



Poznań, 13.04.2019 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. med. Natalii Ignaszak-Kauss

pt. „Ocena zależności występowania nudności, wymiotów oraz bólu pooperacyjnego po laparoskopii i histeroskopii ginekologicznej od stężeń estradiolu, progesteronu, serotoniny oraz polimorfizmu genów ich receptorów”

wykonanej w Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

promotor: prof. dr hab. Piotr Jędrzejczak

Ból pooperacyjny, nudności oraz wymioty występują u ok. 30% pacjentów w populacji ogólnej. Stanowią one nie tylko poważny problem kliniczny, ale także społeczny i ekonomiczny. Wspomniane powyżej dolegliwości pooperacyjne istotnie wpływają na koszty leczenia szpitalnego zarówno poprzez wydłużenie czasu hospitalizacji, jak i wyższy stopień zużycia leków przeciwbólowych i przeciwwymiotnych.

Leczenie chirurgiczne wiąże się z dużym obciążeniem emocjonalnym dla pacjenta wyzwalającym często uczucie lęku. Nasilony niepokój chorego może powodować zwiększoną liczbę powikłań m. in. nudności, wymioty czy ból pooperacyjny. Według dostępnych danych literaturowych ryzyko wystąpienia lęku w okresie okołoperacyjnym jest determinowane m.in. przez czynniki biologiczne tj. płeć. Wykazano, że kobiety są bardziej podatne na jego wystąpienie. Ponadto zaobserwowano, że nudności, wymioty oraz ból pooperacyjny pojawia się u ok. 70% kobiet w wieku rozrodczym. W świetle powyższych danych chciałabym podkreślić trafność wyboru tematu rozprawy doktorskiej i celu pracy oraz przyjętych przez Autorkę założeń.

Przedstawiony do recenzji manuskrypt posiada klasyczny układ, typowy dla rozpraw doktorskich. Struktura pracy została podzielona na sześć głównych rozdziałów, w skład

których wchodzi: (1) wstęp, (2) cel pracy, (3) materiał i metody, (4) wyniki, (5) dyskusja oraz (6) wnioski. Na końcu rozprawy Doktorantka zawarła streszczenie w języku polskim i angielskim, suplement, wykorzystane dane źródłowe oraz spis przedstawianych tabel, wykresów i rycin.

Wstęp pracy został podzielony na 11 podrozdziałów, w których Autorka opisuje dolegliwości pooperacyjne jako istotny problem kliniczny. W pierwszej części rozdziału przybliżona została tematyka dotycząca przyczyn oraz leczenia nudności i wymiotów. Doktorantka odnosi się następnie do genezy bólu rozwijającego się po zabiegu oraz jego leczenia. Ostatnie podrozdziały wstępu zostały poświęcone roli hormonów tj. estrogeny, progesteron czy serotonina w występowaniu dolegliwości pooperacyjnych.

Przyczyną wymiotów są m.in. ból oraz użyte środki przeciwbólowe i znieczulające, a ich nasilenie zależy od rodzaju przeprowadzonej operacji. Zabiegi ginekologiczne, a zwłaszcza laparoskopowe, uważane są za jedne z największych czynników ryzyka wystąpienia nudności i wymiotów pooperacyjnych, co uzasadnia słuszność przeprowadzonych badań w ramach rozprawy doktorskiej. Autorka pracy opisuje sposób leczenia wyżej wspomnianych dolegliwości pooperacyjnych, przedstawiając także działania niepożądane stosowanych ksenobiotyków. Tym samym podkreśla jak ważną rolę odgrywa profilaktyka nudności i wymiotów występujących po zabiegu. Ponadto, Doktorantka omawia schemat pobudzenia odruchu wymiotnego z uwzględnieniem dośrodkowych dróg przewodzenia i aktywacji receptorów (m.in. serotoninowych), co z mojego punktu widzenia, stanowi cenne uzupełnienie omawianej tematyki.

Ból pooperacyjny definiowany jest jako reakcja organizmu na uszkodzenie tkanek i narządów, wynikająca z manipulacji w obrębie pola operacyjnego. Dolegliwości bólowe opóźniają rekonwalescencję chorego, utrudniając proces gojenia ran oraz mobilizację pacjenta po zabiegu. Wykazano również, że sprzyjają one powikłaniom zakrzepowo-zatorowym oraz powodują wzrost ciśnienia tętniczego. Doktorantka w zakresie zagadnienia bólu występującego po zabiegu opisuje schemat drogi jego przewodzenia oraz sposoby leczenia. Autorka pracy podkreśla również, że zarówno profilaktyka, jak i leczenie oparte wyłącznie na farmakologicznym zmniejszaniu bólu posiada wiele wad, związanych głównie z działaniami niepożądanymi leku, możliwością przedawkowania, a także dłuższą eliminacją jego toksycznych metabolitów. W ten sposób przekonuje ponownie czytelnika co do trafności wyboru podjętej tematyki rozprawy doktorskiej.

W ostatnich podrozdziałach wstępu opisano grupę hormonów mogących mieć wpływ na rozwój dolegliwości pooperacyjnych: estrogeny, progesteron i serotoninę. Ponadto

Doktorantka scharakteryzowała ich receptory oraz polimorfizmy genów je kodujących. W ostatnich latach, coraz częściej przedmiotem prowadzonych badań jest ocena związku pomiędzy częstością występowania polimorfizmu w genach wspomnianych powyżej receptorów a obrazem klinicznym różnego rodzaju jednostek chorobowych. Jak dotąd, nie ma dostępnych danych literaturowych na temat wpływu tych polimorfizmów na występowanie dolegliwości pooperacyjnych, co stanowiło podstawę do ich analizy w ramach rozprawy doktorskiej.

Cel pracy został sformułowany prawidłowo i w całości oddaje on treść oraz założenia rozprawy. Autorka sformułowała także cele szczegółowe, odnoszące się zarówno do badań podstawowych, jak i klinicznych.

Kolejny rozdział pracy doktorskiej stanowi Materiał i Metody. W pierwszych podrozdziałach Doktorantka opisuje dobór grupy badawczej. W mojej opinii na szczególną uwagę zasługuje duża grupa chorych włączonych do badania. Grupę badaną stanowiło 300 pacjentek poddanych histero-laparoskopii ginekologicznej w Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Kolejne podrozdziały dotyczą metodologii badań i obejmują opis przeprowadzonej analizy stężeń hormonów oraz analizy genetycznej, na którą składała się izolacja DNA, jego jakościowa i ilościowa ocena, a także reakcja łańcuchowa polimerazy i polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP). Dane dotyczące badanych polimorfizmów, sekwencji starterów do amplifikacji genów, składu mieszanin reakcyjnych, warunków dla poszczególnych etapów reakcji PCR, składów mieszanin do hydrolizy produktu PCR, wielkości fragmentów DNA po hydrolizie oraz zastosowanych przez Doktorantkę enzymów restrykcyjnych zostały zestawione w formie sześciu tabel. Bardzo pomocne dla czytelnika jest również graficzne przedstawienie schematów oznaczenia stężenia 17- β estradiolu oraz serotoniny, co ułatwia zrozumienie sekwencyjności poszczególnych procedur badawczych. Podsumowując, uważam, że metody wykorzystane do realizacji ocenianej pracy doktorskiej stanowią gwarancję uzyskania w pełni wiarygodnych wyników.

Rozdział Wyniki został podzielony na cztery podrozdziały i przedstawia charakterystykę danych klinicznych pacjentek, zależność dolegliwości pooperacyjnych od wieku, BMI, fazy cyklu miesięczkowego oraz stężenia estradiolu, progesteronu i serotoniny. Na końcu rozdziału Autorka pracy przedstawia szczegółowe wyniki dotyczące wpływu polimorfizmów genów kodujących receptory serotoninowe, estrogenowy i progesteronowy na nasilenie nudności, wymiotów oraz bólu pooperacyjnego.

W rozdziale Dyskusja Doktorantka podejmuje w sposób bardzo przemyślany i usystematyzowany polemikę z dostępnymi danymi literaturowymi, które zostały opublikowane przez innych autorów głównie z zagranicznych ośrodków naukowych. Sposób prowadzenia dyskusji przez lek. med. Natalię Ignaszak-Kauss świadczy o Jej dobrej znajomości zagadnienia oraz dowodzi dużej zdolności do analizowania wyników z przeprowadzonych badań. Wszystkie te elementy wskazują jednoznacznie na dużą dojrzałość naukową Doktorantki.

Przeprowadzenie wielu badań oraz ich dobrze udokumentowane wyniki pozwoliły Autorce na postawienie pięciu poprawnie sformułowanych wniosków, które odpowiadają wcześniejszym założeniom i celom szczegółowym przedstawionym w pracy.

Rozprawa doktorska, podobnie jak każda inna praca naukowa, zawiera również elementy dyskusyjne, które wymagają dodatkowych wyjaśnień. Na str. 30 Autorka pisze: „Prezentowana rozprawa doktorska jest próbą poszukiwania nowych, dotąd nie zidentyfikowanych wariantów genetycznych, mogących przyczynić się do zwiększonego ryzyka pojawienia się PONV i bólu pooperacyjnego”. W moim odczuciu jest to nieuprawnione stwierdzenie, ponieważ- jak wynika po analizie wstępu i celu pracy- Doktorantka podjęła się analizy znanych już wcześniej polimorfizmów występujących w przypadku innych jednostek chorobowych. Jeśli nie, to proszę o podanie, które z nich zostały po raz pierwszy zidentyfikowane przez Doktorantkę. Niestety nie uczyniła tego Autorka również w celu pracy. Uważam, że przytoczenie w tym miejscu danych literaturowych i napisanie krótkiego komentarza dotyczącego wyboru poszczególnych polimorfizmów z grupy wcześniej omawianych we wstępie rozprawy przekonałoby bardziej czytelnika co do konieczności ich analizy.

Czuję również pewien niedosyt w odniesieniu do stwierdzenia (str. 22) „Potwierdzenie roli polimorfizmów genu receptora ESR1 w patogenezie wielu schorzeń, budzi nadzieję, że mogą one też mieć istotne znaczenie w nasileniu nudności, wymiotów i bólu pooperacyjnego”, jak i całego podrozdziału „Polimorfizm receptorów analizowanych w badaniu” (str. 29-30). Uważam, że w aspekcie badań genetycznych jest to zbyt ogólne ujęcie zagadnienia, które Doktorantka mogła poszerzyć o przeprowadzenie analiz bioinformatycznych *in silico*.

Z obowiązku recenzenta muszę również zwrócić uwagę na pewne drobne niezręczności, błędy czy nieścisłości, które napotkałam podczas analizy rozprawy:

- materiał i metody, str. 35, „...oznaczenia stężeń hormonów wykonywano na bieżąco...” proszę o wyjaśnienie przez Doktorantkę w jakim czasie od momentu pobrania krwi wykonywano analizy,

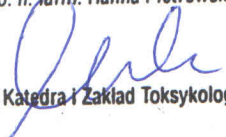
- Doktorantka często pisze w pracy, że analizowała polimorfizm receptorów estrogenowego, progesteronowego oraz serotoninowych podczas gdy jest to polimorfizm genów kodujących powyższe receptory bowiem wykonywała badania na poziomie DNA, a nie białka,
- termin „reakcja łańcuchowej polimerazy” uważam za błędny, stosowana przez Doktorantkę reakcja PCR nazywana jest w języku polskim reakcją łańcuchową polimerazy,
- zamiast stosowanych przez Autorkę terminów „objawy uboczne” czy „efekty uboczne” proponowałabym „działania niepożądane”,
- sformułowania tj. „bodziec wędruje dalej...” ,”zwijanie się białek..”, „autorzy z Hiszpanii przedstawili...”, „ciekawą pracę opublikował.”, „...warianty genetyczne genu tego enzymu..” nie powinny być używane w języku naukowym.

Przedstawione powyżej uwagi nie wpływają oczywiście na pozytywną ocenę merytoryczną recenzowanej pracy.

W podsumowaniu, należy stwierdzić, iż Doktorantka wykazała się dużą samodzielnością naukową i umiejętnością wyciągania z przeprowadzonych analiz poprawnych wniosków. Pragnę również podkreślić, że praca doktorska charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. W ocenianej pracy lek. med. Natalii Ignaszak-Kauss doświadczenia zostały poprawnie zaplanowane i wykonane, a uzyskane wyniki przyczyniają się do lepszego poznania omawianej tematyki. Dlatego też, praca doktorska stanowi cenne uzupełnienie dostępnego piśmiennictwa naukowego, stanowiąc zarazem podstawę do kontynuowania badań w tej tematyce.

W mojej ocenie przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Natalii Ignaszak-Kauss spełnia wszystkie ustawowe warunki i kryteria, jakim powinna odpowiadać praca na stopień doktora nauk medycznych. Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. med. Natalii Ignaszak-Kauss do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. farm. Hanna Piotrowska-Kempisty



Katedra i Zakład Toksykologii UMP