Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Kraków 03.03.2020

Prof. dr hab. n. med. Joanna Mika
Zakład Farmakologii Bólu
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
mgr Barbary Kościelniak-Merak
zatytułowanej
"The biochemical assessment of postoperative pain modulators in children undergoing extensive spinal surgeries"

„Biochemiczna ocena modulatorów bólu pooperacyjnego u dzieci po przebytych rozległych zabiegach w obrębie kręgosłupa"

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr Barbary Kościelniak-Merak wykonana pod kierunkiem Pana dr hab. n. med. Przemysława Tomasika prof. UJ bardzo dobrze wpisuje się w tematykę badawczą Promotora. Ból jest najczęstszym objawem występującym w medycynie, spełnia zarówno rolę ostrzegawczo-obronną, jak i jest sygnałem potencjalnego zagrożenia, wyzwala odruchową odpowiedź organizmu w celu ograniczenia do minimum skutków uszkodzenia. Ból pooperacyjny jest rodzajem bólu ostrego, a u podstaw jego odczuwania i uświadamiania leży nocycepcja. Jak słusznie w swojej pracy zauważa Doktorantka w ten proces zaangażowane są liczne i wciąż słabo poznane modulatory bólu o charakterze zarówno inhibitorów jak i induktorów, które są uwalniane miejscowo i systemowo. W świetle powyższych danych, tematyka przedstawionej do oceny pracy doktorskiej Pani mgr Barbary Kościelniak-Merak wydaje się bardzo aktualna. Doktorantka postawiła dwie istotne hipotezy: po pierwsze, że cytokiny prozapalne, kanabinoidy i opioidy uczestniczą w patomechanizmie bólu pooperacyjnego u pacjentów pediatrycznych, a po drugie, że ich modulacja poprzez okołooperacyjne padania lidokainy korzystnie wpływa na transmisję nocyceptywną.

Przedstawiona do oceny praca składa się z dwóch zasadniczych fragmentów. Pierwsza część to kilka rozdziałów takich jak: Wprowadzenie; Opis projektu zawierający wstęp, główne założenia oraz metodykę; Podsumowanie; Wnioski; Streszczenie w języku polskim i angielskim, oraz Spis literatury (73 starannie dobrane pozycje piśmiennictwa), a także wykaz skrótów. W drugiej części zamieszczono cykl prac stanowiących podstawę postępowania doktorskiego, składający się z 4 oryginalnych publikacji. Doktorantka przedstawiła niezbędne oświadczenia, że współautorzy wszystkich prac wyrazili zgodę na ich wykorzystanie w przewodzie doktorskim. Ponadto, w pracy doktorskiej zostały zaprezentowane uchwały Komisji Bioetycznych, dzięki którym możliwe było przeprowadzenie badań. Logiczny układ pracy, poprawny styl, właściwe cytowanie literatury, a także, choć może zbyt krótkie omówienie wyników prezentowanych w 4 oryginalnych publikacjach wskazuje na dobrze opanowaną przez Doktorantkę umiejętność pracy naukowej.

Celem pracy doktorskiej było: 1. Zidentyfikowanie czynników okołooperacyjnych predysponujących do wystąpienia u dzieci intensywnego bólu pooperacyjnego rozwijającego się po zabiegach w obrębie kośćca kręgosłupa. 2. Zbadanie zależności pomiędzy intensywnością odczuwanie bólu a zapotrzebowaniem na leki w okresie pooperacyjnym, z uwzględnieniem roli endogennych układów, w tym immunologicznego, kanabinoidowego i opioidowego. 3. Ocenienie wpływu podawania dożylnego lidokainy w okresie okołooperacyjnym na stężenie endogennych czynników nocyceptywnych u dzieci poddanych rozległym zabiegom chirurgicznym.

We Wstępie Doktorantka bardzo dobrze wprowadziła czytelnika w tematykę pracy. W pierwszej części przeglądu literaturowego skupiła się na omówieniu wybranych badanych modulatorów immunologicznych, zabrakło jednak wyjaśnienia, dlaczego z tak bogatego repertuaru immunologicznego wybrała te konkretne czynniki. W drugiej części Doktorantka słusznie wykazała, że endogenne układy kannabinoidowe i opioidowe odgrywają niezmiernie istotną i wciąż nie do końca zbadaną rolę w transmisji nocyceptywnej.

Pierwsza publikacja będąca podstawą niniejszej rozprawy doktorskiej pt. ***"Postoperative pain after spinal surgery in the paediatric population"*** została opublikowana w 2018 roku w czasopiśmie ***Anaesthesiology Intensive Therapy.*** Doktorantka przeprowadziła badania na grupie 41 dzieci, w przedziale wiekowym od 10 do 15 lat. Najwyższą intensywność bólu zaobserwowano w ciągu pierwszych 6 godzin po operacji. Doktorantka, opierając się na wynikach badań wykazała, że spadek poziomu hemoglobiny i hematokrytu, fluktuacja średniego ciśnienia tętniczego, a także całkowite stężenie białka mogą być przydatnymi

czynnikami prognostycznymi wczesnego bólu pooperacyjnego. Badania te były kontynuowane przez Doktorantkę, a uzyskane wyniki zostały opublikowane w 3 kolejnych pracach.

W drugiej publikacji ***"Intravenous, perioperatively administered lidocaine regulates serum pain modulators concentrations in children undergoing spinal surgery"*** opublikowanej w 2019 roku w czasopiśmie ***Pain Medicine***, Doktorantka analizowała wpływ okołooperacyjnego dożylnego wlewu lidokainy na poziom odczuwanego bólu oraz zmiany surowiczych stężeń mediatorów pronocyceptywnych w okresie okołooperacyjnym. Badania przeprowadzono w latach 2015-18 z udziałem 44 dzieci, które zostały poddane rozległym operacjom kręgosłupa. Połowa pacjentów otrzymała znieczulenie ogólne z dołączeniem lidokainy jako koanalgetyku. Wykazano, że w tej grupie pacjenci mieli zmniejszoną intensywność bólu zarówno w stanie spoczynku jak i podczas ruchu w pierwszych sześciu godzinach po operacji w stosunku do grupy kontrolnej, która nie otrzymała lidokainy. Ponadto, w grupie pacjentów, w której dodatkowo zastosowano lidokainę wykazano niższe stężenia czynnika wzrostu neuronów (NGF) i interleukiny 6 oraz brak zmian w poziomie białka c-Fos. W badaniach Doktorantka podjęła również próby określenia zmian białka HMGB1 (ang. *high mobility group box protein 1*), które jest mediatorem późnego stanu zapalnego. Wykazała, że średnie stężenia tego białka w okresie pooperacyjnym w grupie w której dodatkowo zastosowano lidokainę są względnie stabilne. Uzyskane wyniki są ważne i sugerują, że okołooperacyjne dożylne podawanie lidokainy w ramach znieczulenia wielomodalnego może zmniejszyć ból pooperacyjny u dzieci.

W trzeciej publikacji ***"Effect of intravenous, perioperative-administered lidocaine on serum levels of endocannabinoids and related N-acylethanolamines in children"*** opublikowanej w 2020 roku w czasopiśmie ***Minerva Anestesiologica,*** Doktorantka przedstawiła wyniki badań kontynuowanych za pomocą chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas. W tych badaniach dowiodła, że okołooperacyjne podania dożylne lidokainy odmiennie wpływają na pooperacyjne stężenia endokannabinoidów tj. anandamidu [AEA] i 2-arachidonyloglicerolu [2-AG], a także N-acyloetanoloamin tj. palmitoiloetanoloamidu [PEA] i oleoiloetanoloamidu [OEA]. W okresie pooperacyjnym wykazała znacznie wyższy poziom stężenia anandamidu oraz niższy 2-arachidonyloglicerolu w grupie pacjentów, która otrzymała znieczulenie ogólne z dołączeniem lidokainy, jako koanalgetyku. Ponadto najwyższe stężenie palmitoiloetanoloamidu zaobserwowano u tych pacjentów po sześciu godzinach od operacji. Natomiast w przypadku oleoiloetanoloamidu nie zaobserwowano znamiennych różnic statystycznych. Podsumowując, Doktorantka wykazała, że podania lidokainy przynoszą ulgę w bólu, a u podłoża tego zjawiska leży między innymi podniesiony poziom endogennego

anandamidu, który jest czynnikiem przeciwbólowym, a także obniżają poziom 2-arachidonyloglicerolu, który jest między innymi odpowiedzialny za wzrost czynników prozapalnych o właściwościach nocyceptywnych takich jak eikosanoidy. Są to bardzo cenne wyniki kliniczne wymagające dalszych wnikliwych badań. W publikacji nie uniknięto drobnej pomyłki, a mianowicie na Fig. 4 (2AG) błędnie zaznaczono znamienność statystyczną zamiast przy grupie badanej (LG) to przy grupie kontrolnej (NLG).

W czwartej publikacji ***"Impact of intravenous, perioperative-administrated lidocaine on postoperative serum levels of endogenous opioids in children"*** opublikowanej w 2019 roku w czasopiśmie ***Current Pharmaceutical Design***, Doktorantka wykazała metodą Elisa, że leczenie bólu pooperacyjnego dożylnymi podawaniami lidokainy korzystnie podnosi pooperacyjne stężenie endogennych opioidów: beta-endomorfiny, enkefaliny i dynorfiny, a ponadto co bardzo ważne zmniejsza zapotrzebowanie na morfinę w okresie pooperacyjnym u dzieci.

Podsumowując, przeprowadzone badania wymagały solidnego warsztatu metodycznego, a także nakładu pracy Doktorantki. Omówione wyżej drobne nieliczne niedociągnięcia nie umniejszają wartości przedstawionej do recenzji dysertacji, a przedstawione wyniki są niezmiernie istotne z klinicznego punktu widzenia, co jest ważnym atutem niniejszej rozprawy doktorskiej. W swoich badaniach Doktorantka wykazała, że lidokaina podana dożylnie okołooperacyjnie u pacjentów pediatrycznych korzystnie obniża ból pooperacyjny, co jest związane z jej wpływem na ważne mediatory nocyceptywne takie jak czynniki prozapalne, a także endogenne kanabinoidy i opioidy. O wysokiej wartości pracy, świadczy najlepiej fakt, że wyniki zostały opublikowane w czasopismach o łącznym Impact Factor 8,016, a także znaczącej łącznej ilości punktów MNiSzW 254. **Uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. *"The biochemical assessment of postoperative pain modulators in children undergoing extensive spinal surgeries"*, *„Biochemiczna ocena modulatorów bólu pooperacyjnego u dzieci po przebytych rozległych zabiegach w obrębie kręgosłupa"* autorstwa mgr Barbary Kościelniak-Merak spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawie doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych, dlatego mam zaszczyt wnosić do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum o dopuszczenie Pani mgr Barbary Kościelniak-Merak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Joanna Mika

Prof. dr hab. n. med. Joanna Mika