

**UNIVERZITA KARLOVA**

**2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Farmakokinetický profil a výskyt nežádoucích účinků  
levobupivacainu během kontinuální kaudální epidurální analgezie u  
novorozenců.**

**Pharmacokinetic profile and adverse effects occurrence of  
levobupivacaine during continuous caudal epidural analgesia of  
neonates**

**Jan Šípek**

Praha, 2024



Disertační práce byla vypracována v rámci *prezenčního* studia doktorského studijního programu *Experimentální chirurgie* na *Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny ve Fakultní nemocnici v Motole a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy*

Školitel: *doc. MUDr. Vladimír Mixa, Ph.D., Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, 2.LF UK a FNM, V Úvalu 84, Praha 5 – Motol, 15006*

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady  
*Experimentální chirurgie*

dne ..... v ..... od .....hod.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:  
*prof. MUDr. Zdeněk KRŠKA, DrSc., I. chirurgická klinika – břišní, hrudní a úrazové chirurgie 1. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08, Praha 2*

Děkan fakulty: *prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.*

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836).

# **Farmakokinetický profil a výskyt nežádoucích účinků levobupivacainu během kontinuální kaudální epidurální analgezie u novorozenců.**

## **Abstrakt**

Hlavním cílem předložené práce je ověření bezpečnosti levobupivacainu (lokální anestetikum, LVB) během dlouhodobého podávání formou kaudální epidurální analgezie (c-CELA) u novorozenců. V tomto věku je management bolesti komplikovaný a výše zmiňovaná technika je účinná a umožňuje snížit dávku opioidů a tím i jejich nežádoucí účinky. Nezralost metabolických drah a snížené orgánové funkce s sebou přináší obavy z možné kumulace a systémové toxicity lokálních anestetik (LAST). Z technických a etických důvodů je na toto téma velmi málo literatury. Ve studii LEVON, která je součástí této práce, byla laboratorní technika upravena tak, aby odběr krevních vzorků byl pro novorozence bezpečný. Z odebraných mikrovzorků (14 pacientů) byla určena koncentrace celkového a volného LVB a výsledky byly porovnány. Vyšší volný LVB je zodpovědný za LAST. Během c-CELA nebyly zjištěny žádné známky LAST, komplikace byly nezávažného charakteru spojené s používáním c-CELA. Laboratorně nebyla prokázána kumulace. Volný LVB byl vždy v bezpečných hladinách a dosahoval rovnováhy od 6. hodiny podávání. Celkový LVB dosáhl rovnovážného stavu mezi 12. a 72. hodinou s velmi variabilními koncentracemi (u tří pacientů potenciálně toxické). Vztah mezi celkovou a volnou koncentrací byl pak prvních 12 hodin sporný až nezávislý (tzn. že volnou frakci nelze odvodit od celkové). Prokázaná korelace byla až od 36. hodiny a od 72. hodiny byla přímo lineárně úměrná. Výsledky naznačují, že c-CELA i v této věkové skupině může být považována za bezpečnou. Vhodnější laboratorní marker toxicity a kumulace pak představuje měření volného LVB.

## **Klíčová slova**

Pooperační analgezie, novorozenci, kontinuální epidurální analgezie, volný levobupivacain, celkový levobupivacain

# **Pharmacokinetic profile and adverse effects occurrence of levobupivacaine during continuous caudal epidural analgesia of neonates**

## **Abstract**

The presented thesis aims to verify the safety of levobupivacaine (a local anesthetic, LVB) during long-term administration via caudal epidural analgesia (c-CELA) in neonates. At this age, pain management is complicated. C-CELA is effective in reducing opioid doses, thereby minimizing their adverse effects. The immaturity of metabolic pathways and reduced organ function raise concerns about local anesthetics' potential accumulation and systemic toxicity (LAST). The literature is sparse due to technical and ethical limitations. In the LEVON trial (part of this work), the laboratory technique was adjusted to ensure that blood sampling was safe. From the collected micro-samples (14 patients), total and free LVB concentrations were determined, and the results were compared. Higher levels of free LVB are responsible for LAST. No accumulation or signs of LAST were detected, only minor complications related to using c-CELA. Free LVB levels were safe and reached equilibrium 6th hour after the start of c-CELA. Total LVB reached a steady state between the 12th and 72nd hours, with highly variable concentrations (potentially toxic in three patients). The correlation between total and free concentrations was questionable or independent during the first 12 hours (i.e., the free fraction could not be inferred from the total concentration). A proven correlation was observed from the 36th hour, and a direct linear correlation was evident from the 72nd hour. The results suggest that c-CELA is safe in this age group. The more suitable laboratory marker for toxicity and accumulation is free LVB.

## **Keywords**

Postoperative analgesia, neonate, continuous epidural analgesia, free levobupivacaine, total levobupivacaine

## Obsah

<b>1. Úvod do problematiky</b> .....	1
1.1 Úvod a současný management analgezie novorozenců.....	1
1.2 Regionální analgezie u novorozenců (zejména kaudální epidurální podávání) .....	2
1.3 Vliv věku a nezralosti na farmakokinetiku a farmakodynamiku analgetik .....	3
1.4 Farmakokinetika a farmakodynamika levobupivacainu (i bupivacainu) a jejich plazmatické měření během epidurálního podání u novorozenců .....	4
1.4.1 Obecné vlastnosti levobupivacainu a rozdíly oproti bupivacainu .....	4
1.4.2 Vazba levobupivacainu na proteiny u novorozenců.....	4
1.4.3 Farmakokinetika .....	5
1.4.4 Farmakodynamika (zejména nežádoucí účinky) .....	6
1.4.5 Měření plazmatických hodnot a hranice toxicity .....	7
1.5 Etické a technické problémy vzniku klinických/farmakokinetických studií u novorozenců...9	
<b>2. Cíle a hypotézy práce</b> .....	10
<b>3. Metodika provedení</b> .....	11
3.1 Experimentální/pilotní studie .....	11
3.2 Soubor pacientů .....	12
3.3 Zavedení epidurálního katétru a vedení kaudální kontinuální epidurální analgezie (c-CELA) 12	
3.4 Doba pozorování, sběr dat a odběr a skladování krevních vzorků.....	14
3.5 Úprava biochemické analýzy za účelem minimalizování velikosti odebíraného vzorku.....	14
3.6 Metody hodnocení farmakodynamických účinků.....	15
<b>4. Výsledky</b> .....	16
4.1 Základní data a měření plazmatických koncentrací.....	16
4.2 Korelace mezi plazmatickou koncentrací celkového a volného levobupivacainu .....	19
<b>5. Diskuze</b> .....	22
5.1 Ověření klinické účinnosti a bezpečnosti.....	23
5.2 Hodnocení farmakokinetiky plazmatických koncentrací celkového a volného levobupivacainu	24
5.3 Hodnocení vztahu celkového a volného levobupivacainu v plazmě .....	25
<b>6. Závěr</b> .....	26
<b>7. Shrnutí</b> .....	27
<b>8. Summary</b> .....	28
<b>9. Literatura</b> .....	29
<b>10. Přehled publikační činnosti</b> .....	44

## Obsah:

### 1. Úvod do problematiky

#### 1.1 Úvod a současný management analgezie novorozených

Navzdory razantnímu vývoji v posledních dekáдах<sup>1</sup>, zůstává léčba bolesti novorozených nadále komplikovaná, nedostatečná a do nedávné doby i přehlížená. Základním problémem dosažení adekvátní analgezie je právě hodnocení bolesti. Bolest je subjektivní straně pacienta i na straně hodnotícího personálu<sup>2</sup>. U novorozených ztěžuje její hodnocení nespolupráce i nezralost CNS (snížené či nepřítomné reflexy, netypické reakce vitálních funkcí). Proto se používají objektivizované skórovací systémy (v této práci Neonatal Infant Pain scale (NIPS)<sup>3</sup>, Comfort Neo Score<sup>4</sup>. Ty sledují několik parametrů (např. vitální funkce, faciální exprese, variace pulzů, neklid, tlak, mrkání očí, pocení a jiné) a se snaží tak nezávisle kvantifikovat bolest a řídit analgezi. Byly identifikovány limitace těchto škál (přetrvávající subjektivita, validováno jen na akutní bolest, neuromuskulární relaxace, někdy se nedá dělat bedside)<sup>5</sup>: Vývoj nových postupů pokračuje (neuromonitoring<sup>6</sup> či bed-side „pain monitory“)<sup>7</sup>.

**Nefarmakologická léčba bolesti** u novorozených (a nejenom u nich) je v současnosti spíše upozadována.

**Farmakologická analgezie** je u novorozených limitována z důvodu nízkého počtu prováděných studií, zčásti z rozdílné farmakokinetiky a dynamiky (viz 1.5 Etické a technické problémy vzniku klinických studií).

Nejpoužívanějším neopioidním lékem je *paracetamol* pro svou účinnost a bezpečnost. <sup>8</sup>. NSAID<sup>9,10</sup> se možným nežádoucím účinkům (AE)<sup>11</sup> nepoužívají.

*Morfin* zůstává nejpoužívanějším opioidním analgetikem<sup>1,12</sup>. Zároveň má časté AE (apnoe, sedace, delší UPV, pruritus, útlum peristaltiky, bradykardie)<sup>13-17</sup> a vyšší riziko tolerance či syndromu z odnětí (withdrawal syndrome)<sup>18-20</sup>. Negativní vliv na neurologický vývoj u dětí nebyl dosud prokázán<sup>1,21</sup>.

Lokální anestetika (LA) se nejčastěji aplikují během perioperační (či jiné invazivní procedury) analgezie. Dají se použít ve formě EMLA krémů či topicky<sup>22,23</sup>, ale u novorozenců s vysokým rizikem methemoglobinémie<sup>24,25</sup> a alergické reakce<sup>26</sup>. U větších výkonů nachází uplatnění během regionální anestezie (viz níže).

1.2 Regionální analgezie u novorozenců (zejména kaudální epidurální podávání)  
S rozvojem sonografie v současné době stoupá preference regionální anestezie, zejména periferních nervových bloků, včetně u novorozenců<sup>27-34</sup>.

Zřejmou výhodou představuje kvalitní analgezie, která umožňuje snižovat dávky ostatních anestetik (toxická u mláďat asociována s apoptózou v CNS)<sup>35,37-41</sup> i analgetik<sup>35</sup> se zlepšením perioperační hemodynamiky<sup>36</sup>. Snížení dávek opioidů zkracuje délku UPV, redukuje riziko apnoe, morbiditu a mortalitu<sup>42-44</sup>. Vasodilací splachníku zlepšuje střevní peristaltiku s možností časnějšího nasazení enterální výživy<sup>45-47</sup>.

Účinkem kaudální epidurální blokády je analgezie hypogastria a dolních končetin. V případě zasunutí katétru analgezie sahá až do hrudní oblasti. Hemodynamický efekt je malý<sup>48</sup>. Díky své jednoduché osvojitelnosti a účinnosti patří mezi nejčastěji používané bloky u novorozenců. V PRAN<sup>49</sup> databázi (Pediatric Regional Anesthesia Network) u novorozenců tvořily 73,7 % všech single-shotů a 55,8 % všech katérových technik.

Nejčastější komplikace jsou nezávažné, spojené s punkcí, zaváděním katétru, s péčováním o něj (ohnutí katétru, malpozice, vytažení (až 4 %), infekce) a předávkováním vedoucím až k systémové toxicitě (LAST). Dle poslední zprávy PRAN<sup>49</sup> je pak incidence komplikací: žádný případ trvalých následků, infekce katétrů u 18-99:10 000, absces s nutností laminektomie 0,76:10 000, přechodné neurologické postižení 2,4:10 000 a LAST 0,76:10 000 (žádný u novorozence). V dalších studiích byl výskyt neurotoxicity 0,44 % (křeče a záchvaty 0,01–0,05 %)<sup>50</sup> a výskyt kardiovaskulárních AE 0,017–0,46 %<sup>50</sup> (54 % případů kojenci a novorozenci)<sup>51</sup>. V minulosti byly hlášeny těžké komplikace zavedených



epidurálních katétrů u novorozenců<sup>52,53</sup>, které rozvířily debatu o jejich přínosnosti<sup>54</sup>.

„Klasický“ anatomický přístup je nadále považován za bezpečný<sup>55</sup>, i když používání ultrazvuku se začíná objevovat v doporučeních (snižuje počet pokusů, riziko punkce dury, přímo se dá sledovat šíření LA a zasouvání katétru) a jeho obliba v posledních letech stoupá<sup>56</sup>.

Dávkování u kontinuální epidurální analgezie bylo postupně snižováno (u levobupivacainu na dnešních 0,2-0,3 mg/kg/hod u novorozenců) kvůli případům hlášené toxicity a není doporučováno u novorozenců déle než dva dny pro nedostatek studií a pro obavy z kumulace<sup>57</sup>.

### 1.3 Vliv věku a nezralosti na farmakokinetiku a farmakodynamiku analgetik

Farmakokinetiku a farmakodynamiku novorozenců ovlivňuje váha, postnatální věk (PNA), gestační věk (GA) během porodu či postmenstruační věk – PMA)<sup>58</sup>.

Z hlediska absorpce pacienti této věkové kategorie (s vysokými nároky na analgezi) dostává většinu léků intravaskulární formou, případně extravaskulárně ve formě regionální analgezie.

Váha donošeného novorozence je tvořena zhruba z 75 % vodou (fetus s GA 3 měsíce pak z 90 % a dospělý z 50-60 %<sup>59</sup>). Tím se zvyšuje distribuční prostor pro hydrofilní léky a relativně snižuje pro lipofilní léky<sup>60</sup>. Nižší koncentrace albuminu a kyselého alfa 1 glykoproteinu (AAG) mohou vést k vyšším koncentracím volného léčiva (a tím zvýšit toxicitu)<sup>58</sup>. Vysoké koncentrace volného bilirubinu a volných mastných kyselin mohou také vytěsňovat jiná léčiva z vazby na albumin<sup>61</sup>.

Biotransformace většiny léčiv probíhá v játrech (cytochrom P450 (CYP) a je významně ovlivněna věkem i zralostí novorozence<sup>62</sup>. Kapacita CYP po narození bývá na 50-70 % dospělého jedince<sup>63</sup>. Některé skupiny CYP jsou aktivní jen ve fetálním věku a po porodu postupně vymizí (3A7)<sup>64</sup>, jiné mají největší aktivitu v kojeneckém a dětském věku (3A5)<sup>64</sup> a ostatní se pak exprimují po porodu a maturují s postupem času (3A4,1A2, 2C, 2E a 2D6)<sup>62,64</sup>. Snížená enzymatická

aktivita během glukuronizace<sup>65</sup> má vliv na zpomalené vylučování metabolitů (paracetamol, morfin). To např. působí preferenční vznik morfinu-3-glukuronidu (delší poločas eliminace, méně analgeticky potentní) namísto morfinu-6-glukuronidu. Vzniklá kompetitivní inhibice je jednou z příčin časné tolerance novorozenců k opioidům<sup>66-68</sup>. Faktorů ovlivňující eliminaci ledvinami je vícero (hlavní viz úvod této kapitoly)<sup>69</sup>. Fyziologicky renální clearance dosahuje dospělých hodnot až kolem 1. roku<sup>62</sup>.

#### 1.4 Farmakokinetika a farmakodynamika levobupivacainu (i bupivacainu) a jejich plazmatické měření během epidurálního podání u novorozenců

##### 1.4.1 Obecné vlastnosti levobupivacainu a rozdíly oproti bupivacainu

Lokální anestetika se především používají pro svoji schopnost blokovat  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpy neuronů v míše a periferních nervů s dosažením analgezie až anestezie.

Bupivacaine, představitel amidové skupiny LA s dlouhodobým působením, je racemickou směsí (obsahuje asymetrický (chirální) uhlík v levotočivé i v pravotočivé formě).

Levobupivacaine je levotočivou formou a uplatňuje se v dětské anestezii pro nižší toxicitu (oproti bupivacainu), při podobných farmakokinetických vlastnostech a účinnosti. Bylo u nich popsáno bifázické působení<sup>70-73</sup>, které u analgetických a anestetických dávek způsobilo vasodilataci a při sub-terapeutické hladině pak vazokonstrikci (silnější u levobupivacainu – delší blokáda)<sup>76-78</sup>.

##### 1.4.2 Vazba levobupivacainu na proteiny u novorozenců

Vazba na proteiny (především AAG a albumin) u levobupivacainu je vyšší (97 %) než u bupivacainu (95 %) a volná frakce pak činí 3 %<sup>79,80</sup>. I když u novorozenců a kojenců byla popsána více variabilní vazba 91,4–96 % (s mediánem 93,5 %)<sup>81</sup>. Preferenčně se váže levobupivacaine na AAG, který je na 20–50 % hodnotách koncentrace u dospělého<sup>128</sup>. U kojenců byl prokázán vzestup AAG pooperačně<sup>82</sup> a

tím potenciální protektivní efekt na toxicitu LA. Albumin má ve srovnání s AAG asi o 5 000 – 10 000 nižší afinitu, a uplatňuje se až saturaci AAG<sup>83</sup>. LA se pasivně váží na erythrocyty. U novorozenců se prokázal marginální význam<sup>84,85</sup>. Další faktory (acidóza, hyperkapnie, hypoxie), které mohou ovlivňovat vazbu na proteiny, účinnost LA či jinak toxicitu mají místy protichůdné účinky a jejich role je nejasná<sup>86-90</sup>. Současná hepatální i kardiální onemocnění, diabetes mellitus, sarkopenie také mohou být rizikem<sup>91</sup>. Lékové interakce v klinické praxi mají jen malý význam, obzvláště u novorozenců<sup>83</sup>.

### 1.4.3 Farmakokinetika

Většina klinických studií zkoumala farmakokinetiku epidurálního podávání bupivacainu dospělých či starších dětí. O levobupivacainu je mnohem méně studií, zejména kvůli podobné farmakokinetice. Podrobný přehled publikoval Heppolette et al. (2020)<sup>79</sup>.

Velká variabilita páteřního kanálu (epidurálního prostoru) v neonatálním věku<sup>92,93</sup> neodhadnutelně mění biologickou dostupnost. Malé množství tukové tkáně v kaudálním prostoru zlepšuje šíření LA<sup>94,95</sup> a absorpci LA (s dosažením vyšších koncentrací). Mnohem větší roli než rychlost podání, má celkový podaný objem<sup>94,95</sup>. Chemicko-fyzikální vlastnosti levobupivacainu (viz výše) působí vyšší retenci objemu LA v místě a horší absorpci.

V případě větší redistribuce, metabolizace či clearance (při prodloužené absorpci) se může dále falešně prodlužovat absorpce a významně se nadhodnotit vypočítané farmakokinetické parametry („flip-flop“ fenomén)<sup>96</sup>. Tento fenomén se daří v praxi omezit srovnáním farmakokinetiky po i.v. a epidurálním podání, což je významný technický i etický problém u nejnižších věkových skupin.

Pro vysokou rozpustnost v tucích a tím i redistribuci (i přes silnou vazbu k plazmatickým proteinům) se dá předpokládat velký distribuční objem u levobupivacainu/bupivacainu, který je ale v ustáleném stavu nízký (po redistribuci).

Analýzou bylo pak dokázáno, že na velikost distribučního objemu má spíše vliv váha než věk (stabilní hodnota  $V_d$  celkového levobupivacainu od 1. měsíce PNA)<sup>97</sup>.

Metabolizace levobupivacainu probíhá v játrech, který je vyloučen z těla močí a stolicí<sup>98,99</sup>. Jaterní extrakce (pomocí cytochromu P450 (CYP 3A4 a CYP 1A2)) je cca 0,3 – 0,35<sup>83</sup>, kdy veškerá volná frakce je metabolizována<sup>79</sup>. V moči byly nalezeny již jen metabolity<sup>79,99</sup>. Při delším podávání levobupivacainu volná frakce zůstává konstantní při růstu vazby na proteiny (AAG)<sup>83</sup> za vzestupu celkové koncentrace. Snížená funkce CYP může vést ke vzestupu volné frakce (itrakonazol<sup>100</sup>, jaterní resekce<sup>101</sup>, transplantace jater<sup>102</sup>). Oproti tomu snížená ledvinná clearance přispívá k nárůstu metabolicky jen neaktivních konjugovaných solí a esterů<sup>62,69</sup>.

Do doby zpracování této disertační práce bylo provedeno málo studií, které by se zabývaly dlouhodobým podáváním bupivacainu/levobupivacainu u nejmladších pacientů, proto se delší používání (než 48 hodin) nedoporučuje<sup>57</sup>.

#### 1.4.4 Farmakodynamika (zejména nežádoucí účinky)

Působením LA může docházet systémovým AE (LAST), nespecificky k anafylaxi, ale také k lokálním toxickým účinkům (neurotoxicita periferních nervů i míchy<sup>104-106</sup>, myotoxicita<sup>62,107,108</sup> i diskutovaná degenerace chondrocytů (během intraartikulárního podání)<sup>109-111</sup>). U malých dětí byly popsány příznaky methemoglobinémie<sup>112</sup>.

Příznaky neurotoxicity jsou popsány změnou chování, kovovou chutí, zmatením, dysartrií, tinnitem, závratěmi, dvojitým viděním, myokloniemi případně excitačním chováním, generalizovanými křečemi s bezvědomím až zástavou dýchání. U dětí bývá neurotoxicita maskována (analgesedace před regionální anestezí). U novorozeneckých animálních modelů, ale i u dětských novorozenců a kojenců, byla pozorována obecná relativní necitlivost CNS k LAST (inklinace ke kardiotoxicitě)<sup>113,114</sup>. Stereospecifita levobupivacainu naznačuje nižší vychytávání v CNS a tím vyšší práh pro LAST<sup>98,115,116</sup>.

Levobupivacaine se rychle a úměrně k frekvenci („rate dependence“)<sup>83</sup> váže na Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> kanály v srdci s pomalejším uvolňováním („fast in/slow out“)<sup>117</sup> Fyziologicky vyšší srdeční frekvence je tak jedním z dalších možných vysvětlení náchylnosti novorozenců ke kardiotoxicitě<sup>118</sup>. Příznaky jsou charakterizovány tachyarytmiemi, extrasystolami, rozšířením QRS komplexů, blokádami v převodním systému, ventrikulárním rytmem, bradykardií až asystolií<sup>119</sup>. Další příčinou rychlé deprese myokardu je utlumení ATP syntázy<sup>120</sup> a blokáda Carnitine-acylcarnitine translokázy<sup>121</sup>. Lipofilní chování LA (zejména bupivacainu)<sup>122</sup> je jedním z vysvětlení fungování antidota intralipidu („lipid sink“ theory) s prokázanou účinností u nejnižších věkových skupin<sup>123,124</sup>.

#### 1.4.5 Měření plazmatických hodnot a hranice toxicity

Určení plazmatické hranice toxicity je nadále komplikované. V minulosti byla několikrát změněna, stejně jako doporučené dávkování bupivacainu (potažmo levobupivacainu). Většina těchto zjištění byla provedena u bupivacainu. U dětí jsou logicky z etických i technických důvodů informace v literatuře jen sporadické.

Na studiích s dobrovolníky u i.v. podávání do výskytu AE byl stanoven dodnes uznávaný práh toxicity pro plazmatickou koncentraci celkového bupivacainu 2 000 – 2 200 ng/ml<sup>128,142</sup>.

U levobupivacainu dle stejné studie Bardsleyho et al.<sup>128</sup> (1998) byla změřena hranice toxicity 2 620 ng/ml. Někdy se ale udává stejný práh toxicity jako u bupivacainu.

Zároveň v literatuře jsou hlášeny případy vzniku toxicity u dospělých při celkových koncentracích bupivacainu či levobupivacainu 800–10 000 ng/ml (u dětí 1200–6600 ng/ml)<sup>125-156</sup>. U volného bupivacainu (u levobupivacainu nebylo stanoveno) byl měřený toxický práh mnohem užší (130 – 300 ng/ml)<sup>127,128</sup>.

Při vysoké jednorázové dávce, která je i.v., nebo se rychle absorbuje do cévního řečiště (typicky neúmyslné i.v. podání při epidurálním či periferním nervovém bloku), dochází k prudkému vzestupu plazmatické koncentrace (s LAST), která ale vlivem redistribuce farmaka zase velmi rychle klesá do „nízkých“

koncentrací<sup>134,144,145,148,151</sup>. To je velmi dobře ilustrováno na case reportech u akcidentálního povolení manžety během i.v. regionální anestezie (Bier blok)<sup>140,150</sup>. Při kontinuálním podávání se přidávají schopnost vázat volnou frakci LA na proteiny, inter-individuální citlivost jedince na účinky LA, metabolizace a eliminace (zejména jaterní extrakce volné frakce), které ovlivňují výskyt a čas vzniku LAST. Při vysoké rychlosti infuze (závisí i na koncentraci LA a místu podání) nemusí být kompenzační mechanismy dostatečné a může dojít rychlému výskytu LAST (v řádu sekund až desítek minut) s nízkými či „hraničními“ hodnotami celkového bupivacainu/levobupivacainu<sup>137,142,143,149,155</sup> (volná frakce neměřena, ale dá se předpokládat vysoká). Tato nepřímá úměra mezi rychlostí a koncentrací celkového bupivacainu byla již popsána Scottem et al. (1985)<sup>155</sup>. Nižší rychlosti umožňují kumulaci celkového LA (volná frakce je předpokládána nízká) s projevy LAST v řádu hodin až dní s typicky vysokými koncentracemi celkového bupivacainu/levobupivacainu<sup>139,147</sup>.

Předávkování během epidurální kontinuální infuze je nejčastěji uváděnou příčinou vzniku LAST (neurotoxicity i kardiotoxicity) u dětí<sup>130,132,133,135,136,152</sup>. Problematické je objevení časných příznaků LAST pro nespolupráci, které se špatně odlišují od jiných příčin (nedostatečná analgezie, neklid<sup>136</sup>, febrilní křeče, ospalost následkem fentanylu)<sup>153</sup>.

Komplikovanost hodnocení ilustruje Luz et al. (1998)<sup>136</sup>, jenž hlásí známky mírné neurotoxicity u 4 kojenců během kontinuálního epidurálního podávání při velmi nízkých koncentracích celkového (460–620 ng/ml) i volného bupivacainu (17,9–21,6 ng/ml). Známky LAST byly popsány jako nervozita, neklid, třes (jittery). Ve stejné skupině dva novorozenci vyššími koncentracemi celkového (1400–1470 ng/ml) i volného bupivacainu (68–72,5 ng/ml) neměli LAST. Autor to vysvětluje možnou analgosedací novorozenců (analgosedace kojenců s LAST či jiná příčina nekomentovány).

S ohledem na tyto skutečnosti se nedaří u dětí stanovit hranice toxicity (přejímáno od dospělých).

## 1.5 Etické a technické problémy vzniku klinických/farmakokinetických studií u novorozenců

Nedostatek klinických studií o bezpečnosti a účinnosti farmak je nejčastější příčinou omezení indikací většiny léků v této věkové kategorii.

Daný stav je řešen nasazováním léčiv na základě klinického úsudku, zkušeností, zvyklostí či extrapolace závěrů studií u dospělých pacientů. Z tohoto „off-label“ použití může pramenit nesprávné dávkování s následným výskytem různě závažných AE. 94 % novorozenců a kojenců dostává při svém pobytu na novorozenecké jednotce intenzivní péče alespoň jeden „off-label“ lék<sup>157,158</sup>. Velkou překážkou je nízké procento informovaných souhlasů u rodičů a limitovaný odběr krevních vzorků k analýze (velikost i četnost)<sup>159</sup>. Nadále pokračuje vývoj nových postupů, usnadňujících provádění těchto studií (např.: ultralow volume drug essay, farmakokinetické modelace a simulace, dried matrix spot, alternativní odběr vzorků, mikrodávkování či oportunistické farmakokinetické studie)<sup>159</sup>.

## 2. Cíle a hypotézy práce

### Hypotéza:

Kontinuální (kaudální) epidurální analgezie (c-CELA) se u dětí ukazuje jako účinná analgetická metoda, která nejenom účinně zlepšuje komfort pacientů, ale zejména umožňuje snižovat dávky opiátů a tím omezovat jejich nežádoucí účinky. Kvůli přetrvávajícím obavám z možné kumulace lokálních anestetik z důvodu nezralosti některých orgánových soustav se ji nedoporučuje používat u novorozenců déle než 48 hodin, navzdory časté klinické praxi. V současné době se preferuje levobupivacaine oproti racemickému bupivacainu kvůli nižší toxicitě, která je způsobena volnou frakcí (nevázanou na proteiny) levobupivacainu. Standardně se určuje farmakokinetika a toxicita měřením celkového levobupivacainu (levnější a dostupnější metoda). I když se nabízí lineární závislost, vztah volného a celkového levobupivacainu není přesně definován. Z literatury vyplývá vysoká variabilita toxického prahu celkové koncentrace levobupivacainu oproti jeho volné frakci.

### Cíle:

- 2.1 Pozorováním výskytu komplikací a možných nežádoucích účinků levobupivacainu potvrdit či vyloučit bezpečnost kontinuální epidurální analgezie u novorozenců během dlouhodobého používání a v případě známek toxicity ukončit nabírání dalších pacientů.
- 2.2 Zhodnotit, zdali dojde ke vzniku ustáleného stavu či viditelné kumulaci k toxickým hodnotám levobupivacainu měřením přímých plasmatických koncentrací volného i celkového levobupivacainu. A tím laboratorně potvrdit či vyvrátit jeho bezpečnost dlouhodobého používání
- 2.3 Experimentálně určit vzájemný vztah koncentrací volného a celkového levobupivacainu. Dále zhodnotit obě měření za účelem zjištění, která z metod je vhodnější k měření toxicity a kumulace levobupivacainu.



### 3. Metodika provedení

#### 3.1 Experimentální/pilotní studie

Pro potřeby této práce byla oficiálně zaregistrována klinická studie LEVON („Pharmacokinetics and pharmacodynamics of **LEVO**bupivacaine during continuous caudal epidural analgesia in Newborns“). Jedná se o multicentrickou (JIP Dětské chirurgické kliniky ve Fakultní nemocnici v Motole a Neonatologické oddělení resuscitační a intenzivní péče v Ústavu pro péči o matku a dítě) prospektivní studii, kam byli zařazeni novorozenci s indikovanou c-CELA ze strany ošetřujícího lékaře (nejčastěji perioperační péče).

Během 144 hodin používání c-CELa byly stanovovány plazmatické koncentrace volného a celkového levobupivacainu (až 7 krevních vzorků). To umožnilo pozorování vzniku ustáleného stavu či kumulace levobupivacainu. Účinnost analgezie byla hodnocena skórovacími systémy a podle poklesů dávek ostatních analgetik (viz 3.6 Metody hodnocení farmakodynamických účinků).

Pacienti byli po celou dobu používání c-CELa monitorováni a v případě LAST či jiných komplikací byla c-CELA zastavena a epidurální katétr vytažen. Opakované závažné komplikace by vedly k předčasnému ukončení studie.

Druhá experimentální část zkoumala vztah plazmatických koncentrací volného a celkového levobupivacainu, který se dal očekávat přímo úměrný (až lineární). Z předpokládané vysoké vazby levobupivacainu na proteiny a z měřené celkové koncentrace by teoreticky mělo být možné odhadnout volnou část (odpovědná za možnou toxicitu). U novorozenců se dají očekávat vysoké interindividuální rozdíly koncentrací, které dále ztěžují interpretaci. Proto byl zjištěn vztah (korelace) celkové i volné koncentrace v časech odběrů vzorků. Za kontrolní skupinu je považováno měření celkových koncentrací levobupivacainu a nulovou hypotézou je žádný vztah obou veličin (chovají se nezávisle). Výsledkem je určení přesnější metody (či zjištění, že obě metody jsou zástupné) k pozorování nebezpečné kumulace a toxických hladin.

Studie byla vedena dle zásad GCP a spuštěna po schválení etickými komisemi (EK) obou center a Státním ústavem pro kontrolu léčiv (EudraCTnumber: 2020-000595-37, ClinicalTrials.gov: NCT06171295). Primárním cílem této experimentální práce je potvrzení bezpečnosti dlouhodobé epidurální analgezie. Z důvodu vzácnosti výskytu pacientů, etické a technické náročnosti nemohla být do designu studie zařazena kontrolní skupina (bez c-CELA) ani provedena randomizace. Zjištěné výsledky byly porovnány s dostupnou literaturou, která tím tak tvoří jistou kontrolu. K vytvoření grafů a korelačním výpočtům byl použit software GraphPad Prism 8.0.1.

### 3.2 Soubor pacientů

Vhodní novorozenci byli zařazováni dle kritérií níže (Tab. 6). Z hlediska předpokládané rozdílnosti byly vytvořeny dvě skupiny: Skupina donošených (PMA 37. - 45. týden) a nedonošených (PMA 25. týden až 36. týden + 6 dní, minimální váha 500 g).

### 3.3 Zavedení epidurálního katétru a vedení kaudální kontinuální epidurální analgezie (c-CELA)

Po splnění zařazovacích kritérií a bez vylučovacích kritérií byl zaveden epidurální katétr, a to, buď po úvodu do anestezie (konkrétní farmaka dle zvyklostí anesteziologa) před plánovanou operací, nebo na oddělení v analgosedaci.

Z kaudálního přístupu byl zaveden epidurální armovaný katétr G20 (ArrowInt. USA) pomocí kanyly G18, případně silikonový Premicath (Vigon, UK) u dětí pod 2 kg pomocí kanyly G22 či G24. Následně byl podán bolus levobupivacainu 0,25% (1,25 ml/kg) a spuštěna kontinuální epidurální infuze levobupivacainu 0,2 mg/kg/hod (která mohla být postupně snižována dle zvyklostí oddělení) spolu se sufentanilem 0.02 µg/kg/hod ve standardizované směsi. Další analgetika a sedativa byla podávána dle zvyklostí oddělení na podkladě skórovacích systémů bolesti (detaily viz 3.6 Metody hodnocení farmakodynamických účinků).

Tab. 6 Shrnutí zařazujících a vylučujících kritérií do studie, včetně kritéria ukončující observační část ve studii

Zařazující kritéria:	Vylučující kritéria	Ukončující kritéria
písemný souhlas obou rodičů	nepodepsání písemného souhlasu oběma rodiči	přání rodiče
PMA mezi 25-45 týdny	věk starší než 45 týdnů PMA	zhoršení jaterních či ledvinných funkcí (2x či vyšší nárůst bio markerů nad fyziologickou mez)
váha větší než 500 g	věk mladší než 25 týdnů PMA	neřešitelné komplikace spojené se zaváděním či péčí o katétr (selhání zavedení, malfunkce, obtékání, vytažení)
hemodynamicky stabilní	váha pod 500 g	infekce způsobená c-CELA (zarudnutí, otok v místě vpichu, meningitis, celulitida, absces)
stav pod úrovní bránice vyžadující vysoké dávky analgezie	vrozené malformace páteřního kanálu	neuro- či kardiotoxicita asociovaná s c-CELA
	snížení jaterních či ledvinných funkcí (2x a více zvýšené příslušné biomarkery)	Stav nevyžadující vysoké dávky analgezie (dle ošetřujícího lékaře)
	infekce v místě vpichu či systémová (Sepse)	krvní odběry překračující doporučené maximum <sup>160</sup>
	stav, který nevyžaduje vysoké dávky analgezie	krvácení překračující doporučené maximum ztrát <sup>160</sup>
	syndrom z odnětí (po používání opiátů)	anémie (Hb pod 90 g/l)
	antikoagulancia, koagulopatie	
	Anémie (Hb pod 90 g/l)	
	hemodynamická nestabilita	
	krvní odběry překračující doporučené maximum <sup>160</sup>	
	meningismus	

Zdroj: vlastní zpracování

### 3.4 Doba pozorování, sběr dat a odběr a skladování krevních vzorků

Po úspěšném zavedení epidurálního katétru a spuštění c-CELA byly zaznamenány tlak, srdeční frekvence, vstupní neurologické vyšetření (orientační, dle ošetřujícího lékaře) a demografické údaje (PMA, PNA, váha, indikace k c-CELA, přidružená onemocnění). Po celou dobu byli pacienti monitorováni (EKG, tlak a neurologické vyšetření – detaily viz 3.6 Metody hodnocení farmakodynamických účinků). V pozorovacím intervalu 144 hodin byl naplánován odběr po 0,5 hod, 1 hod, 6 hod, 12 hod, 36 hod, 72 hod a 144 hod po spuštění c-CELA. V případě ukončení c-CELA dříve byl odebrán vzorek při vytažení.

Z povahy onemocnění pacientů byl vždy přítomen cévní vstup (kanyla, arteriální katétr). Každý odběr do mikrozkuřavky měl objem 200 – 500  $\mu$ l, byl uskladněn v ledničce o teplotě 4 °C a během několika dní transportován do laboratoře (Ústav soudního lékařství a toxikologie, Oddělení toxikologie ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze), kde byla separována plazma a zamražena k pozdější analýze (detaily 3.5 Úprava biochemické analýzy za účelem minimalizování velikosti odebíraného vzorku).

Dle GCP a mezinárodních doporučení WHO<sup>160</sup> byl minimalizován objem krevního vzorku na 200–500  $\mu$ l. Striktně nízký objem vzorku (200–300  $\mu$ l) byl odebírán u pacientů s porodní hmotností pod 1 500 g). V případě významné anémie (hemoglobin pod 90g/l) či většího odběru krevních vzorků pro krevní testy (více než 5% odhadovaného množství krve, 104ml/kg)<sup>160</sup>, byl plánovaný odběr ukončen (již odebrané vzorky byly analyzovány).

### 3.5 Úprava biochemické analýzy za účelem minimalizování velikosti odebíraného vzorku

Ke stanovení celkového a volného levobupivacainu bylo použito tekutinové chromatografie (LC) s tandemovou spektrometrickou detekcí (pozitivní ESI mód (LC-ESI(+)-MS/MS), interní standard (IS) mepivacaine). Metoda byla vyvinuta dle

platných doporučení SWGTOX (Scientific Working Group for Forensic Toxicology)<sup>161</sup>, tak aby se dal minimalizovat každý krevní odběr na 0,2 – 0,5 ml a zároveň splnila všechny nutné podmínky k měření všech analytů.

### 3.6 Metody hodnocení farmakodynamických účinků

Hodnocení bolesti probíhalo v intervalech á 4 hod dle zvyklostí oddělení (ComfortNeo pain scale, NIPS (u extubovaných pacientů) a expertní odhad ošetřující sestry). Při známkách bolesti (sesterský odhad 4 a více bodů, ComfortNeo pain scale více než 14 či NIPS 4 a více) byla analgezie navýšena či podána mimo pořadí dle zvyklostí pracoviště. V případě významného poklesu v hodnocení škál bolesti (ComfortNeo pain scale pod 9, NIPS a expertní odhad pod 4) bylo možno snížit dávkování analgetik dle uvážení lékaře.

Po celou dobu používání c-CELA (i po skončení observační fáze) byly sledovány možné komplikace. U závažných komplikací bylo používání c-CELA okamžitě přerušeno a katétr byl vytažen. Další diagnostika a léčba byla dle ošetřujícího lékaře. V časových intervalech byla zaznamenávána pravidelná kontrola celkového stavu, EKG, měření tlaku, neurologické hodnocení (vstupní, výstupní a dle uvážení ošetřujícího lékaře). Znamky LAST (detaily viz 1.4.4 Farmakodynamika (zejména nežádoucích účinků)) vedly k okamžitému ukončení c-CELA (vše zaznamenáno). Léčba byla vedena dle ošetřujícího lékaře, včetně případného podání Intralipidu 20 % (bolus 1,5 ml/kg a 15 ml/kg/hod kontinuálně dle doporučení ČSARIM)<sup>162</sup>. Follow-up byl proveden po 30 dnech.

### 3.7 Statistické metody

#### 3.7.1 Základní popis a grafy

Získaná data (koncentrace volného i celkového levobupivacainu) byla zobrazena v grafech s časovou osou, a byl k nim vytvořen medián. Měření mimo schéma byla

přiřazena k nejbližšímu plánovanému měření v rámci výpočtu mediánu i následné korelace (viz níže).

### 3.7.2 Srovnání výsledků měření biomarkerů toxicity (plazmatických koncentrací volného a celkového levobupivacainu)

Statistická analýza byla provedena v programu GraphPad Prism 8.0.1. Nulová hypotéza v tomto případě zní, že plazmatické koncentrace volného a celkového levobupivacainu jsou na sobě nezávislé veličiny. Tento vztah byl testován v čase každého plánovaného odběru (odběry získané mimo plánovaný odběr byly přiřazeny k nejbližšímu plánovanému odběru), tedy 7 korelací (viz odběrové schéma výše). V rámci testování linearitu vztahu je preferován Pearsonův korelační koeficient. s vytvořením příslušných korelačních grafů. V případě odlehlých hodnot, bude provedena korelace dle Spearmana<sup>163</sup>. V každém případě bude vytvořen i interval spolehlivosti 95 % a p-hodnota (p-val), která pomůže zamítnout či nezamítnout nulovou hypotézu (při hladině spolehlivosti  $\alpha = 0,05$ ).

## 4. Výsledky

### 4.1 Základní data a měření plazmatických koncentrací

Celkem bylo k zařazení 24 pacientů (9 subjektů bylo vyřazeno: 3x podáno jiné LA, 2x zrušena indikace c-CELA, 4x selhání laboratorní metody). 15 subjektů bylo dále analyzováno. 14 jedinců bylo ve skupině donošených novorozenců a počáteční data byla již publikována<sup>164</sup>. 1 pacient byl ve skupině nedonošených (data byla publikována v roce 2024)<sup>165</sup>. Pro nízký počet nedonošených subjektů byla dále analyzována jen skupina donošených.

Demografická data a laboratorní hodnoty jsou v tabulce Tab. 7. C-CELA byla označena ošetřujícím personálem jako účinná. Pooperačně buď nebyly nasazeny analgetika, či byl vidět denní pokles v počtu dávek. U pacientů 2 a 11 byly zaznamenány vyšší dávky opioidů a midazolamu během prvních 24 hodin (u

pacienta 2 tento stav pokračoval i následující den). U pacientů 8 a 9 byly objeveny četné extra dávky sedativ (midazolam, chloralhydrát) mimo plán během prvních 24 hodin po operaci (se zvýšenými hodnotami Comfort Neo Pain Score). Délka používání c-CELA měla medián 74,5 hodin (rozmezí 13–191 hodin).

Nejčastějším důvodem vytažení katétru bylo snížení nároků na analgezií. U pacientů 11 a 12 byl katétr vytažen předčasně kvůli prosakování. U pacienta 6 došlo k úniku stolice do krytí epidurálního katétru (vyčištěno, bez nutnosti předčasného vytažení. Během c-CELA se neobjevily známky LAST. U pacienta 1 byla zjištěna follow-upem mírná chabá paraparéza, která nebyla asociována s používáním epidurálního katétru (během c-CELA normální nález).

U pacienta 2 byly všechny vzorky odebrány o 30 minut později oproti plánu. U pacienta 3 byla krev odebrána po 24 hodinách (místo po 12 hodinách), u pacienta 6 byl po 3. hodině (místo po 30 minutách) od spuštění c-CELA. U pacientů 10 a 12 byl uskutečněn krevní odběr mimo pořadí při vytažení katétru (po 55. a 63. hodině od spuštění c-CELA). Selhání stanovení (nedostatek materiálu či selhání laboratorní metody) celkového levobupivacainu (pacient 2, odběr po 144 hodinách) i volného levobupivacainu (pacienti 7 a 8, oba odběr po 30 minutách) bylo označeno písmenem X. Pokud laboratorně vyšlo měření negativní či pod limit měření (LOQ), bylo označeno jako nula.

Mediány volného levobupivacainu (Graf 1) byly 5,4 (0–91,3), 5,5 (0–50,5), 8,2 (0–66,4), 6,4 (0–42,8), 4,3 (0–38,9), 3,4 (0–14,0) a 0,0 (vždy naměřena 0) ng/ml dle schématu (0.5 hod, 1 hod, 6 hod, 12 hod, 36 hod, 72 hod a 144 hod) po spuštění c-CELA. Maximální naměřená hodnota byla 91,3 ng/ml (u pacienta 3, 30 minut po spuštění c-CELA).

Mediány celkového levobupivacainu (Graf 2) byly 405 (123–2230), 548,5 (140–1930), 837,5 (175–1770), 906,5 (303–2730), 828 (389–3360), 811 (325–3950) a 357,5 (348–367) ng/ml. Maximální naměřená hodnota byla 3950 ng/ml (u pacienta 12, 63 hodin po spuštění c-CELA – přiřazeno do mediánu po 72. hodině).

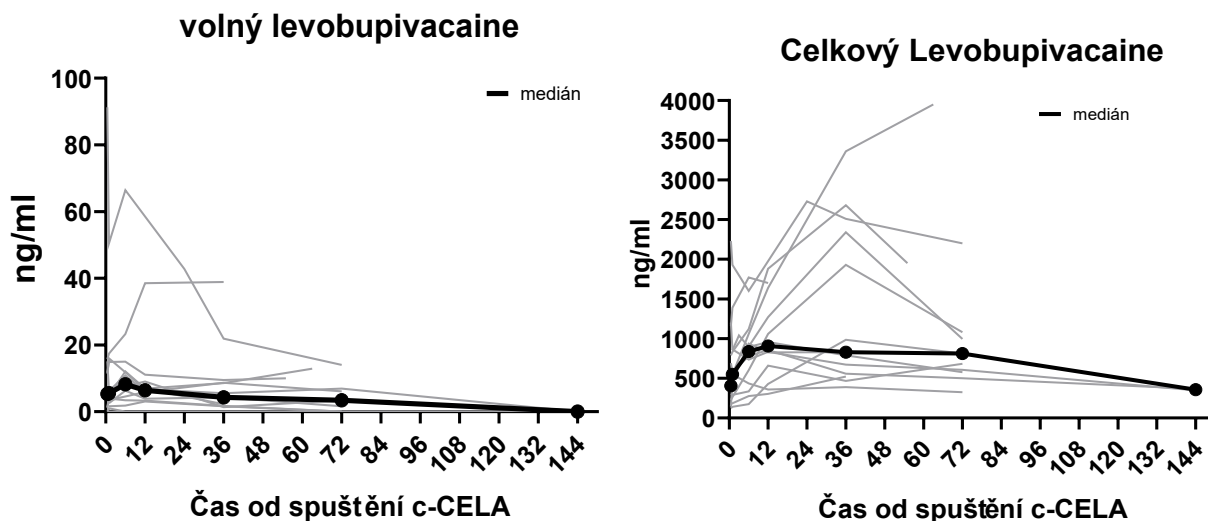
Tab. 7 Demografické a laboratorní údaje pacientů

Pac.	Pohlaví	PMA (týden + den)	PNA (týden + den)	Váha (g)	Diagnóza + komorbidity	ALT (ukat/l)	AST (ukat/l)	Kreat. (umol/l)	Alb (g/l)	Délka c-CELA (h)
01	m	42+1	5	3500	CDH	0.49	0.89	37	28.3	191
02	m	40+2	7	3300	CDH	0.42	0.56	21	39	163
03	ž	38+1	3	3200	CDH + RDS	0.15	0.55	31	28.8	86
04	ž	39+0	7	2550	CDH + PPHN	0.39	0.43	16	26.7	146
05	ž	39+6	2	2700	extrofie močového měchýře	0.31	1.15	44	42	63
06	m	42+0	7	3400	Hirsprungova choroba + peripartální asfyxie	0.19	0.46	32	28.8	81
07	m	39+1	7	3185	anální atrezie	0.25	0.63	11	30.9	72
08	m	40+5	12	3365	Hirsprungova choroba	0.16	0.52	46	36.4	84
09	m	43+0	14	4010	abdominální neuroblastom	0.76	1.26	27	33	70
10	m	37+0	7	2980	Hirsprungova choroba	Pod 0.15	0.58	34	36.7	55
11	m	37+1	11	2980	Hirsprungova choroba + Downův syndrom	0.24	0.58	26	35.5	13
12	m	39+0	7	2948	retroperitoneální maligní neoplázie, FOA, bikavální aortální chlopeň, GER	0.5	0.89	44	33.8	63
13	ž	40+0	7	2700	Hirsprungova choroba, laryngomalacie hyperbilirubinémie	Pod 0.15	0.59	52	34.2	77
14	m	41+1	1	3620	AAR s píštělí, peripartální asfyxie, anémie	0.33	2.93	88	29.9	45

AAR – anorektální atrezie, c-CELA – kaudální kontinuální epidurální dlouhodobá analgezie, FOA – foramen ovale apertum, GER – gastroesofageální reflux, Pac. – pacient, PMA – postmenstruační věk, PNA – postnatální věk, CDH – vrozená brániční hernie, PPHN – persistent pulmonary hypertension, RDS – respiratory distress syndrome

Zdroj: vlastní zpracování





Graf 1a 2 Plazmatická koncentrace volného a celkového levobupivacainu během observační fáze

Vytvořeno pomocí programu Graphpad, kde jsou znázorněny graficky plazmatické koncentrace volného (vlevo) a celkového (vpravo) levobupivacainu v čase odběru vzorků u 14 pacientů. Vzorky odebrány mimo plánované pořadí byly přesně znázorněny, ale pro zpřesnění měření mediánu byly přiřazeny k nejbližšímu plánovanému odběru (plná černá čára s body).

Zdroj: vlastní zpracování v GraphPad

#### 4.2 Korelace mezi plazmatickou koncentrací celkového a volného levobupivacainu

Volný i celkový levobupivacaine byly spárovány do sloupců podle plánovaných odběrů (viz Tab. 8). Selhání metody po odběru bylo označeno „x“ a příslušný pár byl vyřazen z měření (pacienti 2, 7, 8). U pacienta 6 byl jeden odběr po 3 hodinách (od místo po 30 minutách) vyřazen z měření. Vzorky mimo plánovaný odběr byly přiřazeny k nejbližšímu plánovanému odběru (Tab. 8, označené zeleně). Bylo provedeno šest korelací z 11–14 párů dat (k 7. odběru nebyl dostatek dat).

Po provedení Pearsonovy korelace s vytvořením příslušných grafů (Graf 3) byly identifikovány odlehlé hodnoty (označeny červeně v Grafu 3) u všech měření, kromě po 72 hodinách, kde byly provedeny obě korelace. Spearmanův koeficient (Tab. 9) byl u měření po 0,5 hodině 0,37 (CI -0,32–0,80, p-val 0,26), po 1 hodině 0,29 (CI -0,30–0,72, p-val 0,31), po 6 hodinách 0,42 (CI -0,16–0,79, p-val 0,13), po 12 hodinách 0,29 (CI -0,30–0,72, p-val 0,32), po 36 hodinách 0,57 (CI +0,01–0,86, p-val 0,045) a po 72 hodinách 0,80 (CI +0,37–0,95, p-val 0,005). Pearsonův koeficient byl 0,82 (CI +0,43–0,95, p-val 0,002).

Tab. 8 Tabulka ke korelacím volného a vázaného levobupivacainu časově k plánovaným odběrům

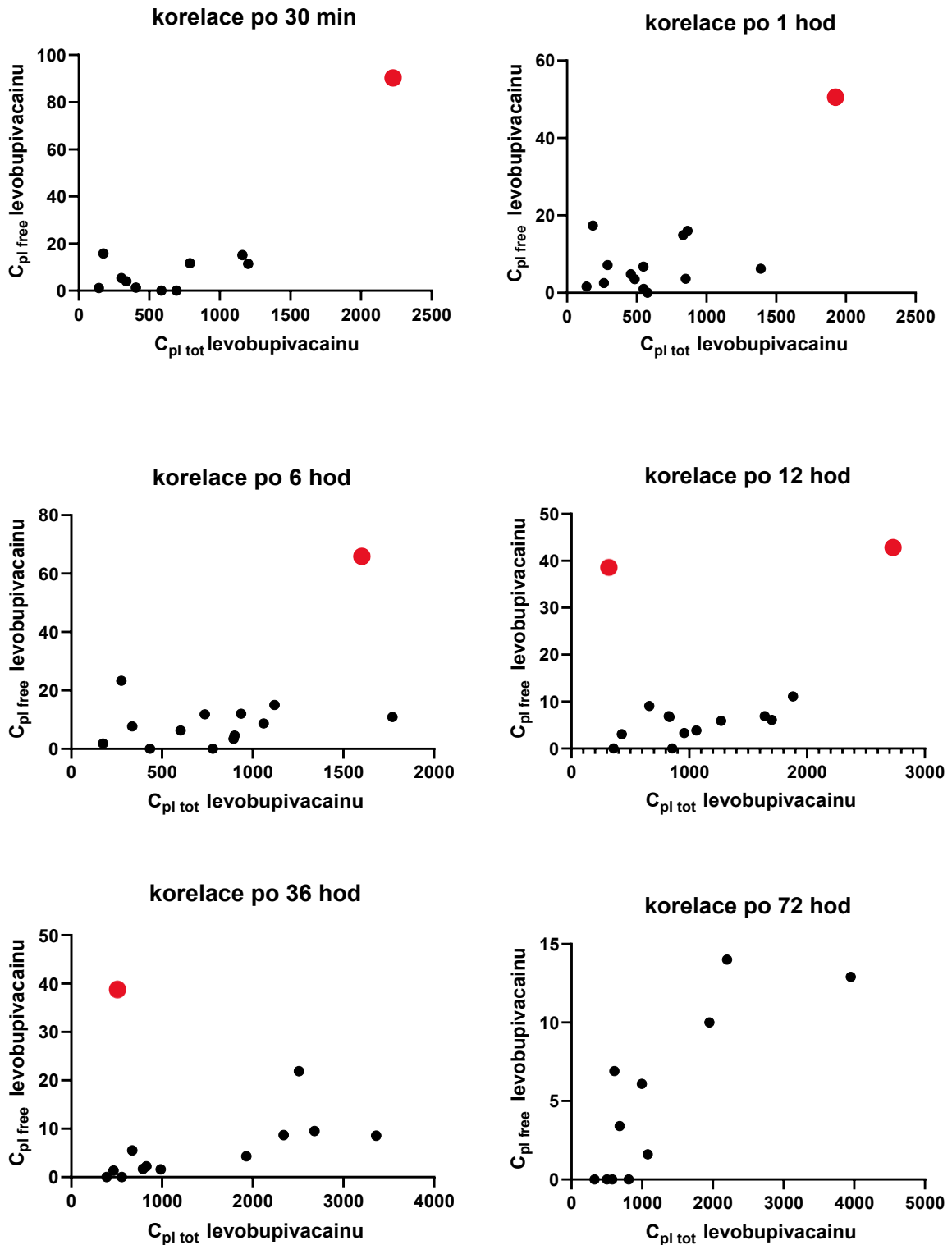
Pac.	1. odběr 30 min		2. odběr 1 hod		3. odběr 6 hod		4. odběr 12 hod		5. odběr 36 hod		6. odběr 72 hod		7. odběr 144 hod	
	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB	celkový LVB	volný LVB
1	692	0	577	0	780	0	856	0	557	0	501	0	367	0
2	586	0	549	1	434	0	358	0	389	0	325	0	x	0
3	2230	91,3	1930	50,5	1600	66,4	2730	42,8	2510	21,9	2200	14		
4	1200	11,4	865	16	736	11,8	833	6,73	672	5,51	606	6,9	348	0
5	175	15,8	185	17,4	276	23,3	303	38,5	521	38,9				
6			851	3,62	895	3,4	957	3,3	789	1,7	577	0		
7	123	x	140	1,63	175	1,84	428	3,06	986	1,6	811	0		
8	227	x	264	2,53	603	6,33	1060	3,87	1930	4,32	1080	1,6		
9	405	1,32	485	3,55	900	4,58	1270	5,88	2340	8,68	995	6,1		
10	788	11,7	832	14,9	1120	15	1880	11,1	2680	9,5	1950	10		
11	1160	15,1	1390	6,2	1770	10,9	1700	6,1						
12	338	3,97	548	6,76	1060	8,72	1640	6,9	3360	8,55	3950	12,9		
13	303	5,35	291	7,15	336	7,7	660	9,05	466	1,37	682	3,4		
14	142	1,16	458	4,82	936	12,05	826	6,9	828	2,24				

Zeleně vyznačeny hodnoty, které byly odebrány mimo plánované pořadí a přiřazeny do nejbližšího sloupce odběru (detaily v textu).

LVB – levobupivacaine, Pac. - pacienti

Zdroj: vlastní zpracování v GraphPad

Grafy 3 Korelační grafy volného a celkového levobupivacainu v časech plánovaných odběrů po spuštění c-CELA



$C_{pl\ free}$  levobupivacainu – plazmatická koncentrace volného levobupivacainu v ng/ml,  $C_{pl\ tot}$  levobupivacainu – plazmatická koncentrace celkového levobupivacainu v ng/ml

Červeně jsou označeny odlehlé hodnoty

Zdroj: vlastní zpracování v GraphPad

Tab. 9 Tabulka korelací plazmatických volného a vázaného levobupivacainu časově k plánovaným odběrům dle Spearmana (modrá část tabulky) a dle Pearsona (zelená část tabulky)

Korelace volného a vázaného levobupivacainu	po 30 minutách	po 1 hodině	po 6 hodinách	po 12 hodinách	po 36 hodinách	po 72 hodinách	po 72 hodinách
Spearman r							Pearson r
r	0,369	0,2923	0,4224	0,2863	0,5695	0,8002	0,82
95% confidence interval	-0,3151 to 0,8008	-0,2980 to 0,7209	-0,1565 to 0,7853	-0,3039 to 0,7178	0,008611 to 0,8578	0,3677 to 0,9481	0,4332 to 0,9517
P value							
P (two-tailed)	0,2626	0,31	0,1331	0,3183	0,0453	0,005	0,002
P value summary	ns	ns	ns	ns	*	**	**
Exact or approximate P value?	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact	Exact
Significant? (alpha = 0.05)	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
Number of XY Pairs	11	14	14	14	13	11	11

*r* – korelační koeficient, *ns* – nesignifikantní (či malý počet měření), \* - signifikantní korelace, \*\* - velmi signifikantní korelace

Zdroj: vlastní zpracování v GraphPad

## 5. Diskuze

Úprava laboratorní metody (zde kapalinová chromatografie s tandemovou spektrometrickou detekcí), s podstatným snížením objemu krevních vzorků, je jednou z efektivních a bezpečných metod u novorozenců k poskytnutí dostatku validních dat pro ověření bezpečnosti LA, zároveň i dobrým argumentem k získání informovaného souhlasu rodičů. Nevýhodou je vyšší riziko selhání měření (u pacientů 2, 7 a 8., zároveň další 4 pacienti vyřazeni ze studie kompletně).

Alternativní možností je odběr malého množství vzorků „sparse sampling“ a jejich následná analýza pomocí populační farmakokinetiky a modelingu. Populační soubor novorozenců, ze kterého vychází tyto modelace je nadále malý (místy jsou používáni dospělí dobrovolníci) a tím náchylný ke špatné predikci<sup>58</sup>.

Proto tato provedená experimentální studie (klinická studie LEVON) s přímým měřením koncentrací má svůj přínos k detekci kumulace a měření farmakokinetických vlastností, ale i pro poskytnutí dalších dat k modelování u podobných studií. U skupiny donošených v době přípravy disertační práce probíhala analýza s přípravou na publikaci.

### 5.1 Ověření klinické účinnosti a bezpečnosti

Účinnou analgezií charakterizuje nenasazení opiátů, snížení dávek analgosedace (především morfinu) a v některých případech i snižování rychlosti c-CELA. Zvyšování dávek, či jejich extra podání naopak značí neúčinnost (Pacient 2 prvních 48 hodin morfin a midazolam kontinuálně, pacient 11 prvních 24 hodin 1 extra dávka opioidů), která může být způsobena špatným dávkováním, malpozicí či zalomením katétru, ale i snahou personálu o prohloubení analgosedace z jiných důvodů (intervence, či bolest v oblastech, kde c-CELA již nepůsobí). To samé platí i u četného podávání sedace bez analgetik (midazolam a chloral hydrát u 2 pacientů). Během c-CELA se objevily 3 nezávažné komplikace (u 3 pacientů) související se zavedením a ošetřováním epidurálního katétru. 2x prosakování epidurální směsi okolo vpichu (epidurální katétr předčasně vytažen) a 1x znečištění okolí stolicí (bez nutnosti vytažení).

Příznaky neurotoxicity či kardiotoxicity zaznamenány nebyly. To odpovídá i literatuře, kde se uvádí, že nejčastější komplikace jsou spojené se zaváděním a používáním epidurálního katétru<sup>8</sup> (viz 1.2. Regionální analgezie u novorozenců (zejména kaudální epidurální podávání)).

U dvou pacientů byly s odstupem po používání c-CELA identifikovány neurologické obtíže, které nebyly asociovány s c-CELA (chabá paraparéza je nadále vyšetřována, absces i epidurální krvácení vyloučeny, u dalšího pacienta to byly vrozené obtíže před zavedením c-CELA). Používání c-CELA se tak jeví bezpečné u novorozenců s nízkým výskytem komplikací.

## 5.2 Hodnocení farmakokinetiky plazmatických koncentrací celkového a volného levobupivacainu

Mediány plazmatických koncentrací volného levobupivacainu stoupaly do 6. hodiny (s následným poklesem). Volná frakce tedy dosahuje rovnováhy velmi brzy. To vše bývá připisováno vysoké hepatální extrakci<sup>79,83</sup> a pravděpodobně rostoucí koncentraci AAG (jako proteinu akutní fáze)<sup>83</sup>. Všechna měření volného levobupivacainu byla zřetelně pod uváděnou hranicí toxicity (130–300 ng/ml)<sup>127,128</sup>. Ve srovnání s počátečními daty studie LEVON<sup>164</sup>, kde bylo dosaženo rovnovážného stavu mezi 36. a 72. hodinou, po zařazení dalších pacientů se maximální medián celkového levobupivacainu objevuje už ve 12. hodině a následně mírně klesá, tedy mezi 12. a 36. hodinou by docházelo ke vzniku rovnováhy. Mediány obecně byly zřetelně pod uvažovanou hladinou toxicity. U 5 pacientů (ze 14) je pozorován rostoucí trend až do 36. hodiny (v 72. hodině je pokles). Tři pacienti nemohou být hodnoceni (nebyl odběr po 36. hodině). Zde je patrná interindividuální variabilita při malém vzorku pacientů, kdy se ustálený stav tvořil mezi 12. a 72. hodinou.

Tři pacienti překročili hranici toxicity 2620 ng/ml (Bardsley et al., 1998)<sup>129</sup> (u pacienta 12 po celou dobu c-CELA (63hod) rostla koncentrace s maximem 3950 ng/ml, volný levobupivacaine nízký). V případě uznání toxické hranice koncentrace celkového bupivacainu, 2250 ng/ml (taktéž Bardsley et al., 1998)<sup>129</sup>, byl překročen práh u dalšího pacienta. Vše bez známek LAST. Vysvětlením by mohly být aditivní analgosedace či nespolupráce pacienta, které ztěžují hodnocení příznaků či vedou ke špatné interpretaci (diskomfort, včetně bolesti).

Extrapolací z animálních studií je naznačena vyšší hranice neurotoxicity lokálních anestetik u novorozenců (menší afinita receptorů v CNS či vliv AAG)<sup>113,166</sup>. U kardiotoxicity se uvažuje opačný efekt, kdy by neonatální myokard měl být ve větším riziku<sup>167</sup>. V praxi to u lidí nebylo ověřeno.

V literatuře (viz 1.4.5 Měření plazmatických hodnot a hranice toxicity) jsou hlášeny případy toxicity u dospělých při celkových koncentracích bupivacainu či levobupivacainu 800–10 000 ng/ml, u dětí 1200–6600 ng/ml (koncentrace naměřené

Luzem<sup>136</sup> nebyly brány v úvahu kvůli spornosti). To naznačuje, že hranice toxicity celkového levobupivacainu/bupivacainu se nedá jednoduše hodnotit. Pravděpodobně limity toxicity dost ani nejde určit (i když je rozumné je stanovovat a snažit se je držet, co nejnižše). Velikost dávky, rychlost podání (bolusu i kontinuálního), doba měření koncentrace i místo podání jsou zevní ovlivnitelné faktory, které by se měly nutně zohlednit, stejně jako významné vnitřní faktory (věk, velikost pacienta, hepatální a renální léze, metabolická a srdeční onemocnění, sarkopenie či hypoproteinémie<sup>91</sup>).

### 5.3 Hodnocení vztahu celkového a volného levobupivacainu v plazmě

Vysoká p-hodnota při porovnání odběrů ve 30. minutě, 1. hodině, 6. hodině a 12. hodině nezavrhne nulovou hypotézu. Vztah plazmatického celkového a volného levobupivacainu je sporný (nezávislé veličiny či velmi slabá korelace ve srovnání s následujícími korelacemi). Vztah volného a celkového levobupivacainu je prokazatelný ve 36. hodině (p-hodnota 0,045, Spearmanův koeficient 0,57) a v 72. hodině je dokonce prokázána pozitivní lineární závislost (Spearmanův koeficient 0,80 s p-hodnotou 0,005, Pearsonův koeficient 0,82 s p-hodnotou 0,002). To vypovídá o „kompenzačních“ mechanismech (vazba na proteiny, redistribuce, sycení tukové tkáně, eliminace ledvinami či jaterní metabolismus), kdy se po jejich relativním „vyčerpání“ objevuje pozitivní korelace, která s časem sílí až do přímé lineární závislosti (kinetika nultého řádu léčiva). Tato myšlenka by vysvětlovala i možné odlehlé hodnoty, kdy, i krátce po spuštění c-CELA při vysokých dávkách či snížených kompenzačních mechanismech, mohou být vysoké hodnoty celkového i volného levobupivacainu s pozitivní závislostí. Pro nízký výskyt těchto odlehlých hodnot, ale nejde ani vyloučit možnost, že se jedná jen o náhodu.

V literatuře popsána variabilní vazba na proteiny 91,4–96 % (s mediánem 93,5 %) u novorozenců a kojenců (PMA 36–55 týdnů)<sup>81</sup> by vysvětlovala spornou korelaci mezi volnou a celkovou koncentrací.

Měření koncentrace celkového levobupivacainu je v literatuře preferovanou možností (jednodušší a levnější). Jeho vysoká variabilita (místy potenciálně v „nebezpečných“ hodnotách) a sporný vztah s jeho volnou frakcí (nejméně prvních 12 hodin) činí z něj metodu nepřesnou v časné fázi užívání c-CELA.

## 6. Závěr

Na základě provedených observací, měření a statistik lze dle cílů této práce konstatovat:

1. C-CELA během dlouhodobého podávání jeví jako účinná a bezpečná metoda. Během podávání nebyly pozorovány žádné známky toxicity. Nezávažné komplikace byly spojeny se zaváděním katétru a jeho ošetřováním. Dlouhodobé neurologické obtíže nebyly asociovány s c-CELA.
2. Laboratorně nebyla detekována kumulace. Plazmatický volný levobupivacain se držel v bezpečných hladinách a od 6. hodiny lze uvažovat o rovnovážném stavu. Plazmatické koncentrace celkového levobupivacainu dosáhly ustáleného stavu mezi 12. a 72. hodinou (kromě, kde nešla vyloučit kumulace během c-CELA - 63 hodin). U 3 pacientů překročil potenciálně toxickou hranici (bez známek toxicity). V literatuře se vykytuje LAST při koncentracích vyšších i nižších, než je uvažovaná hranice toxicity celkového levobupivacainu. Interpretace koncentrací celkového levobupivacainu je komplikovaná a nejednoznačná.
3. Hodnoty celkového levobupivacainu pravděpodobně nekorrespondují s hodnotami volného levobupivacainu (nedá odhadovat volná frakce z celkové koncentrace) prvních 12 hodin. Ve 36. hodině mezi nimi byla zjištěna pozitivní závislost a ve 72. hodině přímá lineární závislost. Velká variabilita vazby levobupivacainu na plazmatické proteiny činí odhad případné hranice toxicity celkového levobupivacainu nepřesným. Měření volného levobupivacainu je přesnější metodou k detekci toxicity a kumulace.



## 7. Shrnutí

**Úvod:** Kaudální kontinuální dlouhodobá epidurální analgezie (c-CELA) účinně tlumí bolest. U novorozenců se nedoporučuje déle než 2 dny pro riziko kumulace. Ta se se určuje měřením celkové či volné plazmatické koncentrace levobupivacainu (lokální anestetikum, LVB). Vztah mezi nimi není přesně definován. Hranice toxicity celkového LVB je velmi neostrá oproti volnému LVB. **Cíl:** Stanovit bezpečnost c-CELA u novorozenců, nebo případnou kumulaci LVB. Zjistit vztah mezi volným a celkovým LVB s určením vhodnější metody měření kumulace a toxicity. **Materiál a metoda:** Vytvořena studie LEVON pro tyto účely. Zralým novorozencům zaveden epidurální katétr a spuštěna c-CELA (bolus LVB (1,25 mg/kg) s infuzí 0,2 mg/kg/hod a se sufentanilem 0,02 µg/kg/hod). Analgezie se hodnotila porovnáním denních dávek analgetik, skórováním bolesti, odhadem ošetrovatelského personálu a follow-upem. Krevní vzorky (0,2–0,5 ml) byly získány po 0,5 hod, 1 hod, 6 hod, 12 hod, 36 hod, 72 hod a 144 hod od spuštění c-CELA. Kapalinová chromatografie s tandemovou spektrometrií stanovila koncentrace volného a celkového LVB. V každém čase odběru se spočítal korelační koeficient mezi celkovým a volným LVB (při CI 95 %,  $\alpha = 0,05$ ). **Výsledky:** Analyzováno 14 subjektů. Mediány celkového LVB byly 405; 548,5; 837,5; 906,5; 828; 811 a 357,5 ng/ml. Mediány volného LVB byly 5,4; 5,5; 8,2; 6,4; 4,3; 3,4 a 0,0 ng/ml. Volný LVB byl po celou dobu nízký, bez kumulace. Celkový LVB se přestal kumulovat mezi 12. a 72. hodinou po spuštění c-CELA. U 3 pacientů přesáhl celkový LVB bezpečnou hranici (u jednoho nešla vyloučit kumulace po dobu c-CELA – 63hodin). Nebyla pozorována toxicita. Jiné komplikace byly nezávažné. Volný a celkový LVB spolu prvních 12 hodin sporně korelovaly. Pozitivní korelace byla ve 36. hodině a přímo lineárně závislá ve 72. hodině od spuštění c-CELA. **Závěr:** C-CELA se jeví bezpečně u novorozenců. Koncentrace celkového LVB byly variabilní, volná frakce byla nízká. Zpočátku c-CELA se volný LVB se nedá odhadnout z celkového. Měření volného LVB je spolehlivější metodou k detekci kumulace.

## 8. Summary

**Introduction:** Continuous caudal epidural long-term analgesia (c-CELA) effectively provides analgesia in neonates. The use is not recommended for longer than two days due to risk of accumulation. That can be detected by the determination of plasmatic free and total levobupivacaine (local anaesthetic, LVB). Their relationship is not well described. The toxic threshold of total LVB is vague in comparison to free LVB. **Aims:** To determine the safety of c-CELA or LVB accumulation and preferable measurement method by assessing plasmatic free and total LVB concentrations and subsequent correlation. **Materials and Methods:** For data collection was registered trial LEVON. Mature neonates were enrolled after the epidural catheter insertion (a bolus of LVB 1,25 mg/kg, and subsequently 0,2 mg/kg/hour with sufentanil 0,02 µg/kg/hour). The efficacy was assessed: by daily total analgetic doses, the attending staff assessment, pain scores, and follow-up. Blood samples were obtained at 0,5; 1; 6; 12; 36; 72; and 144 hours after c-CELA started. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry determined free and total LVB concentrations. The correlation coefficients were done at each scheduled blood draw (CI 95%,  $\alpha = 0.05$ ). **Results:** 14 subjects were analysed. The medians of total LVB were 405; 548,5; 837,5; 906,5; 828; 811 and 357,5 ng/ml. The medians of free LVB were 5,4; 5,5; 8,2; 6,4; 4,3; 3,4 and 0,0 ng/ml. Free LVB remained low, without accumulation. Total LVB reached a steady state between 12 and 72 hours after c-CELA started. In 3 cases, total LVB exceeded the safe line (in 1 case, couldn't be ruled out the accumulation). No signs of toxicity were detected, and other complications were minor. The relationship between free and total LVB was questionable during the first 12 hours. A moderate correlation was observed at 36 hours, and a direct linear correlation at 72 hours. **Conclusion:** C-CELA appears to be safe in neonates. Total plasma LVB concentrations were variable, free LVB was low. Free LVB cannot be reliably estimated from total LVB at the beginning of c-CELA use. Free LVB measurement is the preferable method for accumulation detection.

## 9. Literatura

- 1) Hall RW, Anand KJ. Pain management in newborns. *ClinPerinatol*. 2014 Dec;41(4):895-924. doi: 10.1016/j.clp.2014.08.010. Epub 2014 Oct 7. PMID: 25459780; PMCID: PMC4254489.
- 2) Guedj R, Danan C, Daoud P, et al. Neonatal pain management is not the same during days and nights in Intensive Care Units: Analysis from the EIPPAIN Study. *British Medical Journal Open*. 2014 in press.
- 3) Lawrence J, Alcock D, McGrath P, Kay J, MacMurray SB, Dulberg C. The development of a tool to assess neonatal pain. *Neonatal Netw*. 1993;12:59–66.
- 4) Meesters NJ, Dilles T, van Rosmalen J, van den Bosch GE, Simons SHP, van Dijk M. COMFORTneo scale: a reliable and valid instrument to measure prolonged pain in neonates? *J Perinatol*. 2023 May;43(5):595-600. doi: 10.1038/s41372-023-01628-1. Epub 2023 Feb 6. PMID: 36746985.
- 5) Sharek PJ, Powers R, Koehn A, Anand KJ. Evaluation and development of potentially better practices to improve pain management of neonates. *Pediatrics*. 2006 Nov;118 Suppl 2:S78-86. doi: 10.1542/peds.2006-0913D. PMID: 17079627.
- 6) Holsti L, Grunau RE, Shany E. Assessing pain in preterm infants in the neonatal intensive care unit: moving to a 'brain-oriented' approach. *Pain Manag*. 2011 Mar 1;1(2):171-179. doi: 10.2217/pmt.10.19. PMID: 21874145; PMCID: PMC3161414.
- 7) Walas W, Latka-Grot J, Szczapa T, Maroszyńska I, Rutkowska M, Bartkowska-Śniatkowska A, Piotrowski A. Usefulness of two types of pain monitors in newborns treated in NICU, in the opinion of experts: Results of the survey. *J Mother Child*. 2022 Apr 1;25(2):72-76. doi: 10.34763/jmotherandchild.20212502.d-21-00018. PMID: 34842396; PMCID: PMC8976587.
- 8) Nevin DG, Shung J. Intravenous paracetamol overdose in a preterm infant during anesthesia. *Paediatr Anaesth*. 2010 Jan;20(1):105-7. doi: 10.1111/j.1460-9592.2009.03210.x. PMID: 20078803.
- 9) Mosca F, Bray M, Lattanzio M, Fumagalli M, Tosetto C. Comparative evaluation of the effects of indomethacin and ibuprofen on cerebral perfusion and oxygenation in preterm infants with patent ductus arteriosus. *J Pediatr*. 1997 Oct;131(4):549-54. doi: 10.1016/s0022-3476(97)70060-x. PMID: 9386657.
- 10) Van Overmeire B, Smets K, Lecoutere D, Van de Broek H, Weyler J, Degroote K, Langhendries JP. A comparison of ibuprofen and indomethacin for closure of patent ductus arteriosus. *N Engl J Med*. 2000 Sep 7;343(10):674-81. doi: 10.1056/NEJM200009073431001. PMID: 10974130.

- 11) Allegaert K, Vanhole C, de Hoon J, Guignard JP, Tibboel D, Devlieger H, Van Overmeire B. Nonselective cyclo-oxygenase inhibitors and glomerular filtration rate in preterm neonates. *Pediatr Nephrol*. 2005 Nov;20(11):1557-61. doi: 10.1007/s00467-005-1998-2. Epub 2005 Aug 16. PMID: 16133061.
- 12) Hall RW. Anesthesia and analgesia in the NICU. *Clin Perinatol*. 2012 Mar;39(1):239-54. doi: 10.1016/j.clp.2011.12.013. PMID: 22341549; PMCID: PMC3612887.
- 13) Morton NS. , Errera A., APA national audit of pediatric opioid infusions, *Ped Anesth*; 20:119–125.
- 14) Levene M. Morphine sedation in ventilated newborns: who are we treating? *Pediatrics*. 2005 Aug;116(2):492-3. doi: 10.1542/peds.2005-0441. PMID: 16061608.
- 15) Simons SH, van Dijk M, van Lingen RA, et al. Routine morphine infusion in preterm newborns who received ventilatory support: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290(18):2419–2427.
- 16) Hall RW, Kronsberg SS, Barton BA, et al. Morphine, hypotension, and adverse outcomes in preterm neonates: who's to blame? *Pediatrics*. 2005;115(5):1351–1359.
- 17) Menon G, Boyle EM, Bergqvist LL, McIntosh N, Barton BA, Anand KJ. Morphine analgesia and gastrointestinal morbidity in preterm infants: secondary results from the NEOPAIN trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008;93:F362–7.
- 18) Anand KJS., Willson DF., Berger J. et al., Tolerance and Withdrawal From Prolonged Opioid Use in Critically ill Children, *Pediatrics* 200;125 (6):1208-1225
- 19) Arnold JH, Truog RD, Orav EJ et al. Tolerance and dependence in neonates sedated with fentanyl during extracorporeal membrane oxygenation. *Anesthesiology* 1990;73(6):1136-1140.
- 20) Katz R, Kelly HW, Hsi A. Prospective study on the occurrence of withdrawal in critically ill children who receive fentanyl by continuous infusion. *Crit Care Med* 1994;22(5):763–767.
- 21) de Graaf J, van Lingen RA, Valkenburg AJ, Weisglas-Kuperus N, Jebbink LG, Wijnberg-Williams B, Anand KJS, Tibboel D, van Dijk M. Does neonatal morphine use affect neuropsychological outcomes at 8 to 9 years of age? *Pain*. 2013 Mar;154(3):449-458. doi: 10.1016/j.pain.2012.12.006. Epub 2012 Dec 20. PMID: 23352760.
- 22) Garcia OC, Reichberg S, Brion LP, Schulman M. Topical anesthesia for line insertion in very low birth weight infants. *J Perinatol*. 1997 Nov-Dec;17(6):477-80. PMID: 9447537.
- 23) Lander J, Brady-Fryer B, Metcalfe JB, Nazarali S, Muttitt S. Comparison of ring block, dorsal penile nerve block, and topical anesthesia for neonatal circumcision: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1997 Dec 24-31;278(24):2157-62. PMID: 9417009.

- 24) Brisman M, Ljung BM, Otterbom I, Larsson LE, Andréasson SE. Methaemoglobin formation after the use of EMLA cream in term neonates. *Acta Paediatr.* 1998 Nov;87(11):1191-4. doi: 10.1080/080352598750031202. PMID: 9846923.
- 25) Taddio A, Ohlsson A, Einarson TR, Stevens B, Koren G. A systematic review of lidocaine-prilocaine cream (EMLA) in the treatment of acute pain in neonates. *Pediatrics.* 1998 Feb;101(2):E1. doi: 10.1542/peds.101.2.e1. PMID: 9445511.
- 26) Taddio A, Lee CM, Parvez B, Koren G, Shah V. Contact dermatitis and bradycardia in a preterm infant given tetracaine 4% gel. *Ther Drug Monit.* 2006 Jun;28(3):291-4. doi: 10.1097/01.ftd.0000195615.92591.9c. PMID: 16778708.
- 27) Willschke H, Bosenberg A, Marhofer P, Willschke J, Schwindt J, Weintraud M, Kapral S, Kettner S. Epidural catheter placement in neonates: sonoanatomy and feasibility of ultrasonographic guidance in term and preterm neonates. *Reg Anesth Pain Med.* 2007 Jan-Feb;32(1):34-40. doi: 10.1016/j.rapm.2006.10.008. PMID: 17196490.
- 28) Heydinger G, Tobias J, Veneziano G. Fundamentals and innovations in regional anaesthesia for infants and children. *Anaesthesia.* 2021 Jan;76 Suppl 1:74-88. doi: 10.1111/anae.15283. PMID: 33426659.
- 29) Chen CK, Teo SC, Phui VE, Saman MA. Analgesic efficacy of transversus abdominis plane block in neonates and early infants for colostomy and reversal of colostomy. *Agri.* 2015;27(4):210-4. doi: 10.5505/agri.2015.66487. PMID: 26860495.
- 30) Hoffmann C, Snow A, Chedid C, Abi Shadid C, Miyasaka EA. Quadratus Lumborum Block as a Cornerstone for Neonatal Intestinal Surgery Enhanced Recovery (ERAS): A Case Series. *Local Reg Anesth.* 2023 Oct 10;16:165-171. doi: 10.2147/LRA.S403567. PMID: 37841495; PMCID: PMC10576531.
- 31) Swenson Schalkwyk A, Flaherty J, Hess D, Horvath B. Erector spinae catheter for post-thoracotomy pain control in a premature neonate. *BMJ Case Rep.* 2020 Sep 7;13(9):e234480. doi: 10.1136/bcr-2020-234480. PMID: 32900720; PMCID: PMC7478038.
- 32) Gado AA, Abdalwahab A, Ali H, Alsadek WM, Ismail AA. Serratus Anterior Plane Block in Pediatric Patients Undergoing Thoracic Surgeries: A Randomized Controlled Trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2022 Aug;36(8 Pt A):2271-2277. doi: 10.1053/j.jvca.2021.09.014. Epub 2021 Sep 22. PMID: 34607760.
- 33) Lönnqvist PA. Fascial plane blocks in children-Scientifically supported or not? *Paediatr Anaesth.* 2024 Jan;34(1):13-18. doi: 10.1111/pan.14752. Epub 2023 Aug 31. PMID: 37650686.
- 34) Lucente M, Ragonesi G, Sanguigni M, Sbaraglia F, Vergari A, Lamacchia R, Del Prete D, Rossi M. Erector spinae plane block in children: a narrative review. *Korean J Anesthesiol.* 2022

Dec;75(6):473-486. doi: 10.4097/kja.22279. Epub 2022 Jul 5. PMID: 35790215; PMCID: PMC9726462.

35) Bosenberg A, Flick RP. Regional anesthesia in neonates and infants. *Clin Perinatol*. 2013 Sep;40(3):525-38. doi: 10.1016/j.clp.2013.05.011. Epub 2013 Jul 12. PMID: 23972755.

36) Oberlander TF, Berde CB, Lam KH, Rappaport LA, Saul JP. Infants tolerate spinal anesthesia with minimal overall autonomic changes: analysis of heart rate variability in former premature infants undergoing hernia repair. *Anesth Analg*. 1995 Jan;80(1):20-7. doi: 10.1097/00000539-199501000-00005. PMID: 7802281.

37) Istaphanous GK, Loepke AW. General anesthetics and the developing brain. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2009 Jun;22(3):368-73. doi: 10.1097/aco.0b013e3283294c9e. PMID: 19434780.

38) Rizzi S, Carter LB, Ori C, Jevtovic-Todorovic V. Clinical anesthesia causes permanent damage to the fetal guinea pig brain. *Brain Pathol*. 2008 Apr;18(2):198-210. doi: 10.1111/j.1750-3639.2007.00116.x. Epub 2008 Jan 29. PMID: 18241241; PMCID: PMC3886120.

39) Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P, Vöckler J, Dikranian K, Tenkova TI, Stefovská V, Turski L, Olney JW. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*. 1999 Jan 1;283(5398):70-4. doi: 10.1126/science.283.5398.70. PMID: 9872743.

40) Young C, Jevtovic-Todorovic V, Qin YQ, Tenkova T, Wang H, Labruyere J, Olney JW. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Br J Pharmacol*. 2005 Sep;146(2):189-97. doi: 10.1038/sj.bjp.0706301. PMID: 15997239; PMCID: PMC1576258.

41) Vutskits L, Gascon E, Tassonyi E, Kiss JZ. Effect of ketamine on dendritic arbor development and survival of immature GABAergic neurons in vitro. *Toxicol Sci*. 2006 Jun;91(2):540-9. doi: 10.1093/toxsci/kfj180. Epub 2006 Mar 31. PMID: 16581949.

42) Bösenberg, A.T., Hadley, G.P. & Wiersma, R. Oesophageal atresia: caudo-thoracic epidural anaesthesia reduces the need for post-operative ventilatory support. *Pediatr Surg Int* 7, 289–291 (1992). <https://doi.org/10.1007/BF00183983>

43) Nagappa S, Kalappa S, Vijayakumar HN, Nethra HN. Comparison of the effectiveness of intravenous fentanyl versus caudal epidural in neonates undergoing tracheoesophageal fistula surgeries. *Saudi J Anaesth*. 2022 Apr-Jun;16(2):182-187. doi: 10.4103/sja.sja\_847\_21. Epub 2022 Mar 17. PMID: 35431742; PMCID: PMC9009581.

44) Shenkman Z, Hoppenstein D, Erez I, Dolfin T, Freud E. Continuous lumbar/thoracic epidural analgesia in low-weight paediatric surgical patients: practical aspects and pitfalls. *Pediatr*

- Surg Int. 2009 Jul;25(7):623-34. doi: 10.1007/s00383-009-2386-y. Epub 2009 Jun 5. PMID: 19499233.
- 45) Hoehn T, Jetzek-Zader M, Blohm M, Mayatepek E. Early peristalsis following epidural analgesia during abdominal surgery in an extremely low birth weight infant. *Paediatr Anaesth.* 2007 Feb;17(2):176-9. doi: 10.1111/j.1460-9592.2006.02038.x. PMID: 17238891.
- 46) Gerber AC, Weiss M. Awake spinal or caudal anaesthesia in preterms for herniotomies: what is the evidence based benefit compared with general anaesthesia? *Curr Opin Anaesthesiol.* 2003 Jun;16(3):315-20. doi: 10.1097/00001503-200306000-00012. PMID: 17021477.
- 47) Udassin R, Eimerl D, Schiffman J, Haskel Y. Epidural anesthesia accelerates the recovery of postischemic bowel motility in the rat. *Anesthesiology.* 1994 Apr;80(4):832-6. doi: 10.1097/0000542-199404000-00016. PMID: 8024138.
- 48) Lundblad M, Forestier J, Marhofer D, Eksborg S, Winberg P, Lönnqvist PA. Reduction of cerebral mean blood flow velocity and oxygenation after high-volume (1.5 ml kg<sup>-1</sup>) caudal block in infants. *Br J Anaesth.* 2014 Oct;113(4):688-94. doi: 10.1093/bja/aeu161. Epub 2014 Jun 27. PMID: 24972788.
- 49) Agarwal
- 50) Gunter JB. Benefit and risks of local anesthetics in infants and children. *Paediatr Drugs.* 2002;4(10):649-72. doi: 10.2165/00128072-200204100-00003. PMID: 12269841.
- 51) Singaravelu Ramesh A., Boretsky K. Local Anesthetic Systemic Toxicity in Children: A Review of Recent Case Reports and Current Literature. *Reg. Anesth. Pain Med.* 2021;46:909–914. doi: 10.1136/rapm-2021-102529
- 52) Breschan C, Krumpholz R, Jost R, Likar R. Intraspinal haematoma following lumbar epidural anaesthesia in a neonate. *Paediatr Anaesth.* 2001 Jan;11(1):105-8. doi: 10.1046/j.1460-9592.2001.00593.x. PMID: 11123741.
- 53) Meyer MJ, Krane EJ, Goldschneider KR, Klein NJ. Case report: neurological complications associated with epidural analgesia in children: a report of 4 cases of ambiguous etiologies. *Anesth Analg.* 2012 Dec;115(6):1365-70. doi: 10.1213/ANE.0b013e31826918b6. Epub 2012 Nov 9. PMID: 23144440.
- 54) Bösenberg AT, Jöhr M, Wolf AR. Pro con debate: the use of regional vs systemic analgesia for neonatal surgery. *Paediatr Anaesth.* 2011 Dec;21(12):1247-58. doi: 10.1111/j.1460-9592.2011.03638.x. Epub 2011 Jul 1. PMID: 21722227.
- 55) Jöhr M. Regional anaesthesia in neonates, infants and children: an educational review. *Eur J Anaesthesiol.* 2015 May;32(5):289-97. doi: 10.1097/EJA.0000000000000239. PMID: 25693139.

- 56) Kil HK. Caudal and epidural blocks in infants and small children: historical perspective and ultrasound-guided approaches. *Korean J Anesthesiol.* 2018 Dec;71(6):430-439. doi: 10.4097/kja.d.18.00109. Epub 2018 Aug 8. PMID: 30086609; PMCID: PMC6283718.
- 57) Larsson BA, Lönnqvist PA, Olsson GL. Plasma concentrations of bupivacaine in neonates after continuous epidural infusion. *Anesth Analg.* 1997 Mar;84(3):501-5. doi: 10.1097/00000539-199703000-00006. PMID: 9052290.
- 58) O'Hara K, Wright IM, Schneider JJ, Jones AL, Martin JH. Pharmacokinetics in neonatal prescribing: evidence base, paradigms and the future. *Br J Clin Pharmacol.* 2015 Dec;80(6):1281-8. doi: 10.1111/bcp.12741. Epub 2015 Oct 26. PMID: 26256466; PMCID: PMC4693494.
- 59) Tayman C, Rayyan M, Allegaert K. Neonatal pharmacology: extensive interindividual variability despite limited size. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2011;16(3):170–184. doi: 10.5863/1551-6776-16.3.170.
- 60) Smits A, Annaert P, Allegaert K. Drug disposition and clinical practice in neonates: cross talk between developmental physiology and pharmacology. *Int J Pharm.* 2013;452(1–2):8–13. doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.03.035.
- 61) Notarianni LJ. Plasma protein binding of drugs in pregnancy and in neonates. *Clin Pharmacokinet.* 1990 Jan;18(1):20-36. doi: 10.2165/00003088-199018010-00002. PMID: 2178848.
- 62) Johnson PJ. Neonatal pharmacology--pharmacokinetics. *Neonatal Netw.* 2011 Jan-Feb 1;30(1):54-61. doi: 10.1891/0730-0832.30.1.54. PMID: 21317099.
- 63) Ruggiero A, Ariano A, Triarico S, Capozza MA, Ferrara P, Attinà G. Neonatal pharmacology and clinical implications. *Drugs Context.* 2019 Oct 14;8:212608. doi: 10.7573/dic.212608. PMID: 31692800; PMCID: PMC6821278.
- 64) Stevens JC, Hines RN, Gu C, Koukouritaki SB, Manro JR, Tandler PJ, Zaya MJ. Developmental expression of the major human hepatic CYP3A enzymes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 Nov;307(2):573-82. doi: 10.1124/jpet.103.054841. Epub 2003 Sep 15. PMID: 12975492.
- 65) Bouwmeester NJ, Anderson BJ, Tibboel D, Holford NH. Developmental pharmacokinetics of morphine and its metabolites in neonates, infants and young children. *Br J Anaesth.* 2004;92(2):208–217. doi: 10.1093/bja/ae042.
- 66) Bhat R, Abu-Harb M, Chari G, Gulati A. Morphine metabolism in acutely ill preterm newborn infants. *J Pediatr.* 1992 May;120(5):795-9. doi: 10.1016/s0022-3476(05)80251-3. PMID: 1578319.
- 67) Hartley R, Quinn M, Green M, Levene MI. Morphine glucuronidation in premature neonates. *Br J Clin Pharmacol.* 1993 Mar;35(3):314-7. PMID: 8471411; PMCID: PMC1381583.



- 68) Barrett DA, Barker DP, Rutter N, Pawula M, Shaw PN. Morphine, morphine-6-glucuronide and morphine-3-glucuronide pharmacokinetics in newborn infants receiving diamorphine infusions. *Br J Clin Pharmacol.* 1996 Jun;41(6):531-7. doi: 10.1046/j.1365-2125.1996.03539.x. PMID: 8799518; PMCID: PMC2042627.
- 69) Ligi I, Boubred F, Grandvuillemin I, Simeoni U. The neonatal kidney: implications for drug metabolism and elimination. *Curr Drug Metab.* 2013 Feb;14(2):174-7. PMID: 22935066.
- 70) Aps C, Reynolds F. The effect of concentration on vasoactivity of bupivacaine and lignocaine. *Br J Anaesth.* 1976; 48: 1171-1174
- 71) Guinard JP, Carpenter RL, Morell RC. Effect of local anesthetic concentration on capillary blood flow in human skin. *RegAnesth.* 1992; 17: 317-321
- 72) Cederholm I, Evers H, Löfström JB Skin blood flow after intradermal injection of ropivacaine in various concentrations with and without epinephrine evaluated by laser Doppler flowmetry. *RegAnesth.* 1992; 17: 322-328
- 73) Newton DJ, Burke D, Khan F, et al. Skin blood flow changes in response to intradermal injection of bupivacaine and levobupivacaine, assessed by laser Doppler imaging. *RegAnesthPain Med.* 2000; 25: 626-631
- 74) Newton DJ, McLeod GA, Khan F, Belch JJ. Vasoactive characteristics of bupivacaine and levobupivacaine with and without adjuvant epinephrine in peripheral human skin. *Br J Anaesth.* 2005 May;94(5):662-7. doi: 10.1093/bja/aei095. Epub 2005 Feb 18. PMID: 15722384.
- 75) Burm AG, van der Meer AD, van Kleef JW, Zeijlmans PW, Groen K. Pharmacokinetics of the enantiomers of bupivacaine following intravenous administration of the racemate. *Br J Clin Pharmacol.* 1994 Aug;38(2):125-9. doi: 10.1111/j.1365-2125.1994.tb04335.x. PMID: 7981012; PMCID: PMC1364857.
- 76) Aps C, Reynolds F. An intradermal study of topical anesthetic and vascular effects of the isomers of bupivacaine. *Br J clin Pharmac* 1978; 6: 63-68.
- 77) Bardsley H, Gristwood R, Watson N, Nimmo W. The local anaesthetic activity of levobupivacaine does not differ from racemic bupivacaine (Marcain): first clinical evidence. *Expert OpinInvestigDrugs.* 1997;6(12):1883–5.
- 78) Aps C, Reynolds F. The effect of concentration on vasoactivity of bupivacaine and lignocaine. *Br J Anaesth.* 1976; 48: 1171-1174
- 79) Heppolette CAA, Brunnen D, Bampoe S, Odor PM. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Levobupivacaine. *Clin Pharmacokinet.* 2020 Jun;59(6):715-745. doi: 10.1007/s40262-020-00868-0. PMID: 32034727.

- 80) Burm AG, van der Meer AD, van Kleef JW, Zeijlmans PW, Groen K. Pharmacokinetics of the enantiomers of bupivacaine following intravenous administration of the racemate. *Br J Clin Pharmacol.* 1994 Aug;38(2):125-9. doi: 10.1111/j.1365-2125.1994.tb04335.x. PMID: 7981012; PMCID: PMC1364857.
- 81) Frawley G, Hallett B, Velkov T, Bjorksten A. Pharmacokinetics of levobupivacaine following infant spinal anesthesia. *PaediatrAnaesth.* 2016 Jun;26(6):575-81. doi: 10.1111/pan.12899. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27061607.
- 82) Booker PD, Taylor C, Saba G. Perioperative changes in alpha1-acid glycoprotein concentrations in infants undergoing major surgery. *Br J Anaesth.* 1996 Mar;76(3):365-8. doi: 10.1093/bja/76.3.365. PMID: 8785135.
- 83) Mazoit JX, Dalens BJ. Pharmacokinetics of local anaesthetics in infants and children. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(1):17-32. doi: 10.2165/00003088-200443010-00002. PMID: 14715049.
- 84) Lönnqvist PA, Hergren L. Effects of pronounced haemodilution on the plasma protein binding of lidocaine. *Perfusion.* 1995;10(1):17-20. doi: 10.1177/026765919501000104. PMID: 7795308.
- 85) Jean-François Meunier, Etienne Goujard, Anne-Marie Dubousset, Kamran Samii, Jean Xavier Mazoit; Pharmacokinetics of Bupivacaine after Continuous Epidural Infusion in Infants with and without biliary atresia. *Anesthesiology* 2001; 95:87–95  
doi: <https://doi.org/10.1097/00000542-200107000-00018>
- 86) Coyle DE, Denson DD, Thompson GA, Myers JA, Arthur GR, Bridenbaugh PO. The influence of lactic acid on the serum protein binding of bupivacaine: species differences. *Anesthesiology.* 1984;61:127–33.
- 87) Denson D, Coyle D, Thompson G, Myers J. Alpha1-acid glycoprotein and albumin in human serum bupivacaine binding. *ClinPharmacolTher.* 1984 Mar;35(3):409-15. doi: 10.1038/clpt.1984.51. PMID: 6697648.
- 88) Becker DE, Reed KL. Essentials of local anesthetic pharmacology. *AnesthProg.* 2006;53:98–108.
- 89) Berde CB, Strichartz GR. Local anesthetics. In: Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA, Wiener-Kronish JP, Young WL, editors. *Miller's Anesthesia*, 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. pp. 932–4.
- 90) Celotto AC, Restini CB, Capellini VK, Bendhack LM, Evora PR. Acidosis induces relaxation mediated by nitric oxide and potassium channels in rat thoracic aorta. *Eur J Pharmacol.* 2011;656:88–93.

- 91) Macfarlane AJR, Gitman M, Bornstein KJ, El-Boghdady K, Weinberg G. Updates in our understanding of local anaesthetic systemic toxicity: a narrative review. *Anaesthesia*. 2021 Jan;76 Suppl 1:27-39. doi: 10.1111/anae.15282. PMID: 33426662.
- 92) Šípek, J.; Mixa, V., Současný pohled na kaudální epidurální blokády u dětí a jejich komplikace. *Anest. intenziv. Med.* 2016, 27 (2), 78-86.
- 93) Lees D, Frawley G, Taghavi K, Mirjalili SA. A review of the surface and internal anatomy of the caudal canal in children. *Paediatr Anaesth.* 2014 Aug;24(8):799-805. doi: 10.1111/pan.12392. Epub 2014 Mar 26. PMID: 24666890.
- 94) Sinha C, Kumar A, Sharma S, Singh AK, Majumdar S, Kumar A, Sahay N, Kumar B, Bhadani UK. Ultrasound assessment of cranial spread during caudal blockade in children: Effect of different volumes of local anesthetic. *Saudi J Anaesth.* 2017 Oct-Dec;11(4):449-453. doi: 10.4103/sja.SJA\_284\_17. PMID: 29033727; PMCID: PMC5637423.
- 95) Triffterer L, Machata AM, Latzke D, Willschke H, Rebhandl W, Kimberger O, Marhofer P. Ultrasound assessment of cranial spread during caudal blockade in children: effect of the speed of injection of local anaesthetics. *Br J Anaesth.* 2012 Apr;108(4):670-4. doi: 10.1093/bja/aer502. Epub 2012 Feb 6. PMID: 22315328.
- 96) Simon MJ, Veering BT, Stienstra R, van Kleef JW, Burm AG. Effect of age on the clinical profile and systemic absorption and disposition of levobupivacaine after epidural administration. *Br J Anaesth.* 2004 Oct;93(4):512-20. doi: 10.1093/bja/ae241. Epub 2004 Aug 20. PMID: 15321929.
- 97) Chalkiadis GA, Anderson BJ. Age and size are the major covariates for prediction of levobupivacaine clearance in children. *Paediatr Anaesth.* 2006 Mar;16(3):275-82. doi: 10.1111/j.1460-9592.2005.01778.x. PMID: 16490091.
- 98) Gristwood RW, Greaves JL. Levobupivacaine: a new safer long acting local anaesthetic agent. *Expert Opin Investig Drugs.* 1999 Jun;8(6):861-76. doi: 10.1517/13543784.8.6.861. PMID: 15992136.
- 99) Foster RH, Markham A. Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs.* 2000 Mar;59(3):551-79. doi: 10.2165/00003495-200059030-00013. PMID: 10776835.
- 100) Palkama VJ, Neuvonen PJ, Olkkola KT. Effect of itraconazole on the pharmacokinetics of bupivacaine enantiomers in healthy volunteers. *Br J Anaesth.* 1999;83(4):659-61.
- 101) Lauprecht AE, Wenger FA, El Fadil O, Walz MK, Groeben H. Levobupivacaine plasma concentrations following major liver resection. *J Anesth.* 2011;25(3):369-75.

- 102) Mather LE, McCall P, McNicol PL. Bupivacaine enantiomer pharmacokinetics after intercostal neural blockade in liver transplantation patients. *Anesth Analg*. 1995;80(2):328–35.
- 103) Hines RN, McCarver DG. The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase I oxidative enzymes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002 Feb;300(2):355-60. doi: 10.1124/jpet.300.2.355. PMID: 11805191.
- 104) Zink, Wolfgang; Graf, Bernhard M. The toxicity of local anesthetics: the place of ropivacaine and levobupivacaine. *Current Opinion in Anaesthesiology* 21(5):p 645-650, October 2008. | DOI: 10.1097/ACO.0b013e32830c214c
- 105) Cox B, Durieux ME, Marcus MA. Toxicity of local anaesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003; 17:111–136.
- 106) Radwan IA, Saito S, Goto F. The neurotoxicity of local anesthetics on growing neurons: a comparative study of lidocaine, bupivacaine, mepivacaine, and ropivacaine. *Anesth Analg* 2002; 94:319–324.
- 107) Zink W, Graf BM, Sinner B, *et al*. Differential effects of bupivacaine on intracellular Ca<sup>2+</sup> regulation: potential mechanisms of its myotoxicity. *Anesthesiology* 2002; 97:710–716.
- 108) Zink W, Missler G, Sinner B, *et al*. Differential effects of bupivacaine and ropivacaine enantiomers on intracellular Ca<sup>2+</sup> regulation in murine skeletal muscle fibers. *Anesthesiology* 2005; 102:793–798.
- 109) Chu CR, Izzo NJ, Papas NE, *et al*. In vitro exposure to 0.5% bupivacaine is cytotoxic to bovine articular chondrocytes. *Arthroscopy* 2006; 22:693–699.
- 110) Gomoll AH, Kang RW, Williams JM, *et al*. Chondrolysis after continuous intra-articular bupivacaine infusion: an experimental model investigating chondrotoxicity in the rabbit shoulder. *Arthroscopy* 2006; 22:813–819.
- 111) Karpie JC, Chu CR. Lidocaine exhibits dose- and time-dependent cytotoxic effects on bovine articular chondrocytes in vitro. *Am J Sports Med* 2007; 35:1621–1627.
- 112) Guay, Joanne MD, FRCPC. Methemoglobinemia Related to Local Anesthetics: A Summary of 242 Episodes. *Anesthesia & Analgesia* 108(3):p 837-845, March 2009. | DOI: 10.1213/ane.0b013e318187c4b1
- 113) Kohane DS, Sankar WN, Shubina M, Hu D, Rifai N, Berde CB. Sciatic nerve blockade in infant, adolescent, and adult rats: a comparison of ropivacaine with bupivacaine. *Anesthesiology*. 1998 Nov;89(5):1199-208; discussion 10A. doi: 10.1097/00000542-199811000-00021. PMID: 9822009.

- 114) Satas S, Johannessen SI, Hoem NO, Haaland K, Sørensen DR, Thoresen M. Lidocaine pharmacokinetics and toxicity in newborn pigs. *Anesth Analg*. 1997 Aug;85(2):306-12. doi: 10.1097/00000539-199708000-00012. PMID: 9249105.
- 115) Denson DD, Behbehani MM, Gregg RV. Enantiomer-specific effects of an intravenously administered arrhythmogenic dose of bupivacaine on neurons of the nucleus tractus solitarius and the cardiovascular system in the anesthetized rat. *Reg Anesth*. 1992 Nov-Dec;17(6):311-6. PMID: 1286051.
- 116) Huang YF, Pryor ME, Mather LE, Veering BT. Cardiovascular and central nervous system effects of intravenous levobupivacaine and bupivacaine in sheep. *Anesth Analg*. 1998 Apr;86(4):797-804. doi: 10.1097/00000539-199804000-00023. PMID: 9539605.
- 117) Clarkson CW, Hondeghem LM. Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology*. 1985;62(4):396–405.
- 118) Maxwell LG, Martin LD, Yaster M. Bupivacaine-induced cardiac toxicity in neonates: successful treatment with intravenous phenytoin. *Anesthesiology*. 1994 Mar;80(3):682-6. doi: 10.1097/00000542-199403000-00028. PMID: 8141465.
- 119) Heath ML. Deaths after intravenous regional anaesthesia. *Br Med J*. 1982;285(6346):913–4.
- 120) 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.
- 121) Weinberg GL, Palmer JW, VadeBoncouer TR, Zuechner MB, Edelman G, Hoppel CL. Bupivacaine inhibits acylcarnitine exchange in cardiac mitochondria. *Anesthesiology*. 2000;92(2):523–8.
- 122) Clark LA, Beyer J, Graudins A. An in vitro analysis of the effects of intravenous lipid emulsion on free and total local anaesthetic concentrations in human blood and plasma. *Crit Care Res Pract*. 2014;2014:236520. doi: 10.1155/2014/236520. Epub 2014 Nov 5. PMID: 25538850; PMCID: PMC4236888.
- 123) Jermolajevaite J, Razlevice I, Gurskis V, Grinkeviciute DE, Lukosiene L, Macas A. Local Anesthetic Systemic Toxicity Following Inadvertent Intravenous Levobupivacaine Infusion in Infants: A Case Report. *Medicina (Kaunas)*. 2023 May 19;59(5):981. doi: 10.3390/medicina59050981. PMID: 37241213; PMCID: PMC10221613.
- 124) Crowe AM, Mislovič B. Local anesthetic toxicity following erector spinae plane block in a neonate: A case report. *Paediatr Anaesth*. 2022 Mar;32(3):479-481. doi: 10.1111/pan.14355. Epub 2021 Dec 10. PMID: 34865271.

- 125) Reynolds F. A comparison of the potential toxicity of bupivacaine, lignocaine and mepivacaine during epidural blockade for surgery. *Br J Anaesth.* 1971 Jun;43(6):567-72. doi: 10.1093/bja/43.6.567. PMID: 5089935.
- 126) Hollmén A, Korhonen M, Ojala A. Bupivacaine in paracervical block--plasma levels and changes in maternal and foetal acid-base balance. *Br J Anaesth.* 1969 Jul;41(7):603-8. doi: 10.1093/bja/41.7.603. PMID: 5798839.
- 127) Knudsen K, Beckman Suurküla M, Blomberg S, Sjövall J, Edvardsson N. Central nervous and cardiovascular effects of i.v. Infusions of ropivacaine, bupivacaine and placebo in volunteers. *Br J Anaesth* 1997; 78 (5): 507–514.
- 128) Donald D. Denson, Jane A. Myers, Craig T. Hartrick, Charles P. Pither, Dennis E. Coyle, P. Prithvi Raj; The relationship between free bupivacaine concentration and central nervous system toxicity. *Anesthesiology* 1984;61:A211 doi: <https://doi.org/10.1097/00000542-198409001-00211>
- 129) Bardsley H, Gristwood R, Baker H, Watson N, Nimmo W. A comparison of the cardiovascular effects of levobupivacaine and rac-bupivacaine following intravenous administration to healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 46 (3): 245–249.
- 130) Peutrell JM, Hughes DG. A grand mal convulsion in a child in association with a continuous epidural infusion of bupivacaine. *Anaesthesia* 1995; 50 (6): 563–564.
- 131) Jorfeldt L, Löfström B, Pernow B, Persson B, Wahren J, Widman B. The effect of local anaesthetics on the central circulation and respiration in man and dog. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1968;12(4):153-69. doi: 10.1111/j.1399-6576.1968.tb00420.x. PMID: 4896937.
- 132) McCloskey JJ, Haun SE, Deshpande JK. Bupivacaine toxicity secondary to continuous caudal epidural infusion in children. *Anesthesia Analgesia* 1992; 75: 287–290.
- 133) Agarwal R, Gutlove DP, Lockhart CH. Seizures occurring in pediatric patients receiving continuous infusion of bupivacaine. *Anesth Analg.* 1992 Aug;75(2):284-6. doi: 10.1213/00000539-199208000-00023. PMID: 1632544.
- 134) Moore DC, Balfour RI, Fitzgibbons D. Convulsive arterial plasma levels of bupivacaine and the response to diazepam therapy. *Anesthesiology.* 1979 May;50(5):454-6. doi: 10.1097/00000542-197905000-00013. PMID: 453563.
- 135) LARSSON, B.A., OLSSON, G.L. and LÖNNQVIST, P.A. (1994), Plasma concentrations of bupivacaine in young infants after continuous epidural infusion. *Pediatric Anesthesia*, 4: 159-162. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9592.1994.tb00152.x>

- 136) Luz G, Wieser C, Innerhofer P, Frischhut B, Ulmer H, Benzer A. Free and total bupivacaine plasma concentrations after continuous epidural anaesthesia in infants and children. *Paediatr Anaesth.* 1998;8(6):473-8. doi: 10.1046/j.1460-9592.1998.00285.x. PMID: 9836211.
- 137) Bowdle TA, Freund PR, Slattery JT. Propranolol reduces bupivacaine clearance. *Anesthesiology.* 1987 Jan;66(1):36-8. doi: 10.1097/00000542-198701000-00007. PMID: 3800032.
- 138) Griffiths DP, Diamond AW, Cameron JD. Postoperative extradural analgesia following thoracic surgery: a feasibility study. *Br J Anaesth.* 1975 Jan;47(1):48-55. doi: 10.1093/bja/47.1.48. PMID: 1148075.
- 139) Dunne NM, Kox WJ. Neurological complications following the use of continuous extradural analgesia with bupivacaine. *Br J Anaesth.* 1991 May;66(5):617-9. doi: 10.1093/bja/66.5.617. PMID: 2031825.
- 140) Magora F, Stern L, Zylber-Katz E, Olshwang D, Donchin Y, Magora A. Prolonged effect of bupivacaine hydrochloride after cuff release in i.v. regional anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1980 Nov;52(11):1131-6. doi: 10.1093/bja/52.11.1131. PMID: 7426218.
- 141) Ross RA, Clarke JE, Armitage EN. Postoperative pain prevention by continuous epidural infusion. A study of the clinical effects and the plasma concentrations obtained. *Anaesthesia.* 1980 Jul 7;35(7):663-8. doi: 10.1111/j.1365-2044.1980.tb03881.x. PMID: 7435935.
- 142) Scott DB. Evaluation of the toxicity of local anaesthetic agents in man. *Br J Anaesth.* 1975 Jan;47(1):56-61. doi: 10.1093/bja/47.1.56. PMID: 1096908.
- 143) Dureau P, Charbit B, Nicolas N, Benhamou D, Mazoit JX. Effect of Intralipid® on the Dose of Ropivacaine or Levobupivacaine Tolerated by Volunteers: A Clinical and Pharmacokinetic Study. *Anesthesiology.* 2016 Sep;125(3):474-83. doi: 10.1097/ALN.0000000000001230. PMID: 27404223.
- 144) Kopacz DJ, Allen HW. Accidental intravenous levobupivacaine. *Anesth Analg.* 1999 Oct;89(4):1027-9. doi: 10.1097/00000539-199910000-00038. PMID: 10512284.
- 145) Ryan DW. Accidental intravenous injection of bupivacaine: a complication of obstetrical epidural anaesthesia. Case report. *Br J Anaesth.* 1973 Aug;45(8):907-8. doi: 10.1093/bja/45.8.907. PMID: 4753689.
- 146) Yamashiro H. Bupivacaine-induced seizure after accidental intravenous injection, a complication of epidural anesthesia. *Anesthesiology* 1977; 47: 472-473
- 147) Fagenholz PJ, Bowler GM, Carnochan FM, Walker WS. Systemic local anaesthetic toxicity from continuous thoracic paravertebral block. *Br J Anaesth.* 2012 Aug;109(2):260-2. doi: 10.1093/bja/aes126. Epub 2012 May 11. PMID: 22581806.

- 148) Güngör İ, Akbaş B, Kaya K, Çelebi H, Tamer U. Sudden developing convulsion during interscalene block: Does propofol anesthesia diminish plasma bupivacaine level? *Agri*. 2015;27(1):54-7. doi: 10.5505/agri.2015.82160. PMID: 25867875.
- 149) Hasselstrøm LJ, Mogensen T. Toxic reaction of bupivacaine at low plasma concentration. *Anesthesiology*. 1984 Jul;61(1):99-100. PMID: 6742492.
- 150) Rosenberg PH, Kalso EA, Tuominen MK, Lindén HB. Acute bupivacaine toxicity as a result of venous leakage under the tourniquet cuff during a Bier block. *Anesthesiology*. 1983 Jan;58(1):95-8. doi: 10.1097/00000542-198301000-00014. PMID: 6848022.
- 151) Moore DC, Thompson GE, Crawford RD. Long-acting local anesthetic drugs and convulsions with hypoxia and acidosis. *Anesthesiology*. 1982 Mar;56(3):230-2. doi: 10.1097/00000542-198203000-00020. PMID: 7059040.
- 152) Maxwell LG, Martin LD, Yaster M. Bupivacaine-induced cardiac toxicity in neonates: successful treatment with intravenous phenytoin. *Anesthesiology*. 1994 Mar;80(3):682-6. doi: 10.1097/00000542-199403000-00028. PMID: 8141465.
- 153) Wood CE, Goresky GV, Klassen KA, Kuwahara B, Neil SG. Complications of continuous epidural infusions for postoperative analgesia in children. *Can J Anaesth*. 1994 Jul;41(7):613-20. doi: 10.1007/BF03010002. PMID: 8087910.
- 154) Freid EB, Bailey AG, Valley RD. Electrocardiographic and hemodynamic changes associated with unintentional intravascular injection of bupivacaine with epinephrine in infants. *Anesthesiology*. 1993 Aug;79(2):394-8. doi: 10.1097/00000542-199308000-00029. PMID: 8342851.
- 155) Scott DB, Lee A, Fagan D, Bowler GM, Bloomfield P, Lundh R. Acute toxicity of ropivacaine compared with that of bupivacaine. *Anesth Analg*. 1989 Nov;69(5):563-9. PMID: 2679230.
- 156) Di Gregorio G, Neal JM, Rosenquist RW, Weinberg GL. Clinical presentation of local anesthetic systemic toxicity: a review of published cases, 1979 to 2009. *Reg Anesth Pain Med*. 2010 Mar-Apr;35(2):181-7. doi: 10.1097/aap.0b013e3181d2310b. PMID: 20301824.
- 157) Stark A, Smith PB, Hornik CP, Zimmerman KO, Hornik CD, Pradeep S, Clark RH, Benjamin DK Jr, Laughon M, Greenberg RG. Medication Use in the Neonatal Intensive Care Unit and Changes from 2010 to 2018. *J Pediatr*. 2022 Jan;240:66-71.e4. doi: 10.1016/j.jpeds.2021.08.075. Epub 2021 Sep 2. PMID: 34481808; PMCID: PMC9394450.
- 158) Riou S, Plaisant F, Maucourt Boulch D, Kassai B, Claris O, Nguyen KA. Unlicensed and off-label drug use: a prospective study in French NICU. *Acta Paediatr*. 2015 May;104(5):e228-31. doi: 10.1111/apa.12924. Epub 2015 Mar 9. PMID: 25669964.



- 159) Autmizguine J, Benjamin DK Jr, Smith PB, Sampson M, Ovetchkine P, Cohen-Wolkowicz M, Watt KM. Pharmacokinetic studies in infants using minimal-risk study designs. *Curr Clin Pharmacol*. 2014;9(4):350-8. doi: 10.2174/1574884709666140520153308. PMID: 24844642; PMCID: PMC4703884.
- 160) Howie SR. Blood sample volumes in child health research: review of safe limits. *Bull World Health Organ*. 2011;89(1):46-53. doi:10.2471/BLT.10.080010
- 161) Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology. *Journal of Analytical Toxicology*, 2013. 37(7), 452-74.
- 162) Recommended guidelines, statements and procedures of ČSARIM in 2012 webpage: <https://www.csarim.cz/dokumenty/doporucene-postupy-a-stanoviska>
- 163) Universita Masarykova, Katedra aplikované matiky, Statistika, materiály dostupné online na stránce: <https://mathstat.econ.muni.cz/materialy/statistika>
- 164) Sipek J, Pokorna P, Sima M, Berka I, Hlozek T, Styblova J, Mixa V, Nedomova B. Plasma concentrations of levobupivacaine in neonates during caudal epidural analgesia maintained over 48 hours. *Bratisl Lek Listy*. 2023;124(2):116-120. doi: 10.4149/BLL\_2023\_018. PMID: 36598299.
- 165) Sipek J, Pokorna P, Sima M, Styblova J, Mixa V. Disposition of levobupivacaine during intraoperative continuous caudal epidural analgesia in a preterm neonate. *BiomedPap Med FacUnivPalacky Olomouc Czech Repub*. 2024 Mar;168(1):81-84. doi: 10.5507/bp.2023.047. Epub 2023 Nov 22. PMID: 37997373.
- 166) Satas S, Johannessen SI, Hoem NO, Haaland K, Sørensen DR, Thoresen M. Lidocaine pharmacokinetics and toxicity in newborn pigs. *Anesth Analg*. 1997 Aug;85(2):306-12. doi: 10.1097/00000539-199708000-00012. PMID: 9249105.
- 167) Simon L, Kariya N, Edouard A, Benhamou D, Mazoit JX. Effect of bupivacaine on the isolated rabbit heart: developmental aspect on ventricular conduction and contractility. *Anesthesiology*. 2004 Oct;101(4):937-44. doi: 10.1097/00000542-200410000-00019. PMID: 15448527.

## 10. Přehled publikační činnosti

### **Původní vědecké práce, které jsou podkladem této disertační práce**

- 1) Sipek J, Pokorna P, Sima M, Styblova J, Mixa V. Disposition of levobupivacaine during intraoperative continuous caudal epidural analgesia in a preterm neonate. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2023 Nov 22. doi: 10.5507/bp.2023.047. Epub ahead of print. PMID: 37997373. **(IF 0,7)**
- 2) Sipek J, Pokorna P, Sima M, Berka I, Hlozek T, Styblova J, Mixa V, Nedomova B. Plasma concentrations of levobupivacaine in neonates during caudal epidural analgesia maintained over 48 hours. Bratisl Lek Listy. 2023;124(2):116-120. doi: 10.4149/BLL\_2023\_018. PMID:36598299. **(IF 1,5)**
- 3) Sipek J., Mixa V. Současný pohled na kaudální epidurální blokády u dětí a jejich komplikace. Anest. Intenziv. Med. 2016, 27, pps 7886 **(přehledový článek, bez IF)**
- 4) MIXA, Vladimír, Ivan BERKA a Jan ŠÍPEK. Techniky epidurální analgezie u dětí nejtělejšího věku. Postgraduální medicína. 2018, 20(5), 447-452. ISSN 1212-4184. Dostupné také z: <http://zdravi.euro.cz/archiv/postgradualni-medicina/> **(bez IF)**

### **Publikační činnost, která není podkladem této disertační práce**

- 1) Klocperk A, Bloomfield M, Parackova Z, Zentsova I, Vrabcova P, Balko J, Meseznikov G, Casas Mendez LF, Grandcourtova A, Sipek J, Tulach M, Zamecnik J, Vymazal T, Sediva A. Complex Immunometabolic Profiling Reveals the Activation of Cellular Immunity and Biliary Lesions in Patients with Severe COVID-19. J Clin Med. 2020 Sep 17;9(9):3000. doi: 10.3390/jcm9093000. PMID: 32957548; PMCID: PMC7565504. **(IF 3,9)**
- 2) Tomáš Vymazal a kolektiv autorů (Jan Šípek je jedním z kolektivu autorů) *Naléhavé situace na operačním sále aneb Co dělat když.* Nakladatel: Karolinum, Datum vydání 1.1.2018, počet stran 196 ISBN: 978-80-246-3901-7

## **Přednášky a plakátová sdělení na odborných setkáních**

**EuroELSO 2024** – 24th–27th, April, Krakow, Poland, poster: Perioperative low molecular weight heparin (Enoxaparin) - an alternative anticoagulation for ECMO during lung transplantation (Jan Šípek je jedním z kolektivu autorů)

**SESAM Lisbon 2023**, 28th Annual Meeting of the Society for Simulation in Europe, 14-16.6 2023, Lisabon, Portugalsko, prezentace: In-Situ Simulation – the Practical Way to Implement a New System of Detecting Latent Safety Threats

**XIV. Konference AKUTNĚ.CZ (2022)**, 19.11., Brno, prezentace: In-situ simulace na cestě k hledání Safety Gaps

**Vědecká konference 2. LF UK 2020**, 1.-2.10., FN v Motole, Praha, poster: Farmakokinetika a farmakodynamika levobupivacainu během kontinuální kaudální epidurální analgezie u novorozenců (LEVON) (Epidurální analgezie novorozenců — Risk, či nová změna SPC?)

**Univerzita 3. Věku na 2. LF UK ve Fakultní nemocnici v Motole**, od 2021, Praha, Přednáška: Anestezie včera a dnes