

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

**Lek. Grzegorz Anczykowski**

**ZWIĄZEK STĘŻENIA NEUROTENSYNY Z PRZEBIEGIEM I RODZAJEM ZNIECZULENIA  
ZASTOSOWANEGO U PACJENTÓW PODDAWANYCH ZABIEGOM OPERACYJNYM**

PRACA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

PROMOTORZY:

**Prof. dr hab. med. Roman Jankowski**  
**Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii**

**Dr hab. med. Zbigniew Żaba**  
**Katedra Medycyny Ratunkowej**

POZNAŃ, 2019 r.

*Składam serdeczne podziękowania Promotorom mojej pracy –  
**Panu Prof. dr. hab. med. Romanowi Jankowskiemu**  
oraz **Panu Dr. hab. med. Zbigniewowi Żabie**  
– za nieocenioną pomoc i opiekę w realizacji pracy doktorskiej.  
Dziękuję za okazaną życzliwość i zaangażowanie  
oraz mobilizowanie mnie do pracy.*

*Niniejszą pracę dedykuję mojej **Rodzinie***

# Spis treści

<b>1. Spis używanych skrótów</b> .....	6
<b>2. Wstęp</b> .....	8
2.1 Wprowadzenie .....	8
2.2 Homeostaza ustroju .....	8
2.3 Zagadnienia związane ze znieczuleniem ogólnym i przewodowym .....	11
2.4 Neurotensyna .....	13
2.5 Neurotransmitery i neuromodulatory .....	18
2.5.1 Rys historyczny .....	18
2.5.2 Oddziaływanie na układ oddechowy i układ krążenia .....	19
2.5.3 Regulacja temperatury ciała .....	23
2.5.4 Substancja P, neurotensyna i pozostałe neurotransmitery odgrywające istotną rolę w przewodnictwie bodźców bólowych .....	24
<b>3. Założenia i cele pracy</b> .....	27
3.1 Założenia .....	27
3.2 Cele pracy .....	28
<b>4. Materiał i metodyka badań</b> .....	29
4.1 Materiał kliniczny .....	29
4.2 Metody badawcze .....	31
4.3 Metody analizy statystycznej .....	34
<b>5. Wyniki badań</b> .....	36
5.1 Stężenie neurotensyny i substancji P w zależności od rodzaju znieczulenia .....	36
5.2 Korelacje pomiędzy stężeniami oznaczonych substancji – neurotensyną, substancją P i glukozą .....	39
5.3 Korelacje stężenia neurotensyny, substancji P i glukozy z wybranymi parametrami klinicznymi .....	43
5.4 <i>Korelacje zmian stężenia neurotensyny i substancji P ze zmianami ciśnienia tętniczego krwi</i> .....	50
<b>6. Dyskusja</b> .....	56

<b>7. Wnioski</b> .....	65
<b>8. Streszczenie</b> .....	66
<b>9. Streszczenie w języku angielskim</b> .....	70
<b>10. Piśmiennictwo</b> .....	74
<b>11. Spis rycin</b> .....	80
<b>12. Spis tabel</b> .....	83
<b>13. Wykaz załączników</b> .....	84

# 1. Spis używanych skrótów

5-HT – serotonina

ACH – acetylocholina

AMPA – receptor kwasu glutaminowego ( $\alpha$ -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy)

APUD – p. DNES (amine precursor uptake and decarboxylation)

Arg – arginina

ASA – skala Amerykańskiego Towarzystwa Anestezjologii (American Society of Anaesthesiology)

Asn – asparaginian

ASP – asparaginian

AT II – angiotensyna II

ATP – adenozyntrifosforan

BMI – wskaźnik masy ciała (body mass index)

BNP – mózgowy peptyd natriuretyczny

CBF – przepływ mózgowy krwi (cerebral blood flow)

CCK – cholecystokinina

CGRP – peptyd pochodny genu kalcytoniny (calcitonin gene-related peptide)

CMRO<sub>2</sub> – mózgowy zużycie tlenu (cerebral metabolic rate for oxygen)

CO – tlenek węgla

CO<sub>2</sub> – dwutlenek węgla

DAG – diacyloglicerol

DNES – rozlany system neuroendokryny (diffuse neuroendocrine system)

DOPA – dopamina

EEG – elektroencefalografia

Erk1/2 – kinazy aktywowane mitogenami (extracellular signaling – regulated kinase 1/2)

GABA –  $\gamma$ -aminomaślan

Glu – glutaminian

GLU – glutaminian

GLY – glicyna

ICP – ciśnienie wewnątrzczaszkowe (intracranial pressure)

Ile – izoleucyna

IP<sub>3</sub> – trifosforan inozytolu

Leu – leucyna

Leu – leucyna

Lys – lizyna

MAP – średnie ciśnienie tętnicze (mean arterial pressure)

NA – noradrenalina

NK-1 – receptor neurokininowy 1

NMDA – receptor kwasu glutaminowego (*N*-metylo-D-asparaginowy)

NO – tlenek azotu
NPY – neuropeptyd Y
NRS – numeryczna skala oceny natężenia bólu (numerical rating scale)
NT – neurotensyna
NT A – stężenie neurotensyny we krwi przed znieczuleniem
NT C – stężenie neurotensyny we krwi po zabiegu
NT P – stężenie neurotensyny w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem
NTsR – receptor dla neurotensyny (neurotensin receptor)
NTsR1 – receptor dla neurotensyny 1 (neurotensin receptor type 1)
NTsR2 – receptor dla neurotensyny 2 (neurotensin receptor type 2)
NTsR3 – receptor dla neurotensyny 3 (neurotensin receptor type 3)
OUN – ośrodkowy układ nerwowy
PC -1 – konwertaza prohormonalna 1
PC -2 – konwertaza prohormonalna 2
PI3K – kinaza fosfatidyloinozytolu
PIP2 – fosfatidyloinozytolu bisfosforanu
PKC – fosfokinaza C
PLC – fosfolipaza C
PMR – płyn mózgowo-rdzeniowy
P-P – znieczulenie podpajęczynówkowe
Pro – prolina
SAR – szybko adaptujące mechanoreceptory
SP – substancja P
SP A – stężenie substancji P we krwi przed znieczuleniem
SP C – stężenie substancji P we krwi po zabiegu
SP P – stężenie substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem
TNF – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor)
Tyr – tyrozyna
Tyr – tyrozyna
VIP – wazoaktywny peptyd jelitowy (vasoactive intestinal peptide)

## **2. Wstęp**

### **2.1. Wprowadzenie**

Neurotensyna jest peptydem, który występuje zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak również w układzie krążenia, oddechowym czy pokarmowym. Pełni rolę neurotransmitera i neuromodulatora. Efekt kliniczny działania neurotensyny jest wyjątkowo plejotropowy (21). Ma związek z rozwojem chorób neurologicznych i psychicznych. Bierze udział w ośrodkowym przewodzeniu bólu, reguluje ciśnienie tętnicze krwi oraz temperaturę organizmu (63). Ma zatem wpływ na parametry dynamicznie oceniane w trakcie znieczulenia, szczególnie w warunkach silnego stresu dla organizmu, jakim jest zabieg operacyjny. Czyni to ją bardzo interesującym materiałem badań w dziedzinie anestezjologii. Dotychczas nie przeprowadzono badań oceniających tego rodzaju zależności. Głównym celem pracy jest analiza stężenia neurotensyny w grupie pacjentów znieczulanych różnymi metodami do planowych zabiegów operacyjnych z powodu chorób chirurgicznych, ortopedycznych oraz ginekologicznych. Pozwoli ona odpowiedzieć na pytanie: czy i w jakim stopniu stężenie neurotensyny wpływa na zachowanie podstawowych parametrów homeostazy organizmu w trakcie znieczulenia i zabiegu operacyjnego. Równoległa analiza stężenia substancji P, peptydu o równie istotnej, złożonej roli szczególnie w przekazywaniu bólowym, wnosi nowe informacje dotyczące samej SP, jak również wykazuje istotne związki pomiędzy analizowanymi neuropeptydami.

### **2.2. Homeostaza**

Podstawą funkcjonowania ustroju jest jego zdolność do zachowania homeostazy. Oznacza ona zdolność żywego organizmu do zachowania względnej stałości parametrów fizjologicznych. Dotyczy mechanizmów środowiska wewnętrznego utrzymujących właściwy skład elektrolitowy, prężność gazów, temperaturę, zawartość substancji odżywczych (szczególnie glukozy) w stanie dynamicznej równowagi. Szczególne znaczenie ma kontrola ciśnienia tętniczego krwi, kluczowego dla zachowania odpowiedniej perfuzji narządowej celem dostarczenia tlenu i substancji odżywczych oraz usunięcia szkodliwych produktów

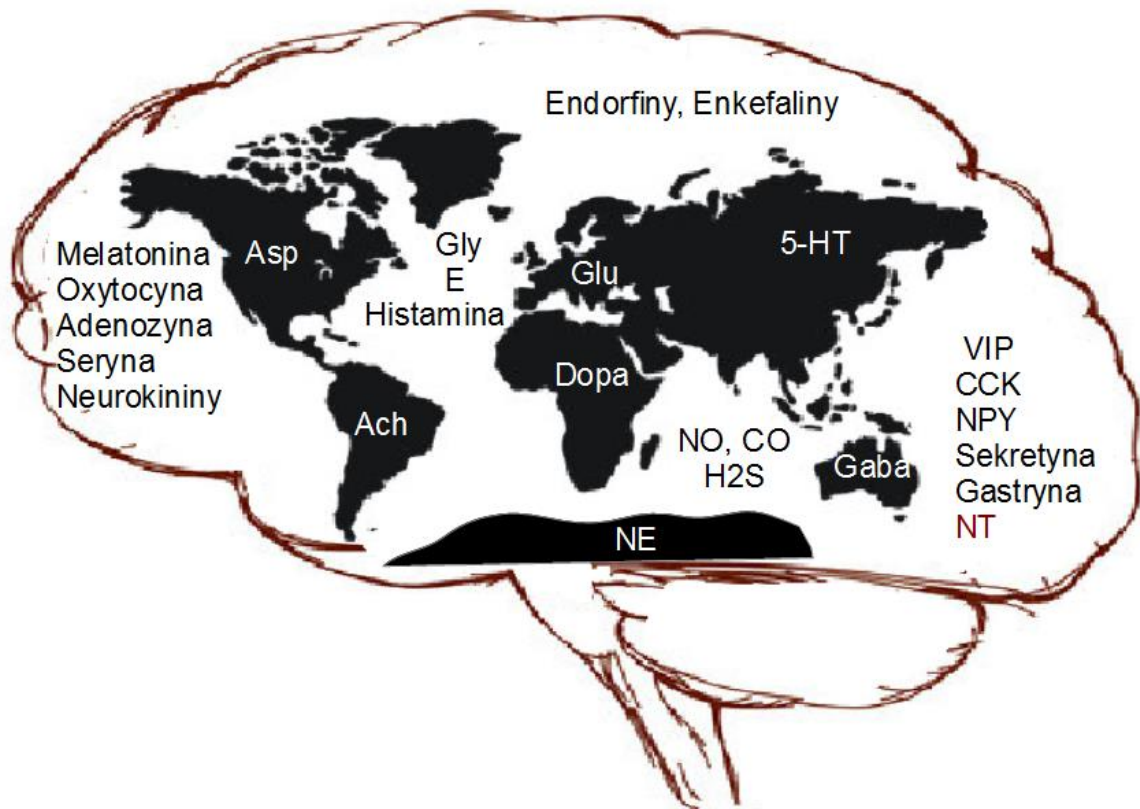


metabolizmu. Procesy utrzymujące homeostazę działają na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego. Podlegają one regulacji zarówno wewnętrznej jak i zewnętrznej. Regulacja wewnętrzna zachodzi poprzez wpływ na ekspresję określonych genów związanych m.in. z produkcją enzymów lub receptorów białkowych w błonie komórkowej. Do regulacji wewnętrznej można zaliczyć również autoregulację przepływu krwi. Regulacja zewnętrzna odbywa się natomiast za pośrednictwem trzech głównych układów regulacyjnych organizmu: nerwowego, hormonalnego oraz immunologicznego. Są one ze sobą powiązane, odbierają sygnały ze środowiska zewnętrznego i wewnętrznego. Następnie drogą układu nerwowego poprzez neurotransmitery i neuromodulatory lub drogą krwi i chłonki (hormony, czynniki aktywne immunologicznie) przekazują je wybiórczo do określonych tkanek i narządów. Funkcjonowanie układów regulacyjnych ma nadrzędny wpływ dla adaptacji i przeżycia całego organizmu.

System substancji biochemicznych, które funkcjonują jako neurotransmitery bądź modulatory sygnałów przekazywanych za pośrednictwem układu nerwowego jest niezmiernie złożony. Składa się na niego mnogość substancji biologicznie aktywnych (ryc. 1) odgrywających swoją rolę zarówno w obrębie ośrodkowego, jak również obwodowego układu nerwowego. Mają one wpływ na zachowanie homeostazy poszczególnych narządów i układów, a przez to całego organizmu. Wśród lepiej poznanych substancji stanowiących główne przekaźniki w układzie nerwowym wymienić należy: glutaminian (GLU), asparaginian (ASP),  $\gamma$ -aminomaślan (GABA), acetylocholinę (ACH), dopaminę (DOPA), glicynę (GLY), serotoninę (5-HT) czy noradrenalinę (NA). Jednak na cały system składa się dużo szersza grupa, nie w pełni poznanych odmian substancji o charakterze amin, nukleotydów, aminokwasów, białek, pochodnych kwasu arachidonowego czy wreszcie substancji gazowych jak tlenek azotu (NO) czy tlenek węgla (CO). Wymienić również należy takie neurotransmitery jak: histamina, adrenalina, wazopresyna, oksytocyna, hormony przedniego płata przysadki, adenozyne, seryna, endorfiny, enkefaliny, gastryna, sekretyna, motylina, galanina, glukagon, substancja P (SP), neurotensyna (NT), bradykinina, neuropeptyd Y (NPY), angiotensyna II (AT II), mózgowy peptyd natriuretyczny (BNP). Stanowią one przekaźniki zarówno pobudzające, jak i hamujące. Często ich działanie ma charakter modulujący przekazywanie synaptyczne (36). Nierzadko dane substancje wydzielane są również przez komórki pozostałych układów organizmu. Wiążą się z licznymi receptorami błonowymi, wywierając efekt w postaci aktywacji mechanizmów jono- lub

metabotropowych. Lepsze poznanie działania poszczególnych substancji, a przede wszystkim opis ich wzajemnych interakcji pozwoli na pełne zrozumienie procesów prowadzących do zachowania homeostazy, a przez to kluczowych dla funkcjonowania całego organizmu.

Niniejsza praca, koncentrując się na związkach stężenia neurotensyny z parametrami fizjologicznymi ustroju w warunkach naruszenia jego równowagi, pozwoli choćby w niewielkim stopniu uzupełnić ciągle niewystarczającą wiedzę dotyczącą roli neurotensyny w opisanych wyżej zależnościach.



**Rycina 1.** Wybrane neurotransmitery i neuromodulatory w obrębie OUN.

### **2.3. Zagadnienia związane ze znieczuleniem ogólnym i przewodowym**

Na homeostazę całego organizmu podczas zabiegu operacyjnego szczególnie wpływ ma choroba podstawowa na tle wszystkich chorób towarzyszących (stan ogólny chorego), ciężkość zabiegu operacyjnego (zakres ingerencji chirurgicznej), czas trwania operacji oraz sposób znieczulenia (metoda, wybór leków, sposób ich dawkowania, monitorowanie). Uraz związany z operacją powstaje bezpośrednio (poprzez naruszenie ciągłości tkanek, utratę krwi), ale również pośrednio – przez aktywację procesów zapalnych czy stymulację bólową. Stosowane przez anestezjologów leki, które pozwalają przeciwdziałać zaburzeniom homeostazy, nie są pozbawione własnych działań niepożądanych. Wywierają swój efekt na układ nerwowy, krążenia, oddechowy, endokrynnny, pokarmowy, immunologiczny, krwiotwórczy, wydalniczy itd.

W praktyce klinicznej stosuje się liczne metody pozwalające monitorować parametry fizjologiczne i laboratoryjne związane z pracą wyżej wymienionych układów. Podstawową metodą jest ciągła obserwacja kliniczna prowadzona przez anestezjologa, który używając własnych zmysłów analizuje stan pacjenta. Prowadzona jest dokładna karta przebiegu znieczulenia zawierająca zapis zmienności parametrów fizjologicznych, odpowiednie bilanse, stosowane leki. Nieodłącznie prowadzi się złożoną analizę instrumentalną, z użyciem m.in. kardiomonitorów analizujących parametry hemodynamiczne, ciśnienie w poszczególnych jamach ciała, temperaturę organizmu, nasycenie krwi tlenem (saturację), aktywność nerwowo-ruchową itd. Stosowane są analizatory gazów oddechowych, monitory parametrów oddechowych. Wykonuje się szereg badań laboratoryjnych (w tym m.in. stężenie hemoglobiny, glukozy, parametry układu krzepnięcia). W wybranych przypadkach stosuje się złożone metody ultrasonograficzne, neurofizjologiczne, obrazowe. Pozwalają one na szybkie wykrycie zaburzeń funkcjonowania określonych układów spowodowanych chorobą, operacją czy środkami znieczulenia i odpowiednią, kontrolowaną reakcją ze strony zespołu biorącego udział w operacji. Kontrola określonych parametrów fizjologicznych jest możliwa szczególnie poprzez wpływ na funkcjonowanie układu nerwowego poprzez system neuroprzekazników biorących udział w regulacji parametrów wszystkich układów organizmu (15). Wśród nich zwraca uwagę neurotensyna, która ma związek z funkcjonowaniem układów szczególnie istotnych dla stabilnego przeprowadzenia zabiegu operacyjnego (82).

Zabieg operacyjny nierozłącznie wiąże się z procedurą znieczulenia. Pełne znieczulenie ogólne składa się z wystąpienia snu, amnezji, zniesienia bólu i odruchów, jak również ze zwiótczenia mięśni poprzecznie prążkowanych. W tym celu stosuje się odpowiednie mieszaniny leków, wśród których obok dożylnego lub wziewnego anestetyku używane są analgetyki opioidowe oraz niedepolaryzujące środki zwiótczające. W znieczuleniu ogólnym stosowane leki mają wpływ na wszystkie tkanki, narządy i układy organizmu (oddechowy, krwionośny, wydalniczy itd.). Szczególne znaczenie ma wpływ środków znieczulenia ogólnego na OUN. Mechanizm tego działania nie został w pełni wyjaśniony, trwa szeroka dyskusja czy pierwszoplanowe znaczenie ma wpływ anestetyków na globalną aktywność OUN czy raczej na konkretne ośrodki znajdujące się w korze mózgowej, we wzgórzu, w podwzgórzu czy układzie limbicznym (65). W jednym i drugim przypadku szczególne znaczenie ma powinowactwo anestetyków do struktur układu siatkowatego pnia mózgu. Stosowane leki często ocenia się pod kątem ich wpływu na przepływ mózgowy krwi (CBF, cerebral blood flow), mózgowo zużycie tlenu (CMRO<sub>2</sub>, cerebral metabolic rate for oxygen) oraz na ciśnienie wewnątrzczaszkowe (ICP, intracranial pressure). Nie bez znaczenia jest wpływ leków na autoregulację mózgową oraz dynamikę produkcji i wchłaniania płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Stosowane leki działają hamująco lub pobudzająco na neurony mózgu i rdzenia kręgowego, prowadząc często do zaburzeń wyrażających się np. supresją zapisu EEG. Działają one bezpośrednio (przenikają barierę krew-mózg) bądź wtórnie do działania obwodowego (np. poprzez uwalnianie histaminy), (45).

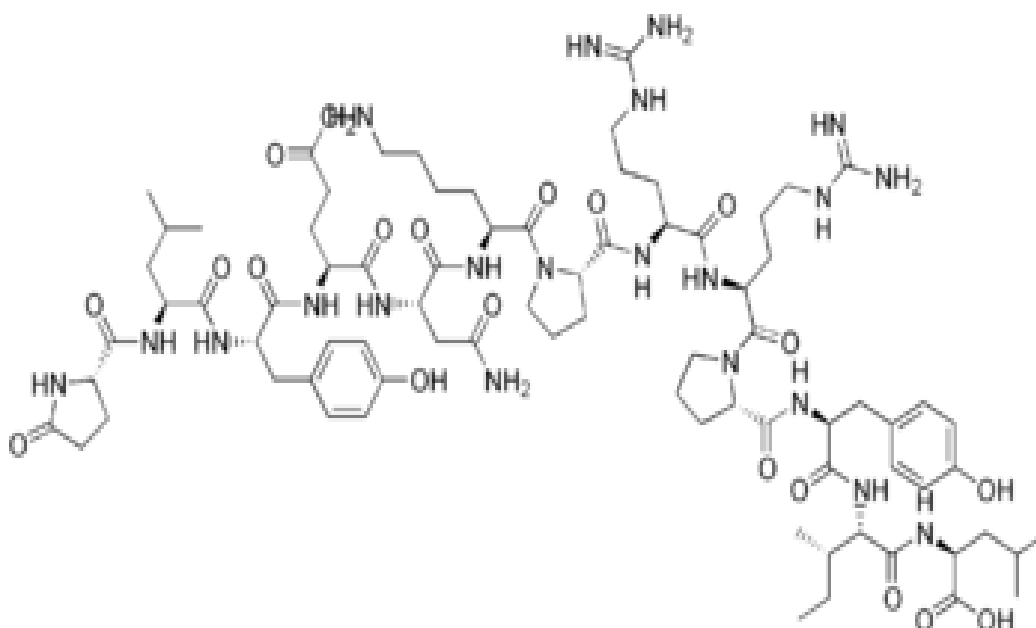
W przeciwieństwie do znieczulenia ogólnego, można przyjąć, że w znieczuleniu przewodowym anestetyk wpływa tylko na część komórek i narządów, które znajdują się w zakresie unerwienia znieczulanych włókien. Środki znieczulenia miejscowego blokują odwracalnie potencjał czynnościowy błony neuronalnej. Mają one charakter słabych zasad, w zależności od formy zdysocjowania dobrze penetrują przez lipofilne błony komórkowe a następnie ich zdysocjowane formy kationowe odpowiadają za blokadę kanałów sodowych, hamując przewodzenie impulsów nerwowych. Znikoma dawka deponowanych leków wchłania się do krążenia systemowego, działając na wszystkie pobudliwe komórki organizmu, co odpowiada za kardio- i neurotoksyczne działanie niepożądane leków stosowanych w zbyt dużych dawkach (19, 86). Mimo to, stanowią bezpieczną formę znieczulenia, która może być stosowana nawet u pacjentów z wysokim ryzykiem

okołooperacyjnym. Często używaną formą znieczulenia przewodowego są blokady centralne, w tym znieczulenie podpajęczynówkowe (P-P). Polega ono na podaniu środka miejscowo znieczulającego do przestrzeni podpajęczynówkowej kanału kręgowego i blokadzie przewodnictwa w odpowiednim zakresie w obrębie przedzwojowych włókien współczulnych, włókien przewodzących czucie bólu, temperatury, dotyku oraz włókien ruchowych. W wyniku blokady neuronów na określonym poziomie, dochodzi do zwiótnienia mięśni, rozszerzenia naczyń krwionośnych oraz do modyfikacji wydzielania neurotransmiterów na synapsach położonych zarówno obwodowo, jak i centralnie.

## 2.4. Neurotensyna

Neurotensyna (NT,  $C_{78}H_{121}N_{21}O_{20}$ ) jest peptydem składającym się z 13 aminokwasów: pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu (ryc. 2), wyizolowanym po raz pierwszy w 1973 r. z bydłęcego podwzgórza przez Carraway'a i Leeman'a (12). Wykrywana jest we krwi, w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w tkankach licznych narządów (serce, płuca, wątroba, śledziona, trzustka), (13).

### NEUROTENSYNA (NT)

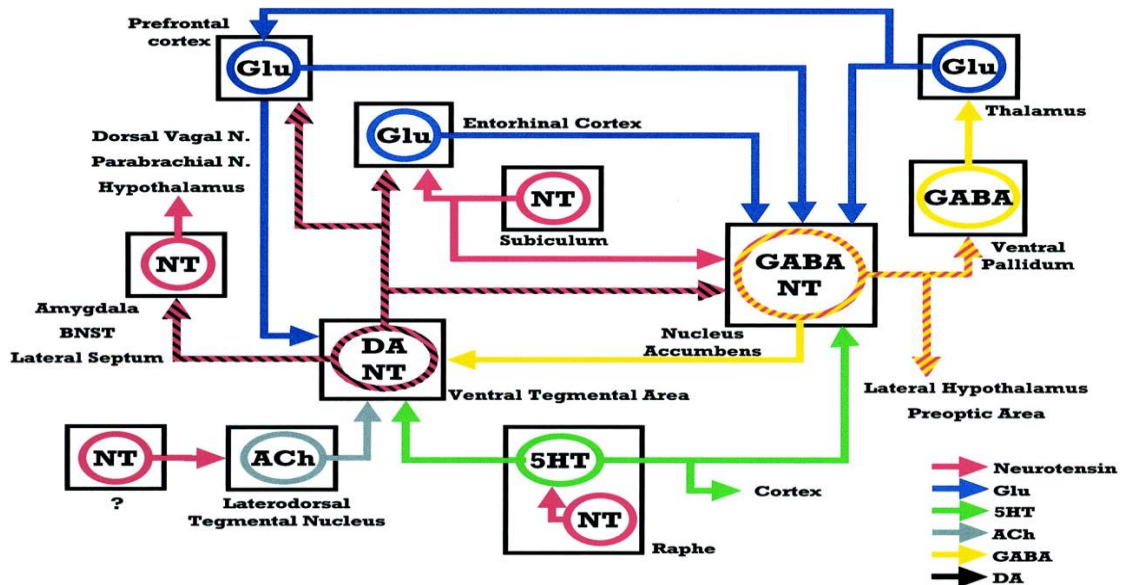


$C_{78}H_{121}N_{21}O_{20}$

pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu

**Rycina 2.** Wzór strukturalny, sumaryczny oraz sekwencja aminokwasów dla neurotensyny (14).

Gen 12q21 koduje białko prekursorowe neurotensyny, które charakteryzuje się wysoką konserwatywnością. NT produkowana jest przez neurony oraz komórki glijowe w OUN, gdzie pełni funkcję zarówno neurotransmisyjną, jak również neuromodulującą dla licznych układów biochemicznych (dopamin-, seroton-, gaba-, glutamat- i cholinergicznego), (7), (ryc.3).



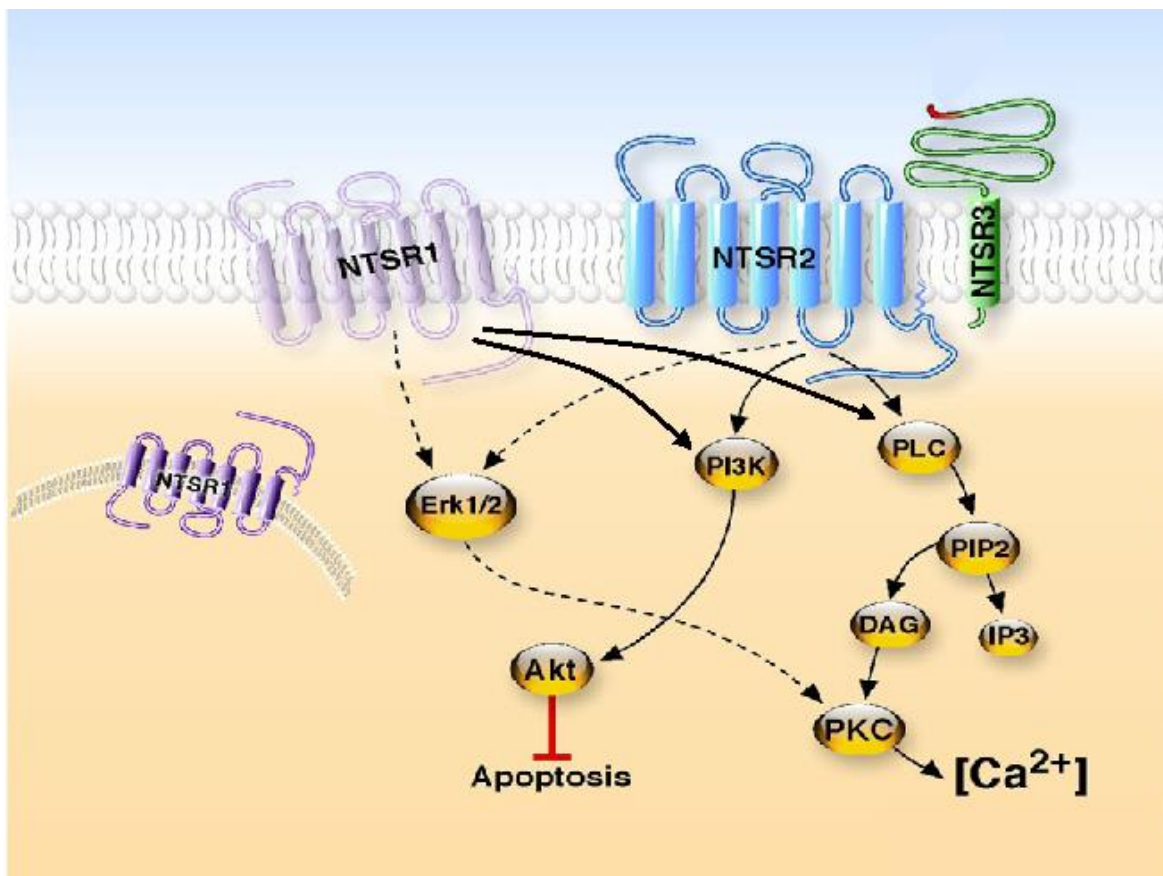
**Rycina 3.** Schemat interakcji NT z pozostałymi układami neuroregulacji w obrębie OUN (7).

NT ponadto wykazuje działanie hormonalne w obrębie jelita cienkiego. W przewodzie pokarmowym wytwarzana jest w komórkach neuroendokrynych błony śluzowej jelita cienkiego (neurohormon), (2). Podobnie jak wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP, vasoactive intestinal peptide), somatostatyna, cholecystokina, neuropeptyd Y, bombezyna, substancja P, motylina, oreksyna, grelina, gastryna, peptyd żołądkowo-jelitowy, pankreatostatyna, neurokinina A i B, kalcytonina, chromogranina, gonadoliberyna, kortykoliberyna, tyreoliberyna, oksytocyna lub wazopresyna, NT jest produkowana również przez komórki neuroendokryne osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, w sercu czy płucach. W obrębie OUN NT aktywowana jest przez konwertazy prohormonalne PC-1 i PC-2 (prohormone convertase 1 i 2). W wyniku ich działania powstaje również neuromedyna N, mająca podobne właściwości do neurotensyny, jednak wykazująca mniejszą aktywność biologiczną. NT magazynowana jest wewnątrzkomórkowo w pęcherzykach endocytarnych – gęstych ziarnistościach, podobnie do wazopresyny, neuropeptydu Y czy substancji P. Uwalniana jest pod wpływem napływu jonów  $Ca^{++}$  na skutek zmian potencjału błonowego komórek (35).



Wśród bodźców stymulujących produkcję należy wymienić: zaburzenia homeostazy ustroju (zmiany temperatury, ciśnienia krwi), ból, stres, posiłek, stan zapalny, choroby neurodegeneracyjne, psychiczne, nowotwory OUN. NT uwalniana jest do przestrzeni synaptycznej, gdzie wywiera swój efekt, po czym jest rozkładana i zarazem dezaktywowana przez endopeptydazy (głównie endopeptydazę 24.16 i endopeptydazę 24.15).

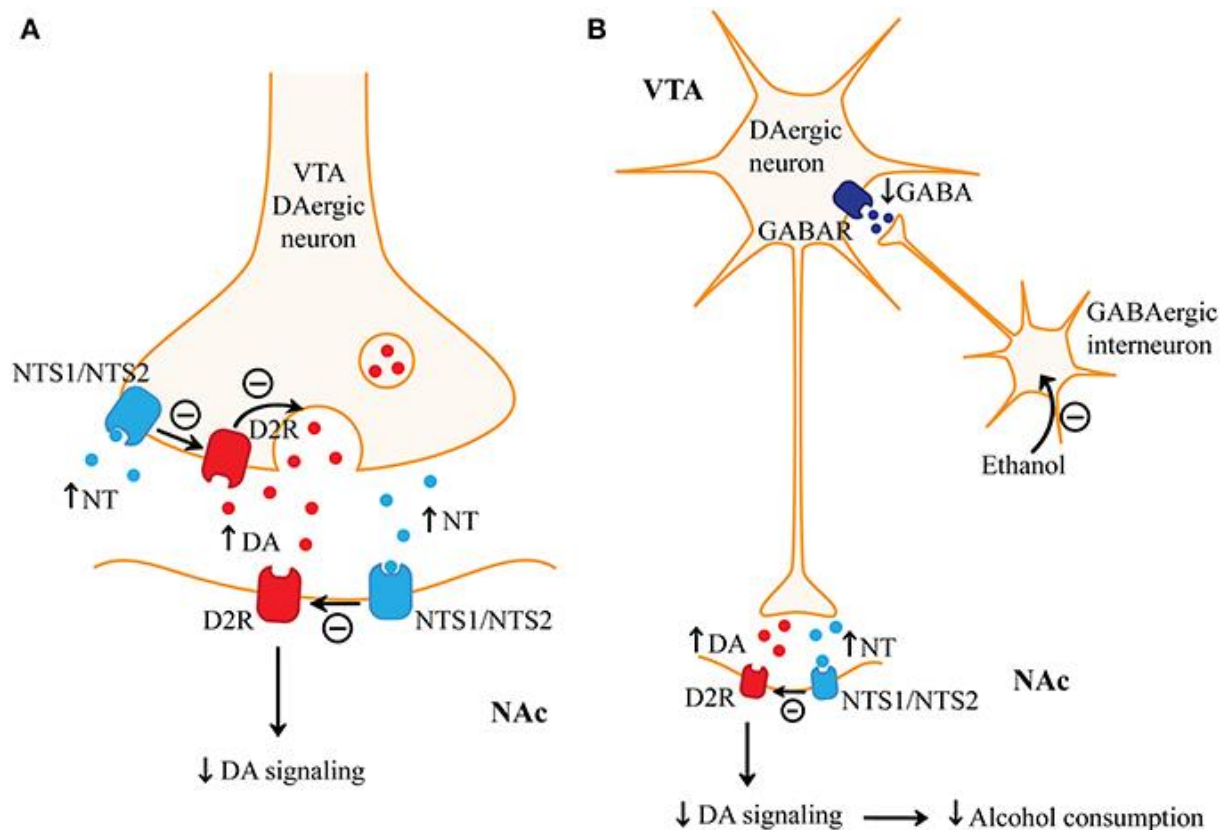
Wyróżniamy 3 podstawowe typy receptorów dla neurotensyny (NTsR1, NTsR2, NTsR3, neurotensin receptor type 1, 2, 3), (85), (ryc. 4).



**Rycina 4.** Receptory dla neurotensyny: NTSR 1, NTSR 2, NTSR 3 (57).

Najbardziej rozpowszechnionym z nich jest NTsR1, który podobnie do NTsR2 składa się z 7 transbłonowych jednostek lipidowych połączonych z glikoproteinowymi łańcuchami zlokalizowanymi wewnątrz- i zewnątrzkomórkowo. NTsR3 różni się znacznie od wcześniej wymienionych, jest dużo prostszy w budowie, jego rola wydaje się ograniczona, jednak nie do końca poznana, może mieć związek z działaniem przeciwbólowym neurotensyny (NTsR1 i NTsR2 są zazwyczaj sprzężone ze szlakami metabolicznymi białka G bądź

fosfatydyloinozytolu, w efekcie czego NT powoduje wzrost przewodności dla nieselektywnych kanałów jonowych, który prowadzi do depolaryzacji komórek, przy większym stężeniu mogąc ostatecznie spowodować blok depolaryzacyjny (84). Ponadto zmniejszenie przewodności dla dokomórkowych kanałów potasowych prowadzi w nieco dłuższym oknie czasowym do powolnej depolaryzacji neuronów postsynaptycznych. Innym przykładem mechanizmu molekularnego działania NT jest bezpośrednia interakcja allosteryczna kompleksu NT-NTsR1 z receptorem dopaminowym D2 zmniejszająca powinowactwo receptorów błony synaptycznej do dopaminy (ryc. 5).



**Rycina 5.** Interakcja NT z receptorem D2 (84).

Przy tym bezpośredni wpływ NT na receptory D2 powoduje zmianę konformacji utrudniającą połączenie z antagonistami receptora D2. Kompleks NT-NTsR1 może również ulec internalizacji w błonie presynaptycznej i po zdysocjowaniu zostać poddany transportowi wstecznemu, prowadząc m.in. do wzrostu ekspresji genu hydroksylazy tyrozynowej, będącej istotnym czynnikiem transkrypcyjnym (47).



Wśród głównych ośrodków występowania NT w OUN należy wymienić: ciało prążkowane, jądro brzuszno-przyśrodkowe w podwzgórzu, pole brzuszne nakrywki w śródmózgowiu, jądro dwuznaczne oraz jądro pasma samotnego w rdzeniu przedłużonym czy istotę galaretowatą rdzenia kręgowego. Na podstawie badań mózgu szczurów określono główne drogi neurotensynergiczne, w ramach których projekcje neuronów przebiegają z pola brzuszno-nakrywki do jądra dwuznacznego, kory przedczołowej oraz do ciała migdałowatego; z komórek zlokalizowanych w obrębie okołowodociągowej istoty szarej oraz jądra pasma samotnego do jądra szwu (wielkiego); z podkładki hipokampa do ciał suteczkowatych podwzgórza; jądra centralnego ciała migdałowatego do prążka krańcowego we wzgórzu, do części zbitej oraz siatkowatej istoty czarnej w śródmózgowiu oraz do jądra brzuszno-przyśrodkowego w podwzgórzu; z jądra łukowatego i przykomorowego do pośredniej części przysadki mózgowej; z hipokampa poprzez korę zakrętu obręczy do kory czołowej; z prążkownia do istoty czarnej (część siatkowata); pola przedwzrostkowego oraz bocznego jądra podwzgórza, bocznej części przegrody, jądra łożyskowego prążka krańcowego, przyśrodkowej części gałki bladej, grzbietowego jądra szwu do pola brzuszno-nakrywki (9).

W wyżej wymienionych szlakach receptory dla NT zlokalizowane są zarówno na błonach pre- jak i postsynaptycznych dendrytów i aksonów neuronów dopaminergicznych (zlokalizowanych m.in. w polu brzuszno-nakrywki czy w istocie czarnej), glutaminergicznych (kora przedczołowa) czy gabaergicznych (jądro dwuznaczne, jądro ogoniaste). Wpływ na powyższe układy neurotransmiterów OUN oraz pozostałe (m.in. serotonergiczny czy cholinergiczny) oraz zmienny efekt hamujący bądź wzmacniający przewodnictwo synaptyczne (m.in. w zależności od gęstości receptorów w błonie pre- i postsynaptycznej) obrazują bardzo złożony system interakcji i rolę, jaką odgrywa neurotensyna w regulacji procesów fizjologicznych organizmu (7).

Pleiotropowe działanie NT objawia się szczególnie w procesie regulacji ciśnienia tętniczego krwi, przewodzeniu bólu (efekt nie jest związany z receptorami opioidowymi) (27), regulacji temperatury organizmu, regulacji gospodarki węglowodanowej, wpływie na oś podwzgórza-przysadka-nadnercza. Ma ona ponadto istotny związek z rytmem snu i czuwania, aktywnością psychoruchową, odczuwaniem głodu i sytości. NT przejawia także wpływ na motorykę przewodu pokarmowego oraz bierze udział w procesach immunologicznych oraz zaprogramowanej śmierci komórkowej (1). Zmiany stężenia neurotensyny obserwowane są

w takich stanach patofizjologicznych jak: choroba Alzheimera, Parkinsona, udar niedokrwieny, ból neuropatyczny, schizofrenia, choroba afektywna dwubiegunowa, depresja, uzależnienia od substancji psychoaktywnych, autyzm, bulimia, anoreksja czy nowotwory mózgu (oponiak, gwiaździak), rak drobnokomórkowy płuc, rak okrężnicy, rak jajnika, rak trzustki, prostaty, mięsak Ewinga, neuroblastoma), (78).

## **2.5. Neurotransmitery i neuromodulatory**

### **2.5.1. Rys historyczny**

Zgłębienie wiedzy nt. systemu neurotransmiterów i neuromodulatorów stanowi wyzwanie dla naukowców i jest nierozdzielnie związane z jednym z podstawowych zagadnień, tj. w jaki sposób ludzki mózg utrzymuje nas przy życiu. Historia neurobiologii sięga czasów Galena i postulatów na temat istnienia ożywiającej cząsteczki wydzielanej przez mózg, i trwa przez stulecia, w których badacze z różnych dziedzin próbują zrozumieć, w jaki sposób ludzki mózg reguluje najważniejsze funkcje życiowe organizmu (31). Pierwszymi – odkrytymi na początku XX wieku – substancjami biorącymi udział w tym procesie były neurohormony. Istotną rolę w rozwoju tej dziedziny odegrał krakowski naukowiec Napoleon Cybulski, fizjolog i współodkrywcą adrenaliny (79). Zaczęto rozumieć podstawy wydzielania wewnętrznego, jak również konsekwencje wynikające z patologii tego układu. Jednak pomimo anatomicznego opisu, zależności pomiędzy gruczołami wydzielania wewnętrznego a układem nerwowym nie zostały wówczas wyjaśnione. Jednymi z badaczy tamtego okresu byli R. P. Heidenhain (1834-1897), P. Langerhans (1847-1888), M.C. Ciaccio (1877-1956) czy N.K. Kulchitsky (1856-1925). Prace wymienionych badaczy ułatwiły F. Feyrter'owi opisanie rozlanego systemu neuroendokrynnego (DNES, diffuse neuroendocrine system) w 1938r, co pozwoliło na zrozumienie ważnej roli regulacyjnej układu, jaki wspólnie tworzą składniki endokryne oraz neuronalne (23).

Następujące po sobie dwie wojny światowe spowolniły rozwój dyscypliny, która od kilkudziesięciu lat kształtuje się na nowo. Współczesna neuroendokrynologia ma swój początek w latach czterdziestych i pięćdziesiątych XX wieku wraz z opisem morfologicznym komórek neurosekrecyjnych u bezkręgowców, rozpoznaniem roli podwzgórza u wszystkich ssaków, jak również stopniowe poznanie zasad kontroli nad procesami fizjologicznymi sprawowanej za pomocą substancji neuroendokrynnych (43). Wiele z owych tajemniczych

czynników okazało się być peptydami. Z historią neuroendokrynologii łączą się również nazwiska C. Fortier'a oraz H. Selye'go związane z pracą nad hormonami osi podwzgórza – przysadka – nadnercza oraz ich wstecznym wpływem na receptory w obrębie OUN, co przyczyniło się do rozwoju wiedzy o takich zaburzeniach neuropsychiatrycznych jak depresja czy uzależnienia (71). Swój wkład w rozwój tej dziedziny miał również Noblista polskiego pochodzenia Andrew Victor Schally (39).

Obecnie literatura dotycząca substancji o działaniu neurohormonalnym, neurotransmisyjnym i neuromodulacyjnym jest niezmiernie rozbudowana. Jednak wobec złożoności interakcji zachodzących nie tylko w obrębie ludzkiego mózgu, ale również we wszystkich narządach organizmu, gdzie zostały scharakteryzowane odpowiednie receptory, pozostaje jeszcze wiele do odkrycia. Rozwój technologiczny w dziedzinach biologii molekularnej czy genetyki na przełomie XX i XXI wieku oraz międzynarodowe wysiłki prowadzące do zrozumienia najbardziej skomplikowanego organu człowieka, jakim jest mózg, nadają neuronaukom coraz większego tempa, plasując je wśród wiodących dziedzin naukowych prowadzących do ludzkiego poznania, dając zarazem nadzieję na rozwój nowoczesnych metod leczenia. Neurotransmitery odgrywają tutaj istotną rolę, stanowiąc most integrujący ludzki umysł i ciało w jedną całość (40).

### **2.5.2. Oddziaływanie na układ oddechowy i układ krążenia**

Ośrodkowy układ nerwowy przy pomocy autonomicznego układu nerwowego steruje pracą pozostałych układów organizmu człowieka. Z punktu widzenia anestezjologa szczególne znaczenie w trakcie operacji ma regulacja układu krążenia i oddechowego. Niemal wszystkie naczynia krwionośne (z wyjątkiem naczyń włosowatych oraz łożyskowych) unerwione są przez pozazwojowe włókna współczulne utrzymujące napięcie ściany naczyń krwionośnych i w miarę pobudzenia działające wazokonstrykcyjnie. Głównym przekaźnikiem w tych włóknach jest noradrenalina, rzadziej neuropeptyd Y. Odrębną grupę stanowią włókna współczulne unerwiające tętnice mięśni szkieletowych wydzielające dopaminę, histaminę czy acetylocholinę, działając wazodylatacyjnie. Nieliczne naczynia są rozszerzane w sposób czynny za pośrednictwem układu przywspółczulnego (naczynia przewodu pokarmowego, ślinianek, wieńcowe, opon mózgowych, narządów płciowych). Ich zakończenia wydzielają zazwyczaj acetylocholinę, wazoaktywny peptyd jelitowy lub ATP (75). Istotną rolę

w regulacji napięcia naczyń odgrywa również tlenek azotu i tlenek węgla. Nie można zapomnieć o podstawowej roli śródbłonna, który poprzez wydzielanie wyżej wymienionych substancji (jak również m.in. prostacyklin, tromboksanów czy endotelin) bierze udział w niezależnej od autonomicznego układu nerwowego autoregulacji przepływu krwi. Zarówno w mechanizmie neurogennej, jak również miejscowej kontroli przepływu krwi istotną rolę modulującą odgrywają liczne neuropeptydy, w tym neurotensyna (44).

Serce pozostaje pod wpływem OUN poprzez unerwienie za pośrednictwem pozazwojowych włókien współczulnych (wydzielających NA, działających głównie na receptory  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  i  $\alpha_1$ ) oraz w mniejszym stopniu przedzwojowych włókien przywspółczulnych pobudzających za pośrednictwem ACH receptor muskarynowy M2. Neuroregulacja układu sercowo-naczyniowego ma charakter odruchowy. Pierwszoplanową rolę odgrywają mechanoreceptory zlokalizowane w zatokach szyjnych i łuku aorty. Włókna aferentne kierują się drogą nerwu językowo-gardłowego oraz nerwu aortalnego (gałąź n. błędnego) do rdzenia przedłużonego, gdzie łączą się synaptycznie z neuronami jądra pasma samotnego. Istotną rolę neurotransmisyjną odgrywa tutaj glutaminian, ATP oraz substancja P. Neurotensyna wykazuje charakter neuromodulujący, podobnie jak wazopresyna lub angiotensyna II. Neurony te dają początek drodze eferentnej odruchu, jak również wysyłają projekcje do neuronów GABA-ergicznym w podwzgórze regulując ośrodek pragnienia i wydzielanie wazopresyny przez tylny płąt przysadki. Odruch z baroreceptorów tętnicznych następuje wskutek zmian ciśnienia transmuralnego. Wzrost ciśnienia tętniczego prowadzi do zahamowania aktywności współczulnej skierowanej do układu sercowo-naczyniowego i pobudzenie aktywności przywspółczulnej serca. Rytm serca zwalnia się, naczynia krwionośne rozszerzają się, wzrasta przepływ kłębuszkowy i diureza. Spadek wywołuje efekt odwrotny, ze wzrostem oporu obwodowego i pojemności minutowej serca. Jest to główny mechanizm neurogennej kontroli układu sercowo-naczyniowego (22).

Kolejnym mechanizmem jest odruch z mechanoreceptorów serca i obszaru sercowo-płucnego. Dają one początek cienkim, bezmielinowym włóknom typu C wchodzącym w skład nerwu błędnego. Ich pobudzenie poprzez rozciągnięcie ściany np. lewej komory serca (odruch Bezolda-Jarisch) hamuje aktywność układu współczulnego skierowanego do serca i zwiększa aktywność eferentnych włókien nerwu błędnego. Podobnie przebiega reakcja na pobudzenie licznych mechanoreceptorów zlokalizowanych w całym obszarze sercowo-płucnym (28). Wyjątek może stanowić tutaj odruch Bainbridge-a, który na skutek zwiększenia

powrotu żylnego i rozciągania receptorów typu B dających początek zmielinizowanym włóknom czuciowym nerwu błędnego, wywołuje aktywację włókien współczulnych: przyspieszenie rytmu serca i zwężenie naczyń krwionośnych. Ma on na celu dostosowanie pojemności minutowej serca do zwiększonego powrotu żylnego (17). Odruchy z obszaru sercowo-płucnego oraz z baroreceptorów tętniczych działają synergicznie. Podlegają one kontroli OUN, w szczególności ze strony podwzgórza, nakrywki śródmózgowia i układu limbicznego (37), ulegając hamowaniu np. pod wpływem stresu czy wysiłku fizycznego.

Innym przykładem regulacji neurogennej układów oddechowego i krążenia jest działanie chemoreceptorów zlokalizowanych w łuku aorty i kłębku szyjnym (8). Tzw. kłębuszki stanowiące podstawową jednostkę morfologiczną wyżej wymienionych struktur charakteryzują się najwyższym w organizmie przepływem krwi (do 2000ml/100g tkanki/min – ok. 40 razy większym od przepływu mózgowego) oraz zużyciem tlenu na poziomie 9ml/100g tkanki/min (3 razy więcej niż mózg). Oplecione są one przez gęstą sieć naczyń włosowatych, które wskutek efektu zbierania osocza zawierają znacznie zmniejszoną ilość morfotycznych elementów krwi. Dzięki temu komórki budujące kłębuszki są wrażliwe na zmiany ciśnienia parcjalnego gazów rozpuszczonych w osoczu. Są to komórki typu I i II, z których komórki typu I (duże, bogate w ziarnistości zawierające duże stężenie dopaminy, serotoniny oraz syntezującej ACH metylo-cholino-transferazy) należą do komórek serii APUD (ang. Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) i reagują na zmiany prężności gazów we krwi. W sposób hiperboliczny zachodzi odpowiedź na spadające ciśnienie parcjalne tlenu we krwi i jest obserwowana już w zakresie fizjologicznym, natomiast reakcja na prężność dwutlenku węgla jest liniowa – podobnie jak jony wodorowe jest on znacznie słabszym bodźcem dla chemoreceptorów (główne mechanizmy regulacji zależne od CO<sub>2</sub> znajdują się w OUN), jednak wspólne działanie hipoksji i hiperkapni działa synergistycznie na odruch z chemoreceptorów obwodowych (77).

Właściwymi chemoreceptorami są położone w apozycji do wyżej wymienionych komórek zakończenia włókien czuciowych typu A i C, które drogą nerwu IX (z kłębków szyjnych, nerwem zatokowym /Heringa/) oraz n. błędnego (z łuku aorty, nerwem aortalnym) przekazują sygnały do części tylnej pasma samotnego. Pobudzenie chemoreceptorów wynikające ze spadku ciśnienia parcjalnego tlenu we krwi tętniczej wywołuje efekt pobudzenia współczulnego, zarazem jednak pobudzając działające antagonistycznie włókna układu przywspółczulnego, co prowadzi do efektu centralizacji krążenia i wzrostu przepływu

krwi przez serce i mózg; występuje odruchowa hiperwentylacja, przyspieszenie rytmu serca, wzrost pojemności minutowej i przepływu płucnego krwi.

W reakcji tej biorą udział te same neurotransmitery, jak w przypadku odruchu z mechanoreceptorów tętnicznych. Ponadto neurony jądra pasma samotnego oddają projekcje glutaminergiczne do opuszkowo-rdzeniowych neuronów Ia, które w wyniku pobudzenia receptorów AMPA i NMDA (receptory układu glutaminergicznego) przekazują informację do motoneuronów wdechowych (przepony), pobudzając ruchy oddechowe i zwiększając wentylację płuc. Na drodze polisynaptycznej następuje ponadto aktywacja licznych grup neuronalnych (w obszarze dogłowym brzuszno-bocznego rdzenia przedłużonego, podwzgórzu, hipokampie, istocie szarej okołowodociągowej, miejscu sinawym, ciele migdałowatym, mózdzku czy korze przedczołowej) prowadząc do uogólnionej reakcji alarmowej. Podobnie reakcja emocjonalno-obronna organizmu stanowi zintegrowany mechanizm odpowiedzi behawioralnej, krążeniowej, oddechowej, ale także hormonalnej czy immunologicznej (81).

Nieco odmienny efekt wywołany jest spadkiem ciśnienia parcjalnego tlenu w warunkach zamknięcia dróg oddechowych, gdzie odruch z chemoreceptorów jest modyfikowany odmienną reakcją z mechanoreceptorów drzewa oskrzelowego i tchawicy. W tej sytuacji znacznie przeważa składowa pobudzenia nerwu błędnego nad aktywacją współczulną, co prowadzi do zwolnienia rytmu serca. Prowadzi to do zmniejszenia pojemności minutowej i spadku zużycia tlenu przez mięsień sercowy, dzięki czemu organizm maksymalnie wydłuża czas przeżycia najważniejszych narządów, prowadząc oszczędną gospodarkę tlenową (20). W warunkach fizjologicznych natomiast pobudzenie mechanoreceptorów zlokalizowanych w drzewie oskrzelowym ogranicza intensywność i czas trwania wdechu, aby zapobiec nadmiernemu rozciąganiu tkanki płucnej i klatki piersiowej.

Szczególne znaczenie odgrywają tutaj mechanoreceptory szybko adaptujące (SAR) – są one zakończeniami szybko przewodzących włókien czuciowych nerwu błędnego typu A<sub>α</sub>, które poprzez zwój czuciowy górny prowadzą impulsy do części grzbietowo-przyśrodkowej jądra pasma samotnego. Tutaj oddają one pierwsze synapsy, które łączą się z grupami głównych neuronów oddechowych P i I<sub>β</sub> położonych w obrębie rdzenia przedłużonego. Te komórki łączą się licznymi kolateralami zarówno z nadrzędnym ośrodkiem pneumataktycznym, jak również z grupami neuronów wdechowych i wydechowych opuszkowo-rdzeniowych. Pobudzenie SAR prowadzi do wyzwolenia odruchu



Heringa-Breurera, który skraca wdech i pobudza wydech, mając tym samym istotny wpływ na kształtowanie wzorca oddechowego. Ponadto ma on wpływ hamujący na naczyniową aktywność współczulną oraz na neurony sercowe nerwu błędnego, co w konsekwencji wyzwalania odruchu prowadzi do przyspieszenia rytmu serca i zwiększenia pojemności minutowej, jak również zwiększenia perfuzji tkankowej. Odpowiedź z SAR hamowana jest przez CO<sub>2</sub>, jak również wziewne środki znieczulenia (81). Powyżej opisane odruchy pokazują, że neuronalne mechanizmy regulacyjne dla układów krążenia i oddechowego stanowią zintegrowaną całość czynnościową mającą na celu realizację podstawowych funkcji dla życia organizmu.

### **2.5.3. Regulacja temperatury ciała**

Ośrodkowy układ nerwowy pełni zasadniczą rolę dla utrzymania stałej temperatury wewnętrznej regulując mechanizmy odpowiedzialne za wytwarzanie oraz wymianę ciepła między organizmem a otoczeniem. Energia cieplna wytwarzana jest przez komórki w przebiegu procesów metabolicznych bądź czerpana z otoczenia. Ważną rolę w eliminacji ciepła pełni skóra oraz regulacja przepływu skórnej krwi. Na gospodarkę cieplną istotny wpływ ma również akcja oddechowa. Istnieją 4 drogi wymiany ciepła z otoczeniem: konwekcja, przewodzenie, promieniowanie i parowanie. Na układ termoregulacji składają się obwodowe termoreceptory, ośrodkowo położone termodetektory, ośrodek termoregulacji i mechanizmy efektorowe układu.

Obecność termoreceptorów zimna i ciepła udowodniono w skórze, mięśniach, górnych drogach oddechowych, naczyniach żylnych i niektórych częściach przewodu pokarmowego. Dostarczają one informacji dotyczących bezwzględnej temperatury, jak również zmian zachodzących w czasie. Reagują one przejściowo znacznym zwiększeniem częstotliwości potencjału czynnościowego przebiegającego dośrodkowo cienkimi włóknami czuciowymi typu C; a następnie jego stabilizacją w danym zakresie temperatury. Informacja ta przekazywana jest do termodetektorów znajdujących się w podwzgórzu i rdzeniu kręgowym. Za główny ośrodek termoregulacji, uważa się podwzgórze – w jego przedniej części znajduje się ośrodek eliminacji ciepła, a w tylnej ośrodek zachowania ciepła. Centralnie zlokalizowane termodetektory w okolicy przedwzrokowej reagują również bezpośrednio na zmiany temperatury, prowadząc do: zwężenia naczyń krwionośnych (poprzez aktywację układu

współczulnego, czemu towarzyszy zwiększenie pojemności minutowej serca i objętości tzw. krwi centralnej); hamowania aktywności gruczołów potowych (unerwionych przez cholinergiczne włókna współczulne); zwiększenia tempa metabolizmu (mięśnie – drżenia wywoływane drogą rdzeniowych motoneuronów  $\alpha$  i dodatkowo  $\gamma$ ; wątroba, tkanka tłuszczowa) przy spadku temperatury lub odwrotnie. Natura tego skomplikowanego procesu nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. Wśród neurotransmiterów biorących udział w termoregulacji wymienia się noradrenalinę, serotoninę, dopaminę, ale również neurotensynę (26, 58). Istnieją również hipotezy podkreślające wpływ składu elektrolitowego płynu zewnątrzkomórkowego na aktywność neuronów ośrodka termoregulacji. Znaczenie mają również wydzielane obwodowo katecholaminy, produkowana przez gruczoły potowe bradykinina, obecna w brunatnej tkance tłuszczowej termogenina lub hormony wzmagające wytwarzanie energii cieplnej, takie jak trójiodotyronina czy glukagon (80).

Na mechanizmy termoregulacji oprócz czynników zewnętrznych, wpływ mają czynniki genetyczne, choroby czy stosowane leki. Zaburzenie termoregulacji prowadzą do ciężkich patologii, takich jak stany hipo- bądź hipertermii. Zmiany temperatury przy sprawnie funkcjonujących mechanizmach termoregulacji wynikają ze zmiany nastawów wewnętrznego termostatu, który mieści się w podwzgórzu, w wyniku czego pojawia się gorączka. Zazwyczaj towarzyszy ona reakcjom obronnym organizmu. Na jej rozwój wpływ mają substancje o działaniu pirogennym (zewnętrzne i wewnętrzne) stymulujące produkcję interleukin (1 i 6), czynnika martwicy nowotworu (TNF, tumor necrosis factor) oraz prostaglandyn (E1 i E2), które razem z wcześniej wymienionymi substancjami odgrywają ważną rolę w ustalaniu wzorca temperatury organizmu człowieka.

#### **2.5.4. Substancja P, neurotensyna i pozostałe neurotransmitery odgrywające istotną rolę w przewodnictwie bodźców bólowych**

Substancja P swoim profilem działania wykazuje liczne podobieństwa z neurotensyną (48). Oprócz dobrze poznanej roli w przekaźnictwie bodźców bólowych wpływa ona również m. in. na pracę układu sercowo-naczyniowego (59). SP należy do rodziny tachykinin, wytwarzana jest jako produkt transkrypcji genu dla preprotachykininy (TAC1). Działa głównie poprzez receptor neurokininowy 1 (NK-1), (87). Długa eskpozycja na działanie substancji P prowadzi do internalizacji receptorów NK-1, przez co osłabia efekt jej działania.



Substancja P została odkryta w 1931r. przez von Eulera i Gadduma, natomiast jej strukturę chemiczną jako pierwszy opisał w 1971r. Chang M. i wsp. (16). Cząsteczka substancji P składa się z 11 aminokwasów. Jest rozkładana przez enkefalinazę, która znajduje się na powierzchni neuronów, leukocytów, miocytów i keratynocytów. W organizmie człowieka substancja P występuje przede wszystkim w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym oraz w układzie pokarmowym. W OUN jest szeroko rozpowszechniona, często w rejonach zawierających wysokie stężenie serotoniny. W pracach na modelach zwierzęcych potwierdzono jej obecność w ciele migdałowatym, istocie szarej okołowodociągowej, hipokampie oraz podwzgórze (90). Ponadto współwystępuje w rejonach o wysokim stężeniu amin biogennych, jak miejsce sinawe, układ siatkowaty czy dno komory IV. Jej zwiększone wydzielanie w odpowiedzi na bodźce stresowe prowadzi do zmian behawioralnych (18). Wpływa również na oś podwzgórze-przysadka-nadnercza.

SP jest dobrze znana ze względu na swoją rolę w przekaźnictwie bodźców bólowych. Jest wydzielana zarówno w obwodowych zakończeniach włókien czuciowych typu C odpowiedzialnych za transmisję bodźców nocycyptywnych, jak również w zwojach rdzeniowych stanowiących I synapsę drogi bólowej (29). Jej produkcję łączy się również z nasileniem procesów zapalnych (56). Neurony zawierające substancję P znajdują się ponadto w drogach oddechowych oraz w układzie krążenia (89). Działa wazodylatacyjnie i bronchokonstrykcyjnie. Pobudza również ośrodek wymiotny. Odgrywa rolę w patogenezie chorób o podłożu zapalnym jak astma oskrzelowa czy nieswoiste choroby zapalne jelit (32). Wiąże się ją także z rozwojem migreny, zaburzeń behawioralnych oraz chorób psychicznych.

Leczenie bólu jest nieodłączną częścią postępowania w okresie okołoperacyjnym. Patogeneza bólu związana jest zarówno z procesem chorobowym, jak również ingerencją diagnostyczno-terapeutyczną (procedury inwazyjne, zabiegi operacyjne). Bodźce uszkodzające tkanki prowadzą do uwolnienia substancji nocycyptywnych (m.in. histamina, bradykinina) pobudzających „nagie” zakończenia nerwowe wolnoprzewodzących, bezmielinowych włókien nerwowych typu C, które stanowią ramię dośrodkowe dla salw impulsów bólowych. Bodźce bólowe są częściowo przewodzone również przez włókna mielinowe typu A. I neuron czucia bólu wnika do rogów tylnych rdzenia kręgowego, gdzie za przekaźnictwo nerwowe odpowiadają głównie neuropeptydy o działaniu pobudzającym: substancja P, peptyd pochodny genu kalcytoniny (CGRP, calcitonin gene-related peptide), VIP; oraz hamującym: galanina. Somatostatyna wykazuje działanie zarówno pobudzające, jak

i hamujące. Działanie neuromodulujące wykazuje m.in. neurotensyna (11). Jej działanie przeciwbólowe ma związek szczególnie z pobudzeniem receptora NTsR3 (68). Wymienione substancje (SP, NT) uwalniają się również w tkankach, w których znajdują się zakończenia aferentne włókien nerwowych I neuronu (skóra, mięśnie szkieletowe, stawy i narządy wewnętrzne), (55). Zwiększają one przepuszczalność naczyń krwionośnych, neurogenie indukują procesy zapalne, jak również mają wpływ na rozwój obwodowej sensytyzacji (25).

II neuron drogi czucia bólu znajduje się w rogach tylnych rdzenia kręgowego, biegnie on kontralateralnie w drodze rdzeniowo-wzgórzowej bocznej. III neuron zlokalizowany jest w jądrach brzusznych tylnobocznych i tylnoprzyśrodkowych wzgórza, natomiast IV w polach czuciowych kory mózgowej (zakręt zaśrodkowy, wyspa). Wzgórze komunikuje się również z podwzgórzem oraz układem limbicznym. Oprócz przedstawionej drogi istnieją wieloneuronalne drogi nieswoiste przewodzenia bólu, które docierają do wyższych ośrodków OUN za pośrednictwem układu siatkowatego aktywowującego. Oprócz wcześniej wymienionych substancji za przekaźnicwo synaptyczne odpowiadają również główne transmittery w OUN (GLU, DOPA czy serotonina). Równocześnie uruchomiony zostaje proces hamowania bólu (modulacja pre- i postsynaptyczna), który odbywa się w rogach tylnych rdzenia kręgowego i w jądrach wzgórza. Istotne znaczenie mają neurony pośredniczące (szczególnie w obrębie istoty szarej galaretowatej rogów tylnych) oraz drogi zstępujące biegnące od kory mózgu, istoty szarej w śródmózgowiu i układu siatkowatego zstępującego w kierunku rogów tylnych rdzenia kręgowego. Efekt odczuwania bólu jest wypadkową impulsacji pobudzającej, jak również hamującej na różnych piętrach drogi bólowej. Oprócz wymienionych neurotransmiterów uwalnianych na synapsach drogi bólowej istotne znaczenie dla przewodzenia bólu mają substancje pobudzające receptory opioidowe (enkefaliny, endorfiny), (4). Dotychczas są one głównym punktem uchwytu silnych leków przeciwbólowych stosowanych w medycynie. Hamowanie układu siatkowatego w trakcie znieczulenia ogólnego wpływa na nieswoiste drogi czucia bólu. Miejscowe zastosowanie leków znieczulających hamuje przewodzenie impulsów we włóknach I neuronu czucia bólu, przejściowo wyłączając czucie bólu w określonej lokalizacji.

Spośród wszystkich wyżej wymienionych substancji biochemicznych biorących udział w ośrodkowej kontroli podstawowych procesów fizjologicznych moje szczególne zainteresowanie wzbudziła neurotensyna.

## 3. Założenia i cele pracy

### 3.1. Założenia

Neurotensyna ma wpływ na stan homeostazy organizmu. Reguluje ona czynności układu oddechowo-kръżeniowego, zachowanie prawidłowej temperatury ciała i przewodnictwo bodźców bólowych i dlatego może być użytecznym biomarkerem w dziedzinie neuroanestezjologii. W sposób istotny oddziałuje na stan fizjologiczny pacjenta i jego parametry dynamicznie oceniane w trakcie znieczulenia, szczególnie w warunkach silnego stresu dla organizmu, jakim jest zabieg operacyjny. Z drugiej strony środki używane podczas anestezji mogą wywoływać swój efekt również poprzez zmianę aktywności neurotensyny. Dotychczas nie przeprowadzono badań oceniających tego rodzaju zależności. Duża ilość prac dotyczy związków neurotensyny z rozwojem chorób neuro-psychiatrycznych (10, 64, 83). Istnieje również literatura dotycząca działania przeciwbólowego, głównie opierająca się jednak na badaniach doświadczalnych przeprowadzanych na zwierzętach. W tym aspekcie istotnym uzupełnieniem pracy jest równoczesna analiza stężenia substancji P, która uznawana jest za istotny wskaźnik aktywności nocycyptywnej (60, 76). Tylko nieliczne pozycje piśmiennictwa zwracają natomiast uwagę na interakcję znieczulenia z produkcją neurotensyny. U ludzi takiego związku nie badano. Jednak dysponujemy już narzędziami umożliwiającymi modyfikację działania neurotensyny. Być może w najbliższych latach pojawi się możliwość regulowania wybranych parametrów fizjologicznych poprzez substancje egzogenne wpływające na szlaki działania opisywanego neuropeptydu. Mając na uwadze bardzo szeroki wpływ neurotensyny na stan kliniczny pacjentów leki o takim charakterze wniosłyby nowy potencjał w dziedzinie neuroanestezjologii (54, 62). Przeprowadzone przeze mnie badania stanowią próbę ustalenia: czy i w jakim stopniu stężenie neurotensyny wpływa na zachowanie podstawowych parametrów homeostazy organizmu podczas znieczulenia do zabiegu operacyjnego. Analiza relacji stężenia neurotensyny z przebiegiem procesów fizjologicznych i patofizjologicznych w trakcie znieczulenia może służyć jako podstawowy model dynamiki dla przyszłych badań nad modyfikacją takich zależności.

## 3.2. Cele pracy

1. Oznaczenie poziomu stężenia neurotensyny we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym w grupie pacjentów znieczulanych różnymi metodami do planowych zabiegów operacyjnych z powodu chorób chirurgicznych, ortopedycznych oraz ginekologicznych.

2. Analiza różnic w stężeniu neurotensyny w zależności od wybranej metody znieczulenia.

3. Korelacja poziomu neurotensyny z parametrami stanu chorego monitorowanymi podczas operacji.

4. Korelacja stężenia neurotensyny z danymi klinicznymi zebranymi w okresie okołoperacyjnym.

5. Analiza stężenia substancji P w badanej grupie chorych.

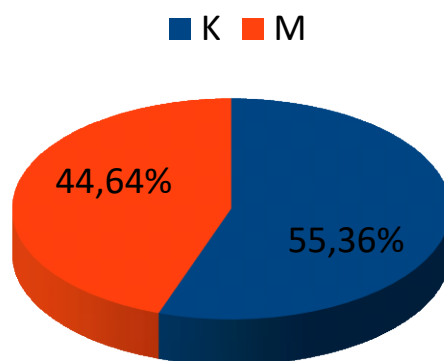
6. Poszukiwanie zależności pomiędzy stężeniem neurotensyny a stężeniem substancji P oraz wybranymi parametrami laboratoryjnymi.

## 4. MATERIAŁ i METODYKA

### 4.1 Materiał kliniczny

Badania kliniczne miały charakter prospektywny i zostały przeprowadzone na grupie 56 dorosłych pacjentów (w wieku od 23 do 88 lat, mediana 55,5) leczonych operacyjnie w trybie planowym w Szpitalu Pomnik Chrztu Polski w Gnieźnie w latach 2014-2016. W badanej grupie było 25 mężczyzn i 31 kobiet (ryc.6.). Udział w badaniu w żaden sposób nie wpływał na zaplanowane postępowanie lecznicze.

#### Grupa badanych (56)



Rycina 6. Rozkład płci.

W zależności od rodzaju zastosowanego znieczulenia wyróżniono trzy grupy pacjentów. W grupie 1 znajdowało się 21 (37,5%) chorych i wykonano u nich znieczulenie ogólne techniką TIVA (znieczulenie całkowicie dożylnie - total intravenous anesthesia). Do grupy 2 zaliczono 18 (32,1%) pacjentów, u których znieczulenie było podtrzymywane anestetykiem wziewnym (sewofluran). W grupie 3 – u 17 (30,4%) osób zastosowano znieczulenie podpajęczynówkowe (P-P) (ryc.7). Rodzaj znieczulenia był wybrany adekwatnie do stanu klinicznego pacjenta oraz typu operacji, konsultowany przez specjalistę anestezjologa niebiorącego czynnego udziału w badaniu. Pacjenci poddawani byli zabiegom chirurgicznym (cholecystektomie laparoskopowe, tyroidektomie, operacje przepuklin brzusznych, operacje żyłaków kończyn dolnych), ortopedycznym (endoprotezoplastyki i zespolenia złamań w obrębie kończyn dolnych) oraz ginekologicznym (histerektomie)

i urologicznym (cystoskopie). (ryc.8). U 30 pacjentów (54%) stwierdzono obecność chorób towarzyszących (ryc.9).

**Ryc**

**ina**

**7.**

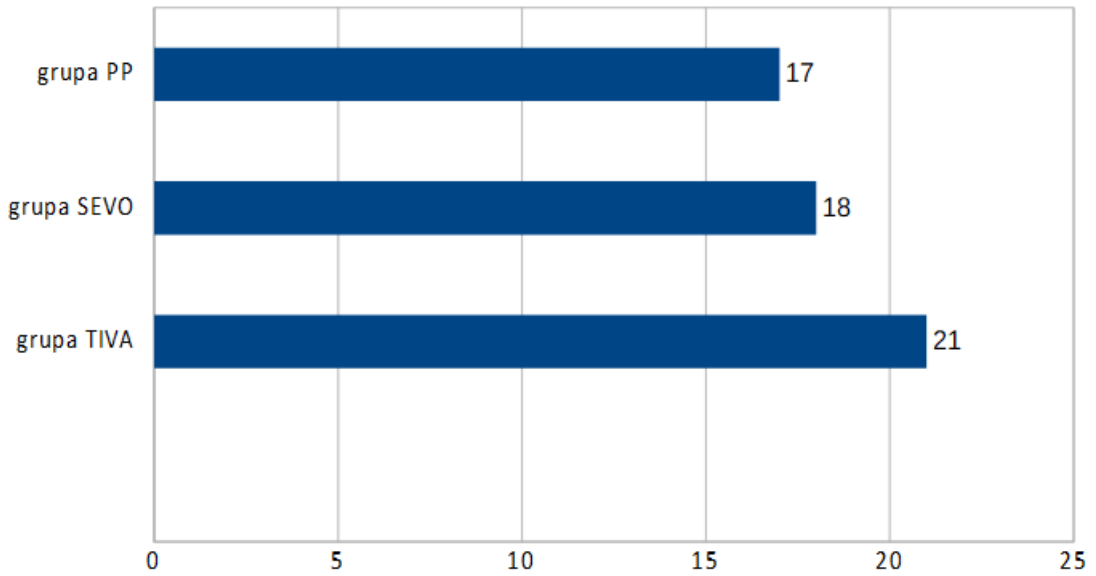
**Rod**

**zaj**

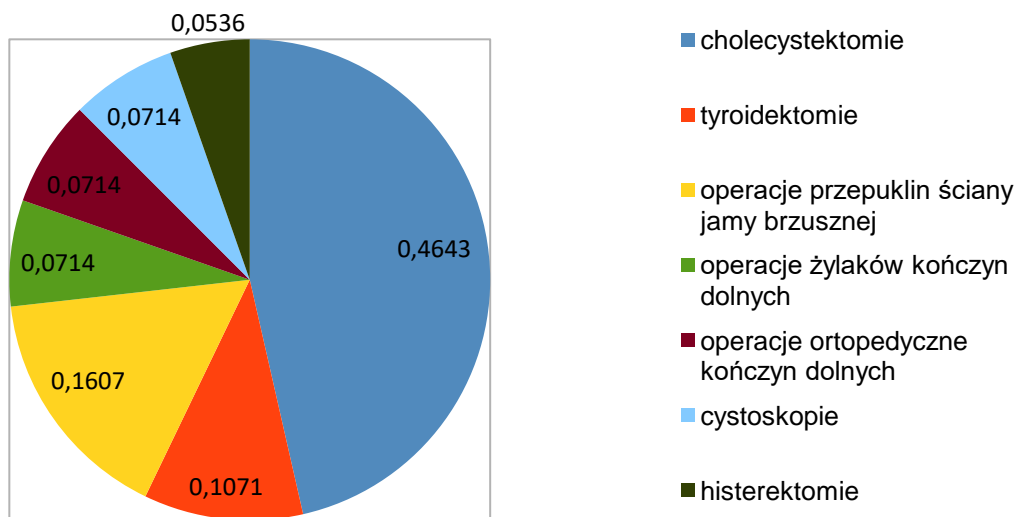
**znie**

**czul**

**enia**

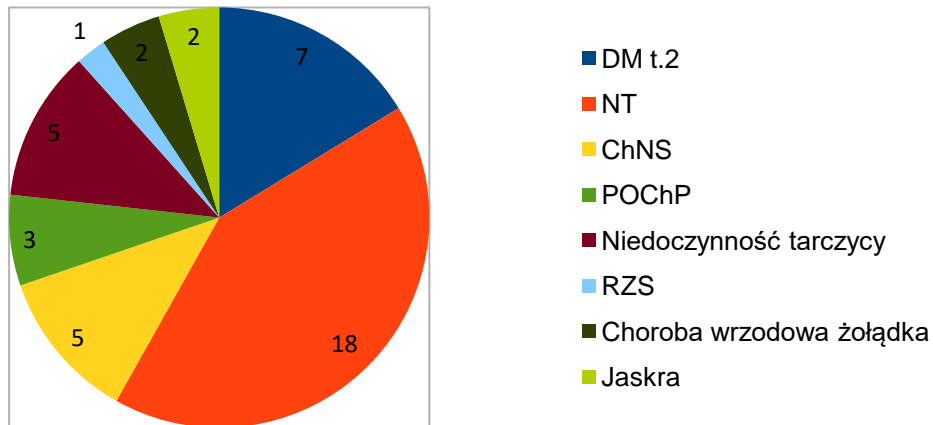


n = 56



**Rycina 8.** Zabiegi operacyjne.

n = 30



**Rycina 9.** Choroby towarzyszące.

Z badania wyłączono pacjentów, u których inne choroby stwierdzone w wywiadzie mogły wpływać na stężenie neurotensyny: schizofrenia, depresja, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, udar mózgu w ciągu ostatnich 6 miesięcy, gruczolaki przysadki, nadnerczy, nowotwory złośliwe, choroby reumatyczne. Do badania nie byli również włączani pacjenci operowani w trybie nagłym.

## 4.2. Metody badawcze

Indukcja znieczulenia ogólnego prowadzona była z wykorzystaniem propofolu (1-2mg/kg m.c. w zależności od odpowiedzi klinicznej i masy ciała) oraz fentanylu i rokuronium. Podtrzymanie znieczulenia ogólnego przebiegało z wykorzystaniem ciągłego wlewu propofolu przy użyciu sterowanej manualnie pompy infuzyjnej (protokół na podstawie schematu Roberta) w grupie 1 albo z użyciem stężenia wziewnego sewofluranu zbliżonego do 1 MAC (minimal alveolar concentration) w mieszaninie powietrza z tlenem (grupa 2). Dawki leków dostosowane były do masy ciała i wieku chorego oraz stanu klinicznego.

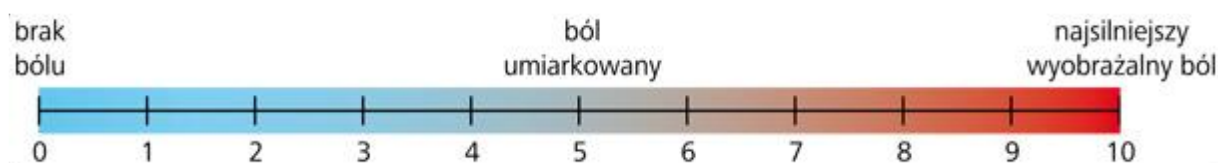
Znieczulenie podpajęczynówkowe (grupa 3) było wykonywane techniką „single shot”, używając igły Pencil Point 26-27G, w pozycji siedzącej z zastosowaniem 0,5% Bupivacainy Spinal Heavy w dawce dostosowanej do wzrostu chorego i zamierzonego poziomu blokady, bez dodatku adjuwantów.

Przed operacją zbierano szczegółowy wywiad dotyczący choroby podstawowej, chorób towarzyszących, przyjmowanych leków oraz stosowanych używek. Na podstawie wzrostu i masy ciała pacjentów wyliczano BMI (Body Mass Index) wg wzoru:  $m.c.(kg)/(wzrost)^2(m^2)$ . Ryzyko okołoperacyjne oceniano wg skali Amerykańskiego Towarzystwa Anestezjologii (ASA, American Society of Anaesthesiology), (tab.1). Odnotowano również poziom natężenia odczuwanego przez pacjenta bólu zgodnie z numeryczną skalą oceny bólu (NRS, Numerical Rating Scale), (tab.2), (41).

**Tabela 1.** Skala ryzyka okołoperacyjnego wg Amerykańskiego Towarzystwa Anestezjologii

Stopnie skali	Liczba punktów	Liczebność pacjentów
Pacjent bez chorób przewlekłych	1	27
Łagodna choroba układowa – bez wpływu na codzienne funkcjonowanie	2	24
Ciężka choroba układowa, która ogranicza wydolność	3	5
Ciężka choroba układowa, która stanowi zagrożenie dla życia	4	-----
Pacjent z dużym prawdopodobieństwem zgonu niezależnie od prowadzonego postępowania terapeutycznego	5	-----

**Tabela 2.** Numeryczna skala oceny natężenia bólu (NRS), (41)





W trakcie operacji przy wykorzystaniu monitorów Infinity Delta firmy Draeger w sposób automatyczny (w odstępach 1-5 min. w zależności od etapu zabiegu) prowadzono analizę ciśnienia tętniczego krwi metodą oscylometryczną z użyciem odpowiedniego mankietu założonego na prawe ramię pacjenta oraz analizę częstości akcji serca. Pomiar temperatury wykonywano na błonie bębenkowej pacjentów z użyciem termometru Braun Thermoscan 5. Temperatura otoczenia określana była przy użyciu odpowiednich termometrów alkoholowych zamontowanych na stałe w obrębie sali operacyjnej. Odnotowano dynamikę zmian podstawowych parametrów fizjologicznych, jak również ilość używanych leków anestetycznych, w tym konieczność podawania leków wazopresyjnych.

Epizody hipo- lub hipertensji zdefiniowano jako spadek ciśnienia skurczowego poniżej 90 mmHg, spadek wartości wyjściowej ciśnienia skurczowego bądź rozkurczowego o co najmniej 20%, spadek średniego ciśnienia tętniczego (MAP) < 60mm Hg; wzrost ciśnienia tętniczego krwi (BP) o co najmniej 20% w stosunku do wartości wyjściowej, wzrost BP powyżej wartości 140/90mmHg). Odnotowano czas zabiegu i ewentualną potrzebę aktywnego ogrzewania pacjenta (wodny materac grzewczy, temp. od 36°C do 38°C). Dane na bieżąco nanoszone były na przygotowany protokół (zał. 1).

Podstawą badań był pomiar stężenia neurotensyny w osoczu krwi u pacjentów poddanych znieczuleniu. W grupie pacjentów znieczulanych podpajęczynówkowo dodatkowo dokonano pomiaru stężenia neurotensyny w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR). Krew pobierana była przed indukcją znieczulenia z wkłucia dożylnego zakładanego na potrzeby operacji (pierwsza próbka). Drugą próbkę pobierano 5 min. po wprowadzeniu do znieczulenia. Trzecia próbka pobrana była po zakończonym zabiegu operacyjnym. Objętość każdej próbki krwi wynosiła 3ml. Probówki zawierały wersenian (EDTA) wiążący jony wapnia, co umożliwiało ekstrakcję osocza po odwirowaniu materiału biologicznego (1000g przez 15min w 30min. od pobrania). Otrzymane osocze przechowywano w temp. -20 °C rozporcjowane w dwóch probówkach typu Eppendorf. W grupie 3 (znieczulanej podpajęczynówkowo), przed podaniem środka znieczulającego, pobierano próbkę płynu mózgowo-rdzeniowego w objętości 1ml do jałowej probówki z nakłucia lędźwiowego przeprowadzonego celem wykonania procedury znieczulenia. Materiał przechowywano w temp. -20 °C, maksymalnie do sześciu miesięcy. Oznaczenia przeprowadzono z wykorzystaniem metody ELISA, odczyt metodą kolorymetryczną (NT ELISA kit; Biotrend, Germany; zakres badanych stężeń 15-1000 pg/ml).

W zebranych materiale oznaczono również stężenie substancji P (Human SP ELISA kit, Cusabio Technology LLC, USA; zakres badanych stężeń 6,25-400 pg/ml). Pozostały materiał biologiczny został utylizowany.

Badania stężeń neurotensyny i substancji P zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Ortopedyczno-Rehabilitacyjnego Szpitala Klinicznego im. Wiktora Degi Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Uzupełniającymi badaniami były oznaczenia stężenia glukozy, leukocytów i podstawowych elektrolitów we krwi: Na<sup>+</sup> i K<sup>+</sup>. Parametry morfologiczne oznaczone zostały przy użyciu systemu Horiba Yumizen H500 (Horiba Co. Japonia). Podstawowe elektrolity we krwi oznaczono w aparacie Cobas B221 (Roche Diagnostics, USA), natomiast oznaczenia glukozy wykonano w analizatorze biochemicznym Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA). Badania te zostały przeprowadzone w Laboratorium Analitycznym Szpitala Pomnik Chrztu Polski w Gnieźnie.

### **4.3. Metody analizy statystycznej**

Zebrane wyniki zostały zestawione w bazie danych formatu \*.xlsx Microsoft® Excel™. Statystykę opisową wykonano w aplikacji Prism 7 (GraphPad Software, USA), która posłużyła także do przeprowadzenia ostatecznego opracowania statystycznego przy użyciu testów t Studenta, testów Manna-Whitneya, testów Wilcoxon'a oraz testów korelacji Spearman'a. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ , uznając tendencję do wykazania istotności statystycznej przy  $p \geq 0,05$ ,  $< 0,1$ . Ze względu na brak rozkładu normalnego dla większości rozpatrywanych cech do weryfikacji hipotez użyte zostały testy nieparametryczne.

Badano różnice w stężeniu NT i SP w zależności od rodzaju znieczulenia. Analizie poddano zmiany parametrów hemodynamicznych (częstości akcji serca, ciśnienia tętniczego krwi) i ich związek ze stężeniem NT oraz SP. Badano korelacje pomiędzy NT i SP, a zmianami temperatury organizmu w trakcie znieczulenia. Oceniono zmiany stężenia NT i SP w zależności od wieku, płci, BMI, palenia tytoniu, ryzyka operacyjnego wg skali ASA, odczuwania bólu wg skali NRS czy występowania chorób towarzyszących. Zbadano również występowanie korelacji pomiędzy oznaczanymi parametrami laboratoryjnymi: stężeniem NT,

SP, glukozy, ilością leukocytów, wartościami elektrolitów Na<sup>+</sup> i K<sup>+</sup>. Wykresy przygotowano w oparciu o oprogramowanie GraphPad Software.

Na przeprowadzone badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (zał. 2).

## 5. WYNIKI

### 5.1 Stężenie neurotensyny i substancji P w zależności od rodzaju znieczulenia

W tabeli 3. przedstawiłem charakterystykę kliniczną ogółu chorych i w zależności od typu znieczulenia (grupa 1, grupa 2, grupa 3). Mediana wieku w całej grupie badanych wyniosła 55 lat (23-88), med BMI = 26 (20-39), a w skali ASA mediana wyniosła 2 (1-3). W grupie badanych znalazło się 20 palaczy tytoniu (tab. 3).

**Tabela 3.** Charakterystyka kliniczna w zależności od typu znieczulenia

Charakterystyka kliniczna	Ogółem L.p.=56	Typ znieczulenia		
		Grupa 1 L.p.=21 (TIVA)	Grupa 2 L.p.=18 (SEVO)	Grupa 3 L.p.=17 (PP)
Wiek	55 lat (23-88)+	56 lat (25-76)	53 lata (25-88)	58 lat (23-81)
Płeć (n)	25M, 31K ++	9M, 12K	7M, 11K	9M, 8K
BMI	26 (20-39)	28,6 (22,8-39)	26,6 (20-37)	25,6 (22-37)
ASA	2 (1-3)	2 (1-3)	1.5 (1-3)	2 (1-3)
Palacze tytoniu (n)	20	5	7	8

+ mediana i zakres

++ M – mężczyźni, K - kobiety

Dokonałem analizy stężenia NT i SP we krwi wszystkich pacjentów objętych badaniem oraz dodatkowo w PMR u pacjentów poddawanych znieczuleniu PP. W tabeli 4. zamieściłem wyniki stężenia NT i SP dla całej grupy badanych oraz w poszczególnych grupach, w zależności od typu i etapu znieczulenia. Mediana stężenia NT we krwi pacjentów przed rozpoczęciem znieczulenia wyniosła 185,27 pg/ml (24,22 – 1261,6), natomiast substancji P 8,37 pg/ml (0 – 1116,6). Mediana stężenia NT w PMR wyniosła 7,29 pg/ml (0 – 127,19), natomiast SP 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18), (tab. 4).

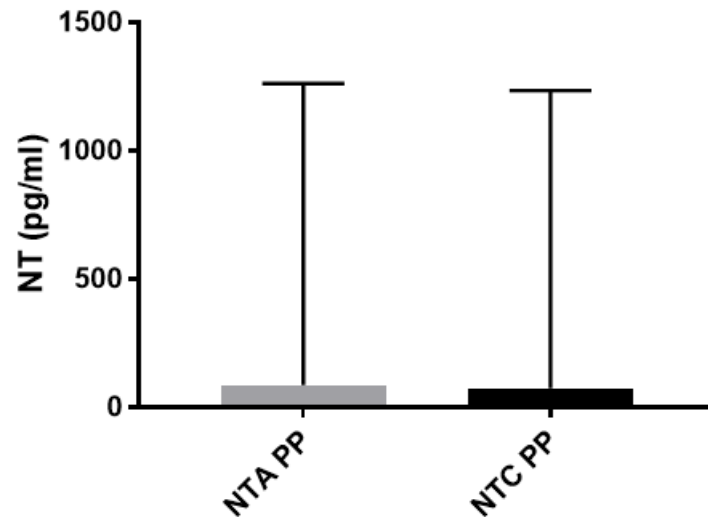
**Tabela 4.** Stężenie neurotensyny i substancji P w poszczególnych próbkach, w zależności od typu i etapu znieczulenia

STĘŻENIE NEUROTENSYNY	Ogółem L.p.=56	TYP ZNIECZULENIA		
		Grupa 1 L.p.=21	Grupa 2 L.p.=18	Grupa 3 L.p.=17
We krwi przed znieczuleniem (NTA)	185,27 pg/ml (24,22-1261,6) +	59,40 pg/ml (40,32-945,72)	948,00 pg/ml (24,22-1254,6)	85,35 pg/ml (39,99-1261,8)
We krwi na koniec zabiegu (NTC)	187,98 pg/ml (23,94-1233,9)	74,07 pg/ml (37,87-925,88)	927,83 pg/ml (23,94-1087,4)	72,75 pg/ml (27,55-1233,9)
W płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem (NTP)	7,29 pg/ml (0 – 127,19)	-----	-----	7,29 pg/ml (0-127,19)
<b>STĘŻENIE SUBSTANCJI P</b>				
We krwi przed znieczuleniem (SPA)	8,37 pg/ml (0 – 1116,6)	0,00 pg/ml (0,00-15,00)	65,59 pg/ml (0,00-1116,6)	8,62 pg/ml (0,00-76,68)
We krwi na koniec zabiegu (SPC)	21,18 pg/ml (0 – 388,78)	7,08 pg/ml (0,00-57,70)	27,68 pg/ml (0,00-388,78)	14,18 pg/ml (0,00-97,45)
W płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem (SPP)	69,35 pg/ml (34,52 – 235,18)	-----	-----	9,34 pg/ml (34,52 – 235,18)

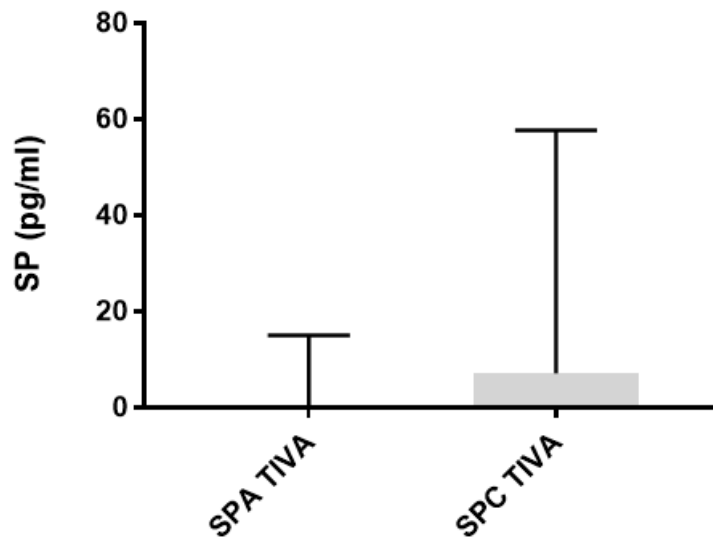
+ mediana i zakres

Zaobserwowałem istotną statystycznie różnicę w stężeniu NT we krwi pacjentów poddawanych znieczuleniu podpajęczynówkowemu, po zabiegach u chorych w grupie 3 stężenie NT we krwi było istotnie niższe od wartości przed znieczuleniem (ryc. 10). Dla SP w grupie 3 takiej zależności nie wykazałem; jednak potwierdziłem wyraźny wzrost stężenia SP we krwi u chorych poddanych znieczuleniu całkowicie dożylnemu – grupa 1 oraz tendencję do spadku stężenia SP we krwi w grupie chorych, u których znieczulenie było podtrzymane z użyciem sewofluranu – grupa 2 (ryc. 11 i 12). Przeprowadzona analiza nie wykazała żadnych różnic w stężeniu badanych substancji w zależności od rodzaju zabiegu

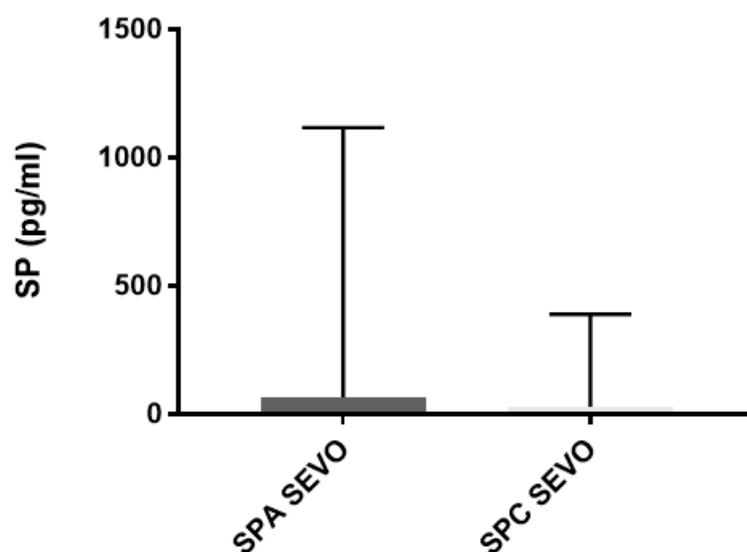
operacyjnego. Nie potwierdziłem również istotnych statystycznie zależności pomiędzy stężeniem NT i SP, a długością trwania operacji, objętością przetoczonych płynów, dawką całkowitą propofolu czy fentanylu.



**Rycina 10.** Zależność pomiędzy stężeniem neurotensyny we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych leczonych w znieczuleniu podpajęczynówkowym (grupa 3). Test Wilcoxon,  $p < 0,01$ .



**Rycina 11.** Zależność pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych leczonych w znieczuleniu całkowicie dożylnym (grupa 1). Test Wilcoxon,  $p < 0,01$ .



**Rycina 12.** Zależność pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych, u których znieczulenie było podtrzymywane anestetykiem wziewnym (grupa 2). Test Wilcoxon,  $p=0,057$  (tendencja do różnicy na poziomie istotności statystycznej).

## 5.2. Korelacje pomiędzy stężeniami oznaczonych substancji – neurotensyną, substancją P i glukozą

Tabela 5. przedstawia badane korelacje pomiędzy stężeniami neurotensyny, substancji P i glukozy. Wykazałem istotne korelacje pomiędzy stężeniem NT we krwi w porównaniu ze stężeniem w płynie mózgowo-rdzeniowym w próbkach uzyskanych przed znieczuleniem (ryc. 13 i ryc. 14). Potwierdziłem je również w analizie aktywności substancji P (ryc. 15 i ryc. 16).

Stężenie NT w PMR było istotnie niższe w porównaniu ze stężeniem we krwi. Jednocześnie stężenie SP w PMR było istotnie wyższe w porównaniu do stężenia SP we krwi. Ponadto wykazałem istotnie statystyczny związek pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP we krwi pobranej u pacjentów przed znieczuleniem (ryc. 17).

Jednocześnie wykazałem tendencję zbliżoną do istotności statystycznej dla korelacji pomiędzy NT i SP we krwi pobranej po zakończeniu zabiegu (ryc. 18).

**Tabela 5** Korelacje pomiędzy stężeniami neurotensyny, substancji P i glukozy oznaczonymi podczas różnych etapów znieczulenia

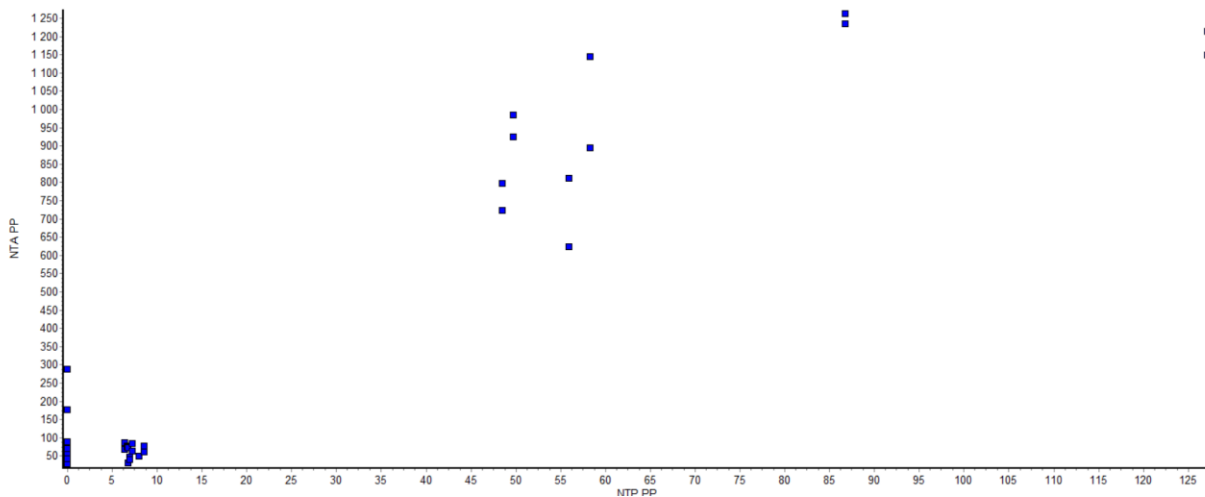
Stężenie neurotensyny, substancji P i glukozy	Stężenie neurotensyny, substancji P i glukozy						
	NT A 185,3 pg/ml (24,22-1261,6)	NT C 181,9 pg/ml (23,94-1233,9)	NT P 7,29 pg/ml (0 – 127,19)	SPA 8,37 pg/ml (0 – 1116,6)	SP C 21,18 pg/ml (0 – 388,78)	SP P 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18)	Glu C 128 mg/dl (81 - 239)
NT A 185,3 pg/ml (24,22-1261,6)	-----+	-----	r = 0.70 p<0,0001	r = 0.51 p<0,0001	-----	-----	-----
NT C 181,9 pg/ml (23,94-1233,9)	-----	-----	-----	-----	r = 0.24 p=0,089	-----	NS++
NT P 7,29 pg/ml (0 – 127,19)	r = 0.70 p<0,0001	-----	-----	-----	-----	NS	-----
SPA 8,37 pg/ml (0 – 1116,6)	r = 0.51 p<0,0001	-----	-----	-----	-----	r = 0.69 p<0,001	-----
SP C 21,18 pg/ml (0 – 388,78)	-----	r = 0.24 p=0,089	-----	-----	-----	-----	NS
SP P 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18)	-----	-----	NS	r = 0.69 p<0,001	-----	-----	-----
Glu C 128 mg/dl (81 - 239)	-----	NS	-----	-----	NS	-----	-----

+ nie była przeprowadzona analiza statystyczna

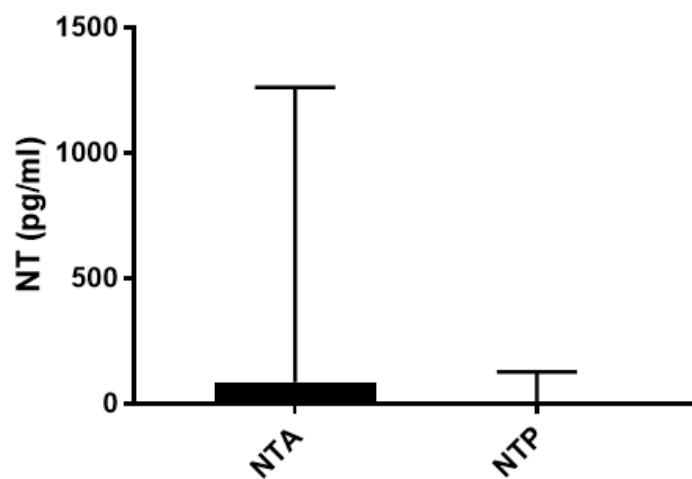
++ brak znamienności statystycznej

Poniżej przedstawiłem ilustracje graficzne istotnych statystycznie zależności z tabeli 5.

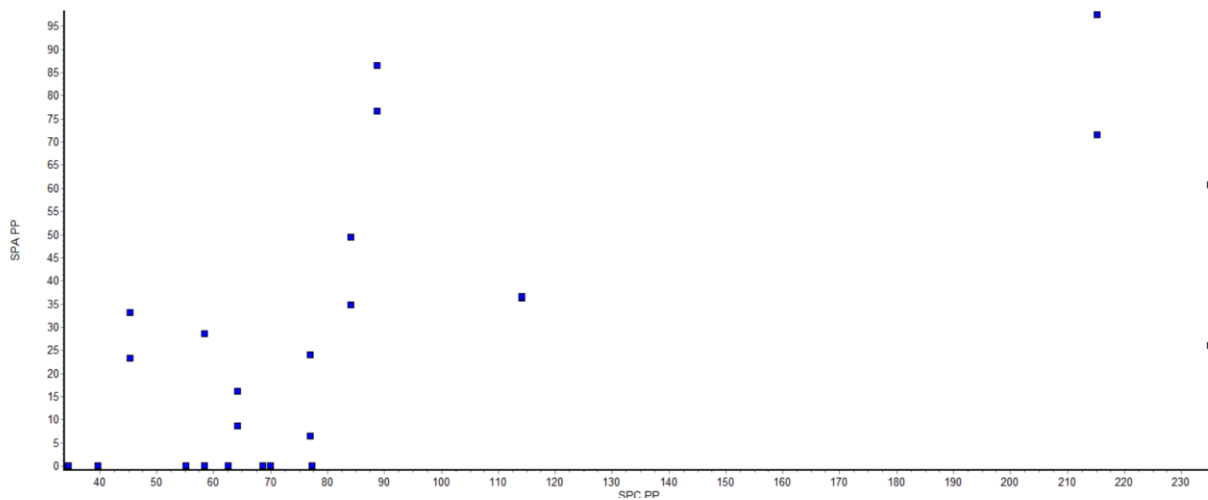




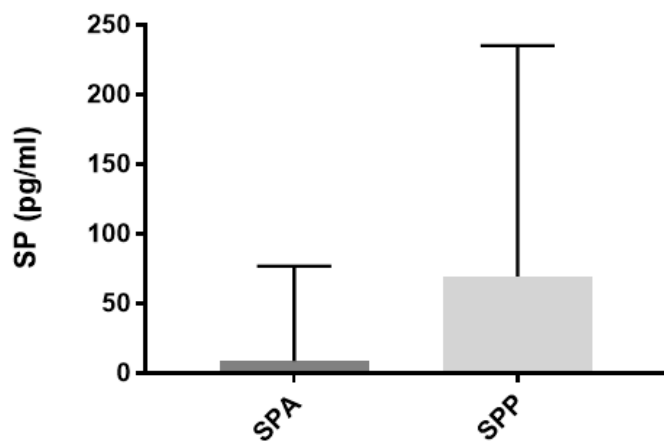
**Rycina 13.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT w płynie mózgowo-rdzeniowym, a stężeniem NT we krwi przed znieczuleniem. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0,695$ ,  $p < 0,0001$ .



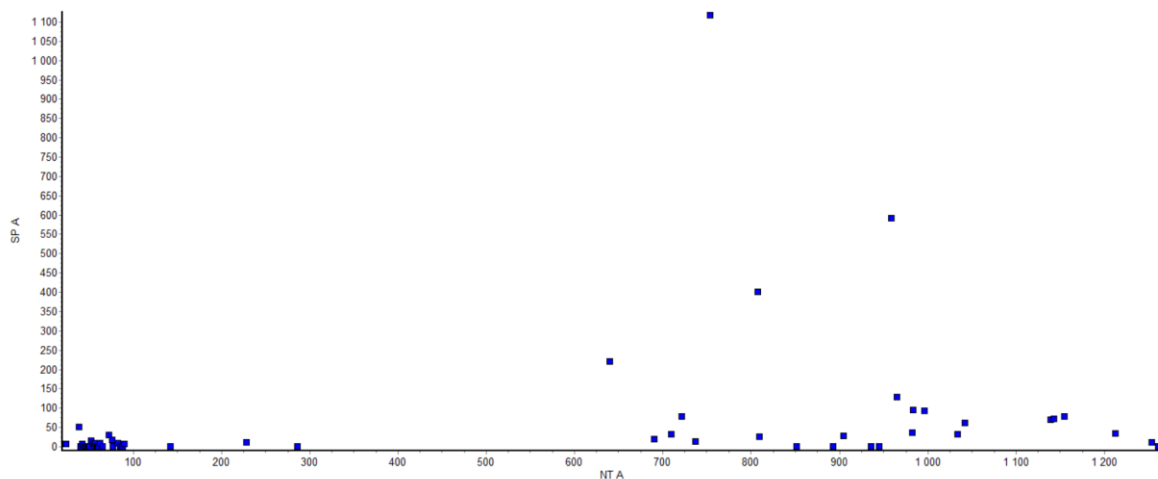
**Rycina 14.** Porównanie stężenia NT we krwi ze stężeniem NT w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem. Test Wilcoxona,  $p < 0,0001$ .



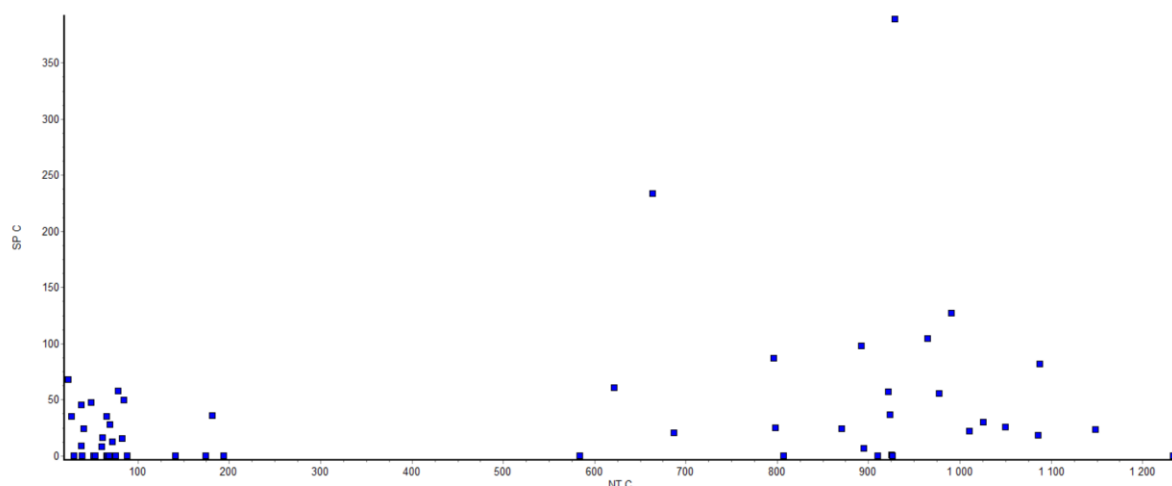
**Rycina 15.** Korelacja stężenia SP w płynie mózgowo-rdzeniowym ze stężeniem SP we krwi przed znieczuleniem. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0.686$ ,  $p < 0,0001$ .



**Rycina 16.** Porównanie stężenia SP we krwi ze stężeniem SP w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem. Test Wilcoxon,  $p < 0,0001$ .



**Rycina 17.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP w próbkach krwi pobranych przed znieczuleniem. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0.509$ ,  $p < 0,0001$ .



**Rycina 18.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP w próbkach krwi pobranych po zakończeniu zabiegu. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0.236$ ,  $p = 0,089$  (tendencja do korelacji na poziomie istotności statystycznej).

### 5.3 Korelacje stężenia neurotensyny, substancji P i glukozy z wybranymi parametrami klinicznymi

Zgodnie z postawionymi w pracy hipotezami badałem korelacje pomiędzy aktywnością NT i SP a parametrami klinicznymi (tab. 6). Substancja P w próbce krwi pobranej przed znieczuleniem wykazywała tendencję do istotnej statystycznie odwrotnej korelacji z wiekiem pacjentów (ryc. 19).

Stężenie SP w próbce krwi pobranej po zakończonym zabiegu operacyjnym było wyraźnie wyższe w grupie mężczyzn w porównaniu do kobiet (ryc. 20). Nie wykazałem takiej zależności dla stężenia NT. Nie obserwowałem również różnic pomiędzy płcią chorych, a aktywnością NT w próbkach krwi i PMR pobranych przed znieczuleniem.

Ponadto udowodniłem odwrotną korelację pomiędzy stężeniem SP we krwi pacjentów przed znieczuleniem, a ryzykiem okołoperacyjnym wyrażonym w skali ASA (ryc. 21).

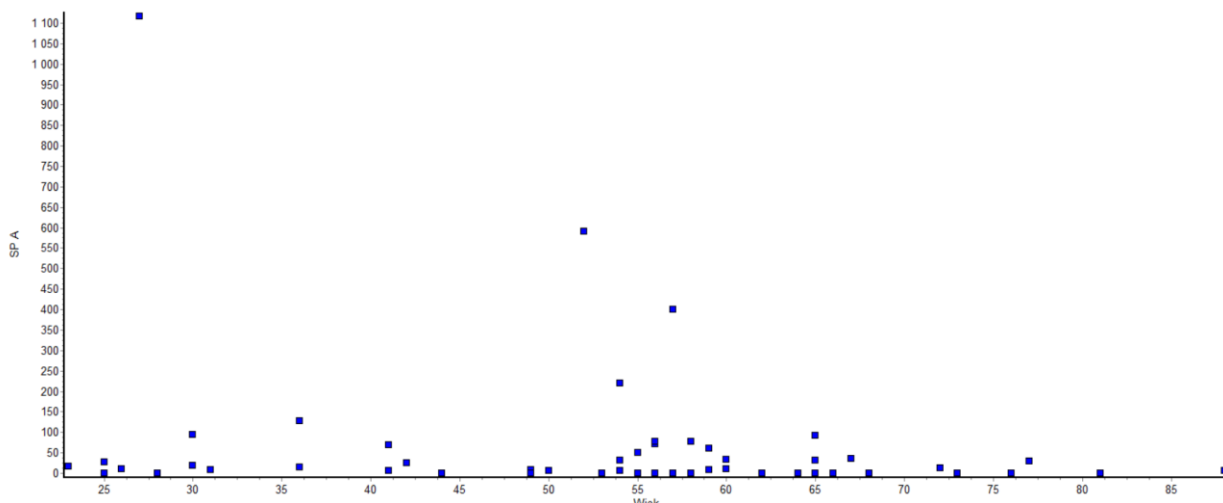
**Tabela 6.** Korelacje stężenia neurotensyny, substancji P i glukozy z wybranymi parametrami klinicznymi

Parametry kliniczne	Stężenie neurotensyny, substancji P i glukozy w zależności od etapu znieczulenia						
	NT A 185,27 pg/ml (24,22-1261,6)	NT C 187,98 pg/ml (23,94-1233,9)	NT P 7,29 pg/ml (0 – 127,19)	SPA 8,37 pg/ml (0 – 1116,6)	SP C 21,18 pg/ml (0 – 388,78)	SP P 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18)	Glu C 128 mg/dl (81 - 239)
Wiek 55 lat (23 – 88)	NS+	NS	NS	r = -0.24 p=0,07	NS	NS	NS
BMI 26 (20 – 39)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0.26 p=0,071
NRS przed operacją 0 (0-10)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NRS po operacji 0 (0-6)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ASA 2 (1 – 3)	NS	NS	NS	r = - 0.28 p<0,05	NS	NS	-----++
Leu 7,2 tys./ul (3,1 – 18,6)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Temp. śr 36,5 °C (35,6 – 37,0)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

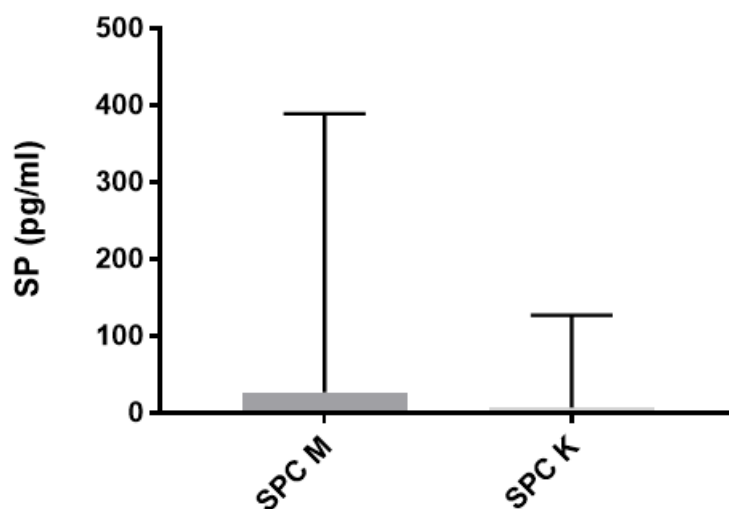
+ brak znamienności statystycznej

++ nie była przeprowadzona analiza statystyczna

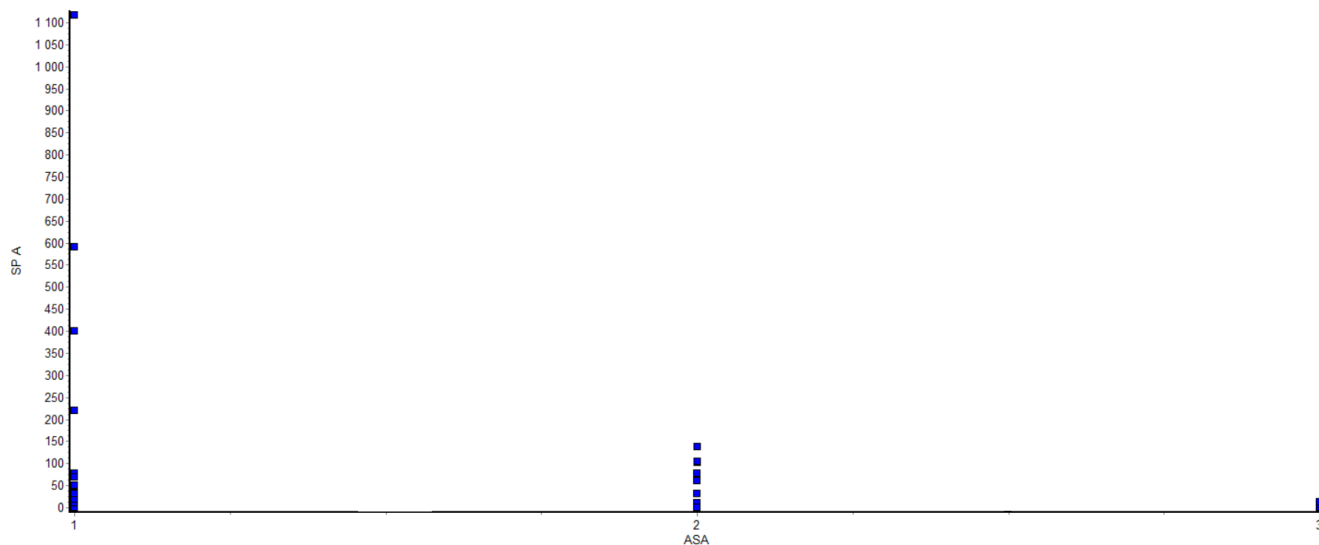
Poniżej przedstawiłem ilustracje graficzne istotnych statystycznie zależności z tabeli 6.



**Rycina 19.** Odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej przed znieczuleniem, a wiekiem chorych. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = -0.244$ ,  $p=0,070$  (tendencja do korelacji na poziomie istotności statystycznej).

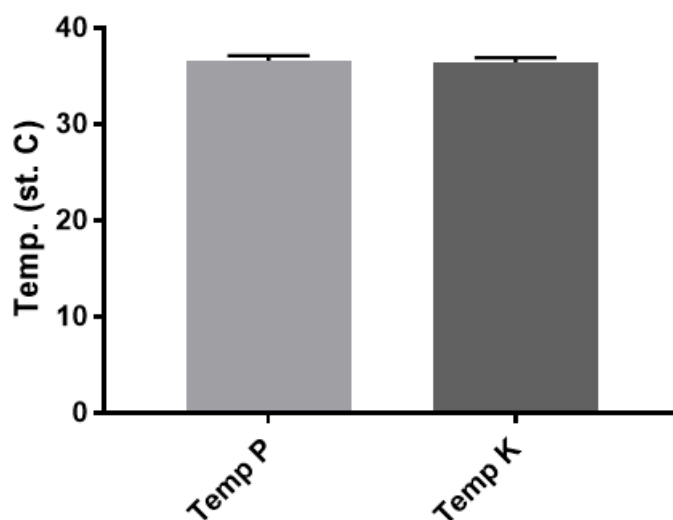


**Rycina 20.** Porównanie stężeń SP we krwi po zakończonym zabiegu u chorych płci męskiej (med 26,64 pg/ml; 0 – 388,78) i chorych płci żeńskiej (med 7,08 pg/ml; 0 – 126,77). Test Manna-Whitneya,  $p<0,05$ .



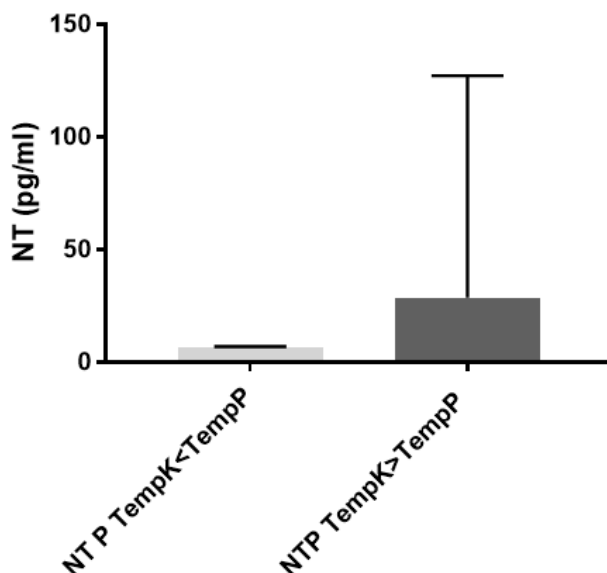
**Rycina 21.** Odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej przed znieczuleniem, a oceną ryzyka okołoperacyjnego wg skali ASA. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = -0.281$ ,  $p < 0,05$ .

W całej grupie badanych końcowa temperatura ciała była istotnie statystycznie niższa od temperatury początkowej (ryc. 22).



**Rycina 22.** Porównanie początkowej ( $36,6^{\circ}\text{C}$ ;  $35,6 - 37,1$ ) i końcowej ( $36,4^{\circ}$ ;  $35,6 - 36,9$ ) temperatury ciała w całej grupie analizowanych chorych. Test Wilcoxona,  $p < 0,001$ .

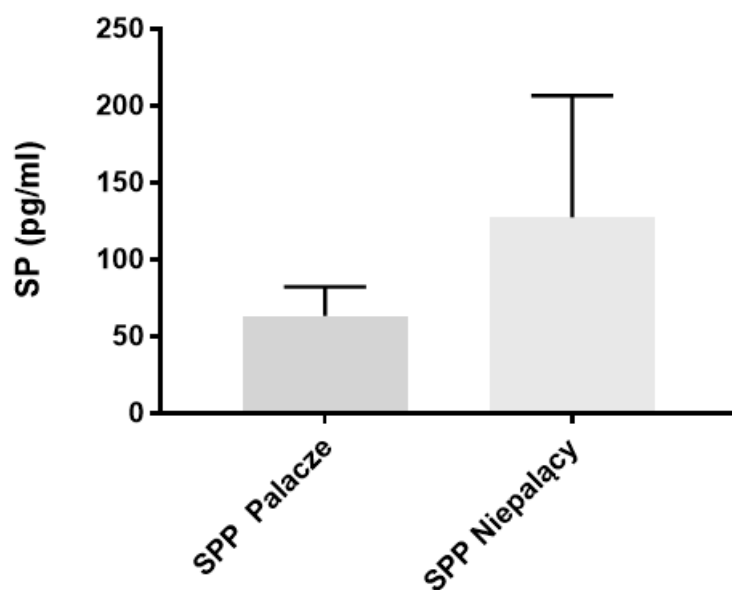
W grupie pacjentów, u których nastąpił spadek temperatury ciała stężenie NT w PMR było istotnie niższe w porównaniu z grupą chorych, w której tego spadku nie obserwowano (ryc. 23). Nie wykazałem podobnych zależności w stężeniach NT we krwi, ani substancji P we krwi i PMR.



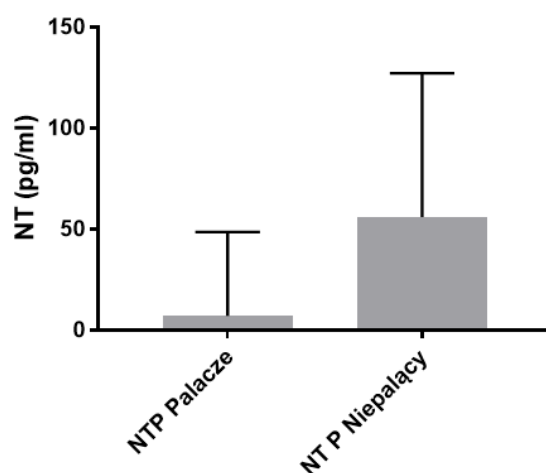
**Rycina 23.** Porównanie stężenia neurotensyny w PMR w grupie chorych, u których wystąpił spadek temperatury (6,68pg/ml; 0 – 6,93) z grupą chorych, u których nie obserwowano spadku temperatury ciała (28,54 pg/ml; 0 – 127,2). Test Manna-Whitneya,  $p < 0,05$ .

Stężenie SP w PMR u chorych uzależnionych od nikotyny było istotnie niższe niż u osób niepalących (ryc. 24). Podobnie porównanie stężenia NT w PMR w grupie chorych uzależnionych od nikotyny z grupą osób niepalących wykazało tendencję do istotnej statystycznie różnicy (ryc. 25). Nie udowodniłem korelacji pomiędzy stężeniem SP czy NT, a ilością palonego tytoniu, jak również nie wykazałem różnic w stężeniu NT ani SP we krwi w zależności od palenia tytoniu.

Ponadto potwierdziłem tendencję do korelacji stężenia glukozy we krwi po zakończonym zabiegu z BMI (ryc. 26). Pozostałe zależności, w tym badane związki stężenia NT ze skalą NRS, ilością leukocytów, poziomem  $NA^+$  i  $K^+$  oraz obecnością chorób towarzyszących nie znalazły odzwierciedlenia na poziomie istotności statystycznej.

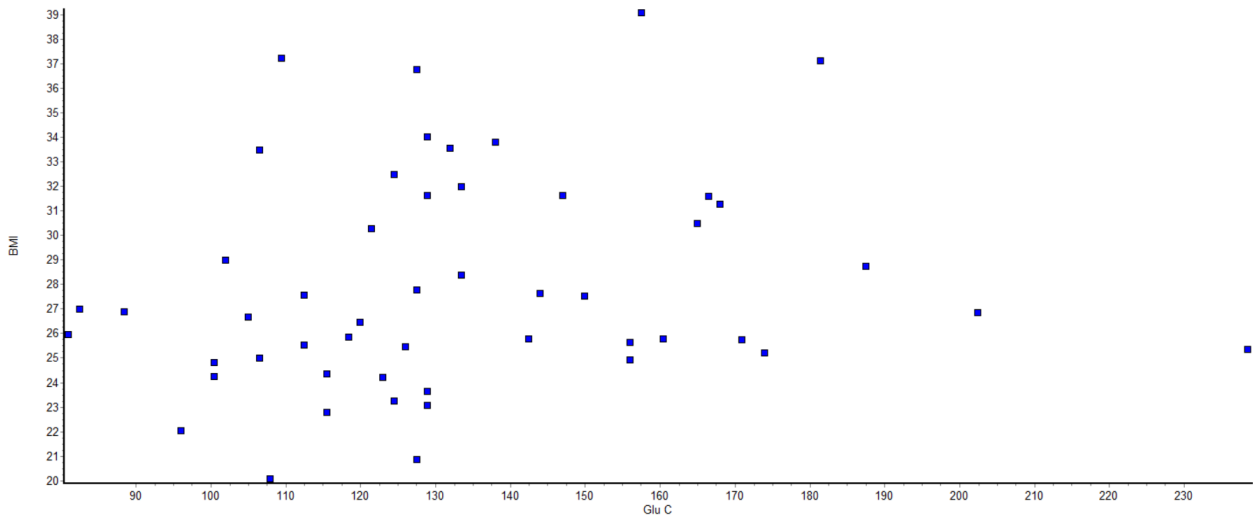


**Rycina 24.** Porównanie stężenia substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych uzależnionych od nikotyny (śr. 63,17 pg/ml  $\pm$  18,96) z osobami niepalącymi tytoniu (śr. 127,36 pg/ml  $\pm$  79,23). Test t Studenta,  $p < 0,05$ .



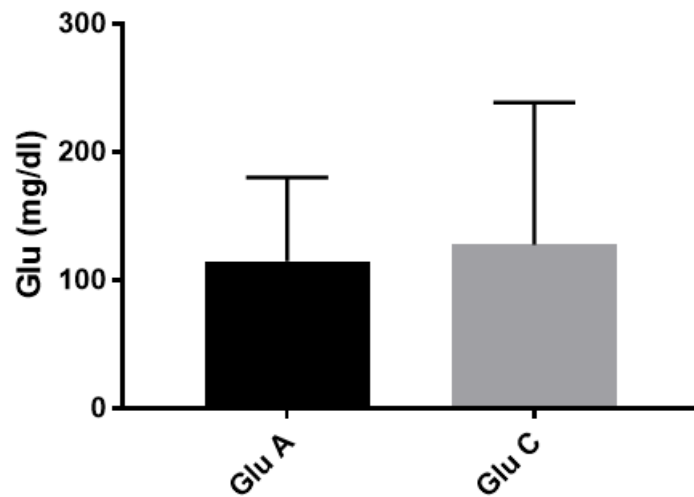
**Rycina 25.** Porównanie stężenia neurotensyny w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych uzależnionych od nikotyny (med 7,11 pg/ml; 0 – 48,2) z osobami niepalącymi (med 55,99 pg/ml; 0 – 127,19). Test Manna-Whitneya,  $p = 0,062$  (tendencja do różnicy na poziomie istotności statystycznej).





**Rycina 26.** Korelacja pomiędzy stężeniem glukozy we krwi po zakończeniu zabiegu, a BMI w całej grupie chorych. Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0.255$ ,  $p=0,0706$  (tendencja do korelacji na poziomie istotności statystycznej).

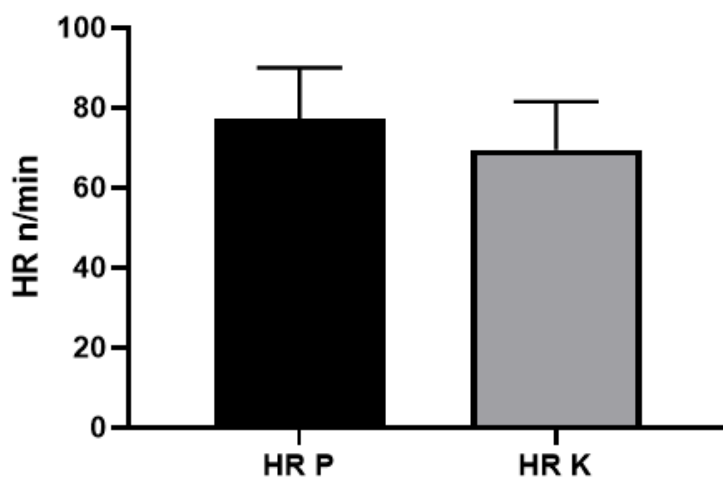
W całej grupie badanych stężenie glukozy we krwi było wyższe po zakończonym zabiegu (ryc.27).



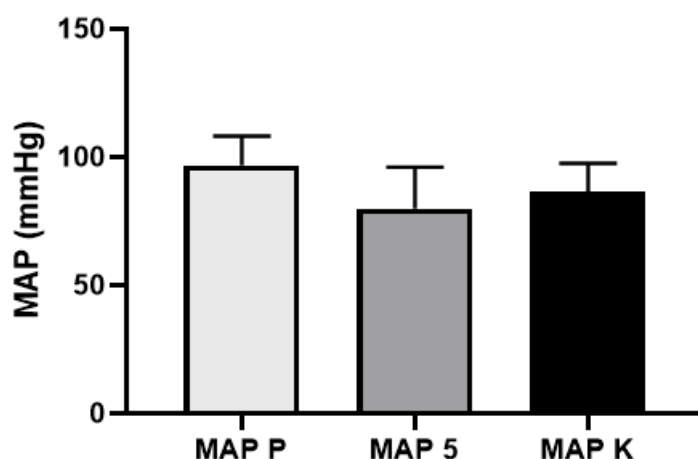
**Rycina 27.** Porównanie poziomu glukozy przed znieczuleniem (114,8 mg/dl; 69-180) i po zabiegu (128 mg/dl; 81 – 239). Test Wilcoxon,  $p<0,0001$ .

## 5.4. Korelacje zmian stężenia NT i SP ze zmianami ciśnienia tętniczego krwi

W całej grupie badanych wykazałem istotną statystycznie różnicę pomiędzy częstością akcji serca przed znieczuleniem (HR P), a częstością akcji serca po zabiegu (HR K), (ryc. 28). MAP zmierzone po 5 min. od indukcji znieczulenia (MAP 5) było istotnie niższe od MAP przed znieczuleniem (MAP P) oraz od MAP po zabiegu (MAP K). Porównanie MAP początkowego i końcowego również przyniosło istotne statystycznie różnice (ryc. 29).



**Rycina 28.** Różnica w częstości akcji serca w zależności od etapu znieczulenia. Test t Studenta dla zmiennych powiązanych. HR P (77/min ± 13) > HR K (70/min ± 12),  $p < 0,0001$ .



**Rycina 29.** Różnice w wartościach MAP w zależności od etapu znieczulenia. Testy t Studenta dla zmiennych powiązanych.

MAP P (śr. 96,79 mmHg ±11,42) > MAP 5 (śr. 79,97 mmHg ±16,14),  $p < 0,001$

MAP P P (śr. 96,79 mmHg ±11,42) > MAP K (śr. 86,4 mmHg ±11,2),  $p < 0,001$

MAP K (śr. 86,4 mmHg ±11,2) > MAP 5 (śr. 79,97 mmHg ±16,14),  $p < 0,01$

Celem korelacji zmian stężenia NT i SP ze stanem hemodynamicznym wszystkich analizowanych pacjentów zestawiałem wyniki pomiarów stężenia badanych substancji z ciśnieniem tętniczym krwi. Przeprowadziłem również analizę stężenia neurotensyny i substancji P w zależności od zmian częstości akcji serca, która nie przyniosła rezultatów na poziomie istotności statystycznej. Analiza statystyczna nie potwierdziła bezpośrednich związków stężenia NT i SP ze zmierzonymi wartościami ciśnienia skurczowego, rozkurczowego oraz MAP. Obliczyłem jednak parametry pochodne, jakimi była różnica w średnim ciśnieniu tętniczym po zakończeniu zabiegu i średnim ciśnieniu tętniczym przed indukcją znieczulenia (MAP K – MAP P) oraz MAP 5min. od indukcji i MAP przed indukcją (MAP 5 – MAP P). Dodatkowo obliczyłem zmianę stężenia NT poprzez obliczenie różnicy jej stężenia w próbce pobranej po zakończeniu zabiegu i próbce pobranej przed znieczuleniem (NTC – NTA). Analogiczne obliczenia wykonałem dla SP (SPC – SPA). Po wykonaniu analiz przedstawionych w tabeli 7. wykazałem, że mniejsza różnica w stężeniu NT we krwi pomiędzy końcem a początkiem zabiegu koreluje z mniejszym spadkiem średniego ciśnienia tętniczego krwi (ryc. 30). Podobną zależność uzyskałem dla SP (ryc. 31). Ponadto przy wyższych wartościach stężenia substancji P w próbce krwi pobranej przed znieczuleniem zaobserwowałem mniejszy spadek średniego ciśnienia tętniczego 5 min. od indukcji znieczulenia (ryc. 32). Taką samą zależność opisałem dla stężenia SP w PMR (ryc. 33).

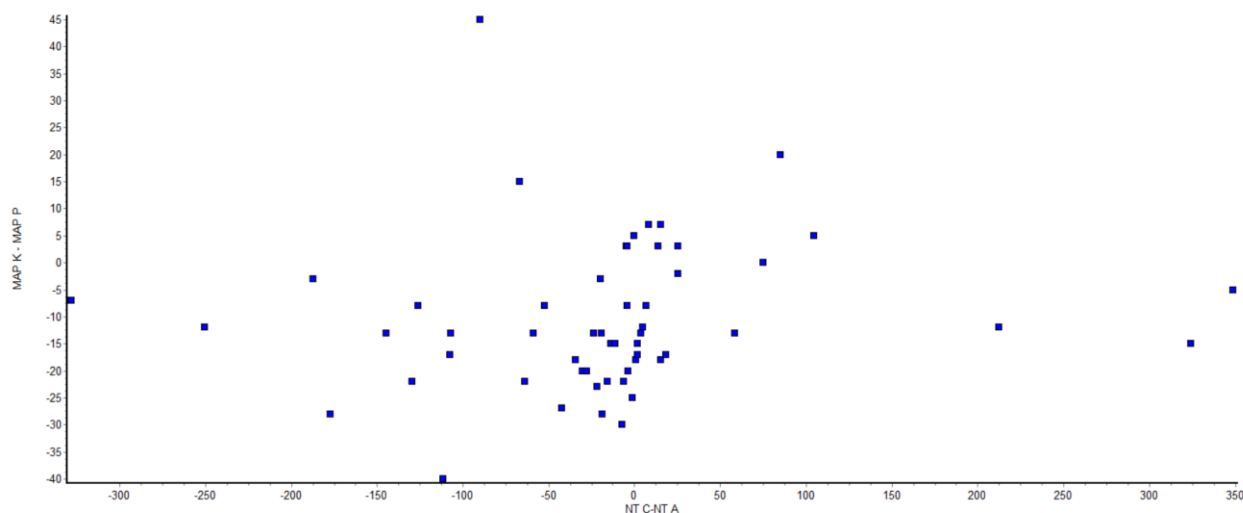
Potwierdziłem również korelację pomiędzy stężeniem SP w PMR, a spadkiem ciśnienia MAP na koniec zabiegu (ryc. 34). Tendencję do istotnej statystycznie korelacji wykazałem dla spadku stężenia MAP na koniec zabiegu oraz stężenia substancji P w próbce krwi pobranej po zakończeniu zabiegu (ryc. 35).

**Tabela 7.** Korelacje zmian stężenia neurotensyny i substancji P na różnych etapach znieczulenia ze zmianami wartości średniego ciśnienia tętniczego

Zmiany średniego ciśnienia tętniczego	Zmiany stężenia neurotensyny i substancji P					
	$\Delta$ NT C – NT A -7,51 pg/ml (od -328,1 do 348,66)	$\Delta$ SP C – SP A 0 pg/ml (od -1096,3 do 61,32)	NT A,C,P	SP A 8,37 pg/ml (0 – 1116,6)	SP C 21,18 pg/ml (0 – 388,78)	SP P 69,35 pg/ml (34,52 – 235,2)
$\Delta$ MAP 5 – MAP P -16,67 mmHg (od -46,67 do 16,67)	NS+	NS	NS	r = 0.36 p<0,01	NS	r = 0.72 p<0,01
$\Delta$ MAP K – MAP P -13,33 mmHg (od -40 do 45)	r = 0.29++ p<0,05	r = 0.34 p<0,05	NS	NS	r = 0.26 p=0,06	r = 0.65 p<0,01

+ brak znamienności statystycznej

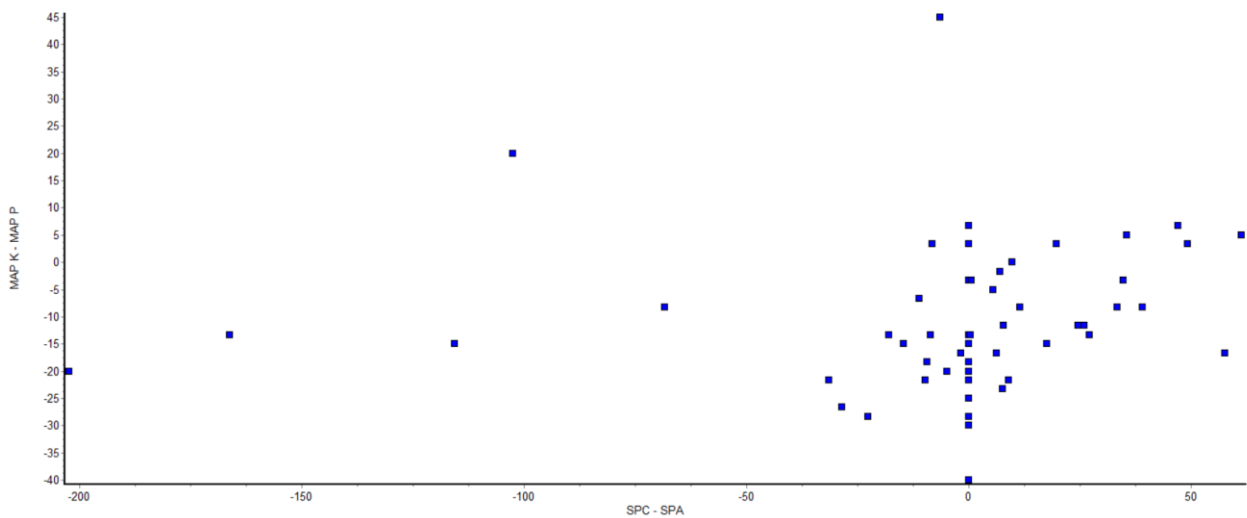
++ korelacja Spearmana



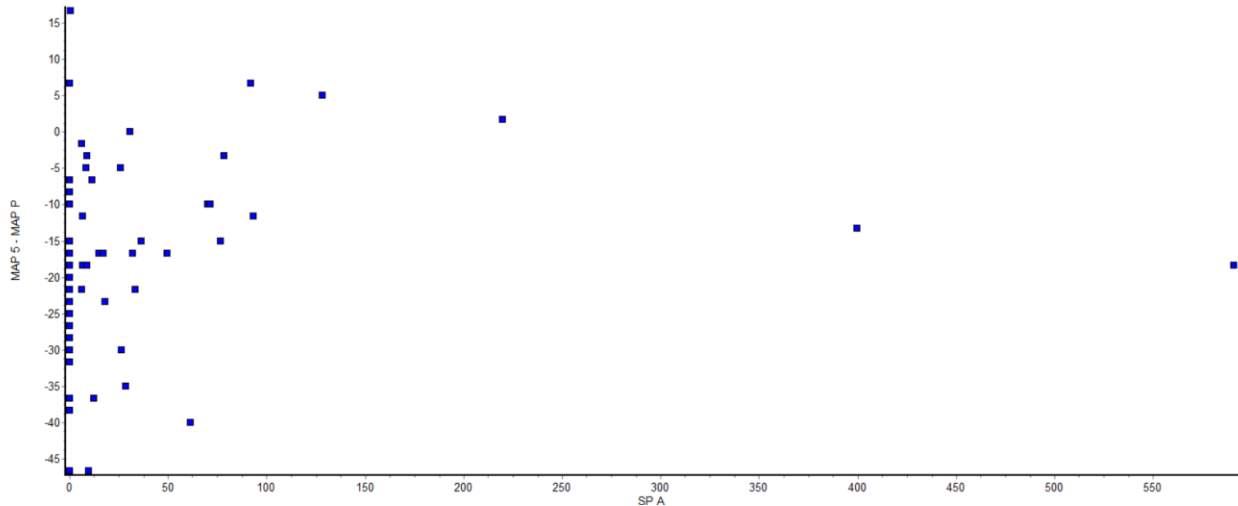
Poniżej przedstawiłem ilustracje graficzne istotnych statystycznie zależności z tabeli 7.

**Rycina 30.** Korelacja pomiędzy różnicą stężenia neurotensyny (NTC – NTA), a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi w trakcie całego zabiegu (MAP K – MAP P).

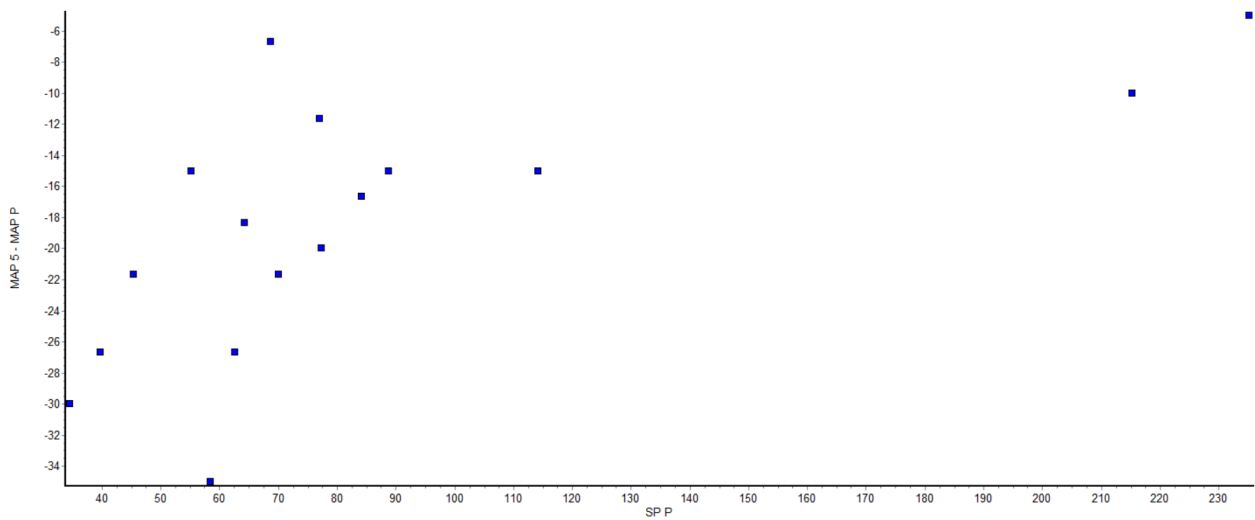
Współczynnik Spearmana  $r = 0,292$ ,  $p < 0,05$ .



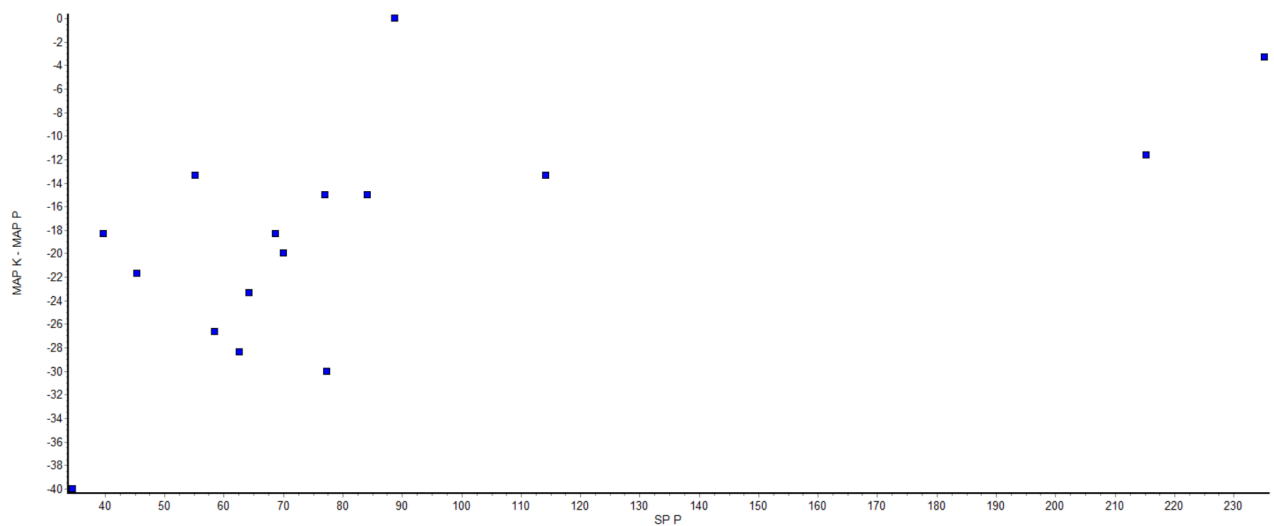
**Rycina 31.** Korelacja pomiędzy wzrostem różnicy stężenia substancji P (SPC – SPA), a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi w trakcie całego zabiegu (MAP K – MAP P). Współczynnik Spearmana  $r = 0,338$ ,  $p < 0,05$ .



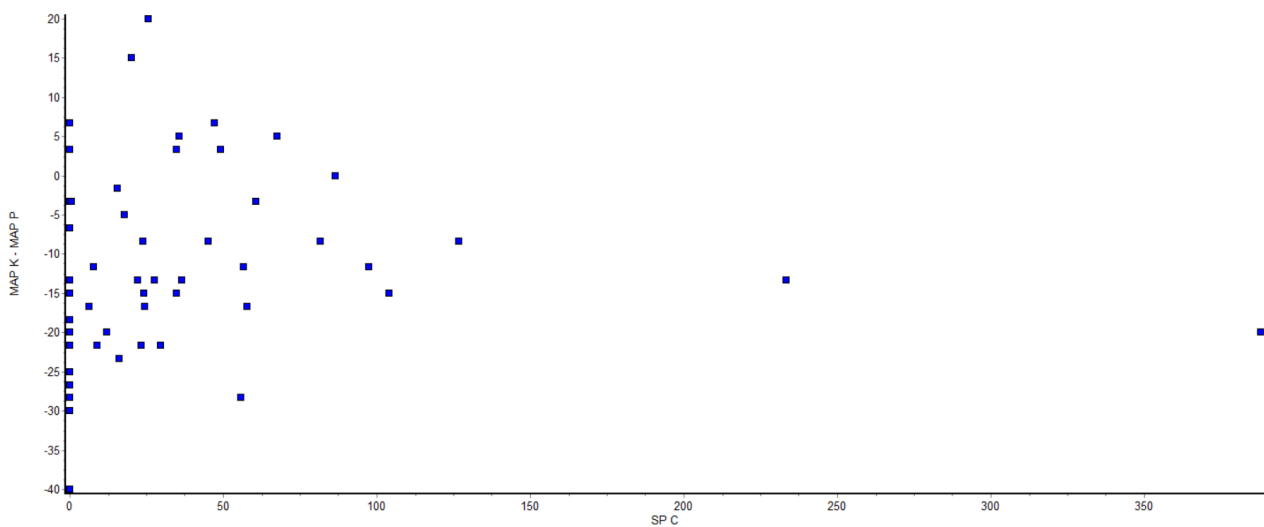
**Rycina 32.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi po 5 minutach od indukcji znieczulenia (MAP 5 – MAP P). Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0,363$ ,  $p < 0,01$ .



**Rycina 33.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego po 5 min. od indukcji znieczulenia (MAP 5 – MAP P). Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0,718$ ,  $p < 0,01$ .



**Rycina 34.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi na koniec zabiegu (MAP K – MAP P). Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0,649$ ,  $p < 0,01$ .



**Rycina 35.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej po zabiegu, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego na koniec zabiegu (MAP K – MAP P). Współczynnik korelacji Spearmana  $r = 0,256$ ,  $p=0,061$  (tendencja do korelacji na poziomie istotności statystycznej).

## 6. Dyskusja

Aktywność neurotensyny i substancji P została oznaczona u wszystkich chorych we krwi, a u pacjentów poddanych znieczuleniu PP także w płynie mózgowo – rdzeniowym. W grupach 1 i 2 znieczulenia nie zaplanowałem badań stężenia NT i SP w PMR i na etapie projektowania pracy zrezygnowałem u tych chorych z pobierania do badań PMR. Pozwoliłyby one na ocenę aktywności NT i SP w PMR w całej grupie badanych, ale naraziłyby chorych na wykonanie badania inwazyjnego (nakłucia lędźwiowego), które nie wynikałoby z samego procesu leczenia. Mediana stężenia NT we krwi pacjentów przed rozpoczęciem znieczulenia wyniosła 185,27 pg/ml (24,22 – 1261,6), natomiast substancji P 8,37 pg/ml (0 – 1116,6). Mediana stężenia NT w PMR wyniosła 7,29 pg/ml (0 – 127,19), natomiast SP 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18). W dostępnym piśmiennictwie istnieje niewiele danych dotyczących stężenia NT w PMR i występuje duża rozpiętość uzyskiwanych wyników we krwi (3, 42, 61). Prawdopodobnym tego wyjaśnieniem może być mniejsza swoistość testów laboratoryjnych wykorzystywanych w przeszłości do oznaczeń NT i SP. Różnice mogą wynikać z odmiennych stanów chorobowych, nad którymi prowadzono badania. Z drugiej jednak strony w części projektów przeprowadzono badania w grupie kontrolnej zdrowych ochotników, które również nie wypadają jednolicie. Uzyskane przeze mnie wyniki plasują się pośrednio na tle piśmiennictwa, zachowując podobną rozpiętość.

W grupie 3 (znieczulenie podpajęczynówkowe) oznaczono NT i SP zarówno we krwi, jak i w PMR. Pobranie materiału do badań w tej grupie chorych przeprowadzone było w trakcie procedury do znieczulenia PP i nie wiązało się z jakimikolwiek dodatkowymi zabiegami inwazyjnymi u pacjentów. Możliwa ona była wyłącznie w tej podgrupie, gdyż w przypadku pacjentów znieczulanych ogólnie zaistniała by konieczność wykonania punkcji lędźwiowej niepodyktowanej przesłankami klinicznymi. Pomimo niskiej liczebności badanych osób, udowodniłem istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem NT we krwi i w PMR. Potwierdziłem ją również dla SP. Stężenie NT w PMR było istotnie niższe w porównaniu do stężenia we krwi. Natomiast stężenie SP w PMR było istotnie wyższe w porównaniu do stężenia we krwi. Przeprowadziłem równoległe oznaczenia stężenia glukozy, które potwierdziły dokładnie opisaną już wcześniej zależność jej stężenia we krwi i PMR, co zarazem stanowi wewnętrzną próbę kontrolną. NT jest produkowana przez komórki neuroendokryne rozsiiane w całym organizmie. Stanowi zarówno neuroprzekaźnik w OUN, jak również neurohormon produkowany w płucach, wątrobie, trzustce czy w innych



miejscach układu pokarmowego. Zróżnicowanie stężenia NT w poszczególnych miejscach OUN jest znaczne, co wykazały badania na modelach zwierzęcych (46). Nie można zatem przypuszczać, że globalna ocena stężenia NT we krwi pozwala uzyskać dokładny obraz jej aktywności w różnych miejscach OUN czy pozostałych narządach. Taka ocena zróżnicowania aktywności NT w warunkach klinicznych jest niemożliwa (73). Opisane w pracy zależności stężenia badanych parametrów biochemicznych z danymi klinicznymi oraz silne korelacje w stężeniu oznaczanych substancji we krwi i w PMR stanowią istotny dowód, że zmiany stężenia NT w całym organizmie mają podobną etiologię i skutkują wspólnym wpływem na zmiany parametrów fizjologicznych.

Oznaczenia zostały wykonane met. ELISA. Źródło potencjalnych trudności w analizie aktywności badanych substancji stanowiły bardzo niskie (pg/ml) stężenia we krwi oraz w PMR. Do testów użyto jednak odczynników o najwyższej dostępnej czułości i możliwie wysokiej swoistości.

NT oznaczano we krwi 3 – krotnie: przed znieczuleniem (próbka A), 5 min. od indukcji (próbka B) oraz po zakończeniu znieczulenia (próbka C). Próbka B zgodnie z założeniami pracy była pobierana w niedużym odstępie od próbki A celem oceny dynamiki ew. zmian stężenia NT. W hipotezach mojej pracy mogły być one związane z nagłymi zmianami stanu hemodynamicznego pacjenta podczas wprowadzenia do znieczulenia albo z lekami użytymi w trakcie indukcji. Nie wykazałem jednak takich zależności. Ponadto w moich badaniach stężenia NT w próbkach B pokrywały się ze stężeniami NT oznaczonymi w próbkach A (wysoki współczynnik korelacji Spearmana,  $r=0,96$ ). Z jednej strony obserwacja ta jest wartościową, wewnętrzną próbą kontrolną, jednak z drugiej negatywnie zweryfikowała postawione hipotezy. Dynamika zmian stężenia NT, mierzonej podczas indukcji znieczulenia we krwi, następuje zbyt wolno, aby w okresie kilku minut można było zaobserwować wyraźne różnice w aktywności badanych substancji. Powyższa analiza stanowi jednak istotny wniosek wynikający z przeprowadzonego badania.

Czas trwania znieczulenia wynosił od 30 min. do 250 min. (śr. 61 min.). Analiza aktywności NT i SP w próbkach A i C wykazała istotne statystycznie różnice. Wykluczono ewentualny związek zmian stężenia NT i SP z objętością przetoczonych płynów, która mogłaby mieć wpływ na stężenie mierzonych substancji. Zaburzenia homeostazy ustroju w trakcie zabiegów operacyjnych i efekt farmakodynamiczny leków stosowanych w trakcie znieczulenia mogą w okresie kilkudziesięciu minut modyfikować stężenie NT oraz SP.

Podstawowymi założeniami pracy badawczej była analiza zmian stężenia NT w zależności od przebiegu i rodzaju znieczulenia. W zależności od zastosowanych środków wyszczególniono grupy pacjentów znieczulanych całkowicie dożylnie (grupa 1), dożylnowo-wziewnie (grupa 2) oraz podpajęczynówkowo (grupa 3). Są to podstawowe i powszechnie stosowane metody znieczulenia. Dużym zróżnicowaniem wykazywał się rodzaj zabiegów, którym poddawani byli pacjenci. Charakterystyka przebiegu znieczulenia może się istotnie różnić w zależności od typu wykonywanej procedury operacyjnej. Wszystkie operacje były przeprowadzone w trybie planowym, a pacjenci poddani dokładnej ocenie dotyczącej kryteriów wykluczeń. Przeprowadzone analizy statystyczne nie wykazały jakichkolwiek różnic w stężeniu NT i SP oraz dynamice podstawowych parametrów fizjologicznych w zależności od typu przeprowadzonej operacji. Uzyskano jednocześnie ciekawe wyniki w zależności od typu i przebiegu znieczulenia.

W przeprowadzonych badaniach wykazałem różnice w stężeniu NT i SP w zależności od wybranej metody znieczulenia. Zainteresowanie wzbudzają wyniki analizy stężenia neurotensyny i substancji P przed znieczuleniem i po zakończonej procedurze dla poszczególnych grup znieczulenia. Potwierdziłem, że znieczulenie podpajęczynówkowe jako forma blokady centralnej i znieczulenia przewodowego prowadzi do obniżenia stężenia NT we krwi. Nie wykazałem podobnych różnic w analizowanych grupach znieczulenia ogólnego (grupy 1 i 2).

Ciekawe wyniki przyniosło również porównanie stężenia SP w poszczególnych grupach. Potwierdziłem wyraźny wzrost stężenia SP we krwi u chorych poddanych znieczuleniu całkowicie dożylnemu i tendencję do spadku stężenia SP we krwi w grupie chorych, u których znieczulenie było podtrzymane sewofluranem. Nie wykazałem różnicy pomiędzy aktywnością SP w próbkach A i C w grupie PP. Substancja P jest jednym z dobrze opisanych markerów stymulacji bólowej i jej wzrost może być kojarzony z wpływem bodźców nocyceptywnych na obwodowy i ośrodkowy układ nerwowy. Pomimo jej wielokierunkowego działania na organizm człowieka jest ona ugruntowanym markerem stymulacji bólowej zarówno w bólu ostrym i przewlekłym (52, 69). W dostępnym piśmiennictwie celem oceny natężenia bólu znaleźć można nawet próby oznaczania jej stężenia w ślinie człowieka (38). Kliniką miarę oceny natężenia bólu stanowiła skala NRS. Jednak wszystkie operacje były przeprowadzone w trybie planowym i według przyjętych standardów było prowadzone leczenie przeciwbólowe. Nie wykazałem żadnych różnic

statystycznych w zależności od rodzaju operacji, znieczulenia, dawki leków opioidowych czy stężenia NT i SP a wynikiem natężenia bólu w skali NRS. W tej sytuacji pomiar stężenia SP był jedynym parametrem diagnostycznym pozwalającym na próbę oceny stymulacji bólowej, szczególnie w czasie operacji.

Znieczulenie PP prowadzi do całkowitej blokady przewodzenia bodźców bólowych pomiędzy I i II neuronem drogi bólowej w unerwianym zakresie, blokuje tym samym procesy patofizjologiczne wyzwalane stymulacją bólową na jej bardzo wczesnym etapie (72). Jest to prawdopodobnym wyjaśnieniem niewykazania różnic w stężeniu SP w tej grupie znieczuleń, które wydaje się potwierdzać istotne korzyści płynące z zastosowania tej formy znieczulenia. Jednocześnie wykazałem, że znieczulenie TIVA prowadzi do wzrostu stężenia SP we krwi. Pokazuje to, że mimo stosowania opioidów oraz adjuwantowych leków przeciwbólowych w trakcie znieczulenia ogólnego, pozwalających na wybudzenie pacjenta z niskim wynikiem NRS, wpływ aktywności nocycyptywnej na organizm człowieka w trakcie znieczulenia ogólnego całkowicie dożylnego pozostaje zauważalny. Wykryte różnice potwierdzają fakt, że środki hipnotyczne do jakich należy propofol nie wykazują działania analgetycznego.

W tych okolicznościach znamienna wydaje się tendencja do obniżenia stężenia SP we krwi u chorych, u których znieczulenie ogólne podtrzymane było sewofluranem. Mimo braku spełnienia kryterium istotności statystycznej w moich badaniach, wynik jest bardzo bliski osiągnięcia tego poziomu. Taka zależność nie występuje w grupie 1 (TIVA), podkreślając tym samym wpływ sewofluranu na zmniejszenie aktywności SP we krwi. Przypomnieć należy, że porównanie analizowanych grup w zależności od zastosowanych dawek opioidowych leków przeciwbólowych nie wykazało różnic istotnych statystycznie. Podobnie jak w przypadku podawania dożylnych leków hipnotycznych powszechnie uważa się, że gazy anestetyczne, poza podtlenkiem azotu nie wykazują działania analgetycznego (6). Jednak wpływ sewofluranu na OUN jest kompleksowy a mechanizm działania nie doczekał się jednoznacznego wytłumaczenia (33). Istnieje wiele koncepcji wpływu gazów anestetycznych na OUN, a siła ich działania istotnie wiąże się ze stopniem lipofilności, co wskazuje na związek wywoływanych efektów z przenikaniem ich do błony komórkowej neuronów (34). Istnieją jednak odmienne koncepcje (receptorowa czy molekularna), które uzupełniają wiedzę dotyczącą działania nasennego sewofluranu. Tak samo nie zostało ustalone, czy istotny wpływ na obniżenie poziomu świadomości związany jest z blokowaniem określonych ośrodków w OUN, czy należy skupić się na efekcie globalnego hamowania aktywności

elektrycznej neuronów OUN (65). Za regulację poziomu świadomości odpowiada wiele ośrodków zlokalizowanych korowo i podkorowo. Jednym z bardziej istotnych jest układ siatkowaty, którego wyłączenie jest jednym z istotnych elementów snu uzyskiwanego na skutek działania gazów anestetycznych. Jest to układ, który zarazem stanowi istotne piętro regulacji nocyceptywnej, mający istotny wpływ już na poziomie II neuronu przewodzenia bólu (50). Wydaje się zatem możliwy wpływ zastosowania sewofluranu na zmniejszenie natężenia bodźców bólowych w wyższych piętrach OUN, co stanowi prawdopodobne wyjaśnienie otrzymanych wyników.

Zaobserwowane różnice w aktywności NT nie pokrywały się z różnicami w aktywności SP. Wykazałem jednak istotnie statystyczny związek stężenia NT ze stężeniem SP we krwi pobranej u pacjentów przed znieczuleniem (NTA i SPA). Wyższe stężenia NT współistniały z wyższymi stężeniami SP. Analiza stężenia NT i SP w próbkach krwi pobranych po zakończeniu zabiegu wykazała tylko tendencję do takiej korelacji, co pośrednio świadczy o pewnym „zachwianiu” we wzajemnym stosunku aktywności NT i SP na skutek stosowanych procedur medycznych. Mając na uwadze potencjalne działanie przeciwbólowe NT można się było spodziewać odwrotnej korelacji ze stężeniem SP (wyższe stężenia NT działającej przeciwbólowo mogą łagodzić bodźce, które prowadzą do zwiększonej produkcji SP). Jednak taki mechanizm może przebiegać odwrotnie (większe natężenie bólu prowadzi do wydzielania większych ilości NT, jako endogennego środka analgetycznego, powodując jednocześnie zwiększone wydzielanie SP). Prawdopodobnym wydaje się fakt, że powyższe procesy zachodzą równocześnie i może to być wytłumaczeniem wykazanych zależności pomiędzy NT a SP. Otrzymane wyniki nie wykluczają możliwości zastosowania z dobrym skutkiem analogów NT, jako nowej generacji leków przeciwbólowych (74).

Istotną dla odpowiedzi na pytanie dotyczące wpływu stężenia NT na stan hemodynamiczny, jako podstawowy parametr homeostazy organizmu w trakcie znieczulenia była analiza jej stężenia w zależności od częstości akcji serca oraz ciśnienia tętniczego krwi. Zmienność zarówno BP jak i HR to proste i powszechnie stosowane elementy oceny stanu układu krążenia, które jednak stanowią podstawę monitorowania pacjenta w trakcie znieczulenia. Charakter prowadzonych zabiegów oraz stan pacjentów nie wymagał stosowania bardziej złożonych metod monitorowania hemodynamicznego. Wartości HR na koniec operacji były istotnie niższe od wartości wyjściowych. Oprócz wpływu stosowanych leków, możliwym wyjaśnieniem tej różnicy jest agitacja pacjenta przed operacją, pomimo

stosowania premedykacji. Należy przypomnieć, iż pacjenci operowani byli w trybie planowym, tj. w momencie, kiedy stan ogólny chorego jest optymalny.

Ważnym spostrzeżeniem był fakt, że w całej grupie badanych ciśnienie tętnicze wyrażone jako MAP, ale także ciśnienie skurczowe i rozkurczowe były niższe bezpośrednio po indukcji znieczulenia w porównaniu do wartości wyjściowych. W przypadku znieczulenia ogólnego należy przyjąć, że za spadek BP odpowiada kardiodepresyjne działanie leków używanych do indukcji znieczulenia oraz hamowanie nadmiernie pobudzonego w okresie okołoperacyjnym układu adrenergicznego (67). W grupie znieczuleń podpajęczynówkowych spadek BP związany był z blokadą współczulną występującą w zakresie uzyskanego poziomu znieczulenia, co w konsekwencji prowadzi do rozszerzenia łożyska naczyniowego, spadku oporu systemowego i obniżenia ciśnienia tętniczego krwi (72). W przypadku znacznych spadków BP było stosowane odpowiednie leczenie – leki wazoaktywne oraz płynoterapia. Epizodów głębokiej hipotensji nie odnotowałem. W całej grupie badanych wartości ciśnienia tętniczego (skurczowego, rozkurczowego, MAP) były istotnie wyższe na koniec zabiegu operacyjnego w porównaniu do okresu przypadającego bezpośrednio po indukcji (po 5 min). Wartości te były zarazem istotnie niższe w porównaniu do parametrów wyjściowych. Na skutek odpowiedniego leczenia oraz odpowiedzi układów kontrolujących parametry fizjologiczne organizmu po istotnym zachwianiu homeostazy, jakim jest indukcja i rozpoczęcie zabiegu operacyjnego dochodzi do stabilizacji stanu pacjenta w fazie podtrzymania znieczulenia, aktywnie kontrolowanej przez prowadzącego anestezjologa. W miarę wydłużania czasu operacji, kumulowania dawki stosowanych leków oraz ewentualnych trudności napotkanych w trakcie operacji stan ten ulega ponownemu zachwianiu. Znajduje to swoje odzwierciedlenie w moich wynikach.

Korelowałem stężenia NT i SP z ciśnieniem tętniczym krwi i zmianami częstości akcji serca. Nie ustaliłem bezpośredniego związku pomiędzy zmianami stężenia NT ani SP z powyższymi parametrami. W celu pogłębienia analizy obliczyłem parametry pochodne, jakimi była różnica w średnim ciśnieniu tętniczym pomiędzy poszczególnymi etapami znieczulenia. Wykazałem, że wzrost aktywności NT we krwi w trakcie znieczulenia wiązał się z mniejszym spadkiem ciśnienia tętniczego krwi. Podobną zależność uzyskałem dla SP. Wy tłumaczenie tej zależności nie jest jednoznaczne. Z jednej strony znane jest hipotensyjne działanie NT poprzez ośrodki centralnego układu nerwowego. Z drugiej strony wiele neuronów kontaktujących się z komórkami mięśnia sercowego oraz naczyniami wieńcowymi

zawiera NT. Jej wydzielanie może prowadzić do aktywacji wtórnych przekaźników jak katecholaminy czy prostaglandyny (poprzez aktywację receptora NTSR 1) wpływając na częstość, kurczliwość mięśnia sercowego i napięcie ściany naczyń, a przez to modyfikuje ciśnienie tętnicze krwi. Neurony aferentne zawierające NT łączą się z włóknami eferentnymi na poziomie rdzenia kręgowego, wyzwalając odpowiedź układu współczulnego (63). Ponadto zarówno NT, jak również SP mogą być produkowane przez organizm w odpowiedzi na bodźce nocycyptywne, a aktywność bólowa prowadzi do aktywacji współczulnej i wzrostu BP. Takie wyjaśnienie wspiera fakt, że większość analogicznych zależności wykazałem dla SP – jej wyższe wyjściowe stężenie we krwi koreluje z mniejszym spadkiem BP 5 min. od indukcji, końcowe stężenie we krwi – z mniejszym spadkiem BP na koniec operacji (tendencja do korelacji na poziomie istotności statystycznej), a wyższe stężenie SP w PMR łączy się z mniejszym spadkiem BP na obu etapach znieczulenia.

Istotnym spostrzeżeniem jest fakt, iż w całej grupie badanych końcowa temperatura ciała była niższa od temperatury początkowej. Różnica w medianach wynosiła tylko 0,2 °C a w większości przypadków wartości pomiarów pozostawały w granicach fizjologicznych, co zapewniała kontrola temperatury otoczenia i zabezpieczenie pacjenta przed utratą ciepła w trakcie operacji, to jednak tendencja spadkowa ujawniła istotność statystyczną. Zabiegi odbywały się w trybie planowym, wobec czego nie obserwowano znacznych zaburzeń homeostazy w aspekcie kontroli temperatury. Niemniej jednak środki znieczulenia ogólnego istotnie zmniejszają tempo przemian metabolicznych na poziomie komórkowym, natomiast środki znieczulenia regionalnego prowadzą do blokady współczulnej, a w konsekwencji do rozszerzenia naczyń krwionośnych i zwiększonej utraty ciepła. W połączeniu z unieruchomieniem pacjenta i wyłączeniem możliwości aktywnego generowania energii cieplnej przez tkankę mięśniową może to stanowić wyjaśnienie moich obserwacji (24).

Większość przeprowadzonych analiz zestawiających zmiany aktywności NT ze zmianą temperatury pacjenta lub otoczenia nie wykazała wyników na poziomie istotności statystycznej. Wyjaśnieniem na pewno może być kompleksowy system regulacji ciepłoty ciała, w którym NT stanowi tylko element procesu kontroli temperatury, szczególnie zlokalizowany w obrębie poszczególnych miejsc OUN odpowiedzialnych za termoregulację. Poza tym zmiany temperatury w trakcie zabiegu nie były znaczne, wobec czego trudno było powiązać je z wynikami konkretnych analiz biochemicznych. Tym bardziej interesująca i wartościowa staje się wykazana różnica wskazująca na istotnie niższy poziom stężenia NT



w PMR u chorych, u których wystąpił spadek temperatury ciała w trakcie znieczulenia PP. Wynik wydaje się przeczyć pogładowi, iż NT wykazuje działanie obniżające temperaturę ciała. Należy jednak pamiętać, iż zjawisko to charakteryzowało się wysokim stopniem tachyfilaksji, wobec czego przewlekle podwyższone wartości NT wpływają znacznie słabiej na tempo obniżania temperatury ciała. (30, 53). Logicznym zatem jest stwierdzenie na podstawie otrzymanych wyników, iż wyjściowo wyższy poziom stężenia NT może łagodzić tendencję do obniżania temperatury ciała. Warto również podkreślić, że jednocześnie wykonano analizę związków stężenia NT i SP z długością trwania zabiegu, jednak nie przyniosła ona wyników na poziomie istotności statystycznej. Otrzymane wyniki mogą stanowić cenną wskazówkę dla wykorzystania w przyszłych badaniach klinicznych analogów neurotensyny do celów farmakologicznie indukowanej hipotermii (91).

Przeprowadziłem analizę stężenia NT w zależności od wieku i płci chorych, które jednak nie ujawniły istotnych zależności. Pozostaje to w zgodzie z moimi hipotezami, ze względu na fakt, iż w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji, które by na takie zależności wskazywały (51). Zgoła odmiennie prezentuje się analiza stężenia SP w zależności od wyżej wymienionych danych klinicznych. Bardzo ciekawym spostrzeżeniem jest fakt, że stężenie SP we krwi pacjentów płci żeńskiej na koniec zabiegu operacyjnego jest znamienne niższe od analogicznego stężenia SP u mężczyzn. Jednocześnie nie zaobserwowałem istotnych statystycznie różnic w dawkach stosowanych leków, objętości przetoczonych płynów czy długości trwania operacji w zależności od płci pacjentów. Pamiętając, że SP stanowi istotny marker procesów nocycyptywnych, można przyjąć, że były one mniej natężone w grupie kobiet, wskazując równocześnie na zwiększoną wrażliwość na procesy bólowe u mężczyzn (88).

Analogicznie na podstawie odwrotnej korelacji wieku ze stężeniem SP w próbce pobranej przed operacją, można przyjąć że u osób starszych występuje przewlekle niższe stężenie SP we krwi. Potwierdza to fakt, że wiek chorych ma wpływ na modulację odpowiedzi nocycyptywnej (70). Należy zauważyć, że w tej grupie liczne są choroby towarzyszące. Ich występowanie wiąże się z wyższą oceną ryzyka okołoperacyjnego na podstawie skali ASA. Wykonanie obliczenia potwierdziły również odwrotną korelację stężenia SP w próbce krwi pobranej przed operacją a skalą ASA. Współczynnik korelacji jest zbliżony do korelacji SP z wiekiem. Prawdopodobnie zależność pomiędzy SP i ASA wiąże się

pośrednio z korelacją pomiędzy stężeniem SP, a wiekiem. Dla NT nie wykazałem takich zależności.

Wśród chorób towarzyszących najczęściej występowały nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typu II, choroba niedokrwienna serca, przewlekła obturacyjna choroba płuc oraz niedoczynność tarczycy. Przeprowadzono analizy stężenia NT oraz SP w poszczególnych próbkach krwi i PMR w zależności od występowania poszczególnych chorób, które nie wykazały istotnych statystycznie wyników. Jednak należy zaznaczyć, że dla poszczególnych jednostek chorobowych grupy badanych były nieliczne. Analiza stężenia NT i SP pomiędzy grupą pacjentów bez chorób przewlekłych, a grupą pacjentów, u których występowały jakiegokolwiek choroby towarzyszące, również nie wykazała wyników na poziomie istotności statystycznej. Może to być związane z heterogennością stwierdzonych chorób przewlekłych.

Zbadałem również zależność pomiędzy aktywnością NT i SP, a uzależnieniem od nikotyny. Stężenie SP w PMR palaczy było istotnie niższe niż u osób niepalących. Dla NT wykazałem tendencję do istotnie statystycznej różnicy. Nie udowodniłem korelacji stężenia SP ani NT z ilością palonego tytoniu, jednak na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że palenie tytoniu prowadzi do obniżenia stężenia badanych substancji w PMR. Potwierdza to rolę NT i SP w uzależnieniu od nikotyny (66).

BMI pacjentów nie miało wpływu na aktywność NT ani aktywność SP we krwi czy w PMR. W dostępnej literaturze informacje na ten temat są niejednoznaczne (3, 5, 49). Stwierdziłem korelację BMI ze stężeniem glukozy we krwi pobranej po zakończeniu zabiegu operacyjnego. Interesujący jest przy tym fakt, że w całej grupie badanych stężenie glukozy w próbce krwi pobranej po zabiegu operacyjnym było istotnie statystycznie wyższe od stężenia we krwi przed rozpoczęciem procedury znieczulenia. Pacjenci nie otrzymywali w trakcie znieczulenia żadnych preparatów glukozy. Prawdopodobnym wytłumaczeniem otrzymanych wyników jest wzrost stężenia glukozy wynikający z aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza w warunkach stresu i innych bodźców, którym poddawany jest organizm, pomimo stosowania znieczulenia. Nie wykazałem zależności pomiędzy stężeniem Glu a stężeniem NT czy stężeniem SP ani we krwi, ani w PMR. Możliwą przyczyną braku wyraźnych korelacji jest fakt, że glikemia w większości przypadków pozostawała we właściwych granicach podczas całej operacji, a wahania były stosunkowo niewielkie. Nie wykazałem również zależności pomiędzy aktywnością NT i aktywnością SP, a stężeniem leukocytów i podstawowych elektrolitów we krwi ( $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ ).



## 7. Wnioski

1. Przeprowadzona analiza wykazała różnice w stężeniu neurotensyny w zależności od wybranej metody znieczulenia.

2. Nie zaobserwowałem różnic w aktywności neurotensyny w zależności od rodzaju zabiegu operacyjnego.

3. Istnieje korelacja pomiędzy poziomem neurotensyny, a zmianami ciśnienia tętniczego krwi i temperatury ciała w trakcie operacji. Nie wykazałem natomiast związku pomiędzy stężeniem neurotensyny, a częstością akcji serca.

4. Potwierdziłem związek stężenia neurotensyny z uzależnieniem od nikotyny. Nie wykazałem korelacji pomiędzy aktywnością neurotensyny, a pozostałymi danymi klinicznymi zebranymi w okresie okołoperacyjnym.

5. Aktywność substancji P wykazuje zmienność w zależności od wybranej metody znieczulenia, płci, wieku chorych, ryzyka okołoperacyjnego wg skali ASA i palenia tytoniu.

6. Występuje istotna statystycznie korelacja pomiędzy stężeniem neurotensyny, a stężeniem substancji P.

## 8. Streszczenie

### Wstęp

Neurotensyna (NT) jest neuropeptydem odkrytym przez Carraway'a i Leeman'a w latach 70. XX wieku. Wykrywana jest we krwi, w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) oraz w tkankach licznych narządów (mózg, serce, płuca, wątroba, śledziona, trzustka). W OUN pełni funkcję zarówno neurotransmisyjną, jak również neuromodulującą dla licznych układów biochemicznych (dopamin-, serotonin-, gaba-, glutamin- i cholinergicznego). Produkowana jest ponadto przez komórki neuroendokrynne zlokalizowane w różnych układach organizmu (krążenia, oddechowy, pokarmowy). Do bodźców stymulujących jej produkcję należą zaburzenia homeostazy ustroju związane z bólem, stresem czy stanem zapalnym. Jej poziom jest podwyższony u chorych cierpiących na choroby neurodegeneracyjne, psychiczne czy nowotwory OUN. Swoje efekty NT wywołuje poprzez przyłączenie do jednego z trzech podstawowych typów receptorów (NTsR1, NTsR2, NTsR3). Jej plejotropowe działanie objawia się szczególnie w procesie regulacji ciśnienia tętniczego krwi, przewodzeniu bólu, regulacji temperatury organizmu i regulacji gospodarki węglowodanowej. Ma ona ponadto istotny związek z rytmem snu i czuwania, aktywnością psychoruchową oraz odczuwaniem głodu i sytości.

Operacja chirurgiczna nieodłącznie wiąże się z naruszeniem homeostazy organizmu. Na powstałe zaburzenia szczególnie wpływ ma sama choroba podstawowa na tle wszystkich chorób towarzyszących, ale również zakres ingerencji chirurgicznej, czas trwania operacji oraz sposób znieczulenia. Stosowane w anestezjologii leki pozwalają przeciwdziałać zaburzeniom homeostazy, choć nie są pozbawione własnych działań niepożądanych. Wywierają swój efekt na układ nerwowy, krążenia, oddechowy, endokrynnny, pokarmowy, immunologiczny, krwiotwórczy i wydalniczy.

### Cele

Głównym celem pracy była analiza stężenia neurotensyny w grupie pacjentów znieczulanych różnymi metodami do planowych zabiegów operacyjnych z powodu chorób chirurgicznych, ortopedycznych oraz ginekologicznych. Pozwala ona odpowiedzieć na pytanie: czy i w jakim stopniu stężenie neurotensyny wpływa na zachowanie podstawowych

parametrów homeostazy organizmu w trakcie znieczulenia do zabiegu operacyjnego. Z tego powodu zbadane zostały korelacje poziomu NT z parametrami stanu chorego monitorowanymi podczas operacji. Wykonana została analiza korelacji z danymi klinicznymi zebranymi w okresie okołoperacyjnym. Został także oceniony wpływ metody znieczulenia na zmiany stężenia neurotensyny. Równoległa analiza stężenia substancji P, peptydu o równie istotnej, złożonej roli szczególnie w przekazywaniu bólowym pozwoliła ocenić potencjalne związki pomiędzy analizowanymi neuropeptydami.

## **Metodyka**

Badania kliniczne miały charakter prospektywny i zostały przeprowadzone na grupie 56 dorosłych pacjentów. W zależności od rodzaju zastosowanego znieczulenia wyróżniłem trzy grupy pacjentów (znieczulenie ogólne całkowicie dożylnie, ogólne dożylnie-wziewne oraz podpajęczynówkowe). Indukcja znieczulenia ogólnego prowadzona była z wykorzystaniem propofolu oraz fentanylu i rokuronium. Podtrzymanie znieczulenia ogólnego przebiegało z wykorzystaniem ciągłego wlewu propofolu albo z użyciem sewofluranu. Znieczulenie podpajęczynówkowe było wykonywane z zastosowaniem 0,5% bupiwakainy hiperbarycznej. Rodzaj znieczulenia był wybrany adekwatnie do stanu klinicznego pacjenta oraz typu operacji. Pacjenci poddawani byli zabiegom chirurgicznym (cholecystektomie laparoskopowe, tyroidektomie, operacje przepuklin brzusznych, operacje żyłaków kończyn dolnych), ortopedycznym (endoprotezoplastyki i zespolenia złamań w obrębie kończyn dolnych) oraz ginekologicznym (histerektomie). Z badania wyłączeni zostali pacjenci, u których stwierdzone w wywiadzie choroby towarzyszące mogły wpływać na stężenie neurotensyny.

Przeprowadziłem analizę stężenia NT i SP we krwi pacjentów w podgrupach w zależności od wybranej metody znieczulenia oraz w całej grupie chorych. Próbkę były pobierane podczas różnych etapów znieczulenia. U pacjentów znieczulonych PP wykonana została dodatkowo analiza stężenia NT i SP w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR). Wyniki skorelowałem z parametrami ocenianymi w trakcie znieczulenia: częstością akcji serca (HR), ciśnieniem tętniczym krwi (BP), średnim ciśnieniem tętniczym (MAP), temperaturą ciała. Zbadałem także korelacje z danymi klinicznymi zebranymi w okresie okołoperacyjnym (wiek, płeć, BMI, ryzyko operacyjne wg skali ASA, natężenie bólu wg skali NRS, palenie

tytoniu, współistniejące choroby). Uzupełniającymi badaniami były oznaczenia stężenia glukozy, elektrolitów i leukocytów.

## **Wyniki**

Mediana stężenia NT we krwi pacjentów przed rozpoczęciem znieczulenia wyniosła 185,27 pg/ml (24,22 – 1261,6), natomiast substancji P 8,37 pg/ml (0 – 1116,6). Mediana stężenia NT w PMR wyniosła 7,29 pg/ml (0 – 127,19), a SP 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18). Mediana wieku w całej grupie chorych wyniosła 55 lat (23-88), med BMI = 26 (20-39), a w skali ASA mediana wyniosła 2 (1-3). W 54% przypadków stwierdzono obecność chorób towarzyszących, najczęściej występowało nadciśnienie tętnicze (18 chorych). W grupie badanych znalazło się 20 palaczy tytoniu.

Po zabiegu w grupie chorych znieczulonych podpajęczynówkowo stężenie NT we krwi było istotnie niższe od wartości przed znieczuleniem ( $p < 0,01$ ). Zaobserwowałem ponadto istotny wzrost stężenia substancji P we krwi u chorych poddanych znieczuleniu całkowicie dożylnemu ( $p < 0,01$ ).

Stężenie NT i SP we krwi pobranej przed znieczuleniem istotnie korelowało ze stężeniem w PMR ( $p < 0,0001$ ). Wartości NT w PMR były istotnie niższe w porównaniu ze stężeniem we krwi ( $p < 0,0001$ ), natomiast stężenie SP w PMR było wyższe od stężenia we krwi ( $p < 0,0001$ ). Potwierdziłem korelację pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP we krwi pobranej przed znieczuleniem ( $p < 0,0001$ ). Analiza tej samej korelacji we krwi pobranej po zabiegu potwierdza jedynie tendencję do wykazania istotnej statystycznie korelacji ( $p = 0,089$ ), co pośrednio wskazuje na istotny wpływ zabiegu operacyjnego i stosowanych środków znieczulenia na wzajemny stosunek stężenia NT i SP.

Substancja P w próbce krwi pobranej przed znieczuleniem wykazywała odwrotną korelację z wynikiem w skali ASA ( $p < 0,05$ ) oraz tendencję do odwrotnej korelacji z wiekiem pacjentów ( $p = 0,07$ ). Dla NT takich zależności nie zaobserwowałem. Stężenie SP w próbce krwi pobranej po zakończonym zabiegu operacyjnym było wyraźnie wyższe w grupie mężczyzn w porównaniu do kobiet ( $p < 0,05$ ). Stężenie SP w PMR u chorych uzależnionych od nikotyny było istotnie niższe niż u osób niepalących ( $p < 0,05$ ). Stężenie neurotensyny w PMR wykazało tendencję do istotnej statystycznie różnicy w zależności od uzależnienia od nikotyny ( $p = 0,062$ ).

W grupie pacjentów, u których nastąpił spadek temperatury ciała stężenie NT w PMR było istotnie niższe w porównaniu ze stężeniem NT w PMR chorych, u których tego spadku nie obserwowano ( $p < 0,05$ ). Potwierdziłem także, że mniejsza różnica w stężeniu NT we krwi pomiędzy końcem a początkiem zabiegu koreluje z mniejszym spadkiem średniego ciśnienia tętniczego krwi ( $p < 0,05$ ). Podobną zależność uzyskałem dla substancji P ( $p < 0,05$ ). Ponadto przy wyższych wartościach stężenia substancji P w PMR przed znieczuleniem podpajęczynówkowym zaobserwowałem mniejszy spadek średniego ciśnienia tętniczego w trakcie znieczulenia ( $p < 0,01$ ).

## **Wnioski**

Przeprowadzone analizy wykazały różnice w stężeniu neurotensyny w zależności od wybranej metody znieczulenia. Wśród najważniejszych wniosków należy wymienić fakt, że istnieje korelacja poziomu neurotensyny z parametrami istotnymi dla zachowania homeostazy organizmu w trakcie operacji, tj. ze zmianami ciśnienia tętniczego krwi i temperatury organizmu. Potwierdzony został także związek stężenia neurotensyny z paleniem tytoniu. Nie wykazałem korelacji neurotensyny z pozostałymi danymi klinicznymi zebranymi w okresie okołoperacyjnym. Stężenie substancji P wykazuje natomiast zmienność zależną od wybranej metody znieczulenia, płci, wieku, wartości ryzyka okołoperacyjnego wg skali ASA oraz palenia tytoniu. Warto podkreślić, że jednocześnie występuje istotna statystycznie korelacja pomiędzy stężeniem neurotensyny a stężeniem substancji P.

## **9. Abstract**

### **Introduction**

Neurotensin (NT) is a neuropeptide discovered by Carraway and Leeman in the 1970s. It can be detected in blood, cerebrospinal fluid (CSF) and in numerous organs (brain, heart, lungs, liver, spleen, pancreas). In central nervous system (CNS) it functionates as a neurotransmitter and neuromodulator in many biochemical systems (dopamin-, serotonin-, gaba-, glutamin- and cholinergic). NT is produced also by neuroendocrine cells localised in circulatory, respiratory and digestive systems. It's production is stimulated by disturbances in homeostasis of human organism, that are connected with pain, stress or inflammation. NT level is increased in patients suffering from neurodegenerative diseases, psychiatric disorders or CNS neoplasms. Pharmacodynamic effects of NT are mediated by 3 types of neurotensin receptors (NTsR1, NTsR2, NTsR3). It's pleiotropic action can be observed in regulation of blood pressure, transmission of pain, body temperature control and glucose metabolism. Additionally, NT participates in regulation of sleep/wake cycle, psychomotor activity and hunger/satiety perception.

Surgical intervention is inseparably combined with homeostatic disturbances. They are influenced by the causative and concomitant diseases, but also by the extent of surgery, the length of operation and method of anaesthesia. Anaesthetic drugs can help to counteract homeostatic disturbances, but because of their side effects, they can cause further homeostatic imbalance. They influence nervous, circulatory, respiratory, endocrine, digestive, immunological, hematological and excretory systems.

### **Aim**

The main aim of my research was to analyze neurotensin concentrations in patients anaesthetised with different methods for elective surgeries (in the field of general surgery, orthopaedics and gynaecology). This analysis should help to answer the question about the influence of NT concentrations on changes in basic homeostatic parametres during anaesthesia for surgery. Correlations between levels of NT and basic clinical parameters monitored during surgery were analyzed. Analysis of correlations between NT and clinical data collected perioperatively was performed. The influence of the method of anaesthesia on changes in NT levels was assessed. Simultaneous analysis of concentrations of substance P

(peptide that plays an equally important, complex role, especially in nociception) allowed the assessment of interactions between both analyzed neuropeptides.

## **Methodology**

It was a prospective clinical trial carried out on a group of 56 adult subjects. Depending on the method of anaesthesia the group was divided into 3 subgroups (total intravenous anaesthesia, intravenous-inhalational anaesthesia and spinal anaesthesia). The general anaesthesia was induced using propofol, fentanyl and rocuronium. The maintenance of general anaesthesia was achieved with continuous infusion of propofol or with inhalation of sevoflurane. In spinal anaesthesia 0,5% bupivacaine spinal heavy was used. Patients were qualified for proper method adequately to clinical condition and type of surgery. Patients underwent general surgeries (laparoscopic cholecystectomies, thyroidectomies, abdominal hernia plasties, lower limb varicose veins resections), orthopaedic surgeries (endoprothesoplasties, lower limb fracture internal stabilizations) and gynaecological surgeries (hysterectomies). Subjects suffering from concomitant diseases, that are connected with NT level alterations were excluded.

I have analyzed concentrations of NT and SP in blood in subgroups depending on the method of anaesthesia as well as in the whole study group. Samples were collected during various phases of anaesthesia. In the subgroup anaesthetised spinally analysis of NT and SP levels in CSF was performed additionally. Results were correlated with following parameters assessed during course of anaesthesia: heart rate (HR), arterial blood pressure (BP), mean arterial blood pressure (MAP), body temperature. I have also analyzed correlations with clinical data collected in the perioperative period (age, sex, BMI, ASA score, NRS score, tobacco usage, concomitant diseases). Among complementary tests glucose levels, basic electrolytes and white blood cells count were collected.

## **Results**

Median NT concentration in blood before induction of anaesthesia equaled 185,27 pg/ml (24,22 – 1261,6). Substance P median was 8,37 pg/ml (0 – 1116,6). Median NT concentration in CSF was 7,29 pg/ml (0 – 127,19) and SP 69,35 pg/ml (34,52 – 235,18). Median age in a whole study group was 55 years (23-88), med BMI = 26 (20-39) and med ASA score equaled 2 (1-3). In 54% subjects concomitant diseases were present, among them

arterial hypertension was the most frequent (18 patients). In a study group 20 subjects were tobacco smokers.

In the spinal anaesthesia subgroup blood level of NT after surgery was significantly lower than before the induction ( $p < 0,01$ ). I have observed statistically significant rise in substance P concentration in blood in patients anaesthetised with TIVA method ( $p < 0,01$ ).

NT and SP levels in blood significantly correlated with their levels in CSF ( $p < 0,0001$ ). NT levels in CSF were significantly lower than in blood ( $p < 0,0001$ ), while SP concentrations in CSF were higher than in blood ( $p < 0,0001$ ). I revealed a correlation between levels of NT and SP in blood before induction of anaesthesia ( $p < 0,0001$ ). Analysis of the same correlation in blood collected after surgery revealed only a tendency towards statistically significant correlation ( $p = 0,089$ ), what can secondary prove an influence of surgery and applied anaesthesia on relationship between NT and SP.

Substance P levels in blood samples collected before induction of anaesthesia revealed reverse correlation with ASA score ( $p < 0,05$ ) and a tendency towards statistical reverse correlation with age of subjects ( $p = 0,07$ ). NT levels analysis did not reveal such relationships. SP concentrations in blood samples collected after surgery were significantly higher in males compared to females ( $p < 0,05$ ). SP levels in CSF in tobacco smokers were lower than in non-smokers ( $p < 0,05$ ). NT concentrations in CSF revealed a tendency towards statistically significant differences depending on tobacco smoking ( $p = 0,062$ ).

In a group of patients in whom body temperature decreased during surgery NT concentrations in CSF were significantly lower than in patients without body temperature decrease ( $p < 0,05$ ). I revealed also, that smaller differences in NT levels between the end and the beginning of surgery correlate with lower mean arterial pressure drops ( $p < 0,05$ ). Analogical relation was revealed for substance P levels ( $p < 0,05$ ). Furthermore, lower drops in MAP during spinal anaesthesia were related to higher initial substance P levels in CSF ( $p < 0,01$ ).

## **Conclusions**

Performed analyses revealed statistically significant differences in neurotensin levels depending on the method of anaesthesia. Moreover, there are significant correlations between



NT concentrations and parameters important for maintenance of homeostasis: blood pressure and body temperature. Relationship between NT level and tobacco smoking was also revealed. I did not observe any other correlation between NT and clinical data collected in perioperative period. Substance P reveals significant variability depending on method of anaesthesia, sex, age, ASA score and tobacco smoking. It is important to highlight, that there is a statistically significant correlation between levels of NT and SP.

## 10. Piśmiennictwo

1. Abbaci A. i wsp. (2018) Neurotensin receptor type 2 protects B-cell chronic lymphocytic leukemia cells from apoptosis. *Oncogene* 36(6): 756-767
2. Allescher H. D. i Ahmad S. (1991) Neuropeptide function in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 9: 309-400
3. Auquet T. i wsp. (2018) Low circulating levels of neurotensin in women with nonalcoholic fatty liver disease associated with severe obesity. *Obesity* 26(2): 274-278
4. Backryd E. i wsp. (2014) Do low levels of beta-endorphin in the cerebrospinal fluid indicate defective top-down inhibition in patients with chronic neuropathic pain? A cross-sectional, comparative study. *Pain Med* 15(1): 111-119
5. Barchetta I. i wsp. (2018) Association between systemic leptin and neurotensin concentration in adult individuals with and without type 2 diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest* 41(10): 1159-1163
6. Ben Boujema M. i wsp. (2015) Nitrous oxide persistently alleviates pain hypersensitivity in neuropathic rats: A dose-dependent effect. *Pain Res Manag* 20(6): 309-315
7. Binder E.B. i wsp. (2007) Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacological Reviews*. 53(4): 453-486
8. Bock J.M. (2018) Carotid chemoreceptors: the link between pulmonary and cardiovascular disease? *J Physiol* 596(15): 2965-2966
9. Bolam J.P. (2000) Synaptic organisation of the basal ganglia. *J Anat* 196: 527-542
10. Brun P. i wsp. (1995) Blockade of neurotensin receptor by SR 48692 potentiates the facilitatory effect of haloperidol on the evoked in vivo dopamine release in the rat nucleus accumbens. *J Neurochem* 64: 2073-2079
11. Calvino B. i Grilo R.M. (2006) Central pain control. *Joint Bone Spine* 73(1): 10-16
12. Carraway R. i Leeman S.E. (1973) The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalamus. *J Biol Chem* 248: 6854-6861
13. Carraway R. i Leeman S.E. (1976) Characterization of radioimmunoassayable neurotensin in the rat: its differential distribution in the central nervous system, small intestine and stomach. *J Biol Chem* 251: 7045-7052
14. Carraway R. i Leeman S.E. (1975) The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin. *J Biol Chem* 250: 1907-1911

15. Chalmers J. i wsp. (1994) Central neurons and neurotransmitters in the control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21(10): 819-829
16. Chang M.M. i wsp. (1971) Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol* 232(29): 86-87
17. Cui J. i wsp. (2013) Distension of central great vein decreases sympathetic outflow in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305(3): 378-385
18. DeVane C.L. (2001) Substance P: a new era, e new role. *Pharmacotherapy* 21(9): 1061-9
19. Dickerson D.M. i Apfelbaum J.L. (2014) Local anesthetic systemic toxicity. *Aesthet Surg J* 34(7): 1111-9
20. Dinh Q.T. i wsp. (2013) Pathophysiology, diagnostics and therapy of chronic cough: neuronal reflexes and antitussiva. *Pneumologie* 67(6): 327-334
21. Dobner P.R. (2005) Multitasking with neurotensin in the central nervous system. *Cell Mol Life Sci* 62(17): 1946-1963
22. Dombrowski M. i wsp. (2018) Neural control of cardiovascular function during exercise in hypertension. *Front Physiol* 9: 1829
23. Drozdov I i wsp. (2009) From Leningrad to London: the saga of Kulchitsky and the legacy of the enterochromaffin cell. *Neuroendocrinology* 89(1): 1-12
24. Du Toit L. i wsp. (2018) Core temperature monitoring in obstetric spinal anesthesia using an ingestible telemetric sensor. *Anesth Analg* 126: 190-195
25. Ebersberger A. i wsp. (1999) The intraspinal release of prostaglandin E2 in a model of acute arthritis is accompanied by an up-regulation of cyclo-oxygenase-2 in the spinal cord. *Neuroscience* 93(2): 775-781
26. Feifel D. i wsp. (2010) The acute and subchronic effects of a brain-penetrating, neurotensin-1 receptor agonist on feeding, body weight and temperature. *Neuropharmacology* 58(1): 195-198
27. Feng Y.P. i wsp. (2015) The roles of neurotensin and its analogues in pain. *Curr Pharm Des* 21(7): 840-848
28. Fernandes T.L. i wsp. (2010): Effect of carotid and aortic baroreceptors on cardiopulmonary reflex: the role of autonomic function. *Braz J Med Biol Res* 43(7): 681-686
29. Gautam M. (2016) Role of neurokinin type 1 receptor in nociception at the periphery and the spinal level in rat. *Spinal Cord* 54(3): 172-182
30. Gordon C.J. i wsp. (2003) Neurotensin analog NT 77 induces regulated hypothermia in the rat. *Life Sci* 73(20): 2611-2623

31. Guillemin R. i Perrin M.H. (2008) Neuroendocrinology: past, present and future. *Ann Endocrinol* 69(2): 160
32. Harisson S. i Geppetti P. (2001) Substance P. *Int J Biochem Cell Biol* 33(6): 555-576
33. Hasegawa K. i wsp. (2018) Sevoflurane inhibits presynaptic calcium influx without affecting presynaptic action potentials in hippocampal CA1 region. *Biomed Res* 39(5): 223-230
34. Herold K.F. i wsp. (2017) Divergent effects of anesthetics on lipid bilayer properties and sodium channel function. *Eur Biophys J* 46(7): 617-626
35. Hökfelt T. i wsp. (2000) Neuropeptides – an overview. *Neuropharmacology* 39: 1337-1356
36. Hyman S.E. (2005) Neurotransmitters. *Curr Biol* 15(5): 154-158
37. Imai C. (1998) Effects of meal ingestion and active standing on blood pressure in patients 60 years of age. *Am J Cardiol* 81: 1310-1314
38. Jasim H. i wsp. (2018) Saliva as a medium to detect and measure biomarkers related to pain. *Sci Rep* 8(1): 3220
39. Kempa M.E. (1998) Andrew Victor Schally: neuroendocrinologist of Polish origin. *Wiad Lek* 51(5-6): 303-305
40. Kiss I. (2000) From anaesthesia for neurosurgery to neuroanaesthesia: a historical note. *Acta Neurochir* 142(12): 1391-5
41. Kocot-Kępska M. i Szuldrzyński K. (2014) Skale oceny bólu. *Medycyna Praktyczna*
42. Kontovounisios C. i wsp. (2017) The role of neurotensin as a novel biomarker in the endoscopic screening of high-risk population for developing colorectal neoplasia. *Updates Sur* 69(3): 397-402
43. Kreier F. i Swaab D.F.. (1996) History of neuroendocrinology "the spring of primitive existence". *J R Soc Med* 89(2): 96-100
44. Kub T. (2008) Cholinergic mechanism and blood pressure regulation in the central nervous system. *Brain Res Bul* 46: 475-481
45. Larsen R. (2013) *Anestezjologia*, wyd. III polskie
46. Lee S.K. i wsp. (2013) Differential distributions of neuropeptides in hypothalamic paraventricular nucleus neurons projecting to the rostral ventrolateral medulla in the rat. *Neurosci Lett* 556: 160-165
47. Legault M. i wsp.(2002) Presynaptic action of neurotensin on cultured ventral tegmental area dopaminergic neurones. *Neuroscience* 111: 177-187

48. Lenard L. i wsp. (2018) Substance P and neurotensin in the limbic system: their roles in reinforcement and memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev* 85: 1-20
49. Li J. i wsp. (2016) An obligatory role for neurotensin in high-fat-diet-induced obesity. *Nature* 533: 411-415
50. Lima D. i wsp. (2002) The caudal medullary ventrolateral reticular formation in nociceptive-cardiovascular integration. An experimental study in the rat. *Exp Physiol* 87(2): 267-274
51. Lindstron L.H. i wsp. (1988) Reduced CSF neurotensin concentration in drug-free schizophrenic patients. *Schizophr Res* 1: 55-59
52. Lisowska B. i wsp. (2016) Substance P and acute pain in patients undergoing orthopedic surgery. *PloS One* 11(1)
53. Liu K. i wsp. (2016) Pharmacological hypothermia: a potential for future stroke therapy? *Neurol Res* 38(6): 478-490
54. Maffrand J.P. i wsp. (1993) Neurotensin receptor agonists and antagonists. *Drugs of the Future* 18: 1137-1141
55. Mantyh P.W. (2002) Neurobiology of substance P and the NK1 receptor. *J Clin Psychiatry* 63(11): 6-10
56. Mashagi A. i wsp. (2016) Neuropeptide substance P and the immune response. *Cell Mol Life Sci.* 73(22): 4249-4262
57. Mazella J. i wsp. (2012) Neurotensin and its receptors in the control of glucose homeostasis. *Front Endocrin* 3(143): 1-7
58. Meeusen R i Roelands B. (2010) Central fatigue neurotransmitters, can thermoregulation be manipulated? *Scand J Med Sci Sports* 3: 19-28
59. Mistrowa E i wsp. (2016) Role of substance P in the cardiovascular system. *Neuropeptides* 58: 41-51
60. Molina-Ortega F. i wsp. (2014) Immediate effects of spinal manipulation on nitric oxide, substance P and pain perception. *Man Ther* 19(5): 411-417
61. Muraki K. (1987) Neurotensin-like immunoreactivity (NLI) concentration in the cerebrospinal fluid of children and its alteration in a febrile aseptic meningitis. *Life Sci* 40(14): 1365-70
62. Nisato D. i wsp. (1994) A non-peptide neurotensin antagonist blocks the cardiovascular effects elicited by neurotensin in guinea-pigs. *Life Sci* 54: 95-100

63. Osadchii O.E. (2015) Emerging role of neurotensin in regulation of the cardiovascular system. *Eur J Pharmacol* 762: 184-192
64. Palacios J.M. (1990) Neurotensin receptors in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: an autoradiographic study in basal ganglia. *Neuroscience* 39: 351-360
65. Palanca B.J.A. i wsp. (2017) Human neural correlates of sevoflurane-induced unconsciousness. *Br J Anaesth* 119(4): 573-582
66. Pittenger S.T. i wsp. (2016) Sex differences in neurotensin and substance P following nicotine self-administration in rats. *Synapse* 70: 226-346
67. Reich D.L. i wsp. (2005) Predictors of hypotension after induction of general anesthesia. *Anesth Analg* 101(3): 622-628
68. Remaury A. i wsp. (2002) Targeted inactivation of the neurotensin type 1 receptor reveals its role in body temperature control and feeding behavior but not in analgesia. *Brain Res.* 954: 63-72
69. Riesco N. i wsp. (2017) Neuropeptides as a marker for chronic headache. *Curr Pain Headache Rep* 21(4): 18
70. Riley J.L. i wsp. (2017) Age differences in the time course and magnitude of changes in circulating neuropeptides after pain evocation in humans. *J Pain* 18(9): 1078-1086
71. Rostene W. (2005) Claude Fortier: the great history of neuroendocrinology *Med Sci* 21(5): 551-555
72. Salinas F.V. i wsp. (2003) Physiology of spinal anaesthesia and practical suggestions for successful spinal anaesthesia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 17(3): 289-303
73. Sames D. i wsp. (2013) Visualizing neurotransmitter secretion at individual synapses. (*ACS Chem Neurosci* 4(5): 648-651
74. Sang C.N. (2016) Phase IA clinical trial evaluating the tolerability, pharmacokinetics and analgesic efficacy of an intrathecally administered neurotensin A analogue in central neurophatic pain following spinal cord injury. *Clin Pharmacol Drug Dev* 5(4): 250-258
75. Sheng Y. i Zhu L. (2018) The crosstalk between autonomic nervous system and blood vessels. *Int J physiol Pathophysiol Pharmacol* 10(1): 17-28
76. Singh J.A. i wsp. (2017) Cytokine and neuropeptides levels are associated with pain relief in patients with chronically painful total knee arthroplasty: a pilot study. *BMC Musculoskeletal Disorders* 18(1): 17
77. Sinski M i wsp. (2014) Deactivation of carotid body chemoreceptors by hyperoxia decreases blood pressure in hypertensive patients. *Hypertens Res* 37(9): 858-862

78. St-Gelais F. i wsp.(2006) The role of neurotensin in central nervous system pathophysiology: what is the evidence? *J Psychiatry Neurosci* 31(4): 229-45
79. Śródka A. (1990) Biogramy uczonych polskich. Część VI: Nauki medyczne.
80. Tansey E.A. i Johnson C.D. (2015) Recent advances in thermoregulation. *Adv Physiol Educ* 39(3): 139-148
81. Traczyk W. i Trzebski A. (2001) Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej. Wyd. III
82. Tyler-McMahon B.M. i wsp. (2000) Neurotensin: peptide for the next millennium. *Regul Pept* 93: 125-136
83. Uhl G.R. i Kuhar M.J. (1984) Chronic neuroleptic treatment enhances neurotensin receptor binding in human and rat substantia nigra. *Nature* 309: 350-352
84. Vadnie Ch. i wsp. (2014) Gut-brain peptides in corticostriatal-limbic circuitry and alcohol use disorders. *Front Neuros* 8(288): 1-25
85. Vincent P. i wsp. (1999) Neurotensin and neurotensin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 20: 302-309
86. Weinberg G. i Barron G. (2016) Local Anesthetic Systemic Toxicity (LAST): not gone, hopefully not forgotten. *Reg Anesth Pain Med* 41: 1-2
87. Wiese A.J. i wsp. (2013) Intrathecal substance P-saporin in the dog: distribution, safety, and spinal neurokinin-1 receptor ablation. *Anesthesiology* 119(5): 1163-77
88. Wiesenfeld-Hallin Z. (2005) Sex differences in pain perception. *Gend Med* 2(3): 137-145
89. Wojciechowski P. i wsp. (2016) Cardiorespiratory activity of C-terminal pentapeptide of substance P in anaesthetized rats. *Respir Physiol Neurobiol* 233: 7-13
90. Zhao Z. i wsp. (2009) Effects of substance P in the amygdala, ventromedial hypothalamus and periaqueductal gray on fear-potentiated startle. *Neuropsychopharmacology* 34(2): 331-40
91. Zhu Y. i wsp. (2015) Early combined therapy with pharmacologically induced hypothermia and edaravone exerts neuroprotective effects in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Cell Biochem Biophys* 72(2): 581-587

## 11. Spis rycin

**Rycina 1.** Wybrane neurotransmitery i neuromodulatory w obrębie OUN.

**Rycina 2.** Wzór strukturalny, sumaryczny oraz sekwencja aminokwasów dla neurotensyny.

**Rycina 3.** Schemat interakcji NT z pozostałymi układami neuroregulacji w obrębie OUN.

**Rycina 4.** Receptory dla neurotensyny: NTSR 1, NTSR 2, NTSR 3.

**Rycina 5.** Interakcja NT z receptorem D2.

**Rycina 6.** Rozkład płci.

**Rycina 7.** Rodzaj znieczulenia.

**Rycina 8.** Zabiegi operacyjne.

**Rycina 9.** Choroby towarzyszące.

**Rycina 10.** Zależność pomiędzy stężeniem neurotensyny we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych leczonych w znieczuleniu podpajęczynówkowym (grupa 3).

**Rycina 11.** Zależność pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych leczonych w znieczuleniu całkowicie dożylnym (grupa 1).

**Rycina 12.** Zależność pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem i na koniec operacji u chorych, u których znieczulenie było podtrzymywane anestetykiem wziewnym (grupa 2).

**Rycina 13.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT w płynie mózgowo-rdzeniowym, a stężeniem NT we krwi przed znieczuleniem.

**Rycina 14.** Porównanie stężenia NT we krwi ze stężeniem NT w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem.

**Rycina 15.** Korelacja stężenia SP w płynie mózgowo-rdzeniowym ze stężeniem SP we krwi przed znieczuleniem.



**Rycina 16.** Porównanie stężenia SP we krwi ze stężeniem SP w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem.

**Rycina 17.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP w próbkach krwi pobranej przed znieczuleniem.

**Rycina 18.** Korelacja pomiędzy stężeniem NT, a stężeniem SP w próbkach krwi pobranych po zakończeniu zabiegu.

**Rycina 19.** Odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej przed znieczuleniem, a wiekiem chorych.

**Rycina 20.** Porównanie stężeń SP we krwi po zakończonym zabiegu u chorych płci męskiej i chorych płci żeńskiej.

**Rycina 21.** Odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej przed znieczuleniem, a oceną ryzyka okołoperacyjnego wg skali ASA.

**Rycina 22.** Porównanie początkowej i końcowej temperatury ciała w całej grupie analizowanych chorych.

**Rycina 23.** Porównanie stężenia neurotensyny w PMR w grupie chorych, u których wystąpił spadek temperatury z grupą chorych, u których nie obserwowano spadku temperatury ciała.

**Rycina 24.** Porównanie stężenia substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych uzależnionych od nikotyny z osobami niepalącymi tytoniu.

**Rycina 25.** Porównanie stężenia neurotensyny w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych uzależnionych od nikotyny z osobami niepalącymi.

**Rycina 26.** Korelacja pomiędzy stężeniem glukozy we krwi po zakończeniu zabiegu, a BMI w całej grupie chorych.

**Rycina 27.** Porównanie poziomu glukozy przed znieczuleniem i po zabiegu.

**Rycina 28.** Różnica w częstości akcji serca w zależności od etapu znieczulenia.

**Rycina 29.** Różnice w wartościach MAP w zależności od etapu znieczulenia.

**Rycina 30.** Korelacja pomiędzy różnicą stężenia neurotensyny (NTC – NTA), a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi w trakcie całego zabiegu (MAP K – MAP P).

**Rycina 31.** Korelacja pomiędzy wzrostem różnicy stężenia substancji P (SPC – SPA), a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi w trakcie całego zabiegu (MAP K – MAP P).

**Rycina 32.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi po 5 minutach od indukcji znieczulenia (MAP 5 – MAP P).

**Rycina 33.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego po 5 min. od indukcji znieczulenia (MAP 5 – MAP P).

**Rycina 34.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P w płynie mózgowo-rdzeniowym przed znieczuleniem, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego krwi na koniec zabiegu (MAP K – MAP P).

**Rycina 35.** Korelacja pomiędzy stężeniem substancji P we krwi pobranej po zabiegu, a różnicą średniego ciśnienia tętniczego na koniec zabiegu (MAP K – MAP P).

## 12. Spis tabel

**Tabela 1.** Skala ryzyka okołoperacyjnego wg Amerykańskiego Towarzystwa Anestezjologii.

**Tabela 2.** Numeryczna skala oceny natężenia bólu (NRS).

**Tabela 3.** Charakterystyka kliniczna w zależności od typu znieczulenia.

**Tabela 4.** Stężenie neurotensyny i substancji P w poszczególnych próbkach, w zależności od typu i etapu znieczulenia.

**Tabela 5.** Korelacje pomiędzy stężeniami neurotensyny, substancji P i glukozy oznaczonymi podczas różnych etapów znieczulenia.

**Tabela 6.** Korelacje stężenia neurotensyny, substancji P i glukozy z wybranymi parametrami klinicznymi.

**Tabela 7.** Korelacje zmian stężenia neurotensyny i substancji P na poszczególnych etapach znieczulenia ze zmianami wartości średniego ciśnienia tętniczego.

## 13. Wykaz załączników

### Załącznik 1. Protokół badania klinicznego

Imię i nazwisko				Wzrost		
PESEL				Masa ciała		
KG				Tytuł (...)		
PŁEĆ				Karta gorączkowa (FOTO)		
WIEK				Glu na czczo		
KOD				Morfologia (FOTO)		
Choroba podstawowa:				Na	K	
				Kre		
Typ zabiegu:				Gr krwi		
				CRP		
Premedykacja:				Inne		
Data:		NRS PRZED:		ASA:		Przy indukcji:
		PO:				HR
						BP
	PP	PF	PSF	HSF		wzr/spad
						wzr/spad
Ilość PP						nie
Godzina:						nie
						mały
						mały
1sza prób		HR (uwagi)	BP	Temp w/z	SpO2/FiO2/PEEP	duży
	000					duży
Pocz zni	0					Środki termiczne
	2					
	5					
Pocz zab	10					
	15					
	30					
	60					
Kon zab	90					
	120					
	150					
Ost prób	180					
Podane leki (sen, opio, zwiot, inot, pboł, plynny-mankiet, inne) (FOTO KARTY)						
GR 1 (do momentu 5):						
GR 2 (do momentu K, łącznie):						
Choroby towarzyszące:						
Przyjmowane leki:						

## Załącznik 2. Zgoda komisji bioetycznej



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius  
ul. Fredry 10  
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60  
fax. (+48 61) 854 61 07  
www.bioetyka.ump.edu.pl

### Uchwała nr 527/13

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania Komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające ubezpieczenie odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: **13 czerwca 2013 r.**

rozpatrzyła wniosek, dotyczący badania, którego Kierownikiem jest:

**dr hab. Roman Jankowski prof. UM**

w sprawie prowadzenia badań w

**Katedrze i Klinice Neurochirurgii i Neurotraumatologii  
UM w Poznaniu**

Główny badacz: **lek. med. Grzegorz Anczykowski**

Temat

badania: **"Związek stężenia neurotensyny z przebiegiem i rodzajem znieczulenia zastosowanego u pacjentów poddawanych zabiegom operacyjnym".**

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński