MDMZ (povprečna starost  $\pm$  SD, 8 let in 5 mesecev  $\pm$  2 leti in 3 meseci; minimalna starost 5 let in 7 mesecev, maksimalna starost 11 let in 8 mesecev pri PS/K skupini ter 8 let in 10 mesecev  $\pm$  3 leta in 8 mesecev; minimalna starost 4 leta in 5 mesecev, maksimalna starost 15 let in 10 mesecev pri P/K skupini).

Statistično mejno razliko smo ugotovili tudi pri aplikaciji lokalnih živčnih blokad ( $p = 0,054$ ), kjer smo pri petih od dvanajstih zdravih psov aplicirali lokalni anestetik (kar je manj kot pri polovici psov), medtem ko smo pri psih z MDMZ aplicirali lokalni anestetik pri večini psov, se pravi sedmim psom od osmih pri skupini PS/K in osmim psom od desetih pri skupini P/K.

Skupine so se značilno razlikovale v uporabi ketamina ( $p = 0,017$ ), saj je le en pes od dvanajstih zdravih psov prejel ketamin, medtem ko je pri psih z MDMZ prejelo ketamin pet psov od osmih v skupini PS/K in pet psov od desetih v skupini P/K.

#### 4.2. VITAMIN E

Pred anestezijo je bila koncentracija vitamina E značilno nižja pri psih brez MDMZ (skupina PS/Z) v primerjavi s psi z MDMZ (skupina PS/K). Pri psih z MDMZ (skupina PS/K in skupina P/K) ni bilo značilnih razlik v koncentraciji vitamina E pred anestezijo.

Pri psih brez MDMZ ni bilo značilnih razlik v koncentraciji vitamina E med posameznimi odvzemi. Pri psih z MDMZ je prišlo do značilnega znižanja koncentracije vitamina E eno uro po uvodu v anestezijo ( $p = 0,048$  za skupino PS/K in  $p = 0,004$  za skupino P/K). Šest ur po uvodu v anestezijo je bila koncentracija vitamina E značilno nižja samo v skupini P/K ( $p = 0,008$ ).

V primerjavi s skupino PS/K je bila koncentracija vitamina E v skupini PS/Z značilno nižja pri vseh odvzemih ( $p < 0,005$  pri odvzemu 0 in  $p < 0,05$  pri odvzemih 1, 2 in 3). Koncentracija vitamina E se ni značilno razlikovala med skupinama PS/K in P/K v nobenem izmed odvzemov.

Rezultati meritev koncentracije vitamina E (pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo) (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazani v Tabeli 2. Slika 1 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v koncentraciji vitamina E po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 2: Koncentracija vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

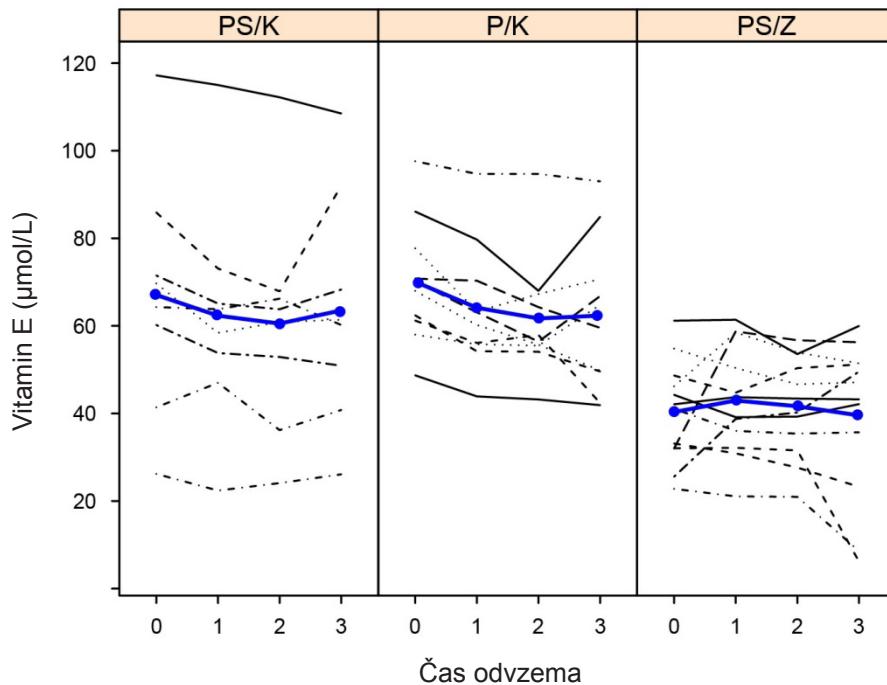
*Table 2: Vitamin E concentration ( $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

KONCENTRACIJA VITAMINA E ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje $\pm$ SD) <i>Vitamin E concentration (<math>\mu\text{mol/L}</math>) (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K (n = 8)	67,05 $\pm$ 27,46	62,33 $\pm$ 26,23	60,53 $\pm$ 26,03*	63,53 $\pm$ 26,59
P/K (n = 10)	70,07 $\pm$ 14,21	64,13 $\pm$ 14,43	61,70 $\pm$ 13,68**	62,34 $\pm$ 17,28**
PS/Z (n = 12)	40,32 $\pm$ 11,61 <sup>aa</sup>	42,96 $\pm$ 12,47 <sup>a</sup>	41,64 $\pm$ 11,27 <sup>a</sup>	39,55 $\pm$ 17,85 <sup>a</sup>

LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \* p < 0,05 v primerjavi z bazalno vrednostjo; \*\* p < 0,01 v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>a</sup> p < 0,05 v primerjavi s skupino PS/K; <sup>aa</sup> p < 0,01 v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \* p < 0,05 compared to basal values; \*\* p < 0,01 compared to basal values; <sup>a</sup> p < 0,05 compared to PS/K group; <sup>aa</sup> p < 0,01 compared to PS/K.*

Slika 1: Koncentracija vitamina E ( $\mu\text{mol/L}$ ) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ  
*Figure 1: Vitamin E concentration ( $\mu\text{mol/L}$ ) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna koncentracija vitamina E; črne polne in črtkane črte – koncentracija vitamina E pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvedbi v anestezijo; 2–60 minut po uvedbi v anestezijo; 3–6 ur po uvedbi v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean vitamin E concentration; black full and dashed lines – vitamin E concentration in individual dogs; Sampling time: 0–before anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.3 LIPIDNO STANDARDIZIRANI VITAMIN E

Med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s skupino PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K) ni bilo značilnih razlik v vrednosti vitamina E (LS) pred anestezijo.

Vrednosti vitamina E (LS) so bile značilno manjše 5 minut in uro po uvedbi v anestezijo samo v skupini P/K ( $p < 0,0001$ ). Pri psih, ki so bili anestezirani s kombinacijo propofola in sevoflurana (PS/K in PS/Z), se vrednosti vitamina E (LS) med in po anesteziji niso značilno spremenile.

Med skupinama PS/K in PS/Z ni bilo značilnih razlik v vrednostih vitamina E (LS). Eno uro po uvodu v anestezijo so bile vrednosti vitamina E (LS) značilno nižje pri skupini P/K v primerjavi s skupino PS/K ( $p = 0,039$ ).

Vrednosti vitamina E (LS) pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 3. Slika 2 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb vitamina E (LS) po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 3: Vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E (vitamin E (LS)) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 3: Lipid standardized vitamin E values (vitamin E (LS)) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

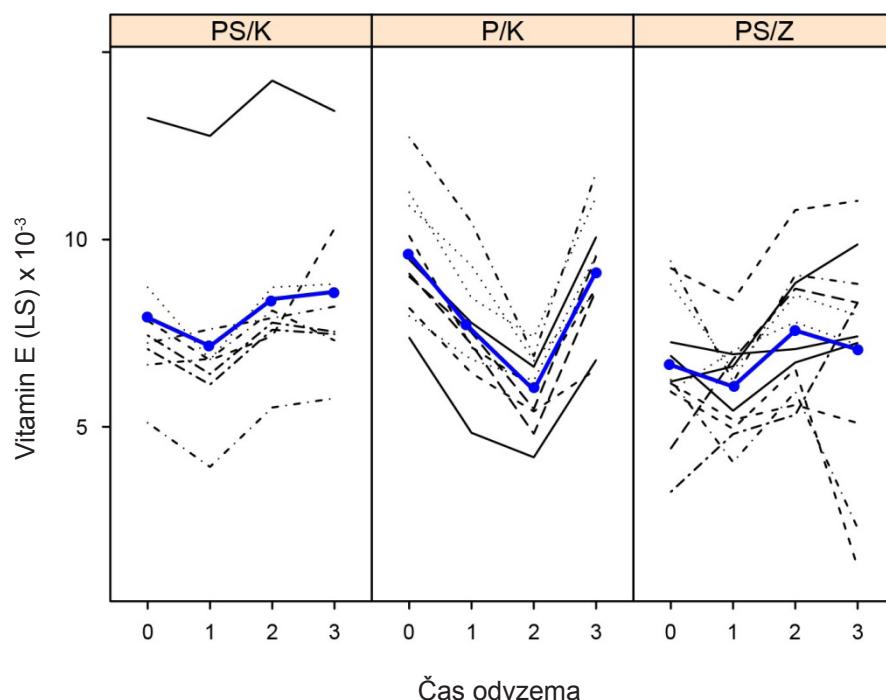
VREDNOSTI LIPIDNO STANDARDIZIRANEGA VITAMINA E * $10^{-3}$ (povprečje $\pm$ SD)				
<i>Lipid standardized vitamin E values *<math>10^{-3}</math> (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K ( $n = 8$ )	$7,91 \pm 2,39$	$7,15 \pm 2,50$	$8,40 \pm 2,53$	$8,60 \pm 2,34$
P/K ( $n = 10$ )	$9,60 \pm 1,66$	$7,59 \pm 1,56^{***}$	$5,98 \pm 1,00^{***,a}$	$9,14 \pm 1,68$
PS/Z ( $n = 12$ )	$6,65 \pm 1,84$	$6,07 \pm 1,21$	$7,57 \pm 1,65$	$7,07 \pm 2,88$

LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*\*\*  $p < 0,001$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \*\*\*  $p < 0,001$  compared to basal values; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  compared to PS/K.*

Slika 2: Vrednosti lipidno standardiziranega vitamina E (vitamin E (LS)) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 2: Lipid standardized vitamin E values (vitamin E (LS)) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna vrednost vitamina E (LS); črne polne in črtkane črte – vrednosti vitamina E (LS) pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean vitamin E (LS) value; black full and dashed lines – vitamin E (LS) values in individual dogs; Sampling time: 0–before anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.4 MALONDIALDEHID

Med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s skupino PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K) ni bilo značilnih razlik v koncentraciji MDA v plazmi pred anestezijo.

Pri nobeni skupini psov ni bilo značilnih razlik v koncentraciji MDA med posameznimi odvzemimi (Tabela 4, Slika 3).

Koncentracija MDA je bila značilno nižja 5 minut ( $p = 0,01$ ), 60 minut ( $p = 0,003$ ) in 6

ur ( $p < 0,001$ ) po uvodu v anestezijo v skupini PS/Z v primerjavi s skupino PS/K. Pred uvodom v anestezijo ni bilo razlike med skupinama.

Pri psih z MDMZ ni bilo značilnih razlik v koncentraciji MDA med anesteziskima protokoloma (PS/K in P/K).

Koncentracija MDA pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 4. Slika 3 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v koncentraciji MDA po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 4: Koncentracija malondialdehida (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 4: Malondialdehyde concentration (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

KONCENTRACIJA MALONDIALDEHIDA ( $\mu\text{mol/L}$ ) (povprečje $\pm$ SD) <i>Malondialdehyde concentration (<math>\mu\text{mol/L}</math>) (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K ( $n = 8$ )	$5,27 \pm 0,90$	$5,55 \pm 0,73$	$5,58 \pm 1,09$	$6,33 \pm 1,34$
P/K ( $n = 10$ )	$5,66 \pm 0,96$	$5,68 \pm 1,14$	$5,55 \pm 0,90$	$5,70 \pm 0,95$
PS/Z ( $n = 12$ )	$4,45 \pm 0,54$	$4,19 \pm 1,24^a$	$3,99 \pm 1,33^{aa}$	$3,80 \pm 1,20^{aaa}$

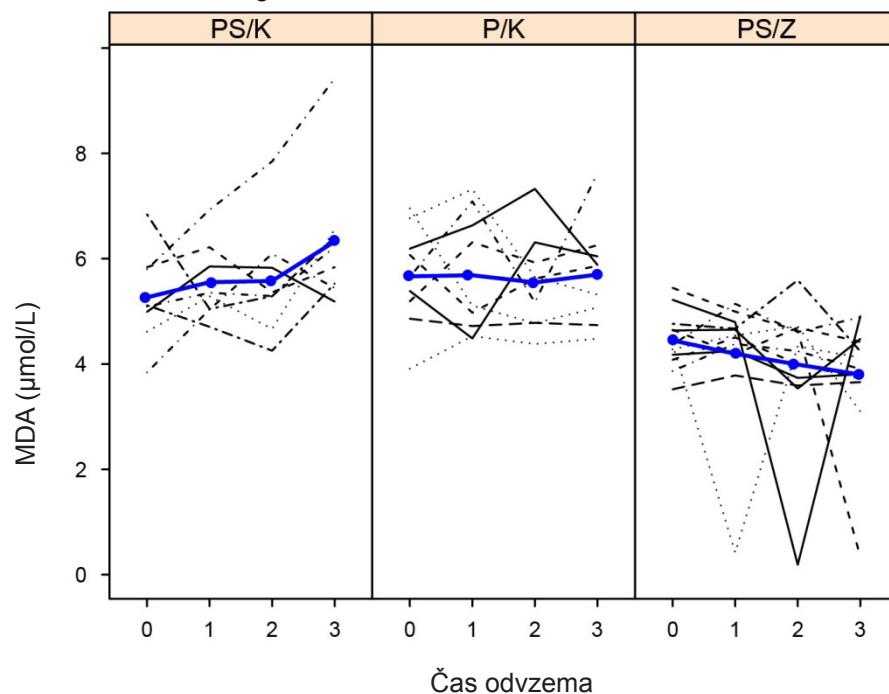
LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; MDA – malondialdehid; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  v primerjavi s skupino PS/K; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  v primerjavi s skupino PS/K; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; MDA - malondialdehyde; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia;*

2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; <sup>a</sup> p < 0,05 compared to group PS/K; <sup>aa</sup> p < 0,01 compared to group PS/K; <sup>aaa</sup> p < 0,001 compared to group PS/K.

Slika 3: Koncentracija malondialdehida (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 3: Malondialdehyde concentration (MDA;  $\mu\text{mol/L}$ ) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna koncentracija MDA; črne polne in črtkane črte – koncentracija MDA pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

LEGEND: blue line – mean MDA concentration; black full and dashed lines – MDA concentration in individual dogs; Sampling time: 0–before induction of anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.

#### 4.5 SUPEROKSIDNA DISMUTAZA

Med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s skupino PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K) ni bilo značilnih razlik v aktivnosti SOD pred anestezijo.

Aktivnost SOD se med anestezijo ni značilno spremenila pri nobeni skupini psov, prav tako ni bilo razlik med skupinami pri posameznih odvzemih (Tabela 5, Slika 4).

Aktivnost SOD pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 5 in Sliki 4.

Tabela 5: Aktivnost superoksidne dismutaze (SOD; U/g Hgb) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 5: Superoxide dismutase activity (SOD; U/g Hgb) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

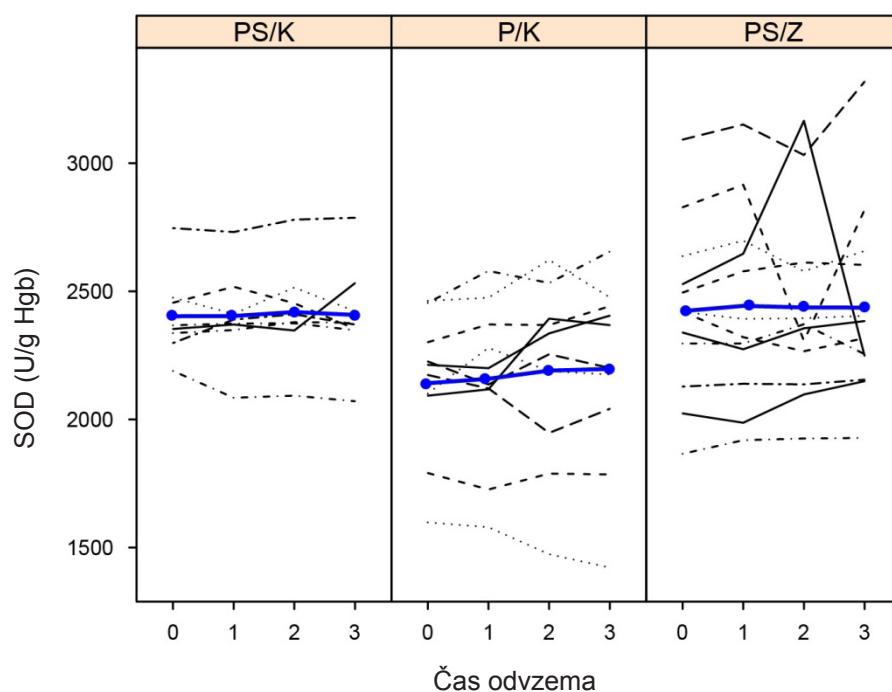
AKTIVNOST SUPEROKSIDNE DISMUTAZE (U/g Hgb) (povprečje $\pm$ SD) Superoxide dismutase activity (U/g Hgb) (mean $\pm$ SD)				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K ( <i>n</i> = 8)	2402,5 $\pm$ 165,0	2403,4 $\pm$ 180,2	2418,9 $\pm$ 191,1	2407,6 $\pm$ 200,6
P/K ( <i>n</i> = 9)	2141,3 $\pm$ 271,2	2158,5 $\pm$ 309,9	2190,4 $\pm$ 355,1	2197,0 $\pm$ 367,5
PS/Z ( <i>n</i> = 12)	2422,5 $\pm$ 337,5	2442,9 $\pm$ 368,2	2436,7 $\pm$ 364,4	2136,2 $\pm$ 370,0

LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

Slika 4: Aktivnost superoksidne dismutaze (SOD; U/g Hgb) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 4: Superoxide dismutase activity (SOD; U/g Hgb) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna aktivnost SOD; črne polne in črtkane črte –aktivnosti SOD pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean SOD activity; black full and dashed lines – SOD activity in individual dogs;  
Sampling time: 0–before induction of anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.6 GLUTATION PEROKSIDAZA

Med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s skupino PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K) ni bilo značilnih razlik v aktivnosti GPX pred anestezijo.

Aktivnost GPX se je v primerjavi z aktivnostjo pred anestezijo značilno povečala eno uro po uvodu v anestezijo pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom ( $p = 0,026$  pri PS/K;  $p < 0,001$  pri PS/Z), vendar med skupinama ni bilo značilnih razlik.

Pri psih, anesteziranih s propofolom (P/K), ni bilo značilnih sprememb v aktivnosti GPX med anestezijo, prav tako ni bilo značilnih razlik v primerjavi s PS/K skupino.

V analiznem postopku določanja aktivnosti GPX je v nekaterih vzorcih polne krvi prišlo do tehničnih težav zaradi nastajanja fibrinskih nitk in koagulacije vzorcev. Iz tega razloga je število analiziranih vzorcev manjše od števila vključenih psov, saj smo v primeru izgube enega vzorca za merjenje aktivnosti GPX izločili vse vzorce polne krvi istega psa.

Rezultati meritev aktivnosti GPX pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazani v Tabeli 6. Slika 5 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb aktivnosti GPX po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 6: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX; U/g Hgb) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 6: Glutathione peroxidase activity (GPX; U/g Hgb) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

AKTIVNOST GLUTATION PEROKSIDAZE (GPX; U/g Hgb) (povprečje $\pm$ SD) <i>Glutathione peroxidase activity (GPX; U/g Hgb) (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K ( <i>n</i> = 7)	427,4 $\pm$ 38,9	443,1 $\pm$ 36,2	477,2 $\pm$ 42,6*	441,0 $\pm$ 40,4
P/K ( <i>n</i> = 6)	464,7 $\pm$ 61,1	477,8 $\pm$ 56,3	470,9 $\pm$ 68,3	470,0 $\pm$ 57,8
PS/Z ( <i>n</i> = 12)	463,1 $\pm$ 121,9	499,1 $\pm$ 51,3	526,4 $\pm$ 69,8***	491,7 $\pm$ 53,3

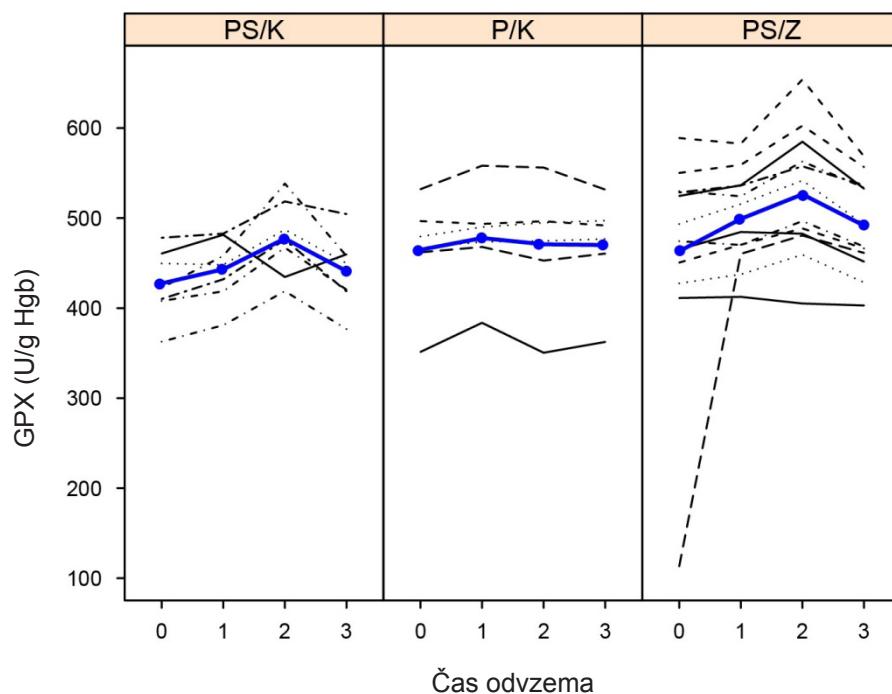
LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*  $p < 0,05$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; \*\*\*  $p < 0,001$  v primerjavi z bazalno vrednostjo.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction*

*of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \* p < 0,05 compared to basal values; \*\*\* p < 0,001 compared to basal values.*

Slika 5: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX; U/g Hgb) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 5: Glutathione peroxidase activity (GPX; U/g Hgb) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna aktivnost GPX; črne polne in črtkane črte – aktivnosti GPX pri posameznih psih; 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean GPX activity; black full and dashed lines – GPX activity in individual dogs; Sampling time: 0–before induction of anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.7 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V MAŠČOBAH TOPNIH ANTIOKSIDANTOV

Pred anestezijo je bila ACL značilno manjša pri skupini PS/Z v primerjavi s skupino PS/K, medtem ko med psi z MDMZ (P/K v primerjavi s PS/K skupino) ni bilo značilnih razlik.

Znotraj posameznih skupin je prišlo v primerjavi z vrednostjo pred anestezijo do značilnega povečanja ( $p = 0,0004$ ) ACL samo v skupini P/K uro po uvodu v anestezijo

(Tabela 7, Slika 6). Pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom (skupini PS/K in PS/Z), se ACL ni značilno spremenila.

Antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov je bila pri vseh odvzemih značilno manjša ( $p < 0,0001$ ) pri psih brez MDMZ v primerjavi s psi z MDMZ, anesteziranimi s propofolom in sevofluranom.

Med skupinama PS/K in P/K nismo ugotovili značilnih razlik v ACL.

Antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 7. Slika 6 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v ACL po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 7: Antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (ACL; nmol/mL) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 7: Antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (ACL; nmol/mL) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V MAŠČOBAH TOPNIH ANTIOKSIDANTOV (nmol/mL) (povprečje $\pm$ SD)				
<i>Antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (nmol/mL) (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
	0	1	2	3
PS/K ( $n = 7$ )	133,85 $\pm$ 31,32	130,90 $\pm$ 29,91	134,35 $\pm$ 31,93	131,82 $\pm$ 26,18
P/K ( $n = 6$ )	116,40 $\pm$ 22,86	118,15 $\pm$ 19,88	133,97 $\pm$ 23,26***	119,10 $\pm$ 24,64
PS/Z ( $n = 12$ )	87,63 $\pm$ 12,24 <sup>aaa</sup>	86,60 $\pm$ 13,72 <sup>aaa</sup>	93,00 $\pm$ 18,60 <sup>aaa</sup>	84,90 $\pm$ 22,16 <sup>aaa</sup>

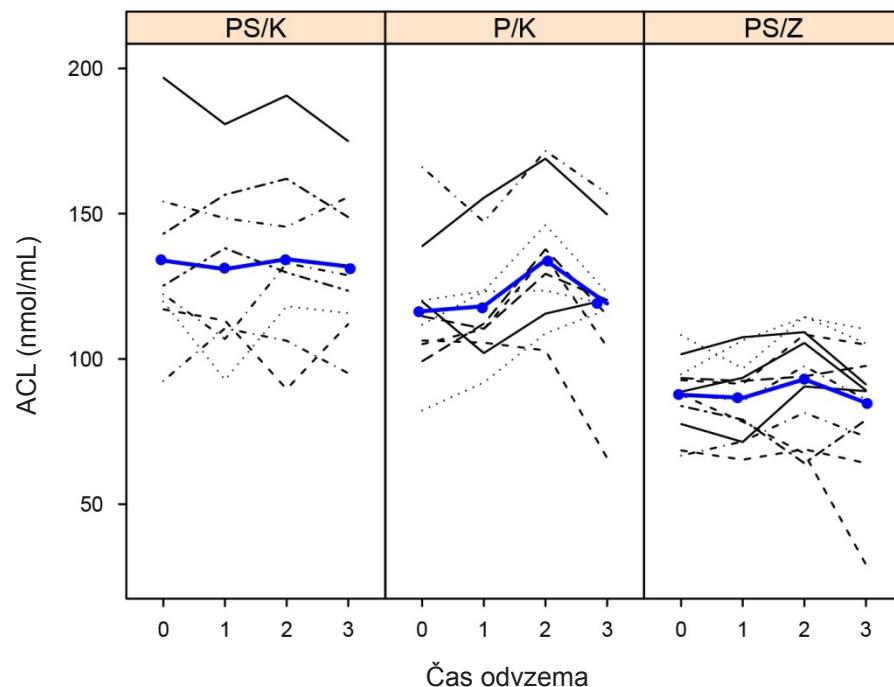
LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0– pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*\*\*  $p < 0,001$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction*

*of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \*\*\* p < 0,001 compared to basal values; <sup>aaa</sup> p < 0,001 compared to group PS/K.*

Slika 6: Antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (ACL; nmol/mL) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 6: Antioxidant capacity of lipid soluble antioxidants (ACL; nmol/mL) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna koncentracija ACL; črne polne in črtkane črte – koncentracija ACL pri posameznih psih; 0–pred anestezijo; Čas odvzema: 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean ACL concentration; black full and dashed lines – ACL concentration in individual dogs; 0–before induction of anaesthesia; Sampling time: 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.8 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V VODI TOPNIH ANTIOKSIDANTOV

Pred anestezijo ni bilo značilnih razlik v ACW med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K).

Takoj po uvodu v anestezijo se je v primerjavi z bazalno vrednostjo ACW značilno ( $p < 0,017$ ) povečala pri skupini P/K (Tabela 8, Slika 7). Uro po uvodu v anestezijo je bila ACW

značilno večja pri vseh skupinah ( $p = 0,009$  pri PS/K in PS/Z;  $p < 0,0001$  pri P/K). Šest ur po uvodu v anestezijo je bila ACW značilno večja ( $p < 0,0001$ ) samo pri skupini P/K.

Med skupinama PS/K in PS/Z nismo ugotovili značilnih razlik v ACW. S primerjavo med skupinama PS/K in P/K smo ugotovili značilno večjo ( $p = 0,002$ ) ACW pri skupni P/K eno uro po uvodu v anestezijo.

Antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 8. Slika 7 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v ACW po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 8: Antioksidativna kapaciteta vodotopnih antioksidantov (ACW; nmol/mL) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 8: Antioxidant capacity of water soluble antioxidants (ACW; nmol/mL) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V VODI TOPNIH ANTOOKSIDANTOV (nmol/mL) (povprečje $\pm$ SD) <i>Antioxidant capacity of water soluble antioxidants (nmol/mL) (mean <math>\pm</math> SD)</i>					
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>				
	0	1	2	3	
PS/K ( $n = 7$ )	$35,09 \pm 8,90$	$47,13 \pm 15,60$	$52,80 \pm 17,19^{**}$	$42,06 \pm 15,48$	
P/K ( $n = 6$ )	$26,46 \pm 9,55$	$42,51 \pm 14,19^*$	$79,18 \pm 21,97^{***,aa}$	$55,78 \pm 30,60^{***}$	
PS/Z ( $n = 12$ )	$29,57 \pm 9,63$	$37,36 \pm 4,78$	$44,30 \pm 8,19^{**}$	$35,44 \pm 7,99$	

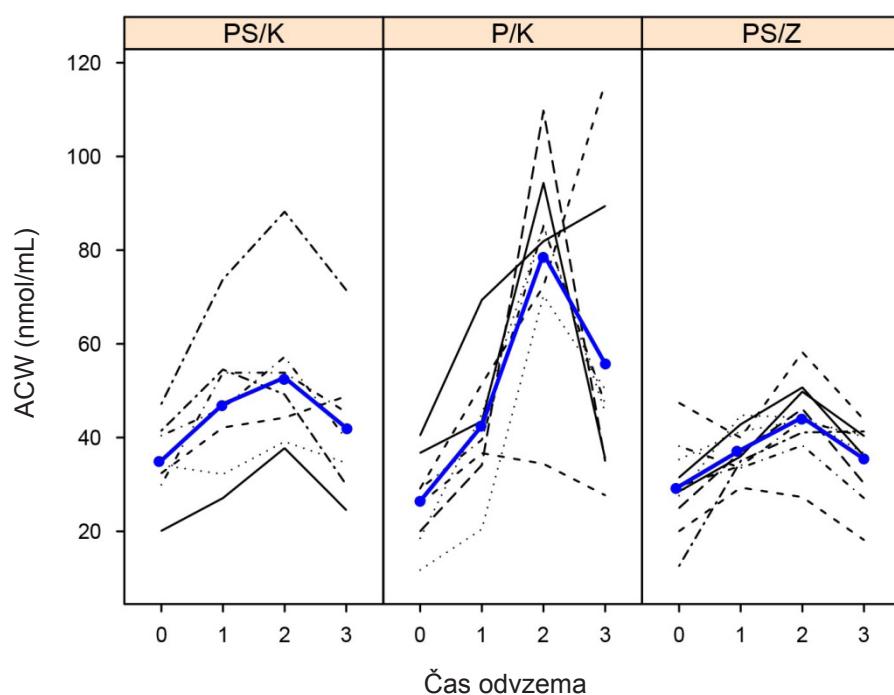
LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0– pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*  $p < 0,05$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; \*\*  $p < 0,01$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; \*\*\*  $p < 0,001$  v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD*

*anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane;  
Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction  
of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \* p < 0,05 compared to basal values; \*\* p < 0,01  
compared to basal values; \*\*\* p < 0,001 compared to basal values; <sup>aa</sup> p < 0,01 compared to group PS/K.*

Slika 7: Antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov (ACW; nmol/mL) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 7 Antioxidant capacity of water soluble antioxidants (ACW; nmol/mL) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna koncentracija ACW; črne polne in črtkane črte – koncentracija ACW pri posameznih psih; 0–pred anestezijo; Čas odvzema: 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line – mean ACW concentration; black full and dashed lines – ACW concentration in individual dogs; 0–before induction of anaesthesia; Sampling time: 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

#### 4.9 HOLESTEROL

Pred anestezijo je bila koncentracija holesterola značilno nižja pri psih brez MDMZ (skupina PS/Z) v primerjavi s psi z MDMZ (skupina PS/K), medtem ko med skupinama psov z MDMZ (PS/K in P/K) značilnih razlik ni bilo.

Koncentracija holesterola (Tabela 9, Slika 8) se je v primerjavi z vrednostjo pred anestezijo značilno ( $p < 0,001$ ) znižala pri psih z MDMZ pet minut po uvodu v anestezijo ne glede na anestezijski protokol. Eno uro in šest ur po uvodu v anestezijo se je koncentracija holesterola značilno ( $p < 0,001$ ) znižala pri vseh treh skupinah psov.

Koncentracija holesterola je bila značilno nižja ( $p = 0,0035$  pri odvzemenu 0 ter  $p < 0,05$  pri ostalih treh odvzemih) pri skupini PS/Z v primerjavi s PS/K pri vseh štirih odvzemih, medtem ko med skupinama PS/K in P/K ni bilo značilnih razlik pri nobenem od odvzemov.

Koncentracija holesterola pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 9. Slika 8 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v koncentraciji holesterola po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 9: Koncentracija holesterola (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psihi z MDMZ pred, med in po anesteziji

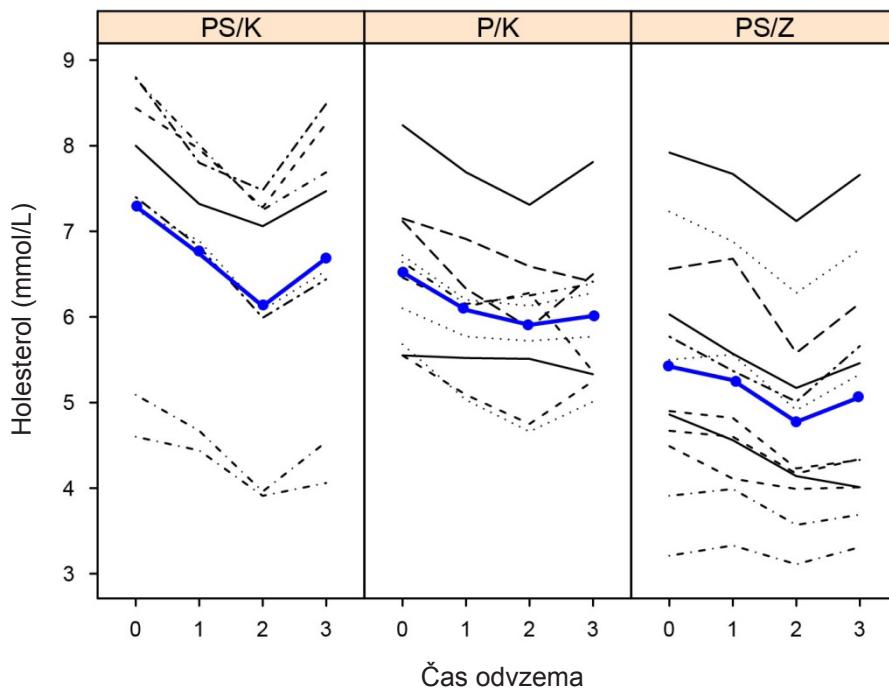
*Table 9: Cholesterol concentration (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

KONCENTRACIJA HOLESTEROLA (mmol/L) (povprečje $\pm$ SD)					
<i>Cholesterol concentration (mmol/L) (mean <math>\pm</math> SD)</i>					
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>				
	0	1	2	3	
PS/K ( $n = 7$ )	$7,29 \pm 1,62$	$6,74 \pm 1,42^{**}$	$6,13 \pm 1,46^{***}$	$6,69 \pm 1,64^{***}$	
P/K ( $n = 6$ )	$6,52 \pm 0,85$	$6,08 \pm 0,80^{**}$	$5,90 \pm 0,80^{**}$	$6,01 \pm 0,84^{***}$	
PS/Z ( $n = 12$ )	$5,42 \pm 1,37^{aa}$	$5,26 \pm 1,29^a$	$4,77 \pm 1,15^{***a}$	$5,06 \pm 1,34^{***a}$	

**LEGENDA:** MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0– pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*\*\* p < 0,001 v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>a</sup> p < 0,05 v primerjavi s skupino PS/K; <sup>aa</sup> p < 0,01 v primerjavi s skupino PS/K.

**LEGEND:** MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \*\*\* p < 0,001 compared to basal values; <sup>a</sup> p < 0,05 compared to group PS/K; <sup>aa</sup> p < 0,01 compared to group PS/K.

Slika 8: Koncentracija holesterola (mmol/L) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ  
*Figure 8: Cholesterol concentration (mmol/L) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



**LEGENDA:** modra črta – povprečna koncentracija holesterola; črne polne in črtkane črte – koncentracija holesterola pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3 – 6 ur po uvodu v anestezijo.

**LEGEND:** blue line – mean cholesterol concentration; black full and dashed lines – cholesterol concentration in individual dogs; Sampling time: 0–before induction of anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.

#### 4.10 TRIGLICERIDI

Pred anestezijo ni bilo značilnih razlik v koncentraciji trigliceridov med skupinami psov (PS/Z v primerjavi s PS/K ter P/K v primerjavi s PS/K).

Tako po uvodu v anestezijo se je v primerjavi z vrednostmi pred anestezijo koncentracija trigliceridov (Tabela 10, Slika 9) značilno povišala pri vseh treh skupinah psov ( $p = 0,0012$  pri PS/K;  $p < 0,0001$  pri PS/Z in P/K). Uro po uvodu v anestezijo je bila značilno višja le pri skupini P/K ( $p < 0,0001$ ).

Koncentracija trigliceridov se je značilno ( $p < 0,0001$ ) razlikovala med skupinama PS/K in P/K le eno uro po uvodu v anestezijo. Med skupinama PS/K in PS/Z nismo ugotovili značilnih razlik v koncentraciji trigliceridov.

Koncentracija trigliceridov pred anestezijo, 5 in 60 minut ter 6 ur po uvodu v anestezijo (povprečje  $\pm$  SD) ter primerjave med skupinami so prikazane v Tabeli 10. Slika 9 prikazuje bazalne vrednosti in dinamiko sprememb v koncentraciji trigliceridov po uvodu v anestezijo pri posameznih skupinah psov.

Tabela 10: Koncentracija triglyceridov (mmol/L) (povprečje  $\pm$  SD) pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ pred, med in po anesteziji

*Table 10: Triglyceride concentration (mmol/L) (mean  $\pm$  SD) in dogs without MMVD and dogs with MMVD before, during and after anaesthesia*

KONCENTRACIJA TRIGLICERIDOV (mmol/L) (povprečje $\pm$ SD)				
<i>Triglyceride concentration (mmol/L) (mean <math>\pm</math> SD)</i>				
SKUPINA <i>Group</i>	ČAS ODVZEMA <i>Sampling time</i>			
PS/K ( $n = 7$ )	$1,01 \pm 0,64$	$1,83 \pm 0,53^{**}$	$0,91 \pm 0,42$	$0,51 \pm 0,11$
P/K ( $n = 6$ )	$0,78 \pm 0,2$	$2,42 \pm 0,62^{***}$	$4,48 \pm 1,55^{***aaa}$	$0,74 \pm 0,34$
PS/Z ( $n = 12$ )	$0,80 \pm 0,57$	$1,76 \pm 0,49^{**}$	$0,79 \pm 0,59$	$0,44 \pm 0,12$

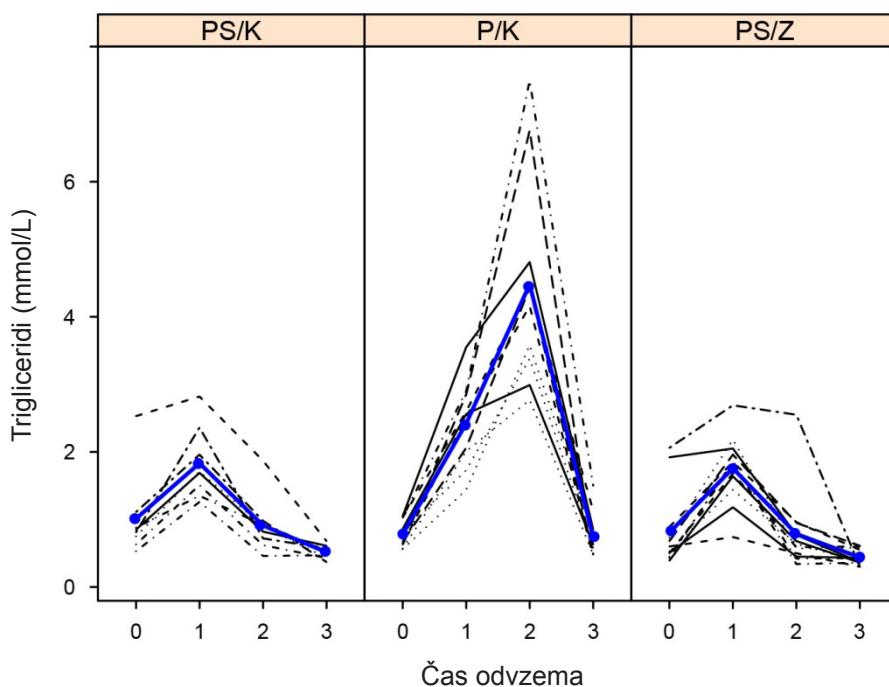
LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Čas odvzema: 0–pred

anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo; \*\* p < 0,01 v primerjavi z bazalno vrednostjo; \*\*\* p < 0,001 v primerjavi z bazalno vrednostjo; <sup>aaa</sup> p < 0,001 v primerjavi s skupino PS/K.

*LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; Sampling time: 0–basal values; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia; \*\* p < 0,01 compared to basal values; \*\*\* p < 0,001 compared to basal values; <sup>aaa</sup> p < 0,001 compared to group PS/K.*

Slika 9: Koncentracija trigliceridov (mmol/L) pred, med in po anesteziji pri psih brez MDMZ in psih z MDMZ

*Figure 8: Triglyceride concentration (mmol/L) before, during and after anaesthesia in dogs without MMVD and dogs with MMVD*



LEGENDA: modra črta – povprečna koncentracija trigliceridov; črne polne in črtkane črte – koncentracija trigliceridov pri posameznih psih; Čas odvzema: 0–pred anestezijo; 1–5 minut po uvodu v anestezijo; 2–60 minut po uvodu v anestezijo; 3–6 ur po uvodu v anestezijo.

*LEGEND: blue line –mean triglyceride concentration; black full and dashed lines – triglyceride concentration in individual dogs; Sampling time: 0–before induction of anaesthesia; 1–5 minutes after induction of anaesthesia; 2–60 minutes after induction of anaesthesia; 3–6 hours after induction of anaesthesia.*

## 5 RAZPRAVA

Pričajoča raziskava daje vpogled v dinamiko oksidativnega stresa pri psih brez MDMZ, anesteziranih s kombinacijo propofola in sevoflurana, ter pri psih z MDMZ, anesteziranih samo s propofolom ali s kombinacijo propofola in sevoflurana.

V veterinarski praksi se pogosto srečamo s psi, ki potrebujejo operativni poseg v splošni anesteziji in pri katerih je prisotna bolezen srca, ki bremenii njihov oksidativno antioksidativni status (Freeman in sod., 2005; Sagols in Priymenko, 2011). Večina avtorjev je preučevala vpliv anestezije na oksidativni stres pri psih brez MDMZ (Lee, 2012; Lee in Kim, 2012) in ljudeh (Tsuchiya in sod., 2008; Kotzampassi in sod., 2009), vendar v obstoječi literaturi nismo zasledili raziskav, ki bi ugotavljale učinek anestezije na oksidativni stres pri psih in ljudeh s srčnim obolenjem.

Pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom, smo ugotovili značilno višje vrednosti vitamina E in ACL pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ pred, med in po anesteziji, medtem ko so bile vrednosti MDA značilno višje pri psih z MDMZ le med in po anesteziji. Rezultati nakazujejo na povečano sproščanje vitamina E iz maščobnega tkiva kot odgovor na povečano nastajanje RKZ pri psih z MDMZ ACVIM B1 in B2. Pri teh psih je bil v primerjavi s psi brez MDMZ obseg lipidne peroksidacije večji zaradi povečanega nastajanja RKZ med anestezijo.

S primerjavo anestezije s propofolom in anestezije s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ smo ugotovili, da z izjemo ACW med izbranimi anesteziskimi protokoloma ni bilo značilnih razlik v vrednostih merjenih parametrov oksidativnega stresa. V nasprotju z našimi pričakovanji anestezija s propofolom ni povzročila manjšega obsega oksidativnega stresa kot kombinacija propofola in sevoflurana pri psih z MDMZ. Značilno višje vrednosti ACW uro po uvodu v anestezijo s propofolom v primerjavi z anestezijo s propofolom in sevofluranom bi morda lahko pripisali antioksidativnim lastnostim propofola (Rigobello in sod., 2004; Volti in sod., 2006). Po drugi strani pa je morda značilno višja vrednost ACW posledica aktivacije sistemskih vodotopnih antioksidativnih mehanizmov (Braz in sod., 2015) zaradi pro-oksidativnega učinka metabolizma propofola (Petros in sod., 1993; Hay Kraus in sod., 2000; Wojewodzka-Zelezniakowicz in sod., 2016).

## 5.1 VPLIV ANESTEZIJE NA KONCENTRACIJO VITAMINA E

Pri psih z MDMZ se je koncentracija vitamina E značilno znižala med anestezijo pri obeh anesteziskih protokolih, vendar med protokoloma nismo ugotovili značilnih razlik. Braz in sod. (2015) so prav tako ugotovili značilno znižanje koncentracije vitamina E (alfa tokoferola) pri anesteziji z izofluranom ali s propofolom pri ljudeh; med protokoloma ni bilo značilnih razlik. Nasprotno pa je bila koncentracija gama tokoferola po dveh urah anestezije značilno višja pri anesteziji s propofolom v primerjavi z bazalnimi vrednostmi ter v primerjavi z anestezijo z izofluranom. Cavalca in sod. (2008) so primerjali učinek anestezije s propofolom ali sevofluranom na alfa in gama tokoferol in MDA pri ljudeh, pri katerih so opravili kirurški poseg na srcu. Ugotovili so značilno znižanje koncentracije alfa tokoferola tako pri anesteziji s sevofluranom kot pri anesteziji s propofolom; med protokoloma ni bilo razlik. Ugotovili pa so značilno zvišanje koncentracije gama tokoferola pri anesteziji s propofolom v primerjavi z bazalnimi vrednostmi in v primerjavi z anestezijo s sevofluranom. Nasprotno se koncentracija vitamina E ni značilno spremenila pri zdravih ljudeh pri anesteziji s propofolom ali izofluranom (Hans in sod., 1991). Prav tako je koncentracija vitamina E pri ljudeh ostala nespremenjena pri anesteziji s propofolom, medtem ko se je koncentracija vitamina E značilno znižala med anestezijo z desfluranom, vendar med anesteziskima protokoloma ni bilo značilnih razlik (Ceylan in sod., 2009).

Enfluran pri zdravih psih (Naziroğlu in Günay, 1999) ter desfluran (Ceylan in sod., 2009; Eroglu in sod., 2010), izofluran (Braz in sod., 2015) in sevofluran (Cavalca in sod., 2008) pri ljudeh so znižali koncentracijo vitamina E v krvi, kar avtorji pripisujejo prooksidativnemu delovanju hlapnih anestetikov. Podatkov o vplivu anestezije s sevofluranom na koncentracijo vitamina E v krvi psov nismo zasledili.

Pri psih z MDMZ smo eno uro po uvodu v anestezijo ugotovili značilno nižje vrednosti vitamina E (LS) pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom v primerjavi s psi anesteziranimi s propofolom in sevofluranom. Značilno nižje vrednosti tega parametra so najverjetneje posledica značilno višje koncentracije trigliceridov v tej skupini psov. Metodologija merjenja koncentracije trigliceridov v serumu je namreč indirektna in je osnovana na merjenju koncentracije glicerola, ki se sprosti zaradi encimske razgradnje trigliceridov (Jessen in sod., 1990). Propofol je lipidna emulzija, ki vsebuje glicerol

(Baker in Naguib, 2005), zato smo ugotovili lažno povišano koncentracijo trigliceridov zaradi povišane koncentracije prostega glicerola v serumu psov, ki so bili anestezirani samo s propofolom (Kunst in Bohrer, 1995). Posledično je prišlo do značilnega povišanja koncentracije trigliceridov takoj po uvodu v anestezijo pri vseh treh skupinah psov, saj smo vse pse uvedli v anestezijo s propofolom.

Nasprotno Hans in sod. (1991) z lipidno standardizacijo vitamina E niso ugotovili razlike med anestezijo z izofluranom ali s propofolom pri ljudeh.

Pri psih z MDMZ, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom, nismo ugotovili značilnih razlik v vrednosti vitamina E (LS) znotraj skupine pri nobenem odvzemenu. Pri psih, ki so bili anestezirani samo s propofolom, se je vrednost vitamina E (LS) značilno znižala že pet minut po uvodu v anestezijo kot tudi eno uro po uvodu v anestezijo, kar je posledica značilno višje koncentracije trigliceridov v tej skupini psov.

Koncentracija vitamina E je bila pri psih z MDMZ tako pred kot tudi med in po anesteziji značilno višja v primerjavi s koncentracijo vitamina E pri zdravih psih, medtem ko se vrednosti vitamina E (LS) med skupinama niso razlikovale. Z lipidno standardizacijo vitamina E smo namreč izključili vpliv holesterola in trigliceridov na koncentracijo vitamina E. Glede na to, da je bila pri psih z MDMZ koncentracija holesterola v serumu značilno višja v primerjavi s psi brez MDMZ pri vseh odvzemih, posledično nismo ugotovili razlik v vrednosti vitamina E (LS). Reimann in sod. (2014) so pri psih z MDMZ ugotovili pozitivno korelacijo med povišano koncentracijo holesterola v serumu in koncentracijo tetrahidrobiopterna in dihidrobiopterna, ki sta posredna pokazatelja oksidativnega stresa in disfunkcije endotelija. Nasprotno pa Freeman in sod. (2006) niso ugotovili razlike v koncentraciji vitamina E in holesterola pri psih v zgodnji fazi kroničnega obolenja zaklopk v primerjavi z zdravimi psi.

Koncentracija holesterola se je v naši raziskavi med anestezijo značilno znižala pri vseh treh skupinah psov. Podobno se je pri ljudeh, anesteziranih s propofolom, koncentracija holesterola med anestezijo značilno znižala, medtem ko je koncentracija trigliceridov ostala nespremenjena, kar avtorji pripisujejo dilucijskemu učinku intenzivne tekočinske terapije s kristaloidnimi raztopinami med posegom v študiji (Myles in sod., 1995). V naši raziskavi smo psom sicer injicirali sestavljen natrijev laktat, vendar le v

odmerku, ki pokriva osnovne potrebe po tekočinah med anestezijo (Bednarski in sod., 2011), zaradi česar značilnega znižanja koncentracije holesterola ne moremo pripisati tekočinski terapiji. Raziskave na ljudeh navajajo različne rezultate o vplivu propofola na koncentracijo holesterola v serumu, odvisno od tega, kako je bila raziskava zasnovana (Fadaizadeh in sod., 2007). V dostopnih literturnih podatkih nismo našli podatkov o vplivu anestezije s propofolom na koncentracijo holesterola pri psih.

## 5.2 VPLIV ANESTEZIJE NA KONCENTRACIJO MALONDIALDEHIDA

Pred anestezijo nismo ugotovili značilne razlike v koncentraciji MDA med psi brez MDMZ in psi z MDMZ (skupina PS/Z in skupina PS/K). Naše rezultate lahko delno primerjamo z rezultati Freeman in sod. (2005), ki so primerjali koncentracijo MDA med zdravimi psi in psi s kongestivno srčno odpovedjo.

Koncentracija MDA se je značilno povišala pri anesteziji z enfluranom pri psih (Naziroğlu in Günay, 1999), desfluranom pri prašičih (Allaouchiche in sod., 2001) in ljudeh (Koksal in sod., 2004; Sivaci in sod., 2006; Ceylan in sod., 2009; Akın in sod., 2015) ter halotanom pri psih (Simeonova in sod., 2004). Koncentracija MDA se v naši raziskavi med anestezijo s propofolom in sevofluranom tako pri psih brez MDMZ kot tudi pri psih z MDMZ ni značilno povišala. Rezultati naše raziskave so primerljivi z rezultati raziskav, pri katerih so ugotavljali vpliv sevoflurana na koncentracijo MDA pri prašičih (Allaouchiche in sod., 2001) in ljudeh (Sivaci in sod., 2006; Cavalca in sod., 2008; Orosz in sod., 2014; Akın in sod., 2015). Koncentracija MDA je bila pri psih z MDMZ značilno višja med in po anesteziji v primerjavi s psi brez MDMZ, zaradi česar sklepamo, da je bil obseg lipidne peroksidacije bolj obsežen pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ.

Pri psih z MDMZ, pri katerih smo primerjali dva različna anestezijska protokola, nismo ugotovili razlike v koncentraciji MDA, kar kaže na to, da anestezija s propofolom, v nasprotju z našimi pričakovanji, ni povzročila manjšega obsega lipidne peroksidacije kot kombinacija propofola in sevoflurana pri psih z MDMZ.

Pri zdravih prašičih, kjer so Allaouchiche in sod. (2001) primerjali učinek anestezije z desfluranom, sevofluranom in propofolom na parametre oksidativnega stresa

(MDA, GPX in SOD), ne v plazmi ne v bronhialnem izpirku niso ugotovili sprememb v koncentraciji MDA pri anesteziji s sevofluranom, kar se ujema z rezultati naše raziskave. Nasprotno z rezultati naše raziskave pa je bila koncentracija plazemskega MDA pri anesteziji s propofolom pri prašičih značilno nižja dve uri in štiri ure po izpostavljenosti propofolu, kar avtorji pripisujejo antioksidativnemu delovanju propofola (Allaouchiche in sod., 2001). Naši rezultati so primerljivi z rezultati raziskave pri zdravih ljudeh, kjer so primerjali učinek anestezije s propofolom ali desfluranom na MDA, GPX, SOD in vitamin E in niso ugotovili značilnih sprememb v koncentraciji MDA pri anesteziji s propofolom (Ceylan in sod., 2009). Podobno Braz in sod. (2013) niso ugotovili značilnih razlik v koncentraciji MDA pri zdravih ljudeh, anesteziranih s propofolom ali z izofluranom.

Na osnovi rezultatov naše raziskave lahko povzamemo, da pri psih, pri katerih je oksidativni stres prisoten zaradi MDMZ, ne anestezija s propofolom ne anestezija s propofolom in sevofluranom nista povzročili povišanja koncentracije MDA, kar kaže na to, da sta anestezijska protokola primerljiva glede učinka na obseg lipidne peroksidacije.

### 5.3 VPLIV ANESTEZIJE NA AKTIVNOST ANTIOKSIDATIVNIH ENCIMOV

Pred anestezijo nismo ugotovili značilnih razlik v aktivnosti SOD in GPX med preiskovanimi skupinami psov. Podobne rezultate navajajo tudi Domanjko Petrič in sod. (2010), ki so primerjali aktivnost SOD in GPX pri psih s srčni obolenjem, vključno z MDMZ, z aktivnostjo SOD in GPX pri zdravih psih.

V naši raziskavi se aktivnost SOD ni razlikovala med posameznimi protokoli pri nobenem od odvzemov. Podobno so ugotovili Allaouchiche in sod. (2001), ki so spremljali aktivnost SOD pri prašičih, anesteziranih s propofolom, sevofluranom in desfluranom. Rezultati naše raziskave so delno primerljivi tudi z rezultati raziskave na zdravih psih, kjer so ugotavljali učinek anestezije s propofolom ali izofluranom na aktivnost antioksidativnih encimov SOD, GPX in CAT. Pri psih brez MDMZ se aktivnost SOD, tako kot v naši raziskavi, ni značilno spremenila pri anesteziji s propofolom, medtem ko se je značilno znižala pri anesteziji z izofluranom (Lee in Kim, 2012). Naši rezultati so deloma primerljivi tudi z rezultati raziskave pri zdravih ljudeh, kjer se aktivnost SOD pri anesteziji s sevofluranom ni značilno spremenila, za razliko od anestezije z desfluranom, kjer se je aktivnost tega encima značilno povečala (Koksal in sod., 2004).

Na osnovi teh rezultatov sklepamo, da je bila proizvodnja RKZ med anestezijo pri vseh treh skupinah psov premajhna, da bi povzročila aktivacijo SOD. Superoksidna dismutaza je zelo pomemben znotrajcelični antioksidativni encim, vendar novejše raziskave poudarjajo predvsem vpletene SOD pri celični signalizaciji (Fukai in Ushio Fukai, 2011). Pomembno vlogo pri različnih adaptacijskih mehanizmih celic naj bi imel tudi vodikov peroksid, ki nastane z dismutacijo superoksidov s pomočjo katalitičnega delovanja SOD (Lubos in sod., 2011).

Podatki o vplivu anestezije na aktivnost GPX pri zdravih psih in ljudeh se zelo razlikujejo (Naziroğlu in Günay, 1999; Allaouchiche in sod., 2001; Ceylan in sod., 2009; Lee in Kim, 2012; Akın in sod., 2015). Raziskav, ki bi ugotovljale učinek anestezije na GPX pri psih z MDMZ, v nam dostopni literaturi nismo zasledili.

Rezultati naše študije niso pokazali značilnih razlik v aktivnosti GPX med skupinami psov pri nobenem od odvzemov. V primerjavi z bazalnimi vrednostmi se je pri anesteziji s propofolom in sevofluranom aktivnost GPX značilno povečala eno uro po uvodu v anestezijo tako pri psih brez MDMZ kot pri psih z MDMZ, medtem ko pri anesteziji s propofolom pri psih z MDMZ ni bilo značilnega povečanja aktivnosti GPX. Nasprotno so Allaouchiche in sod. (2001) pri prašičih ugotovili značilno povečano aktivnost GPX pri anesteziji s propofolom, pri anesteziji s sevofluranom pa ne. Naziroğlu in Günay (1999) pri psih nista ugotovila značilnih sprememb v aktivnosti GPX pri anesteziji z enfluranom. Lee in Kim (2012) prav tako nista ugotovila značilnih razlik v aktivnosti GPX pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom in izofluranom ali samo s propofolom, kar je deloma primerljivo z našimi rezultati. Ceylan in sod. (2009) niso ugotovili značilnih sprememb v aktivnosti GPX pri zdravih ljudeh, ki so bili anestezirani s propofolom, medtem ko so Akın in sod. (2015) ugotovili značilno povečano aktivnost GPX tako pri anesteziji s sevofluranom kot pri anesteziji s propofolom. Razlike med raziskavami bi lahko pripisali razlikam v oksidativni presnovi med človekom in ostalimi živalskimi vrstami.

#### 5.4 VPLIV ANESTEZIJE NA ANTIOKSIDATIVNO KAPACITETO PLAZME

Merjenje plazemske ACL zajema lipofilne antioksidante (vitamin E (predvsem alfa in gama tokoferol), ubikinol (oksidirana oblika ubikinona (koencima Q<sub>10</sub>)), karotenoidi (beta-karoten, alfa-karoten, likopen, lutein, itd)), pri čemer največji delež (75%) vrednosti

ACL (v primeru plazme zdravega človeka) pripada alfa in gama tokoferolu (Popov in Lewin, 1996). V naši raziskavi je bila ACL pri vseh odvzemih značilno višja pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ, anesteziranimi s propofolom in sevofluranom, kar je najverjetneje posledica značilno višje koncentracije vitamina E pri bolnih psih.

Uro po uvodu v anestezijo se je ACL značilno povečala samo pri psih z MDMZ, ki so bili anestezirani s propofolom, medtem ko pri psih, ki so bili anestezirani s kombinacijo propofola in sevoflurana (tako pri psih brez MDMZ kot pri psih z MDMZ), med in po anesteziji ni prišlo do značilnih razlik v vrednosti ACL v primerjavi z bazalnimi vrednostmi. Kljub značilnemu porastu vrednosti ACL v skupini, ki je bila anestezirana s propofolom, značilnih razlik v vrednosti ACL med anesteziskima protokoloma nismo ugotovili.

Značilno povečano vrednost ACL eno uro po uvodu v anestezijo v primerjavi z bazalno vrednostjo pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom, bi morda lahko pripisali antioksidativnim lastnostim propofola (Rigobello in sod., 2004; Volti in sod., 2006). V meritev vrednosti ACL so zajeti tudi eksogeni lipofilni sintetični antioksidanti, ki se uporabljajo kot antioksidativna terapija (Popov in Lewin, 1996). Popov in Lewin (1996) sta dokazala, da 4-tedensko dodajanje sintetičnih lipofilnih antioksidantov k prehrani kuncev značilno poveča vrednost ACL. Podobno so značilno povečano vrednost ACL ugotovili pri psih z atopičnim dermatitisom, ki so 8 tednov prejemali vitamin E kot dodatek k prehrani (Plevnik Kapun in sod., 2014). Glede na navedeno domnevamo, da je značilno povišana vrednost ACL posledica doprinsa propofola oziroma njegovih antioksidativnih lastnosti.

V nasprotju z ACL so v meritvi ACW zajeti le vodotopni antioksidanti, kot so na primer vitamin C, glutation, sečna kislina, beljakovine ter nizkomolekularni antioksidanti (Popov in Lewin, 1994; Yeum in sod., 2004).

Bazalne vrednosti ACW se niso značilno razlikovale med psi brez MDMZ in psi z MDMZ, ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom, kar kaže na to, da je homeostaza vodotopnih antioksidativnih mehanizmov pri psih z začetno stopnjo MDMZ še vedno ohranjena.

Pri psih z MDMZ smo ugotovili značilno višje vrednosti ACW pri anesteziji s propofolom v primerjavi z anestezijo s propofolom in sevofluranom eno uro po uvodu v anestezijo, kar bi morda lahko pripisali antioksidativnim lastnostim propofola (Rigobello in sod., 2004; Volti in sod., 2006). Po drugi strani pa je morda značilno višja vrednost ACW posledica aktivacije sistemskih vodotopnih antioksidativnih mehanizmov, kot so ugotovili Braz in sod. (2015) zaradi pro-oksidativnega delovanja propofola (Petros in sod., 1993; Hay Kraus in sod., 2000; Wojewodzka-Zelezniakowicz in sod., 2016).

Vrednost ACW se je v primerjavi z bazalnimi vrednostmi značilno povečala uro po uvodu v anestezijo tako pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom, kot pri psih (tako pri zdravih kot pri psih z MDMZ), ki so bili anestezirani s propofolom in sevofluranom. Pri psih, ki so bili anestezirani samo s propofolom, se je ACW značilno povečala takoj po uvodu v anestezijo in je ostala značilno povečana tudi po anesteziji. Poleg tega je bila ACW pri teh psih značilno večja uro po uvodu v anestezijo v primerjavi s psi z MDMZ, ki so bili anestezirani s kombinacijo propofola in sevoflurana. Sklepamo, da je pri anesteziji s propofolom značilno povečanje ACW najverjetneje posledica antioksidativnih lastnosti propofola kot lovilca prostih radikalov. Podobno so pri anesteziji s propofolom pri ljudeh ugotovili Braz in sod. (2015).

Pri pregledu obstoječe literature nismo našli podatkov o učinku anestezije na ACW in ACL. Naših rezultatov ne moremo primerjati z rezultati raziskav, pri katerih so določali celokupno antioksidativno kapaciteto plazme ali seruma, ne da bi ločili ACW in ACL (Rubio in sod., 2016; Tomšič in sod., 2016).

## 5.6 OMEJITVE RAZISKAVE

Psi, ki so bili vključeni v raziskavo, so bili lastniški psi, ki so živelji v različnih okoljih, jedli različno hrano in so bili različno aktivni. Zdravstveni status psov se je razlikoval tako glede na stopnjo napredovanja MDMZ kot tudi glede na zdravje zob in ustne votline, čeprav smo z izključitvenimi kriteriji zelo omejili morebitne dejavnike, ki bi lahko vplivali na izbrane parametre oksidativnega stresa in s tem na izid raziskave.

Vnetni procesi v ustni votlini (parodontalna bolezen, okužba koreninskega kanala in periapikalno vnetje) vplivajo na sistemsko vnetje (Rawlinson in sod., 2011; Nemec

in sod., 2013) in s tem na oksidativni stres. Da bi vsaj deloma ovrednotili vpliv zdravstvenega stanja ustne votline in zob na oksidativni stres, smo pse razdelili v dve skupini glede na število obolelih zob. Izbrana porazdelitev ni idealna, saj pri tem nismo upoštevali velikosti parodontalne rane (Harvey in sod., 2008), prav tako predstavljata okužba in vnetje koreninskega kanala drugačen patološki proces (glede na trajanje procesa tudi različnih stopenj) kot okužba in vnetje zaradi parodontalne bolezni in je zato njun doprinos k lokalnemu (in posledično sistemskemu) vnetju težko enačiti. Kljub temu smo se odločili za izbrano porazdelitev zaradi omejenega števila psov, ki jih je bilo glede na ostale izključitvene dejavnike možno vključiti v raziskavo. Glede na to, da se skupine niso značilno razlikovale v parodontalnem statusu in številu travmatsko poškodovanih zob, smo lahko izključili morebitni vpliv bolezni ustne votline in zob na oksidativne parametre med anestezijo psov brez MDMZ in psov z MDMZ. Tudi sam stomatološki poseg (npr. obseg kirurškega zdravljenja) in uporaba podpornih zdravil sta se razlikovala glede na zdravstveno stanje ustne votline psa. Iz tega razloga smo omejili izbor uporabljenih zdravil, vendar le do te mere, da smo lahko psom nudili strokovno in učinkovito zdravljenje.

## 6 ZAKLJUČKI

1. Pri psih s parodontalno boleznijo anestezija s propofolom in sevofluranom povzroči večji obseg oksidativnega stresa pri psih z MDMZ v primerjavi s tistimi brez MDMZ.
2. Anestezija s propofolom ne povzroči manjšega obsega oksidativnega stresa v primerjavi z anestezijo s propofolom in sevofluranom pri psih s parodontalno boleznijo in MDMZ.
3. Antioksidativni odgovor na povečano nastajanje RKZ med anestezijo se razlikuje pri anesteziji s propofolom v primerjavi z anestezijo s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ. Vrednosti ACW so bile značilno višje eno uro po uvodu v anestezijo pri psih, ki so bili anestezirani s propofolom, v primerjavi s psi, ki so bili anestezirani s kombinacijo propofola in sevoflurana.
4. Anestezijo s propofolom ali anestezijo s propofolom in sevofluranom lahko s stališča vpliva na oksidativni stres enako varno uporabimo pri psih z MDMZ.

## 7 POVZETEK

V raziskavo smo vključili 30 psov s parodontalno boleznijo (12 brez in 18 z MDMZ). Želeli smo ovrednotiti oksidativni stres, ki ga povzroči anestezija s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ. Zanimalo nas je tudi, ali pri psih z MDMZ anestezija s propofolom, ki naj bi deloval antioksidativno, povzroči manjši oksidativni stres kot anestezija s propofolom in sevofluranom.

Pri anesteziji s propofolom in sevofluranom, smo ugotovili značilno višje vrednosti vitamina E in ACL pri psih z MDMZ v primerjavi s psi brez MDMZ pri vseh odvzemih krvi, medtem ko so bile vrednosti MDA značilno višje pri psih z MDMZ le med in po anesteziji. Rezultati nakazujejo na povečano sproščanje vitamina E iz maščobnega tkiva kot odgovor na povečano nastajanje RKZ pri psih z MDMZ ACVIM B1 in B2. Pri teh psih je bil, v primerjavi s psi brez MDMZ, obseg lipidne peroksidacije večji zaradi povečanega nastajanja RKZ med anestezijo.

S primerjavo anestezije s propofolom in anestezije s propofolom in sevofluranom pri psih z MDMZ smo ugotovili, da (z izjemo ACW) med izbranimi anesteziskimi protokoloma ni bilo značilnih razlik v vrednostih parametrov oksidativnega stresa. V nasprotju z našimi pričakovanji anestezija s propofolom ni povzročila manjšega obsega oksidativnega stresa kot kombinacija propofola in sevoflurana pri psih z MDMZ.

Zaključimo lahko, da sta oba anesteziskska protokola varna in primerna za anestezijo psov z MDMZ z ozirom na oksidativni stres.

## 8 SUMMARY

Thirty dogs with periodontal disease (12 without and 18 with MMVD) were included in the study. We aimed to evaluate the oxidative stress induced by anaesthesia with propofol and sevoflurane in dogs with MMVD comparing to dogs without MMVD. We also investigated whether anaesthesia with propofol, which is believed to have antioxidant properties, causes less oxidative stress compared to anaesthesia with propofol and sevoflurane in dogs with MMVD.

In dogs anaesthetized with propofol and sevoflurane, vitamin E and ACL values were significantly higher at all sampling times in those with MMVD when compared to dogs without MMVD, while MDA values were significantly higher in dogs with MMVD only during and after anaesthesia. These results indicate an increased mobilization of vitamin E from adipose tissue in response to an enhanced ROS production in dogs with MMVD ACVIM B1 and B2. These dogs were also more affected by oxidative damage of lipids due to an enhanced ROS production during anaesthesia in comparison to dogs without MMVD.

There was no significant difference in selected parameters of oxidative stress in dogs with MMVD, anaesthetized with propofol and sevoflurane compared to dogs with MMVD anaesthetized only with propofol, except for ACW. In contrast to our expectations, anaesthesia with propofol did not cause oxidative stress to a lesser extent in comparison to anaesthesia with propofol and sevoflurane in dogs with MMVD.

In conclusion, both anaesthetic protocols can safely be used in dogs with early stage MMVD with regard to oxidative stress.

## **9 ZAHVALE**

Iskrena hvala mentorici doc. dr. Alenki Seliškar, da me je uvedla v svet veterinarske anesteziologije in sprejela izziv, da me je vodila, podpirala in mi pomagala pri uresničitvi doktorske naloge. Občudujem vašo energičnost in prodornost.

Iskrena hvala somentorici izr. prof. dr. Alenki Nemeč Sveti, da si je vedno vzela čas zame, za temeljite pogovore o znanstvenih in življenjskih temah in da je nesebično delila svoje znanje in izkušnje z mano. Občudujem vašo ljubezen do raziskovanja in vašo življenjsko energijo.

Cenjenim članom ocenjevalne komisije, predsednici izr. prof. dr. Aleksandri Domanjko-Petrič za koristne nasvete in pomoč pri raziskovalnem delu ter izr. prof. dr. Silvestri Kobal in prof. dr. Mirtu Kameniku za oceno disertacije in konstruktivno kritiko.

Ministrstvu za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo za sofinanciranje doktorskega študija v okviru »Inovativne sheme za sofinanciranje doktorskega študija za spodbujanje sodelovanja z gospodarstvom in reševanja aktualnih družbenih izzivov – generacija 2010 Univerza v Ljubljani«.

Veterinarski fakulteti in programski skupini P4 0053 za sofinanciranje raziskovalnega dela.

Prof. dr. Tomažu Vovku s Fakultete za farmacijo za določanje malondialdehida v vzorcih in za pomoč pri opisu metod.

Dr. Gabrijeli Tavčar Kalcher z Veterinarske fakultete za določanje vitamina E v vzorcih in za pomoč pri opisu metod.

Doc. dr. Alenki Levart z Biotehniške fakultete za določanje antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov in za pomoč pri opisu metod.

Lektorici dr. Mateji Gaber s Filozofske fakultete za lektoriranje disertacije in lektorju Terryju Troyu Jacksonu za lektoriranje besedila v angleškem jeziku.

Mateji Blas za statistično obdelavo podatkov in za pripravo grafov.

Mag. Giti Greč-Smole za pomoč pri urejanju literarnih podatkov ter Stanki Ujc in Slavici Sekulić za pomoč pri pridobivanju člankov.

Jerneji Sredenšek in Petri Jelovčan za pomoč pri anesteziji psov in pridobivanju vzorcev, Aleksandru Jenku za pomoč pri odbelavi vzorcev. Hvala tudi ostalem tehničnemu osebju na KMŽ za pomoč pri delu s strankami in psi.

Doc. dr. Ani Nemec za strokovne in življenske pogovore, zaradi katerih so dolge ure v stomatološki ambulanti minile tako hitro kot prijeten klepet ob kavi. Cenim tvojo voljo in ljubezen do raziskovanja, predvsem pa človeški pristop do dela in sodelavcev.

Asist. dr. Barbari Lukanc za neprecenljivo pomoč in sodelovanje pri delu na anesteziji. Hvala za nesebično delitev tvojega znanja, za konstruktivno kritiko in neprecenljive nasvete. Cenim te in me veseli, da sva del iste ekipe.

Nevenki, Editi, Renati in Biljani, ki so mi s prijateljsko besedo olajšale včasih neprijetne trenutke.

Urši in Juretu, s katerima delim pisarno na Kliniki za male živali za spodbudne pogovore in smisel za humor.

Vsem sodelavkam in sodelavcem na Kliniki za male živali, ki jih nisem poimenovala in ki so bili tako ali drugače vpleteni v nastajanje raziskovalnega dela.

Billyju, našemu kosmatincu, ker je sodeloval v raziskavi. Hvala tudi lastnikom ostalih psov, ki so se odločili za sodelovanje v raziskavi.

Teti Ivi, stricu Stankotu, sestrični Maji in bratrancu Sebastjanu, da ste me sprejeli v vašo družino v prvih letih študija veterine. Hvala tudi moji obsežni družini, stricem in tetam, sestričnam in bratrancem, ki se vedno veselijo mojih uspehov.

Dragici in Toniju za vso nesebično in neizmerno pomoč, razumevanje in potrpežljivost.  
Vesela sem, da sem del vaše družine.

Atiju Ljubotu in mami Neviji, da sta me podpirala tudi takrat, ko so jima bile moje odločitve nerazumljive. Naučila sta me, da se je treba za vsak dosežek v življenju potruditi in zdržati. Bratu Sašotu za razumevanje in pripravljenost pomagati, ponosna sem nate.

Sinovoma Nesti in Kasperju, ki sta me naučila, da ni nič narobe, če ne gre vedno vse po načrtu, in Davidu, življenjskemu sopotniku – hvala, da mi stojiš ob strani tudi v najtežjih trenutkih. Rada vas imam :)

## 10 LITERATURA

Aarts L, van der Hee R, Dekker I, de Jong J, Langemeijer H, Bast A. The widely used anesthetic agent propofol can replace  $\alpha$ -tocopherol as an antioxidant. FEBS Lett 1995; 357(1): 83–5.

Abed JM, Pike FS, Clare MC, Brainard BM. The cardiovascular effects of sevoflurane and isoflurane after premedication of healthy dogs undergoing elective surgery. J Am Anim Hosp Assoc 2014; 50(1): 27–35.

Acquaviva R, Campisi A, Murabito P, et al. Propofol attenuates peroxynitrite-mediated DNA damage and apoptosis in cultured astrocytes: an alternative protective mechanism. Anesthesiology 2004; 101(6): 1363–71.

Akalin FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. J Clin Periodontol 2007; 34(7): 558–65.

Akın M, Ayoglu H, Okyay D, et al. Effects of various anesthesia maintenance on serum levels of selenium, copper, zinc, iron and antioxidant capacity. Rev Bras Anestesiol 2015; 65(1): 51–60.

Allaouchiche B, Debon R, Goudable J, Chassard D, Duflo F. Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. Anesth Analg 2001; 93(4): 981–5.

American College of Veterinary Dentistry. Periodontal disease. Meridian, Idaho, 2016.  
<http://www.avdc.org/Nomenclature/Nomen-Perio.html#top> (21. sept. 2016)

Arthur JR. The glutathione peroxidases. Cell Mol Life Sci 2000; 57(13/14): 1825–35.

Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. J Vet Intern Med 2009; 23(6): 1142–50.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal.

Oxid Med Cell Longev (Online) 2014; 2014: e ID360438 (31 str.).

<https://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438/> (29. Jan. 2017)

Bahorun T, Soobrattee MA, Luximon-Ramma V, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. Internet J Med Update 2006; 1(2): 25–40.

[http://www.akspublication.com/Paper05\\_Jul-Dec2006\\_.pdf](http://www.akspublication.com/Paper05_Jul-Dec2006_.pdf) (1. sept. 2016)

Bahri MA, Seret A, Hans P, Piette J, Deby-Dupont G, Hoebeke M. Does propofol alter membrane fluidity at clinically relevant concentrations? An ESR spin label study. Biophys Chem 2007; 129(1): 82–91.

Baker MT, Naguib M. Propofol: the challenges of formulation.

Anesthesiology 2005; 103(4): 860–76.

Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease?

J Periodontol 2014; 85(10): 1432–41.

Baysal Z, Togrul T, Aksoy N, et al. Evaluation of total oxidative and antioxidative status in pediatric patients undergoing laparoscopic surgery.

J Pediatr Surg 2009; 44(7): 1367–70.

Bednarski R, Grimm K, Harvey R, et al. AAHA anesthesia guidelines for dogs and cats.

J Am Anim Hosp Assoc 2011; 47(6): 377–85.

Bennett RC, Fancy SPJ, Walsh CM, Brown AJ, Taylor PM. Comparison of sevoflurane and isoflurane in dogs anaesthetised for clinical surgical or diagnostic procedures.

J Small Anim Pract 2008; 49(8): 392–7.

Bhattacharya S. Reactive oxygen species and cellular defense system. In: Rani V, Yadav UCS, eds. Free radicals in human health and disease. New Delhi: Springer India 2015: 17–29.

Bogra J, Gangoo R, Pandey VC, Srivastava P. Effect on free radical generation with different anaesthesia. *J Indian Med Assoc* 2007; 105(3): 128–9.

Bramley P, Elmada I, Kafatos A, et al. Vitamin E. *J Sci Food Agric* 2000; 80(7): 913–38.

Braz MG, Braz LG, Braz JR, et al. Comparison of oxidative stress in ASA physical status I patients scheduled for minimally invasive surgery under balanced or intravenous anesthesia. *Minerva Anestesiol* 2013; 79(9): 1030–8.

Braz MG, Braz LG, Freire CMM, et al. Isoflurane and propofol contribute to increasing the antioxidant status of patients during minor elective surgery: a randomized clinical study. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(31): e1266 (9 str.)  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4616612/pdf/medi-94-e1266.pdf> (1. sept. 2016)

Brigelius–Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 2013; 1830(5): 3289–303.

Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple ILC. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004; 31(7): 515–21.

Bush BM. Interpretation of laboratory results for small animal clinicians. Oxford: Blackwell Science 1991: 478-83.

Cadet J, Delatour T, Douki T, et al. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res Mol Mech Mutagen* 1999; 424(1): 9–21.

Cavalca V, Colli S, Veglia F, et al. Anesthetic propofol enhances plasma gamma-tocopherol levels in patients undergoing cardiac surgery.

Anesthesiology 2008; 108(6): 988–97.

Cesselli D, Jakoniuk I, Barlucchi L, et al. Oxidative stress–mediated cardiac cell death is a major determinant of ventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomyopathy. Circ Res 2001; 89(3): 279–86.

Ceylan BG, Yilmaz F, Eroglu F, Yavuz L, Gulmen S, Vural H. Oxidant and antioxidant activities of different anesthetic techniques. Propofol versus desflurane.

Saudi Med J 2009; 30(3): 371–6.

Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. FASEB J 2003; 17(10): 1195–214.

Czauderna M, Kowalczyk J, Marounek M. The simple and sensitive measurement of malondialdehyde in selected specimens of biological origin and some feed by reversed phase high performance liquid chromatography.

J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2011; 879(23): 2251–8.

Dahiya P, Kamal R, Gupta R, Bhardwaj R, Chaudhary K, Kaur S. Reactive oxygen species in periodontitis. J Indian Soc Period 2013;17(4):411–6.

Davis RF, DeBoer LW, Rude RE, Lowenstein E, Maroko PR. The effect of halothane anesthesia on myocardial necrosis, hemodynamic performance, and regional myocardial blood flow in dogs following coronary artery occlusion.

Anesthesiology 1983; 59(5): 402–11.

De La Cruz JP, Zanca A, Carmona JA, de la Cuesta FS. The effect of propofol on oxidative stress in platelets from surgical patients. Anesth Analg 1999; 89(4): 1050–5.

De La Cruz J., Villalobos M., Sedeño G, Sánchez De La Cuesta F. Effect of propofol on oxidative stress in an in vitro model of anoxia–reoxygenation in the rat brain. *Brain Res* 1998; 800(1):136–44.

Demiryürek AT, Cinel I, Kahraman S, et al. Propofol and intralipid interact with reactive oxygen species: a chemiluminescence study. *Br J Anaesth* 1998; 80(5): 649–54.

de Oliveira L, dos S. Spiazzi CM, Bortolin T, et al. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats.

*Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33(6): 1003–8.

Domanjko–Petrič A, Verk B, Zurec J, Seliškar A, Tomšič K, Nemec A. Antioxidant parameters and serum NT–proBNP in dogs with cardiac diseases. In: 20th European College of Veterinary Internal Medicine - Companion Animals Congress Proceedings. Toulouse: European College of Veterinary Internal Medicine - Companion Animals (ECVIM-CA), 2010: 278–9.

Erbas M, Demiraran Y, Ak Yildirim H, et al. Comparison of effects on the oxidant/antioxidant system of sevoflurane, desflurane and propofol infusion during general anesthesia. *Brazilian J Anesthesiol* 2015; 65(1): 68–72.

Eroglu F, Yavuz L, Ceylan BG, et al. New volatile anesthetic, desflurane, reduces vitamin E level in blood of operative patients via oxidative stress.

*Cell Biochem Funct* 2010; 28(3): 211–6.

Erturk E. Ischemia-reperfusion injury and volatile anesthetics.

*Biomed Res Int (Online)* 2014; 2014: eID526301 (7 str.)

<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/526301/> (30. Jan. 2017)

Fadaizadeh L, Radpay B, Taheri ZM, Bolhasani A, Shahsavari F, Moosavi F. Comparison of propofol and remifentanil administration on lipid profile. *Tanaffos* 2007; 6(4): 31–6.

Freeman LM, Rush JE, Markwell PJ. Effects of dietary modification in dogs with early chronic valvular disease. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 1116–26.

Freeman LM, Rush JE, Milbury PE, Blumberg JB. Antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in dogs with congestive heart failure. *J Vet Intern Med* 2005; 19(4): 537–41.

Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15(6): 1583–606.

Funkquist PM, Nyman GC, Löfgren AJ, Fahlbrink EM. Use of propofol-isoflurane as anesthetic regimen for cesarean section in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211(3): 313–7.

Ghio AJ, Turi JL, Yang F, Garrick LM, Garrick MD. Iron homeostasis in the lung. *Biol Res* 2006; 39(1): 67–77.

Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data.

*Free Radic Biol Med* 2000; 29(11): 1106–14.

Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005; 115(3): 500–8.

Grotto D, Maria LS, Valentini J, et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim Nova* 2009; 32(1): 169–74.

Hagler MA, Hadley TM, Zhang H, et al. TGF– signalling and reactive oxygen species drive fibrosis and matrix remodelling in myxomatous mitral valves. *Cardiovasc Res* 2013; 99(1): 175–84.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, eds. Free Radical Biology & Medicine. 5th ed. Oxford: University Press, 2015a: 1–29.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Antioxidant defences synthesized in vivo. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, eds. Free Radical Biology & Medicine. 5th ed. Oxford: University Press; 2015b: 77–151.

Hans P, Canivet JL, Pincemail J, Muller JP, Byttebier G, Lamy M. Plasma vitamin E, total lipids and myeloperoxidase levels during spinal surgery. A comparison between two anesthetic agents: propofol and isoflurane.

Acta Anaesthesiol Scand 1991; 35(4): 302–5.

Hans P, Deby C, Deby-Dupont G, Vrijens B, Albert A, Lamy M. Effect of propofol on in vitro lipid peroxidation induced by different free radical generating systems: a comparison with vitamin E. J Neurosurg Anesthesiol 1996; 8(2): 154–8.

Harvey CE, Lester L, Shofer F, Miller B. Scoring the full extent of periodontal disease in the dog: development of a total mouth periodontal score (TMPS) system. J Vet Dent 2008; 25(3): 176–80.

Hay Kraus BL, Greenblatt DJ, Venkatakrishnan K, Court MH. Evidence for propofol hydroxylation by cytochrome P4502B11 in canine liver microsomes: breed and gender differences. Xenobiotica 2000; 30(6): 575–88.

Heindl B, Becker BF, Zahler S, Conzen PF. Volatile anaesthetics reduce adhesion of blood platelets under low-flow conditions in the coronary system of isolated guinea pig hearts. Acta Anaesthesiol Scand 1998; 42(8): 995–1003.

Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. Anesthesiology 1999; 91(2): 521–30.

Hiraoka H, Yamamoto K, Miyoshi S, et al. Kidneys contribute to the extrahepatic clearance of propofol in humans, but not lungs and brain.  
*Br J Clin Pharmacol* 2005; 60(2): 176–82.

Javadov SA, Lim KH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD, Halestrap AP. Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res* 2000; 45(2): 360–9.

Jessen RH, Dass CJ, Eckfeldt JH. Do enzymatic analyses of serum triglycerides really need blanking for free glycerol? *Clin Chem* 1990; 36(7): 1372–5.

Kahraman S, Demiryürek AT. Propofol is a peroxynitrite scavenger.  
*Anesth Analg* 1997; 84(5): 1127–9.

Kale R, Samad A, Sumanth S, Baliga S, Khajehnoori M, Muglikar S. Estimation of superoxide dismutase levels in chronic periodontitis patients: a clinical and biochemical study. *Univ Res J Dent* 2012; 2: 93–6.

Kersten JR., Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997; 87(2): 361–70.

Kevin LG, Novalija E, Riess ML, Camara AK, Rhodes SS, Stowe DF. Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg* 2003; 96(4): 949–55.

Kevin LG, Novalija E, Stowe DF. Reactive oxygen species is mediators of cardiac injury and protection: the relevance to anesthesia practice.  
*Anesth Analg* 2005; 101(5): 1275–87.

Khalili J, Biloklytska H. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis* 2008;14(8): 754–60.

Kharasch ED. Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg* 1995; 81(6 Suppl): S27–S38.

Khoshraftar E, Ranjbar A, Kharkhane B, Tavakol Heidary S, Gharebaghi Z, Zadkhosh N. Antioxidative effects of propofol vs. ketamin in individuals undergoing surgery. *Arch Iran Med* 2014; 17(7): 486–9.

Kim IK, Suh JK, Kim JH. Antioxidant effects and mechanism of thiopental and propofol on the rabbit abdominal aortic endothelial dependent vasorelaxation against reactive oxygen species. *Korean J Anesthesiol* 2013; 65: S16–8.

Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77(5): 598–625.

Kohchi C, Inagawa H, Nishizawa T, Soma G–I. ROS and innate immunity. *Anticancer Res* 2009; 29(3): 817–21.

Kokita N, Hara A. Propofol attenuates hydrogen peroxide–induced mechanical and metabolic derangements in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 1996; 84(1): 117–27.

Koksal GM, Sayilgan C, Aydin S, Uzun H, Oz H. The effects of sevoflurane and desflurane on lipid peroxidation during laparoscopic cholecystectomy. *Eur J Anaesthesiol* 2004; 21(3): 217–20.

Kotani Y, Shimazawa M, Yoshimura S, Iwama T, Hara H. The experimental and clinical pharmacology of propofol, an anesthetic agent with neuroprotective properties. *CNS Neurosci Ther* 2008; 14(2): 95–106.

Kotzampassi K, Kolios G, Manousou P, et al. Oxidative stress due to anesthesia and surgical trauma: importance of early enteral nutrition. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(6): 770–9.

Kovacic P, Somanathan R. Mechanism of anesthetic toxicity: metabolism, reactive oxygen species, oxidative stress, and electron transfer. ISRN Anesthesiol (Online) 2011; 2011: e ID402906 (10 str.).

<https://www.hindawi.com/journals/isrn/2011/402906> (21. dec. 2016)

Kunst G, Bohrer H. Serum triglyceride levels and propofol infusion.  
Anaesthesia 1995; 50(12): 1101.

Kunst G, Klein AA. Peri-operative anaesthetic myocardial preconditioning and protection – cellular mechanisms and clinical relevance in cardiac anaesthesia.  
Anaesthesia 2015; 70(4): 467–82.

Kyllar M, Witter K. Prevalence of dental disorders in pet dogs.  
Vet Med Czech 2005; 50: 496–505.

Lakshmi S V, Padmaja G, Kuppusamy P, Kutala VK. Oxidative stress in cardiovascular disease. Indian J Biochem Biophys 2009; 46(6): 421–40.

Landoni G, Fochi O, Tritapepe L, et al. Cardiac protection by volatile anesthetics. a review. Minerva Anestesiol 2009; 75(5): 269–73.

Lee JY. Oxidative stress due to anesthesia and surgical trauma and comparison of the effects of propofol and thiopental in dogs. J Vet Med Sci 2012; 74(5): 663–5.

Lee JY. Evaluation of the total oxidant and antioxidant status of the plasma of dogs anaesthetised with isoflurane. Vet Rec 2013; 173(4): e96 (2 str.) <http://veterinaryrecord.bmjjournals.com/content/173/4/96.1.full.pdf+html> (26. jan. 2017)

Lee JY, Kim MC. Effect of propofol on oxidative stress status in erythrocytes from dogs under general anaesthesia. Acta Vet Scand 2012; 54(1): e76 (4 str.) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542034/pdf/1751-0147-54-76.pdf> (26. Jan. 2017)

Lee YM, Song BC, Yeum KJ. Impact of volatile anesthetics on oxidative stress and inflammation. *Biomed Res Int* (Online) 2015; 2015: eID242709 (8 str.).  
<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/242709> (22. sept. 2016)

Liu Z, Liu Y, Song Y, Zhang X, Wang S, Wang Z. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Dis Markers* (Online) 2014; 2014: eID931083 (10 str.). <https://www.hindawi.com/journals/dm/2014/931083/> (21. dec. 2016)

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010; 4(8): 118–26.

Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase–1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15(7): 1957–97.

Mandelker L. Introduction to oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38(1): 1–30.

Marik PE. Propofol: therapeutic indications and side-effects. *Curr Pharm Des* 2004; 10(29): 3639–49.

Marshall MD, Wallis CV, Milella L, Colyer A, Tweedie AD, Harris S. A longitudinal assessment of periodontal disease in 52 miniature schnauzers. *BMC Vet Res* 2014; 10: e166 (14 str.)  
<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-10-166>  
(21. dec. 2016)

Martis L, Lynch S, Napoli MD, Woods EF. Biotransformation of sevoflurane in dogs and rats. *Anesth Analg* 1981; 60(4): 186–91.

Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 2000; 153(1/3): 83–104.

McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase studying free radical reactions. *J Biol Chem* 1969; 244(6): 6056–63.

Miller AF. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett* 2012; 586(5): 585–95.

Moritz A, Fickenscher Y, Meyer K, Failing K, Weiss DJ. Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Vet Clin Pathol* 2004; 33(1): 32–38.

Mouithys-Mickalad A, Hans P, Deby-Dupont G, Hoebeke M, Deby C, Lamy M. Propofol reacts with peroxynitrite to form a phenoxyl radical: demonstration by electron spin resonance. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249(3): 833–7.

Murphy PG, Davies MJ, Columb MO, Stratford N. Effect of propofol and thiopentone on free radical mediated oxidative stress of the erythrocyte. *Br J Anaesth* 1996; 76(4): 536–43.

Myles PS, Buckland MR, Morgan DJ, Weeks AM. Serum lipid and glucose concentrations with a propofol infusion for cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9(4): 373–8.

Nagoshi T, Yoshimura M, Rosano GMC, Lopaschuk GD, Mochizuki S. Optimization of cardiac metabolism in heart failure. *Curr Pharm Des* 2011; 17(35): 3846–53.

Navapurkar VU, Skepper JN, Jones JG, Menon DK. Propofol preserves the viability of isolated rat hepatocyte suspensions under an oxidant stress. *Anesth Analg* 1998; 87(5): 1152–7.

Naziroğlu M, Günay C. The levels of some antioxidant vitamins, glutathione peroxidase and lipoperoxidase during the anaesthesia of dogs. *Cell Biochem Funct* 1999; 17(3): 207–12.

Nemec A, Verstraete FJM, Jerin A, et al. Periodontal disease, periodontal treatment and systemic nitric oxide in dogs. *Res Vet Sci* 2013; 94(3): 542–4.

Nemec Sveti A, Frangež R. Klinična biokemija v veterinarski medicini: učbenik za študente veterinarske medicine. Ljubljana: Veterinarska fakulteta 2013: 31–181.

Niki E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo.

*Free Radic Biol Med* 2010; 49(4): 503–15.

Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, et al. The inhibitory effects of thiopental, midazolam, and ketamine on human neutrophil functions.

*Anesth Analg* 1998; 86(1): 159–65.

Nishiyama T, Hanaoka K. Inorganic fluoride kinetics and renal and hepatic function after repeated sevoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 1998; 87(2): 468–73.

Nolan A, Reid J. Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br J Anaesth* 1993; 70(5): 546–51.

Nouette-Gaulain K, Jose C, Capdevila X, Rossignol R. From analgesia to myopathy: When local anesthetics impair the mitochondrion.

*Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43(1): 14–9.

Olsen LH, Haggstrom J PH. Acquired valvular heart disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 7th ed. Vol. 2. St. Louis: Saunders, 2010: 1299–320.

Orosz JEB, Braz LG, Ferreira ALA, et al. Balanced anesthesia with sevoflurane does not alter redox status in patients undergoing surgical procedures.

*Mutat Res Toxicol Environ Mutagen* 2014; 773: 29–33.

Oshima T, Karasawa F, Okazaki Y, Wada H, Satoh T. Effects of sevoflurane on cerebral blood flow and cerebral metabolic rate of oxygen in human beings: a comparison with isoflurane. *Eur J Anaesthesiol* 2005; 20(7): 543–7.

Pagel PS, Warltier DC. Negative inotropic effects of propofol as evaluated by the regional preload recruitable stroke work relationship in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1993; 78(1): 100–8.

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158–69.

Park CJ, Park SA, Yoon TG, Lee SJ, Yum KW, Kim HJ. Bupivacaine induces apoptosis via ros in the schwann cell line. *J Dent Res* 2005; 84(9): 852–7.

Pavlica Z, Petelin M, Nemec A, Erzen D, Skaleric U. Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res* 2004; 65(11): 1584–8.

Peng Z, Luo M, Ye S, et al. Antioxidative and anti-endotoxin effects of propofol on endothelial cells. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116(5): 731–5.

Petros AJ, Bogle RG, Pearson JD. Propofol stimulates nitric oxide release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1993; 109(1): 6–7.

Picker O, Scheeren TWL, Arndt JO. Inhalation anaesthetics increase heart rate by decreasing cardiac vagal activity in dogs. *Br J Anaesth* 2001; 87(5): 748–54.

Pinaud M, Lelausque JN, Chetanneau A, Fauchoux N, Ménégalli D, Souron R. Effects of propofol on cerebral hemodynamics and metabolism in patients with brain trauma. *Anesthesiology* 1990; 73(3): 404–9.

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R Package version 31-122. Vienna: R foundation for statistical computing, 2015; R package: 1–3.

<https://cran.r-project.org/web/packages/nlme/index.html> (23. sept. 2016)

Plevnik Kapun A, Salobir J, Levart A, Tavčar Kalcher G, Nemec Svetec A, Kotnik T. Vitamin E supplementation in canine atopic dermatitis: improvement of clinical signs and effects on oxidative stress markers. *Vet Rec* 2014; 175(22): e560 (6 str.)  
<http://veterinaryrecord.bmj.com/content/175/22/560.full.pdf+html> (23. sept. 2016)

Popov IN, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity: II. testing of nonenzymic water-soluble antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1994; 17(3): 267–71.

Popov IN, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity: IV: testing of lipid-soluble antioxidants. *J Biochem Biophys Methods* 1996; 31(1/2): 1–8.

Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11/12): 1173–81.

Prohaska JR, Gybina AA. Intracellular copper transport in mammals. *J Nutr* 2004; 134(5): 1003–6.

Quijano C, Trujillo M, Castro L, Trostchansky A. Interplay between oxidant species and energy metabolism. *Redox Biol* 2016; 8: 28–42.

Quinlan GJ, Martin GS, Evans TW. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology* 2005; 41(6): 1211–9.

Rawlinson JE, Goldstein RE, Reiter AM, Attwater DZ, Harvey CE. Association of periodontal disease with systemic health indices in dogs and the systemic response to treatment of periodontal disease. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238(5): 601–9.

Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 2012; 24(5): 981–90.

Redel A, Stumpner J, Tischer-Zeitz T, et al. Comparison of isoflurane-, sevoflurane-, and desflurane-induced pre- and postconditioning against myocardial infarction in mice in vivo. *Exp Biol Med* 2009; 234(10): 1186–91.

Reimann MJ, Häggström J, Mortensen A, et al. Biopterin status in dogs with myxomatous mitral valve disease is associated with disease severity and cardiovascular risk factors. *J Vet Intern Med* 2014; 28(5): 1520–6.

Riess ML, Kevin LG, McCormick J, Jiang MT, Rhodes SS, Stowe DF. Anesthetic preconditioning: the role of free radicals in sevoflurane-induced attenuation of mitochondrial electron transport in Guinea pig isolated hearts. *Anesth Analg* 2005; 100(1): 46–53.

Rigobello MP, Stevanato R, Momo F, et al. Evaluation of the antioxidant properties of propofol and its nitrosoderivative. Comparison with homologue substituted phenols. *Free Radic Res* 2004; 38(3): 315–21.

Rubio CP, Hernández-Ruiz J, Martínez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, Ceron JJ. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Vet Res* 2016; 12(1): e166 (7 str.).

<http://bmccvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-016-0792-7>

(23. sept. 2016)

Sagols E, Priymenko N. Oxidative stress in dog with heart failure: the role of dietary fatty acids and antioxidants. *Vet Med Int* 2011; 2011: eID180206 (5 str.).

<https://www.hindawi.com/journals/vmi/2011/180206/> (23. sept. 2016)

Sedlic F, Pravdic D, Ljubkovic M, Marinovic J, Stadnicka A, Bosnjak ZJ. Differences in production of reactive oxygen species and mitochondrial uncoupling as events in the preconditioning signaling cascade between desflurane and sevoflurane.

Anesth Analg 2009; 109(2): 405–11.

Shityakov S, Puskás I, Pápai K, et al. Sevoflurane-sulfobutylether- $\beta$ -cyclodextrin complex: preparation, characterization, cellular toxicity, molecular modeling and blood-brain barrier transport studies. Molecules 2015; 20(6): 10264–79.

Short CE, Bufalari A. Propofol anesthesia.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 1999; 29(3): 747–78.

Sies H, Jones D. Oxidative stress. In: Fink G, ed. Encyclopedia of stress. Vol 3. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2007: 45–8.

Simeonova GP, Todorova II, Gadjeva V, Dinev DN. Evaluation of lipid peroxidation associated with three anesthetic protocols in dogs. Rev Med Vet 2004; 155(12): 602–5.

Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Knott S, Ruane RJ. Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of 14C-propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit. Xenobiotica 1991; 21(10): 1243–56.

Singal PK, Khaper N, Palace V, Kumar D. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. Cardiovasc Res 1998; 40(3): 426–32.

Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease: a review. Vascul Pharmacol 2015; 71: 40–56.

Sivaci R, Kahraman A, Serteser M, Sahin DA, Dilek ON. Cytotoxic effects of volatile anesthetics with free radicals undergoing laparoscopic surgery.

Clin Biochem 2006; 39(3): 293–8.

Sivertsen T, Overnes G, Osterås O, Nymoen U, Lunder T. Plasma vitamin E and blood selenium concentrations in Norwegian dairy cows: regional differences and relations to feeding and health. *Acta Vet Scand* 2005; 46(4): 177–91.

Smith I, Nathanson M, White PF. Sevoflurane – a long-awaited volatile anaesthetic. *Br J Anaesth* 1996; 76(3): 435–45.

Stark G. Functional consequences of oxidative membrane damage. *J Membr Biol* 2005; 205(1): 1–16.

Steinbacher R, Dörfelt R. Anaesthesia in dogs and cats with cardiac disease: an impossible endeavour or a challenge with manageable risk? *Eur J Companion Anim Pract* 2013; 23(1): 4–22.

Suleiman MS, Zacharowski K, Angelini GD. Inflammatory response and cardioprotection during open-heart surgery: the importance of anaesthetics. *Br J Pharmacol* 2008; 153(1): 21–33.

Theil EC. Ferritin: at the crossroads of iron and oxygen metabolism. *J Nutr* 2003; 133(5 Suppl 1): 1549S – 53S.

Thurnham DI, Davies JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M. The use of different lipids to express serum tocopherol: lipid ratios for the measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem* 1986; 23: 514–20.

Tobias JD. Propofol: effects on the central nervous system. *J Intensive Care Med* 2000; 15(5): 237–46.

Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology* 1999; 91(5): 1437–46.

Tomofuji T, Irie K, Sanbe T, et al. Periodontitis and increase in circulating oxidative stress. *Jpn Dent Sci Rev* 2009; 45(1): 46–51.

Tomšič K, Seliškar A, Lukanc B, Nemeč Svetec A. Plasma total antioxidant capacity and activities of blood glutathione peroxidase and superoxide dismutase determined in healthy dogs by using commercially available kits.

*Acta Vet Beograd* 2016; 66 (4): 534–48.

Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(1): 4–15.

Tsuchiya H, Ueno T, Tanaka T, Matsuura N, Mizogami M. Comparative study on determination of antioxidant and membrane activities of propofol and its related compounds. *Eur J Pharm Sci* 2010; 39(1/3): 97–102.

Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Antioxidant protection of propofol and its recycling in erythrocyte membranes. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(1): 54–60.

Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M, Asada A. Open abdominal surgery increases intraoperative oxidative stress: can it be prevented? *Anesth Analg* 2008; 107(6): 1946–52.

Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301(6): H2181–H90.

Türkan H, Bukan N, Sayal A, Aydin A, Bukan MH. Effects of halothane, enflurane, and isoflurane on plasma and erythrocyte antioxidant enzymes and trace elements. *Biol Trace Elem Res* 2004; 102(1/3): 105–12.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.  
*Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44–84.

van Ackern K, Vetter HO, Brückner UB, Madler C, Mittan U, Peter K. Effects of enflurane on myocardial ischaemia in the dog. *Br J Anaesth* 1985; 57(5): 497–504.

Vanlersberghe C, Camu F. Propofol. In: Schüttler J, Schwilden H, eds. *Modern anesthetics*. Berlin: Springer, 2008: 227–52 (Handb Exp Pharmacol 2008, vol. 182).

Vasileiou I, Xanthos T, Koudouna E, et al. Propofol: a review of its non-anaesthetic effects. *Eur J Pharmacol* 2009; 605(1/3): 1–8.

Venâncio C, Félix L, Almeida V, et al. Acute ketamine impairs mitochondrial function and promotes superoxide dismutase activity in the rat brain.  
*Anesth Analg* 2015; 120(2): 320–8.

Volti LG, Murabito P, Attaguile G, et al. Antioxidant properties of propofol: when oxidative stress sleeps with patients. *EXCLI J* 2006; 5: e25–32.

[http://www.excli.de/vol5/Li\\_Volti03-06proof.pdf](http://www.excli.de/vol5/Li_Volti03-06proof.pdf) (23. sept. 2016)

Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes.  
*Prog Lipid Res* 1999; 38(4): 309–36.

Ware WA. Cardiovascular disease in small animal medicine.  
London: Manson Publishing, 2007: 263–72.

Whitwam JG, Galletly DC, Ma D, Chakrabarti MK. The effects of propofol on heart rate, arterial pressure and adelta and C somatosympathetic reflexes in anaesthetized dogs.  
*Eur J Anaesthesiol* 2000; 17(1): 57–63.

Winbauer AN, Pingree SS, Nuttall KL. Evaluating serum alpha-tocopherol (vitamin E) in terms of a lipid ratio. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29(3): 185–91.

Wingler K, Brigelius-Flohé R. Gastrointestinal glutathione peroxidase. *BioFactors* 1999; 10(2/3): 245–9.

Wojewodzka-Zelezniakowicz M, Kisiel W, Kramkowski K, et al. Quinapril decreases antifibrinolytic and prooxidative potential of propofol in arterial thrombosis in hypertensive rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst (Online)* 2016; 17(2): e1470320316647239 (12 str.)  
<http://jra.sagepub.com/content/17/2/1470320316647239.full.pdf+html> (24. sept. 2016)

Wouters PF, Van de Velde MA, Marcus MA, Deruyter HA, Van Aken H. Hemodynamic changes during induction of anesthesia with eltanolone and propofol in dogs. *Anesth Analg* 1995; 81(1): 125–31.

Yagmurdur H, Cakan T, Bayrak A, et al. The effects of etomidate, thiopental, and propofol in induction on hypoperfusion-reperfusion phenomenon during laparoscopic cholecystectomy. *Acta Anaesthesiol Scand* 2004; 48(6): 772–7.

Yajima D, Motani H, Hayakawa M, Sato Y, Sato K, Iwase H. The relationship between cell membrane damage and lipid peroxidation under the condition of hypoxia–reoxygenation: analysis of the mechanism using antioxidants and electron transport inhibitors. *Cell Biochem Funct* 2009; 27(6): 338–43.

Yalcin S, Aydoğan H, Yuce HH, et al. Effects of sevoflurane and desflurane on oxidative stress during general anesthesia for elective cesarean section. *Wien Klin Wochenschr* 2013;125(15–16):467–73.

Yarsan E, Gurkan M, Pekcan Z, Ince S, Kumandas A. Effects of halothane and isoflurane anaesthesia on antioxidant enzymes in dogs. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(19): 2513–6.

Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma.  
Arch Biochem Biophys 2004; 430(1): 97–103.

Yildirim V, Dogancı S, Aydin A, Bolcal C, Demirkilic U, Cosar A. cardioprotective effects of sevoflurane, isoflurane, and propofol in coronary surgery patients: a randomized controlled study. Heart Surg Forum 2009; 12(1): E1–9.

Ying SW, Goldstein PA. Propofol suppresses synaptic responsiveness of somatosensory relay neurons to excitatory input by potentiating GABA<sub>A</sub> receptor chloride channels.  
Mol Pain 2005; 1(1): e2 (14 str.).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1074352/pdf/1744-8069-1-2.pdf>  
(1. sept. 2016)

Young Y, Menon DK, Tisavipat N, Matta BF, Jones JG. Propofol neuroprotection in a rat model of ischaemia reperfusion injury. Eur J Anaesthesiol 1997; 14(3): 320–6.

Zadák Z, Hyspler R, Tichá A, et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions.  
Physiol Res 2009; 58: S13–S7.

Zakon o zaščiti živali. Ur List RS 2007; 17(43): 5943.

Zhang S, Wang S, Yao S. Antioxidative effect of propofol during cardiopulmonary bypass in adults. Acta Pharmacol Sin 2004; 25(3): 334–40.

Zhao B, Tham SY, Lu J, Lai MH, Lee LKH, Moochhala SM. Simultaneous determination of vitamins C, E and beta-carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection.  
J Pharm Pharm Sci 2004; 7(2): 200–4.

Zoran DL, Riedesel DH, Dyer DC. Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. Am J Vet Res 1993; 54(5): 755–60.

## 11 PRILOGE

### 11.1 IZJAVA LASTNIKA O VKLJUČITVI PSA V RAZISKAVO

Ime in priimek lastnika psa/psice: .....

Podatki o živali (ime, pasma, datum rojstva): .....

Podpisani/a izjavljam,

da sem lastnik zgoraj omenjenega psa/psice, da sem razumel/a postopke, ki bodo izvedeni v raziskavi z naslovom **Vpliv anestezije s propofolom in sevofluranom na oksidativni stres pri psih z miksomatozno degeneracijo mitralne zaklopke** in dovoljujem sodelovanje mojega psa/psice v tej raziskavi. Strinjam se, da bodo vzorci krvi, odvzeti pred, med in po anesteziji uporabljeni v raziskovalne namene.

Dobrobit in morebitna tveganja, ki bi jim lahko bila podvržena moja žival mi je razumljivo razložila Katerina Tomsič, dr.vet.med., ki je odgovorna za varnost v poteku raziskave.

Moje sodelovanje v raziskavi je popolnoma prostovoljno in ga lahko odklonim oziroma sodelovanje v teku raziskave kadarkoli prekinem.

Datum in podpis: .....

### IZJAVA RAZISKOVALCA (izpolni raziskovalec)

Podpisana Katerina Tomsič, dr.vet.med. potrjujem, da sem razumljivo razložila lastniku živali potek raziskave ter dobrobit in morebitna tveganja, ki bi lahko nastala med potekom raziskave.

Datum in podpis: .....

## 11.2 VPRAŠALNIK O ZDRAVSTVENEM STATUSU PSA

Kdaj je pes/psica nazadnje jedel/a pil/a?

Ali dobiva kakšna zdravila?

Katera in koliko?

Ali je dobil/a katerakoli zdravila, vitaminske dodatke ali sredstva proti bolham v zadnjem mesecu?

Katera in koliko?

Ali je imel/a kakšna obolenja v preteklosti (driske, bruhanje, kihanje, izcedki, krvavitve)?

Ali je imel/a kdaj epileptični napad?

Ali je kdaj padel/a v nezavest, težko dihal/a, kašljal/a, se utrujal/a?

Ali normalno odvaja vodo in blato?

Ali je bil/a v tem mesecu cepljen/a? Proti čemu?

Kdaj se je psička nazadnje gonila? Je sterilizirana?

Ali je že kdaj bil/a v splošni anesteziji?

Kakšna je vsakodnevna prehrana vaše/ga psice/psa?

### 11.3 IZBRANI HEMATOLOŠKI PARAMETRI PSOV V RAZISKAVI

Priloga 3: Izbrani hematološki parametri (povprečje ± SD) pri posameznih skupinah psov

*Supplement 3: Selected haematological parameters (mean ± SD) in individual groups of dogs*

SKUPINA Group	WBC ( $\times 10^9/L$ )	RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	HGB (g/L)	HCT L/L	PLT ( $\times 10^9/L$ )	NEUT ( $\times 10^9/L$ )	LYMPH ( $\times 10^9/L$ )	MONO ( $\times 10^9/L$ )	EOS ( $\times 10^9/L$ )	BASO ( $\times 10^9/L$ )	LUC ( $\times 10^9/L$ )
PS/K $n = 8$	8,64 $\pm 2,19$	7,38 $\pm 0,72$	168,38 $\pm 12,45$	0,51 $\pm 0,04$	353,25 $\pm 123,74$	5,84 $\pm 1,77$	2,03 $\pm 0,52$	0,42 $\pm 0,26$	0,30 $\pm 0,23$	0,025 $\pm 0,01$	0,025 $\pm 0,01$
P/K $n = 10$	7,88 $\pm 3,83$	7,12 $\pm 0,74$	164,70 $\pm 16,78$	0,49 $\pm 0,05$	335,20 $\pm 65,64$	5,38 $\pm 3,45$	1,71 $\pm 0,48$	0,39 $\pm 0,14$	0,35 $\pm 0,15$	0,02 $\pm 0,01$	0,02 $\pm 0,01$
PS/Z $n = 12$	8,27 $\pm 2,54$	7,35 $\pm 0,55$	173,25 $\pm 11,6$	0,52 $\pm 0,04$	224,25 $\pm 84,99$	5,49 $\pm 2,17$	1,95 $\pm 0,47$	0,43 $\pm 0,20$	0,38 $\pm 0,32$	0,02 $\pm 0,01$	0,02 $\pm 0,01$

LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odклон; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – zdravi psi, anestezirani s propofolom in sevofluranom; WBC – številčna koncentracija levkocitov; RBC – številčna koncentracija eritrocitov; HGB – koncentracija hemoglobina; HCT – hematokrit; PLT – številčna koncentracija trombocitov; NEUT – neutrofilni granulociti; LYMPH – limfociti; MONO – monociti; EOS – eozinofilni granulociti; BASO – bazofilni granulociti; LUC – velike peroksidadzno neaktivne celice.

LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – healthy dogs anaesthetized with propofol and sevoflurane; WBC – white blood cell count; RBC – red blood cell count; HGB – haemoglobin concentration; HCT – haematocrit; PLT – platelet count; NEUT – neutrophil count; LYMPH lymphocyte count; MONO – monocyte count; EOS – eosinophil count; BASO – basophil count; LUC – large unstained cell count.

## 11.4 IZBRANI BIOKEMIJSKI PARAMETRI PSOV V RAZISKAVI

Priloga 4: Izbrani biokemijski parametri (povprečje ± SD) pri posameznih skupinah psov

*Supplement 4: Selected biochemical parameters (mean ± SD) in individual groups of dogs*

SKUPINA Group	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)	GLU (mmol/L)	UREA (mmol/L)	CREA (μmol/L)	Ca (mmol/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	AP (U/L)	ALT (U/L)	HOL (mmol/L)	TRI (mmol/L)
PS/K n = 8	149,58 ± 3,33	4,66 ± 0,28	114,79 ± 1,78	6,1 ± 0,62	6,38 ± 2,16	94,09 ± 26,70	2,64 ± 0,16	61,34 ± 4,07	33,29 ± 2,10	114,46 ± 96,59	61,75 ± 21,39	7,22 ± 1,79	1,11 ± 0,66
P/K n = 10	150,07 ± 2,71	4,6 ± 0,19	113,24 ± 3,10	6,08 ± 0,65	5,47 ± 1,92	89,95 ± 18,72	2,55 ± 0,12	62,28 ± 3,80	33,13 ± 2,10	62,57 ± 59,85	69,6 ± 53,35	6,35 ± 1,04	0,94 ± 0,61
PS/Z n = 12	149,03 ± 0,87	4,64 ± 0,39	113,60 ± 2,81	5,78 ± 0,55	6,81 ± 1,66	101,93 ± 25,01	2,59 ± 0,13	59,97 ± 5,75	32,76 ± 2,30	47,20 ± 42,54	63,16 ± 37,86	5,45 ± 1,41	0,89 ± 0,63

LEGENDA: MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odštevilo; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – zdravi psi, anestezirani s propofolom in sevofluranom; Na – natrij; K – kalij; Cl – klorid; GLU – glukozna; UREA – sečnina; CREA – kreatinin; Ca – kalcij; TP – celokupne beljakovine; ALB – albumini; AP – alkalna fosfataza; ALT alanin-aminotransferaza; HOL – celokupni holersterol; TRI – trigliceridi.

LEGEND: MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD, anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – healthy dogs anaesthetized with propofol and sevoflurane; Na – sodium; K – potassium; Cl – chloride; GLU – glucose; UREA – urea; CREA – creatinine; Ca – calcium; TP – total proteins; ALB – albumins; AP – alanine aminotransferase; ALT – alkaline phosphatase; HOL – total cholesterol; TRI – triglycerides.

## 11.5 IZBRANI EHOKARDIOGRAFSKI PARAMETRI PSOV Z MIKSOMATOZNO DEGENERACIJO MITRALNE ZAKLOPKE

Priloga 5: Izbrani ultrazvočni parametri (povprečje  $\pm$  SD) za uvrstitev psov z MDMZ po ACVIM klasifikaciji

*Supplement 5: Selected echographic parameters (mean  $\pm$  SD) to assess MMVD stage in dogs according to the ACVIM classification*

SKUPINA/ <i>Group</i>	La/Ao	LVEF (%)	HR (bpm)	MVE Vel (m/s)
PS/K ( $n = 8$ )	$1,71 \pm 0,16$	$74,62 \pm 8,85$	$131,75 \pm 36,54$	$1,07 \pm 0,08$
P/K ( $n = 10$ )	$1,51 \pm 0,43$	$59,32 \pm 12,05$	$115,43 \pm 22,24$	$0,81 \pm 0,09$

LEGENDA: ACVIM – Ameriški kolegij za veterinarsko interno medicino; MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; La/Ao – razmerje med premerom levega preddvora in korena aorte; LVEF – iztisni delež levega prekata; HR – frekvenca srca; MVE Vel – hitrost E vala mitralnega pritoka; bpm – utripi na minuto; m/s – metri na sekundo.

*LEGEND: ACVIM – American College of Veterinary Internal medicine; MMVD – myxomatous mitral valve degeneration; SD – standard deviation; n = number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; La/Ao – left atrium:aortic root ratio; LVEF – left ventricular ejection fraction; HR – heart rate; MVE Vel – mitral valve E wave velocity; bpm – beats per minute; m/s – metre per second.*

## 11.6 PODATKI O ZDRAVSTVENEM STANJU USTNE VOTLINE IN ZOB PSOV PO AVDC KLASIFIKACIJI

Priloga 6: Podatki o zdravstvenem stanju ustne votline in zob psov po AVDC klasifikaciji.

*Supplement 6: Health status of dog's oral cavity according to AVDC classification.*

SKUPINA <i>Group</i>	PES <i>Dog</i>	ŠT. ZOB <i>No. of teeth</i>	PD1	PD2	PD3	PD4	ŠT. POŠK. ZOB <i>No. of traumatized teeth</i>
PS/K ( <i>n</i> = 8)	K1	42	42	/	/	/	/
	K3	40	18	16	/	6	/
	K5	33	22	3	1	3	4
	K9	42	32	7	2	1	/
	K10	42	33	1	/	/	8
	K12	41	24	11	2	4	/
	K13	37	22	5	3	3	4
	K18	41	41	/	/	/	/
P/K ( <i>n</i> = 10)	K6	40	27	5	1	7	/
	K7	29	7	9	1	12	/
	K8	41	12	10	5	14	/
	K11	42	27	12	1	2	/
	K14	38	25	6	2	4	1
	K15	42	40	1	/	/	1
	K16	41	15	12	1	12	1
	K17	41	39	1	/	/	1
	K29	41	38	2	/	/	1
	K31	42	36	2	/	1	3
PS/Z ( <i>n</i> = 12)	19	42	42	/		/	/
	20	41	24	6	3	8	/
	21	38	34	2	1	/	1
	22	42	15	19	8	/	/
	23	42	42	/	/	/	/
	24	36	33	/	2	1	
	25	40	39	1	/	/	/
	26	41	11	12	7	11	/
	27	41	40	1	/	/	/
	28	42	35	3	/	/	4
	30	42	19	22	1	/	/
	32	42	32	3	1	1	5

LEGENDA: AVDC – Ameriški kolegij za veterinarsko stomatologijo; MDMZ – miksomatozna degeneracija mitralne zaklopke; SD – standardni odklon; n – število psov; PS/K – psi z MDMZ, anestezirani s

propofolom in sevofluranom; P/K – psi z MDMZ, anestezirani s propofolom; PS/Z – psi brez MDMZ, anestezirani s propofolom in sevofluranom; ŠT. ZOB – število prisotnih zob v ustni votlini; PD1 – 1. stopnja parodontalne bolezni (vnetje dlesni brez izgube prirastišča zoba); PD2 – 2. stopnja parodontalne bolezni (manj kot 25 % izgube prirastišča zoba); PD3 – 3. stopnja parodontalne bolezni (25 %-50 % izgube prirastišča zoba); PD4 – 4. stopnja parodontalne bolezni (več kot 50 % izgube prirastišča zoba); ŠT. POŠK. ZOB – število travmatsko poškodovanih zob.

*LEGEND: AVDC – American Veterinary Dental College; MMVD – myxomatous degeneration of the mitral valve; SD – standard deviation; n – number of dogs; PS/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; P/K – dogs with MMVD anaesthetized with propofol; PS/Z – dogs without MMVD anaesthetized with propofol and sevoflurane; No.of teeth – number of teeth present; PD1 – stage 1 periodontal disease (gingivitis without attachment loss); PD2 – stage 2 periodontal disease (less than 25 % of attachment loss); PD3 – stage 3 periodontal disease (25–50 % of attachment loss); PD4 – stage 4 periodontal disease (more than 50 % of attachment loss); No. of traumatized teeth – number of teeth affected by trauma.*