

UNIWERSYTET MEDYCZNY W POZNANIU
WYDZIAŁ LEKARSKI I

LEK. NATALIA IGNASZAK-KAUS

KLINIKA NIEPŁODNOŚCI I ENDOKRYNOLOGII ROZRODU UNIWERSYTET
MEDYCZNY W POZNANIU
KATEDRA GINEKOLOGII, POŁOŻNICTWA I ONKOLOGII GINEKOLOGICZNEJ

**OCENA ZALEŻNOŚCI WYSTĘPOWANIA NUDNOŚCI, WYMIOTÓW ORAZ
BÓLU POOPERACYJNEGO PO LAPAROSKOPII I HISTEROSKOPII
GINEKOLOGICZNEJ OD STEŻEŃ ESTRADIOLU, PROGESTERONU,
SEROTONINY ORAZ POLIMORFIZMU GENÓW ICH RECEPTORÓW.**

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

PROMOTOR:

PROF. DR HAB. PIOTR JĘDRZEJCZAK

KLINIKA NIEPŁODNOŚCI I ENDOKRYNOLOGII ROZRODU

UNIWERSYTET MEDYCZNY W POZNANIU

POZNAŃ 2019

Składam serdeczne podziękowania promotorowi pracy – Panu Profesorowi Piotrowi Jędrzejczakowi za zaangażowanie, wsparcie oraz nieustanną mobilizację do pracy, Panu Profesorowi Janowi Hauke za pomoc w obliczeniach statystycznych, Pani Profesor Agnieszce Seremak-Mrozikiewicz oraz pracownikom Pracowni Biologii Molekularnej w Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym w Poznaniu za pomoc w oznaczeniu polimorfizmów genetycznych.

Pracę dedykuję mojej Rodzinie.

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	6
1. WSTĘP	8
1.1. Nudności, wymioty i ból pooperacyjny jako istotny problem kliniczny	8
1.2. Odruch wymiotny- drogi przewodzenia	10
1.3. Przyczyny nudności i wymiotów pooperacyjnych	12
1.4. Leczenie nudności i wymiotów pooperacyjnych	13
1.5. Przewodzenie bólu oraz źródła bólu pooperacyjnego	14
1.6. Leczenie bólu pooperacyjnego	17
1.7. Estrogeny i receptor estrogenowy (ESR1)	20
1.8. Progesteron i receptor progesteronowy (PRG)	22
1.9. Serotonina i receptory serotoninowe	23
1.10. Serotonina a hormony płciowe	27
1.11. Polimorfizm receptorów analizowanych w badaniu	29
2. CEL PRACY	31
3. MATERIAŁ I METODYKA	33
3.1. MATERIAŁ	33
3.1.1. Charakterystyka grupy badanej	34
3.1.1.1. Laparoscopia i histeroscopia	35
3.1.1.2. Znieczulenie do operacji	36
3.1.1.3. Kryteria wykluczenia	36
3.2. METODYKA	37
3.2.1. Analiza hormonalna	37
3.2.1.1. Oznaczenie 17- β estradiolu oraz progesteronu	37
3.2.1.2. Oznaczenie serotoniny	38
3.2.2. Analiza genetyczna	39
3.2.2.1. Izolacja DNA metodą wysalania oraz jakościowa i ilościowa ocena wyizolowanego DNA	39
3.2.2.2. Reakcja łańcuchowej polimerazy i polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych	40
3.2.3. Analiza statystyczna	49
3.2.3.1. Statystyczna agregacja danych- opis metody	49

4. WYNIKI	52
4.1. Charakterystyka danych klinicznych analizowanych pacjentek	52
4.2. Zależność nudności i wymiotów pooperacyjnych od analizowanych czynników	53
4.3. Zależność bólu pooperacyjnego od analizowanych czynników	56
4.4. Wpływ polimorfizmów genetycznych na nasilenie bólu, nudności i wymiotów pooperacyjnych	60
5. DYSKUSJA	68
5.1. Częstość występowania PONV i bólu pooperacyjnego	68
5.2. Wiek i BMI a PONV i ból pooperacyjny	73
5.2.1. Wiek i BMI a PONV	73
5.2.2. Wiek i BMI a ból pooperacyjny	76
5.3. Czas trwania zabiegu oraz rodzaj operacji a PONV i ból pooperacyjny	79
5.4. PONV i ból pooperacyjny a estradiol i progesteron	81
5.5. Ból i PONV a serotonina	87
5.6. PONV i ból pooperacyjny a warianty genetyczne receptorów ESR1 i PGR	91
5.7. Warianty genetyczne receptorów serotoninowych a PONV i ból pooperacyjny	92
6. WNIOSKI	96
7. STRESZCZENIE	97
8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM	100
9. SUPLEMENT	103
9.1. Ankieta wypełniana przez pacjentki	103
9.2. Informacje wypełniane przez lekarza	105
10. PIŚMIENNICTWO	106
11. SPIS TABEL, WYKRESÓW, RYCIN	132

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

5-HIAA- kwas 5-hydroksyindoloocetowy (*ang. 5-hydroxyindoleacetic acid*)

5-HT- serotonina (5-hydroksytryptamina)

AAAD- dekarboksylaza 5-hydroksytryptofanu (*ang. aromatic L-amino acid decarboxylase*)

ADHD- zespół nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD-*ang. attention-deficit hyperactivity disorder*)

AF-1- motyw AF-1 (*ang. activation function-1*)

AF-2- motyw AF-2 (*ang. activation function-1*)

ALDH- dehydrogenaza aldehydowa (*ang. aldehyde decarboxylase*)

ASA (klasyfikacja) - stosowana powszechnie w anestezjologii klasyfikacja oceniająca ryzyko operacyjne związane z wystąpieniem poważnych powikłań lub zgonu pacjenta w czasie znieczulenia albo po nim. Została opracowana przez American Society of Anaesthesiology (ASA).

BMD-FN- gęstość kości mierzona w obrębie szyjki kości udowej (*ang. BMD-FN- bone mineral density-femoral neck*)

BMD-LS- gęstość kości mierzona w obrębie odcinka lędźwiowego kręgosłupa (*ang. BMD-LS- bone mineral density-lumbar spine*)

CI- przedział ufności (*ang. confidence interval*)

CTZ- spustowa strefa chemoreceptorowa (*ang. chemoreceptor triggering zone*)

dATP- deoksyadenozyno-5'-trifosforan

dCTP- deoksytydino-5'-trifosforan

dGTP- deoksyguanozyno-5'-trifosforan

dTTP- deoksytymidyno-5'-trifosforan

cAMP- cykliczny adenozynomonofosforan

COX- enzym cyklooksygenaza

ECLIA- elektrochemiluminescencja (*ang. electrochemiluminescence immunoenzymatic assay*)

EDTA- kwas etylenodiaminotetraoctowy (*ang. ethylene diamine tetraacetic acid*)

ELISA- test immunoenzymatyczny (*ang. enzyme-linked immunosorbent assay*)

GABA- Kwas γ -aminomasłowy, kwas gamma-aminomasłowy

GWAS- badania asocjacyjne całego genomu, (*ang. Genome-Wide Association Studies*)

HDL- lipoproteina wysokiej gęstości (*ang. High Density Lipoprotein*)

LDL- lipoproteina niskiej gęstości (*and. Low Density Lipoprotein*)

LESS- laparoscopia metodą operowania z jednego cięcia (*ang. laparoendoscopic single site surgery*)

MAC- minimalne stężenie pęcherzykowe (*ang. minimal alveolar concentration*)

MAO- enzym monoaminoooksydaza

NAPQI- N-acetylo-p-benzochinonoimina

NK₁- (receptor) neurokininowy

NLPZ- niesteroidowe leki przeciwzapalne

NLS- sygnał lokalizacji jądrowej (*ang. nuclear localisation signal*)

NMDA- kwas N-metylo-D-asparaginowy (*ang. N-methyl-D-aspartate acid*)

N₂O- tlenek diazotu/ podtlenek azotu

OD- gęstość optyczna (*ang. optical density*)

OR- iloraz szans (*ang. odds ratio*)

PCA- analgezja kontrolowana przez chorego (*ang. Patient Controlled Analgesia*)

PCOS- zespół policystycznych jajników (*ang. Polycystic Ovary Syndrome*)

PCR- łańcuchowa reakcja polimerazy (*ang. polymerase chain reaction*)

PMS- zespół napięcia przedmiesiączkowego (*ang. premenstrual syndrome*)

POChP- przewlekła obturacyjna choroba płuc (*ang. POChP=COPD- chronic obstructive pulmonary disease*)

PONV- nudności i wymioty pooperacyjne (*ang. postoperative nausea and vomiting*)

pz- pary zasad (*ang. base pairs*)

RFLP- polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (*ang. restriction fragment length polymorphism*)

rpm- obroty na minutę, jednostka miary (*ang. revolutions per minute*)

SAMBA- Towarzystwo Anestezjologii Ambulatoryjnej (*ang. Society for Ambulatory Anesthesia*)

SD- odchylenie standardowe (*ang. standard deviation*)

SDS- laurylosiarczan sodu-sól sodowa kwasu dodecylosiarkowego (*ang. sodium dodecyl sulfate*)

SHBG- globulina wiążąca hormony płciowe (*ang. sex hormone binding globulin*)

SNP- polimorfizm pojedynczego nukleotydu (*ang. single nucleotide polymorphism*)

TPH- enzym hydroksylaza tryptofanowa (*ang. tryptophan hydroxylase*)

TPA⁺- kation trójpropyloaminowy (*ang. tri-n-propyl amine*)

1. WSTĘP

1.1. Nudności, wymioty i ból pooperacyjny jako istotny problem kliniczny

W ostatnich latach, między innymi w ginekologii, wykonuje się coraz więcej zabiegów inwazyjnych z zastosowaniem znieczulenia ogólnego. Dotyczy to przede wszystkim operacji endoskopowych, których liczba znacznie wzrasta. Szeroki wachlarz wykonywanych w endoskopii procedur, ciągle ulepszane sprzęty i narzędzia laparoskopowe, poprawiające warunki techniczne zabiegu, a także krótki czas hospitalizacji oraz szybki okres rekonwalescencji, to tylko niektóre z korzyści, które niosą ze sobą operacje histero-laparoskopowe. Dużym problemem dla chorych pozostaje jednak ból pooperacyjny oraz nudności i wymioty po zabiegach (PONV- postoperative nausea and vomiting).

Pacjenci obawiają się PONV równie często jak bólu pooperacyjnego [Macario i wsp., 1999a; Macario i wsp., 1999b]. Według wielu anestezjologów są to nie tylko najczęstsze dolegliwości pooperacyjne, ale stanowią także powikłanie, które powinno się eliminować i stosować odpowiednią profilaktykę [Macario i wsp., 1999b]. Bez leczenia przeciwwymiotnego odsetek PONV wynosi ok. 30% w populacji ogólnej, [Gupta i wsp., 2003] a może sięgać nawet 70% u kobiet w wieku rozrodczym [Habib i wsp., 2004; Gan, 2010].

Ból pooperacyjny jak i PONV istotnie podwyższają koszty leczenia szpitalnego, zarówno poprzez wydłużenie pobytu chorego w szpitalu, większe zużycie leków przeciwbólowych i przeciwwymiotnych; stanowią również najczęstszą przyczynę nieplanowych, ponownych przyjęć pacjentów po zabiegach chirurgicznych do szpitala [Koch i wsp., 2014a; Kranke i wsp., 2011]. W jednym z badań przedstawiono, że pacjenci zadeklarowali możliwość uiszczenia dodatkowej opłaty, aby zastosowano u nich skuteczną profilaktykę przeciwwymiotną [Kerger i wsp., 2007]. Zwłaszcza grupa chorych, która doświadczyła PONV w przeszłości, nie wahałaby się podjąć takiej decyzji. Jest to kolejny dowód, jak dolegliwości te są dla pacjentów stresujące i nieprzyjemne. Co ciekawe, profilaktyka nudności i wymiotów była najbardziej istotna dla kobiet [Kerger i wsp., 2007].

Ból pooperacyjny jest zjawiskiem powszechnym; a postępowanie z bólem po zabiegach często nie jest optymalne [Vallano i wsp. 1999, Kuhn i wsp., 1990]. Vallano i wsp. wykazali, że odsetek pacjentów, którzy opisują ból pooperacyjny jako silny lub nie do zniesienia, sięga nawet 67% [Vallano i wsp. 1999]. Podobne wyniki przedstawiono też w brytyjskiej pracy, w której oceniono, że 70% pacjentów pooperacyjnych nie otrzymało

właściwej opieki w zakresie leczenia bólu [Kuhn i wsp., 1990]. Wynika to przede wszystkim z nieznamości tzw. drabiny analgetycznej. Drabina analgetyczna to schemat stosowania leków przeciwbólowych, opracowany przez Światową Organizację Zdrowia, polegający na dostosowywaniu wyboru leku przeciwbólowego od natężenia bólu, odczuwanego przez pacjenta [WHO, 1996]. Terapia bólu powinna być rozpoczęta zastosowaniem analgetyków nieopiodowych, w przypadku braku poprawy dodaje się słaby opioid, a ból na poziomie III stopnia intensywności (>6 punktów w skali 0-10) powinno się rozpocząć od włączenia silnego opioиду, np. fentanylu czy oksykodonu. Inną przyczyną niewłaściwej kontroli bólu jest brak stosowania się do powszechnie znanych rekomendacji w leczeniu bólu pooperacyjnego, a także nie uwzględnienie osobniczych odmienności w odczuwaniu bólu i reagowaniu na zlecone leki przeciwbólowe przez pacjentów [Vallano i wsp. 1999, Kuhn i wsp., 1990].

Kolejnym problemem są też hospitalizacje jednodniowe połączone z krótkim zabiegiem, po którym pacjenci są wypisywani do domu. Badanie ankietowe przeprowadzone na 102 pacjentach w Wielkiej Brytanii wykazało, że nawet 82% pacjentów odczuwało okresowy, ale silny ból w okresie do czterech dni po zabiegu [McHugh i wsp.]. Potwierdza to prospektywne, wielośrodkowe badanie PATHOS, przeprowadzone w 7 krajach europejskich, które dotyczyło postępowania w bólu pooperacyjnym po zabiegach chirurgicznych [Benhamou i wsp., 2008]. Na podstawie 1558 kwestionariuszy uzyskanych z 746 europejskich szpitali, które wypełniali chirurdzy i anestezyjolodzy, 34% respondentów stwierdziło, że w ich instytucjach nie prowadzi się wewnętrznych szkoleń w zakresie postępowania w przypadkach bólu pooperacyjnego. Aż 34% ankietowanych podało, że ból u pacjentów nie jest w ogóle oceniany.

Strach pacjentów przed operacją jest powszechnym wyzwaniem, z którym borykają się zarówno chirurdzy, jak i anestezyjolodzy. Okazuje się, że pacjenci najczęściej zgłaszają obawy właśnie o pojawienie się bólu pooperacyjnego [Ruhaiyem i wsp., 2016; Moro i wsp., 2009], ale także nudności i wymiotów [Van den Bosch i wsp., 2005]. Również w badaniu przeprowadzonym w naszej klinice wykazano, że chore najbardziej obawiały się bólu, nudności i wymiotów, a nie poważniejszych powikłań, np. krwotoku czy konwersji do laparotomii (analizę przeprowadzono wśród 200 pacjentek poddanych laparoskopii) [Mrozikiewicz i wsp., praca oddana do recenzji do czasopisma *Analgesia&Anaesthesia*]. Niepokój przed zabiegiem był najwyższy zwłaszcza wśród kobiet, które operowane były po raz pierwszy i miały wyższe wykształcenie, a także były mieszkankami dużych miast (>100 tysięcy mieszkańców). Na uwagę zasługuje fakt, że jedynie 3 pacjentki, spośród 200

włączonych do badania, nie zgłosiły obaw w zakresie żadnego potencjalnego powikłania pooperacyjnego. Stanowi to zaledwie 1,5% ankietowanych chorych i jest dowodem, że strach związany z operacją stanowi ogromny problem kliniczny. Należy również dodać, że właśnie nudności i wymioty stanowiły też najczęstsze dolegliwości pooperacyjne i były dla pacjentek najbardziej dokuczliwe. Jest to kolejny argument, że występowanie bólu, nudności i wymiotów po operacjach jest powszechne, a ze względu na szybki rozwój metod zabiegowych i wciąż rosnącą liczbę procedur, wykonywanych za pomocą endoskopii, problem dolegliwości pooperacyjnych będzie narastał.

Płeć żeńska jest jednym z czynników ryzyka wystąpienia obaw i niepokoju przed zabiegiem, co może być dodatkowym wyzwaniem dla osób przeprowadzających operacje chirurgiczne [Ruhaiyem i wsp., 2016; Erkilic i wsp., 2017; Mavridou i wsp., 2013]. Jest to także kolejny powód, dlaczego warto zainteresować się tematem dolegliwości pooperacyjnych właśnie wśród kobiet, także w kontekście lęku i niepokoju przed zabiegiem.

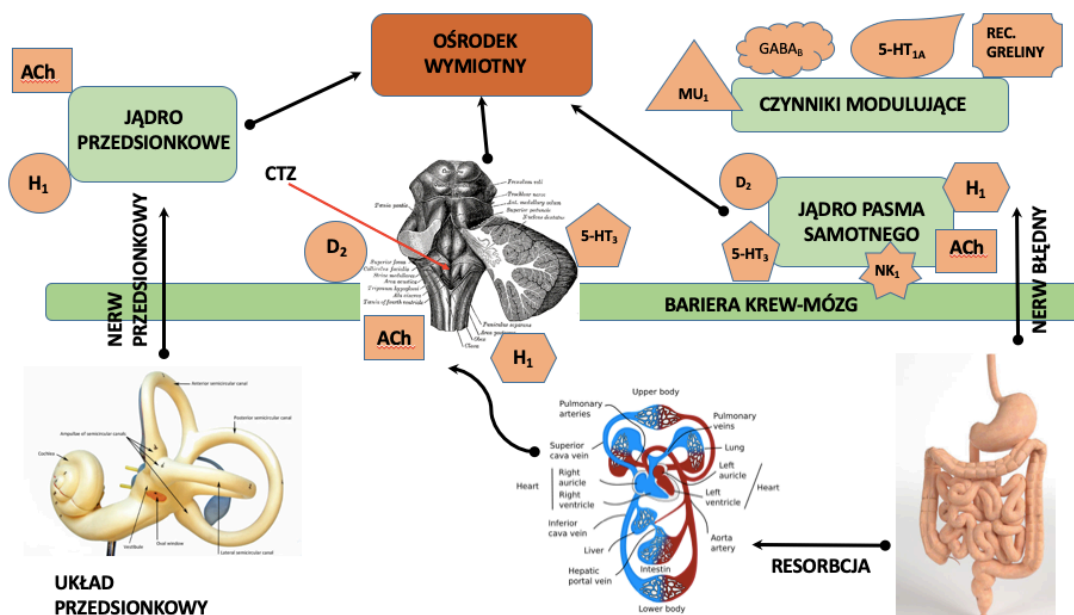
W wielu pracach sygnalizowano negatywny wpływ strachu, niepokoju przed zabiegiem na stan pacjenta [Tolksdorf i wsp., 1984, Merantes i wsp., 1999; Kil i wsp., 2012]. Wysoki poziom lęku chorego może powodować pojawienie się powikłań w trakcie operacji, takich jak zaburzenia rytmu serca czy zwiększone zapotrzebowanie na leki znieczulające. Stanowi to ważną informację dla anestezjologów, że poziom natężenia lęku może znacznie wpłynąć na sposób znieczulenia pacjenta i może być konieczna modyfikacja dawek środków anestetycznych i analgetycznych.

1.2. Odruch wymiotny- drogi przewodzenia

Nudności to uczucie silnej potrzeby zwymiotowania, natomiast wymioty definiowane są jako gwałtowne usunięcie treści żołądkowej przez usta w wyniku silnych skurczów zarówno mięśni tloczni brzusznej jak i klatki piersiowej. Wymioty poprzedzone są często silnym ślinieniem się, tachykardią i hiperwentylacją. Same odruchy wymiotne mogą poprzedzać wymioty, jednak nie towarzyszy im wydobywanie się treści żołądkowej (jest to tzw. retching) [Mokrowiecka i wsp., 2006; Mokrowiecka i wsp., 2005].

Odruchy wymiotne powstają w odpowiedzi zarówno na bodźce fizjologiczne (ma to za zadanie chronić organizm przed szkodliwymi substancjami, które zostały połknięte, w ostrych zatruciach itp.), jak i patologiczne. Kontrolowane są przez dwa ośrodki: nadrzędny ośrodek wymiotny, zlokalizowany w częściach bocznych układu siatkowatego rdzenia przedłużonego oraz tzw. strefę chemoreceptorową (chemoreceptor triggering zone – CTZ),

umiejscowioną w dnie komory IV. Ośrodek wymiotny może być pobudzany i otrzymuje sygnały różnymi drogami- poprzez ośrodki korowe, narząd przedsionkowy, strefę chemoreceptorową [Klimkiewicz i wsp., 2014]. Ośrodki korowe odpowiadają za wystąpienie wymiotów związanych z bodźcami zapachowymi, smakowymi oraz wzrokowymi, narząd przedsionkowy- za dolegliwości te, spowodowane chorobą lokomocyjną. Strefa chemoreceptorowa natomiast jest pobudzana przez substancje chemiczne, w tym przez leki i toksyny. W tym miejscu mózgowia brak jest bariery krew-mózg, dlatego różne substancje drażniące z łatwością przez nią przenikają. Najważniejsze drogi odśrodkowe, które kontrolują odruch wymiotny, to nerwy przeponowe – unerwiające ruchowo przeponę, nerwy rdzeniowe – prowadzące do mięśni brzucha, oraz nerwy trzewne – biegnące do żołądka i przełyku- odpowiadają one za skurcz wyżej wymienionych mięśni i umożliwiają wydalenie treści z przewodu pokarmowego [Mokrowiecka i wsp, 2006; Mokrowiecka i wsp., 2005]. Jako, iż odruch wymiotny może być wywołany poprzez różne bodźce, także drogi odruchu wymiotnego przebiegają przez liczne receptory, w tym m.in. receptory dopaminowe D₂, histaminowe H₁, serotoninowe 5-HT₃, acetylocholinowe Ach, neurokininowe NK-1, opioidowe mu₁ [Drobnik i wsp., 1993]. Na Rycinie 1 przedstawiono schemat pobudzenia odruchu wymiotnego z uwzględnieniem dośrodkowych dróg przewodzenia i receptorów, poprzez które następuje modulacja tego odruchu (m.in. receptory GABA_B, receptory greliny, serotoninowe 5-HT_{1A}). [Wiesmann i wsp., 2015].



Rycina 1. Schemat pobudzenia odruchu wymiotnego wg Wiesmann w modyfikacji własnej. Zastosowane skróty wyjaśniono w tekście.

1.3. Przyczyny PONV

Wymioty pooperacyjne wywołane są m.in. przez użyte środki znieczulające i przeciwbólowe, a także uszkodzenie tkanek w czasie zabiegu, ból pooperacyjny czy lęk przed zabiegiem; ich nasilenie może zależeć też od rodzaju operacji [Apfell i wsp., 2012a; Horn i wsp., 2014; Smith i wsp., 2014, Raeder i wsp., 1997; De Winter i wsp., 2012].

Typy operacji, które najsilniej łączy się z ryzykiem pojawienia PONV to cholecystektomia, ale przede wszystkim operacje ginekologiczne, a zwłaszcza zabiegi laparoskopowe [Apfell i wsp., 2012a]. Dodatkowe czynniki, które powodują, że częstość nudności i wymiotów po zabiegach endoskopowych jest większa, to:

- a) czynnik mechaniczny- rozciągnięcie i podrażnienie otrzewnej, a także ciśnienie wywierane na żołądek i jelita podczas zabiegu, spowodowane odną brzuszną [ASHS, 1999],
- b) czynnik chemiczny- stosowany celem wytworzenia odmy dwutlenek węgla może powodować hiperkapnię (zwiększone stężenie dwutlenku węgla w organizmie), a to bezpośrednio pobudza ośrodek wymiotny [Arslan i wsp., 2011].

Wśród leków podawanych w trakcie znieczulenia lub dla uśmierzania bólu pooperacyjnego, opioidy wywołują wymioty przez bezpośrednie działanie na receptory μ -opioidowe w chemoreceptorowej strefie wyzwalającej [Horn i wsp., 2014; Smith i wsp., 2014] oraz przez upośledzenie motoryki układu pokarmowego, co skutkuje rozszerzeniem światła jelit, a w konsekwencji wymiotami [Smith i wsp., 2014, Kranke i wsp., 2014].

Anestetyki wziewne (halotan, izofluran, sewofluran) mogą pobudzać odruch wymiotny na drodze pobudzenia układu przedsionkowego, co udowodniono w pracy Reader i wsp. [Raeder i wsp., 1997]. Okazuje się jednak, że zarówno sewofluran jak i desfluran, zwiększają ryzyko PONV tylko przez pierwsze 2 godziny po zabiegu [Apfell i wsp., 2002]. Z kolei propofol jest uznawany jako lek bezpieczny wśród anestetyków, w zakresie pojawienia się PONV [Song i wsp., 1998].

Innym powodem wystąpienia PONV jest ból pooperacyjny [Faerber i wsp., 2007]. Uszkodzenie tkanek (nacięcie, koagulacja itp.) w czasie operacji, powoduje podrażnienie nocycceptorów (receptorów bólowych), czego konsekwencją jest wydzielenie szeregu substancji chemicznych, takich jak m.in. substancja P czy serotonina. Skutkuje to pojawieniem się lokalnej reakcji zapalnej [De Winter i wsp., 2012; Spiller, 2008]. Postuluje się, że wydzielana w miejscu urazu serotonina jest ogniwem łączącym zarówno ból, jak i

nudności i wymioty pooperacyjne [Faerber i wsp., 2007]. Z tego powodu podawanie leków przeciwbólowych i prawidłowa kontrola bólu są jednocześnie, w niektórych przypadkach, sposobem leczenia także PONV. Również leki hamujące odczyn zapalny (np. kortykosteroidy, antagoniści receptorów serotoninowych 5-HT₃ czy receptorów NK₁), modulując wydzielanie substancji takich jak serotonina, hamują zarówno odczuwanie bólu, jak i mają wpływ na zmniejszenie PONV [Duffy, 2004; Faerber i wsp., 2007; Takao i wsp., 1995].

1.4. Leczenie PONV

W celu oceny prawdopodobieństwa wystąpienia nudności i wymiotów pooperacyjnych po zabiegach, utworzono skalę, nazywaną od nazwiska autora skalą Apfel [Apfell i wsp., 2012a]. Składa się ona z najsilniejszych czynników ryzyka tego powikłania, do których zalicza się przede wszystkim płeć żeńską, ale także: rodzaj operacji, nie palenie papierosów, PONV w wywiadzie, pooperacyjne podanie opioidów [Weinert, 2008]. Za wystąpienie u badanego pacjenta danego czynnika nalicza się 1 punkt. Ryzyko pojawienia się nudności i wymiotów pooperacyjnych jest zależne od liczby uzyskanych punktów i wynosi odpowiednio:

39%, gdy chory uzyskał 2 punkty,

61%, gdy chory uzyskał 3 punkty,

79%, gdy chory uzyskał 4 punkty.

W profilaktyce i leczeniu PONV stosuje się następujące klasy leków: antagoniści receptora muskarynowego, leki antyhistaminowe, antagoniści receptora dopaminowego, antagoniści receptora serotoninowego 5-HT₃, kortykosteroidy [Gan i wsp., 2003].

Leki antyhistaminowe są antagonistami receptora histaminowego typu 1 (H₁). Działają niespecyficznie; mogą powodować senność, zatrzymanie moczu, suchość w ustach czy zaburzenia widzenia [Carlisle i wsp., 2006]. Kolejną grupą są antagoniści receptora muskarynowego, do których należy skopolamina i hioscyna. Skopolamina może być podawana transdermalnie; efektem ubocznym tej grupy leków są zaburzenia widzenia, suchość w ustach, senność [Pergolizzi i wsp., 2012]. Metoklopramid i droperidol należą do grupy antagonistów receptora dopaminowego D₂. Wykazano, że droperidol jest tak samo skuteczny jak ondansetron czy deksametazon w profilaktyce wymiotów pooperacyjnych [Apfell i wsp., 2004, Carlisle i wsp., 2006], ale może powodować poważne objawy uboczne - ma tendencję do wydłużania odcinka QT, może wywoływać arytmie przedsionkowe [Lischke i wsp., 1994; Glassman i wsp., 2001]. Metoklopramid cechuje się z kolei mniejszą

skutecznością w przeciwdziałaniu PONV [Carlisle i wsp., 2006]. Następną grupą leków przeciwwymiotnych są kortykosteroidy. Głównym lekiem z tej grupy, którego właściwości antiemetogenne są wykorzystywane, jest deksametazon. W leczeniu i profilaktyce PONV bazuje się na jego przeciwzapalnych właściwościach. Deksametazon hamuje wydzielanie kwasu arachidonowego, który jest substratem do produkcji mediatorów stanu zapalnego, takich jak leukotrieny i prostaglandyny [Hong i wsp., 1976]. Należy jednak pamiętać o nieprzekraczaniu zalecanych dawek i stosowaniu kortykosteroidów tylko do krótkotrwałej terapii, pamiętając o niepożądanych efektach ubocznych (pooperacyjna hiperglikemia, trudne gojenie ran) [Nazar i wsp., 2009; Bolac i wsp., 2013]. Grupę leków, którą uważa się za najbardziej bezpieczną, skuteczną i działającą najbardziej selektywnie, są antagoniści receptora serotoninowego 5-HT₃, czyli setrony [Scuderi i wsp., 1993; McKenzie i wsp., 1993]. Nie są one jednak pozbawione efektów ubocznych, a do najczęstszych należy ból głowy, zaparcia, uderzenia gorąca [Carlisle i wsp., 2006].

Jak łatwo zauważyć, żadna grupa leków przeciwwymiotnych nie jest pozbawiona objawów niepożądanych. Aktualne zalecenia skupiają się więc nie tyle na samym leczeniu PONV, lecz przede wszystkim na ich profilaktyce. Dzięki temu można zmniejszyć stres pacjenta, zwiększyć jego zadowolenie z opieki szpitalnej, skrócić hospitalizację [Hill i wsp., 2000]. Poszukiwanie nowych czynników ryzyka oraz selekcja pacjentów, u których istnieje duże prawdopodobieństwo wystąpienia PONV, jest ważnym sposobem profilaktyki. Farmakoterapia wiąże się nie tylko z kosztami, ale przede wszystkim możliwymi efektami ubocznymi. Ilość wykonywanych codziennie na świecie zabiegów chirurgicznych, zwłaszcza endoskopowych, stale wzrasta, a więc prace badawcze, analizujące mechanizm powstawania PONV, są niezbędne, aby poprawić komfort operowanych pacjentów.

1.5. Przewodzenie bólu oraz źródła bólu pooperacyjnego

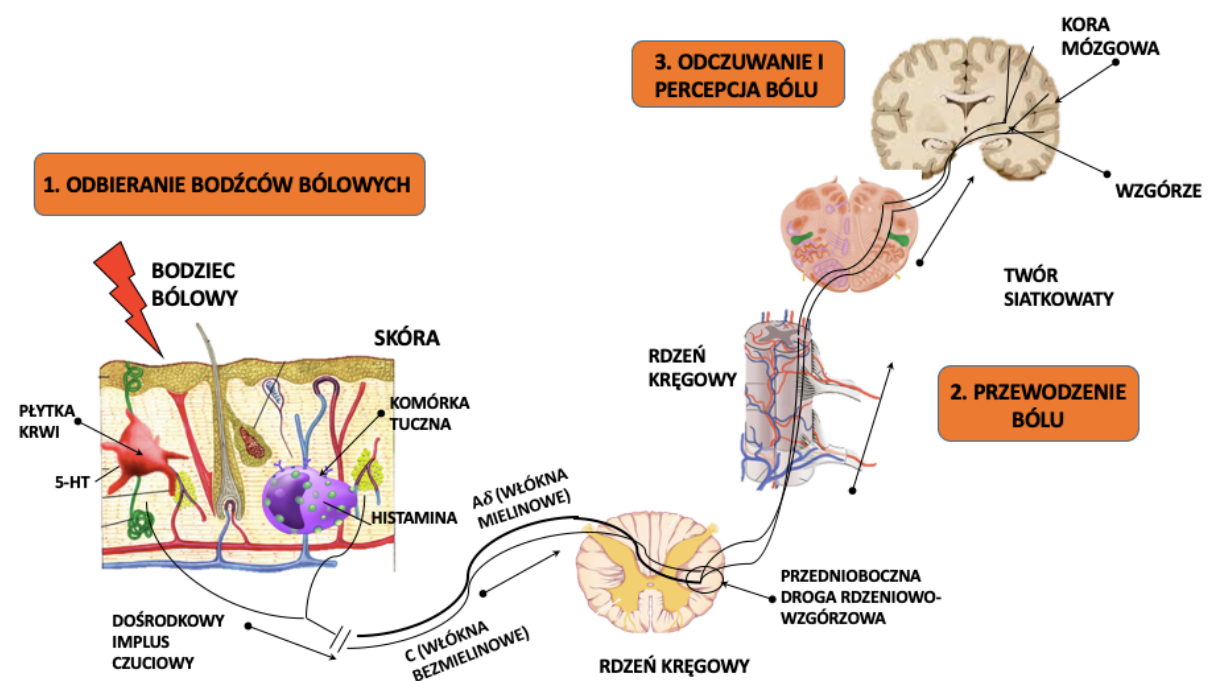
Ból pooperacyjny jest reakcją organizmu na uszkodzenie tkanek i narządów, która wynika z manipulacji w obrębie pola operacyjnego. Pojawia się, gdy przestaje działać analgezja śródoperacyjna [Krawczyk i wsp., 2012]. Ból można zaklasyfikować jako psychogeny lub organiczny; ból pooperacyjny należy niewątpliwie do drugiej kategorii. Ból organiczny z kolei można podzielić na neuropatyczny i nocyceptywny; ból pooperacyjny w większości przypadków to ból somatyczny, nocyceptywny [Dobrogowski i wsp., 2011]. Dolegliwości bólowe opóźniają powrót pacjenta do zdrowia i pełnej sprawności, utrudniają proces gojenia ran oraz mobilizację chorego po zabiegu, sprzyjają powikłaniom zakrzepowo-

zatorowym, powodują wzrost ciśnienia tętniczego [Bardiau i wsp., 2003]. Natężenie odczuwanego bólu zależy zarówno od czynników subiektywnych, takich jak indywidualny próg tolerancji bólu, jak i obiektywnych- rozległości i lokalizacji zabiegu, stopnia uszkodzenia tkanek, rodzaju i kierunku cięć [Dobrogowski i wsp., 2008].

Rycina 2 przedstawia schemat drogi przewodzenia bólu. Rozpoczyna się ona w uszkodzonej skórze lub innych tkankach, które zawierają nocyceptory. Są to wolne zakończenia nerwowe, które przede wszystkim występują w skórze, ale też tkankach miękkich, mięśniach szkieletowych, stawach. Impulsy przekazywane są zarówno przez szybkie włókna mielinowe typu A- δ , jak i wolne włókna bezmielinowe typu C. Obszar obsługiwany przez rozgałęzienia włókien typu C jest przeważnie na tyle rozległy, że chory tylko w przybliżeniu potrafi zlokalizować ból. Na zakończeniach tych włókien nerwowych znajdują się m.in. receptory opioidowe [Stein, 1995]. Różne mediatory stanu zapalnego mogą przenikać przez uszkodzoną osłonkę nerwu i uaktywnić te receptory, które po uwrażliwieniu są w stanie reagować zarówno na endogenne i egzogenne opioidy. Zakończenia nerwowe włókien typu C mogą też być uaktywniane przez prostaglandyny; w celu hamowania bólu wykorzystuje się efekt przeciwwzapalny niesteroidowych leków przeciwwzapalnych oraz kortykosteroidów. Innym typem włókien są włókna typu A- δ , które przewodzą ból znacznie szybciej i mają mniejsze pole receptorowe, dlatego pacjent z większą dokładnością jest w stanie wskazać miejsce bólu, natomiast dużo trudniej jest w sposób farmakologiczny modyfikować działanie receptorów, znajdujących się w zakończeniach włókien typu A- δ .

Nocyceptory, w odpowiedzi na działający bodziec uszkodzający, uwalniają mediatory zapalne, takie jak substancja P. Mediatory te powodują wzrost przepuszczalności śródbłona okolicznych naczyń, dodatkowo pobudzając je do wydzielania cytokin, takich jak histamina, bradykinina, 5-hydroksytryptamina (serotonina). Dochodzi od zjawiska hiperalgezji, czyli zwiększonego odczuwania bólu w miejscu, gdzie pojawia się lokalny odczyn zapalny [Damjanov i wsp., 2010]. Po podrażnieniu receptorów, bodziec wędruje dalej w kierunku rogów tylnych rdzenia kręgowego. Impuls elektryczny jest w stanie doprowadzić do uwolnienia zmagazynowanych w zakończeniach synaptycznych transmiterów bólowych, takich jak glutamina i substancja P [Żylicz i wsp., 2003]. Substancje te, wydzielone do przestrzeni międzysynaptycznej, mogą wiązać się z receptorami postsynaptycznymi, powodując ich pobudzenie. Wydzielanie transmiterów bólowych zależy od aktywności receptorów presynaptycznych, takich jak receptory opioidowe, GABA_B, serotoninowe 5-HT₃ i 5-HT₂, α_2 -adrenergiczne. Wszystkie te receptory są potencjalnym punktem uchwytu

działania leków przeciwbólowych. Impuls elektryczny następnie przebiega w przedniobocznej drodze rdzeniowo-wzgórzowej w obrębie rdzenia kręgowego, następnie przez twór siatkowaty i wzgórze. To właśnie kolejne miejsca, gdzie można modyfikować farmakologicznie odczucie bólu, ponieważ właśnie tutaj rozpoczynają się drogi zstępujące, które mogą podtrzymywać lub hamować przewodzenie bólu w rdzeniu kręgowym. W drodze zstępującej hamującej ból, ważne neurotransmitery to serotonina i noradrenalina, dlatego celem uśmierzania bólu stosuje się leki hamujące zwrotny wychwyt serotoniny (tramadol, amitryptylina). Droga zstępująca hamowania bólu podlega też regulacji opioidergicznej, a w związku z tym, że leki opioidowe- fentanyl oraz morfina, mogą przechodzić przez barierę krew-mózg, również ta grupa leków ma zastosowanie w modulacji bólu na tym poziomie jego przekazywania [Damjanov i wsp., 2010; Żylicz i wsp., 2003].



Rycina 2. Schemat drogi przekazywania bólu wg Damjanova w modyfikacji własnej.

Należy wziąć pod uwagę, że odczuwanie bólu i jego natężenie, zależy też od efektu psychologicznego i modyfikowane jest na poziomie ośrodków korowych. Wcześniejsze doświadczenia, emocje oraz lęk, mogą znacząco wpływać na odbiór bólu. Natężenie bólu zależy też od różnych czynników kulturowo-środowiskowych; strach czy oczekiwanie na ból także zmieniają percepcję tego zjawiska [Wang i wsp., 2017; Burgstaller i wsp., 2017].

Również ten poziom transmisji bólu można modyfikować, np. poprzez psychoterapię, leczenie lęku, depresji.

1.6. Leczenie bólu pooperacyjnego

Do ważniejszych elementów profilaktyki i leczenia bólu należą m.in. częste kontrole oceny bólu oraz odpowiednie reagowanie na ból pacjenta. Ból może być oceniany zarówno w skali VAS (wizualna skala analogowa), jak i NRS (skala numeryczna) [Rodriguez, 2001]. Obie te skale są skalami 11-punktowymi, gdzie 0 oznacza brak bólu, a 10- największy, najgorszy do wyobrażenia sobie przez chorego ból. Skala VAS różni się od skali NRS tylko tym, iż ma postać linijki, na której pacjent suwakiem zaznacza natężenie bólu. Istotnym aspektem postępowania przeciwbólowego jest także informowanie pacjentów i ich bliskich o metodach uśmierzania bólu, prowadzenie dokumentacji medycznej, zawierającej opis zastosowanego leczenia analgetycznego, a także monitorowanie i zgłaszanie ewentualnych działań niepożądanych stosowanych leków [Krawczyk i wsp., 2012].

Obecnie stosowanych jest kilka grup leków przeciwbólowych, a ich wybór uzależniony jest od rodzaju operacji (a tym samym stopnia uszkodzenia tkanek), osobniczego progu bólu oraz ewentualnych przeciwwskazań do podania konkretnej grupy leków, np. z powodu uczulenia na lek [Misiólek i wsp., 2014]. Do najczęściej stosowanych leków należą: nieopiodowe leki przeciwbólowe, wśród których można wyróżnić niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), paracetamol i metamizol (acetaminofen) oraz opiodowe leki przeciwbólowe.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne obejmują inhibitory cyklooksygenazy 1 i 2 (COX-1 i COX-2). Stosowane są w bólu łagodnym i umiarkowanym; ich skuteczność jest zbliżona. Standardowo stosowane inhibitory COX-1 (m.in. ketoprofen, deksketoprofen, naproksen, ibuprofen) są tańsze, ale wykazują więcej efektów ubocznych, chociażby z układu pokarmowego; ich przewlekłe stosowanie wiąże się też z powikłaniami w postaci przedłużonego krwawienia [Krawczyk i wsp., 2012; Dobrogowski i wsp., 2008]. Paracetamol wykazuje względnie niskie ryzyko powikłań, ale efekty uboczne mogą wystąpić z powodu przedawkowania; dochodzi wtedy do uszkodzenia wątroby przez utleniony metabolit NAPQI (N-acetylo-p-benzochinonoimina) [Misiólek i wsp., 2014]. Kolejnym lekiem z grupy nieopiodowych leków przeciwbólowych jest metamizol, który dodatkowo działa spazmolitycznie [Torres i wsp., 2011]. Ze względu jednak na dość częste reakcje alergiczne

oraz doniesienia o prawdopodobieństwie powodowania agranulocytozy, ograniczono jego stosowanie [Blanca-Lopez i wsp., 2016, Blaser i wsp., 2017].

W przypadku dużych zabiegów ginekologicznych, nieopiodowe leki przeciwbólowe stosuje się zwykle łącznie z opiodowymi lekami przeciwbólowymi, zgodnie z drabiną analgetyczną. Wśród opiodów, do najczęściej stosowanych leków w terapii bólu należą: morfina, tramadol, fentanyl, kodeina, oksykodon, a także buprenorfina i nalbufina.

Morfina stanowi złoty standard wśród środków przeciwbólowych, ponieważ jest czystym agonistą receptorów opiodowych. Nie wykazuje efektu pułapowego (efekt pułapowy to sytuacja, gdy lek przestaje być skuteczny, mimo zwiększania dawki), ale jej stosowanie ograniczają efekty uboczne. Do przedawkowania może dojść ze względu na możliwość kumulacji jej metabolitu (morfino-6-glukuronidu), co może spowodować niewydolność oddechową [Kilpatrick i wsp., 2005].

Słabszym agonistą receptorów opiodowych jest tramadol, którego działanie analgetyczne wynika z hamowania wychwyty zwrotnego noradrenaliny oraz zwiększania uwalniania serotoniny. W związku z tym należy ostrożnie stosować go u osób przyjmujących jednocześnie inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny, trójcykliczne leki przeciwdepresyjne, leki przeciwpsychotyczne, gdyż zwiększa to ryzyko wystąpienia drgawek lub nawet zespołu serotoninowego [Takeshita i wsp., 2009].

Kolejnym, powszechnie stosowanym lekiem z grupy opiodowych leków przeciwbólowych, jest kodeina. Za jej działanie analgetyczne odpowiada aktywny metabolit-morfina. Przekształcanie kodeiny w morfinę zachodzi pod wpływem izoenzymu CYP2D6, więc stosując ten lek, należy mieć na uwadze różnice w metabolizowaniu leku przez pacjentów. W przeciwieństwie do morfiny wykazuje efekt pułapowy, w związku z czym zwiększenie dawki nie nasila działania analgetycznego, a jedynie potęguje działania niepożądane [Edwards i wsp., 2000].

Wśród leków opiodowych, liczne towarzystwa ekspertów nie zalecają stosowania petydyny oraz pentazocyny. Petydyna działa nie tylko o wiele słabiej niż morfina, a dodatkowo jej aktywny metabolit norpetydyna wykazuje działanie neurotoksyczne [Misiólek i wsp., 2018]. Pentazocyna z kolei, poza tym, że jest słabym opiodem, może wywoływać efekt dysforyczny i halucynogeny [Dobrogowski i wsp., 2017].

Zlecenie podawania określonych leków w równych odstępach czasu u wszystkich chorych jednakowo, utrudnia dostosowanie terapii do indywidualnych potrzeb pacjentów i może powodować zarówno przedawkowanie leku, jak i nieskuteczną analgezję [Dobrogowski i wsp., 2008]. W związku z tym, w strategii leczenia bólu pooperacyjnego coraz częściej

mówi się o tzw. analgezji kontrolowanej przez chorego (PCA – Patient Controlled Analgesia). Stosowanie PCA rozpoczyna się od podania jeszcze w warunkach sali operacyjnej wysycającej dawki opioidu, by osiągnąć natężenie bólu u pacjenta ≤ 4 punktów w 11-punktowej skali oceny bólu; nie zapominając o możliwym działaniu depresyjnym opioidów na ośrodek oddechowy (częstość oddechów nie mniejsza niż 12/min) [Misiólek i wsp., 2014]. O dalszym dawkowaniu leku decyduje pacjent, który w momencie, gdy zaczyna odczuwać dolegliwości, sam uruchamia system dozujący, poprzez naciśnięcie włącznika. Dawki podawane przy każdym uruchomieniu systemu dozującego ustalane są przez zespół leczący, a przed przedawkowaniem chroni również czasowa blokada systemu dawkującego (zespół programuje też długość przerw między podaniami leku) [Krawczyk i wsp., 2012].

Współcześnie uważa się, że leczenie bólu powinno skupiać się przede wszystkim na zapobieganiu jego pojawieniu się; nie powinno się czekać, aż dolegliwości będą na tyle silne, że pacjent zgłosi potrzebę podania leku. Na tej zasadzie opiera się zasada „analgezji z wyprzedzeniem” [Johanson, 1993]. Celem takiego postępowania jest poprawa satysfakcji pacjenta z hospitalizacji i opieki medycznej, przyspieszenie rekonwalescencji przez możliwość wcześniejszej mobilizacji chorego, a tym samym skrócenie pobytu w szpitalu. Innymi zaletami zapobiegania bólowi ostremu jest też prewencja poważnych powikłań z układu sercowo-naczyniowego i oddechowego, a tym samym i zmniejszenie umieralności okołoperacyjnej [Krawczyk i wsp., 2012; Misiólek i wsp., 2018; Kehlet i wsp., 2006]. Warto mieć na uwadze, że profilaktyka to nie tylko podawanie leków analgetycznych. Farmakoterapia bólu nie jest bowiem pozbawiona efektów ubocznych i nie jest obojętna dla organizmu, o czym świadczą chociażby wymionione powyżej grupy leków wraz z ich działaniem. Zarówno profilaktyka i jak leczenie, oparte wyłącznie na farmakologicznym uśmierzaniu bólu, posiada liczne wady. Związane są one przede wszystkim z możliwością przedawkowania leku, wystąpieniem działań niepożądanych, długotrwałą obecnością w organizmie toksycznych metabolitów [Wu i wsp., 2011; Misiólek i wsp., 2014; Edwards i wsp., 2000; Misiólek i wsp., 2018; Dobrogowski i wsp., 2017].

Prezentowana rozprawa doktorska jest próbą poszukiwania innych metod profilaktyki bólu pooperacyjnego. Wybór terminu zabiegu podyktowany fazą cyklu miesięczkowego, stężeniami hormonów płciowych lub obecnością pewnych czynników genetycznych (polimorfizm receptorów), w przypadku potwierdzenia ich korelacji z bólem pooperacyjnym, może być ważnym aspektem profilaktyki tych dolegliwości. Jest to też jednocześnie próba redukcji polipragmazji (nadmiernego stosowania wielu leków), która zwiększa ryzyko polekowych efektów ubocznych i ich interakcji.

1.7. Estrogeny i receptor estrogenowy (ESR1)

Estrogeny są hormonami steroidowymi, z których najbardziej aktywnym estrogenem jest 17 β -estradiol, następnie estron, a najslabiej działającym- estriol [Świtalska i wsp., 2007]. 17 β -estradiol wydzielany jest głównie przez komórki ziarniste jajnika, ale jego produkcja następuje też w tkance tłuszczowej (w wyniku aromatyzacji dihydroandrostendionu i testosteronu) oraz przez konwersję z estronu [Nelson i wsp., 2001].

Estrogeny są związkami lipofilnymi, mogą więc dyfundować przez błony komórkowe, a swoje działanie biologiczne wykazują głównie po związaniu z receptorem wewnątrzjądrowym [Warenik-Szymankiewicz, 2003]. Występują przede wszystkim w formie nieaktywnej, związanej z białkami (estradiol transportowany jest w większości przez globulinę wiążącą hormony płciowe, estron związany jest głównie przez albuminy). [Świtalska i wsp., 2007; Gryniewicz i wsp., 2003]. Estrogeny odgrywają rolę nie tylko w prawidłowym rozwoju układu rozrodczego, ale też działają kardioprotekcyjnie, m.in. poprzez obniżanie stężenia cholesterolu o niskiej gęstości (LDL), zwiększanie stężenie cholesterolu wysokiej gęstości (HDL) [Barros i wsp., 2011], ale również dzięki rozszerzaniu naczyń krwionośnych [Farhat i wsp., 1996]. Estrogeny działają ochronnie na tkankę kostną, zapobiegając osteoporozie- głównie przez stymulację aktywności kościotwórczej osteoblastów oraz hamowanie powstawania osteoklastów, resorbujących tkankę kostną. Odpowiadają też za tożsamość płciową i zachowania seksualne oraz społeczne właściwe dla płci, poprzez działanie na poziomie hipokampa [Scharfman i wsp., 2006].

Aktywność biologiczna estrogenów zależy od ich interakcji z receptorami. Wyróżnia się receptory estrogenowe 1 i 2, kodowane przez odpowiednie geny: ESR1 oraz ESR2. Receptor ESR1, będący przedmiotem badań niniejszej rozprawy, kodowany jest przez gen ESR1, który zbudowany jest z ośmiu eksonów, zawierających łącznie 472 929 par zasad. Gen ESR1 zlokalizowany jest w odcinku q24-q27 chromosomu 6.

Budowa receptora estrogenowego jest taka sama jak każdego receptora jądrowego- składa się on z 6 domen, oznaczonych literami A-F [Fuller, 1991]. Domena A/B to N-końcowa domena, która wiąże koaktywatory, zawiera niezależny od liganda motyw AF-1 (ang. activation function-1) odpowiadający za aktywację transkrypcji i interakcje typu białko-białko. Domena C jest domeną wiążącą DNA, odpowiada za przyłączanie kompleksu ligand-receptor. Stanowi najbardziej konserwatywny region receptora estrogenowego, ponieważ w aż 96% zbudowana jest tak samo zarówno w receptorze 1 jak i 2. Najmniej poznana jest

domena D, która zawiera sygnał lokalizacji jądrowej (NLS- nuclear localisation signal) [Enmark i wsp. 1996]. Domena E/F zawiera motyw AF-2 (ang. activation function-2), odpowiada za transkrypcję aktywowaną przez związanie swoistego liganda. Domena E/F zawiera też białka opiekuńcze z rodziny białek szoku cieplnego, odpowiedzialne za prawidłowe zwijanie się białek.

Ekspresja receptorów estrogenowych jest różna w różnych tkankach; w macicy, jajnikach, gruczole piersiowym, pniu mózu i rdzeniu kręgowym, a także miocytach i fibroblastach serca występują receptory ESR1 oraz ESR2. Receptor ESR1 jest receptorem dominującym w macicy, jajnikach, gruczole piersiowym, mózgu oraz tkance tłuszczowej [Heldring i wsp., 2007; Nilsson i wsp., 2011].

Obecnie coraz większą uwagę naukowców skupia możliwość występowania polimorfizmów genów receptorów, które mogą zmieniać ich funkcje. Polimorfizm genetyczny to obecność wariantów DNA, który występuje u więcej niż 1% populacji [Chakravarti, 1999]. To, czy dany polimorfizm zmieni działanie kodującego białka (a w przypadku receptora jego ekspresję), zależy od lokalizacji w genomie, a zwłaszcza od umiejscowienia w obrębie sekwencji kodujących lub niekodujących.

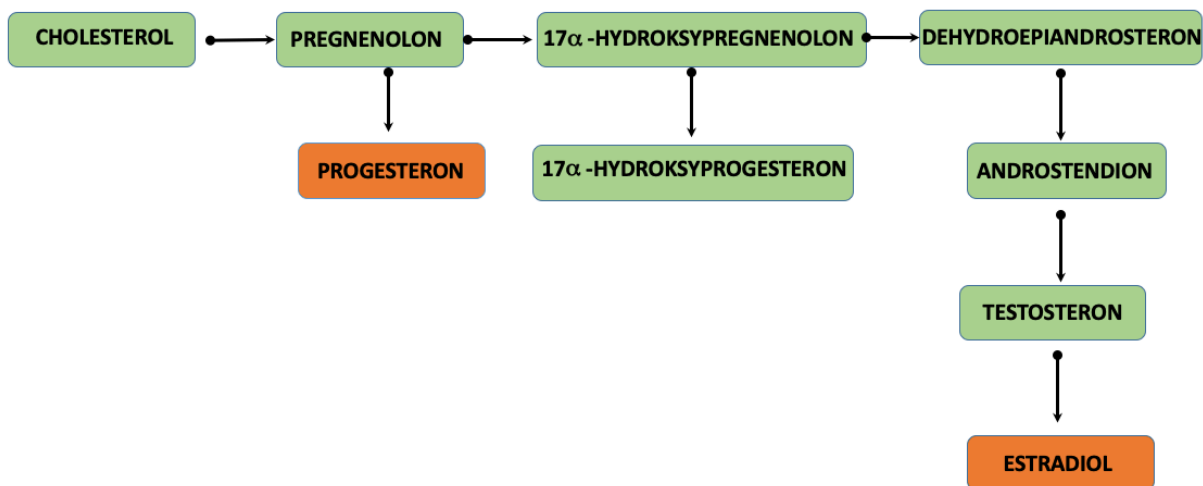
Wpływ obecności wariantów genetycznych receptora estrogenowego ESR1 został potwierdzony m.in. w kontekście zmian w jakości nasienia [Lazaros i wsp., 2010], podatności na nowotwory piersi [205-xu hu], niepłodności partnerskiej [Liaqat i wsp., 2015] czy osteoporozy [Mondockova i wsp., 2018].

W pracy Lazarosa i wsp. wykazano, iż w przypadku polimorfizmu PvuII (397T>C), obecność wariantów 397T/C oraz 397C/C wiązała się z istotnie lepszą ruchliwością plemników, aniżeli u chorych z genotypem 397T/T. [Lazaros i wsp., 2010]. Polimorfizm genu ESR1 badała też Mondockova i wsp., ale w aspekcie podatności na osteoporozę. Wykazano, iż nosicielki genotypu 351A/A polimorfizmu XbaI (351A>G) miały większą gęstość kości od kobiet z genotypem 351A/G i 351G/G tego receptora [Mondockova i wsp., 2018]. Przedmiotem badań Hu i wsp. była obecność wariantów genetycznych receptora estrogenowego ESR1 (rs2234693 oraz rs2046210) oraz ich wpływ na zapadalność na raka piersi. W przeprowadzonej przez nich metaanalizie przedstawiono, iż w przypadku polimorfizmu rs2234693 genotyp C/C wiązał się z większym ryzykiem rozwoju raka, natomiast obecność genotypu G/G polimorfizmu rs2046210 działała protekcyjnie na kancerogenezę [Hu i wsp., 2017]. Celem pracy Liaqat i wsp. była ocena polimorfizmów receptora ESR1 w kontekście występowania niepłodności. Przedstawiono, iż obecność genotypu T/C w badanym polimorfizmie PvuII (397T>C) oraz genotypu T/C polimorfizmu

XbaI (351A>G), w sposób istotny dominowała w grupie pacjentów z niepłodnością, zarówno w grupie kobiet, jak i mężczyzn [Liaqat i wsp., 2015]. Potwierdzenie roli polimorfizmów genu receptora ESR1 w patogenezie wielu schorzeń, budzi nadzieję, że mogą one też mieć istotne znaczenie w nasileniu nudności, wymiotów i bólu pooperacyjnego.

1.8. Progesteron i receptor progesteronowy (PGR)

Progesteron, tak jak estrogeny, należy do hormonów steroidowych; powstaje z przemian pregnenolonu. Na Rycinie 3 przedstawiono schemat przemian hormonów steroidowych [Murray i wsp., 2006].



Rycina 3. Schemat przemian hormonów steroidowych wg Murraya w modyfikacji własnej.

Progesteron wytwarzany jest głównie w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego przez ciało żółte, ale produkowany jest również przez warstwę pasmowatą i siatkowatą kory nadnerczy. Hormon ten pobudza komórki endometrium do wzrostu oraz do gromadzenia w nich glikogenu, odpowiada za przemiany wydzielnicze w błonie śluzowej macicy. Zmniejsza wydzielanie śluzu szyjkowego, powoduje wzrost jego lepkości i zmniejszenie rozciągliwości [Raith i wsp., 1997]. Powoduje zanik rozwarcia szyjki (do którego doszło przed owulacją) i jej twardnienie. Pod wpływem progesteronu wzrasta też podstawowa temperatura ciała [Raith i wsp., 1997]. Działanie progesteronu nie ogranicza się tylko do wpływu na układ rozrodczy; hormon ten wykazuje też działanie na układ krwionośny, kostny, nerwowy [Graham i wsp., 2012].

Tak jak w przypadku estrogenów, progesteron wykazuje swoje działanie biologiczne głównie poprzez interakcję z właściwym receptorem jądrowym- PGR (progesteronowym). Wyróżnia się dwie izoformy receptora- 1 i 2 , które kodowane są przez ten sam gen. Gen PGR zbudowany jest z dziewięciu eksonów, zawierających łącznie 101 045 par zasad. Zlokalizowany jest w odcinku q22.1 chromosomu 11. Receptor PGR zbudowany jest z kilku funkcjonalnych domen- domeny N-końcowej- regulatorowej, domeny wiążącej DNA, domeny zawiasowej oraz C-końcowej domeny wiążącej ligand [De Vivo i wsp., 2003].

Ekspresja receptorów progesteronowych jest największa w komórkach endometrium, zdecydowanie mniej jest ich w komórkach jajnika, gruczole sutkowym, mózgowiu, trzustce, w układzie moczowym i tkance kostnej [Bland, 2000; Graham i wsp., 2012; Tincello i wsp., 2009]. Podobnie jak estrogeny, progesteron zapobiega osteoporozie, ponieważ pobudza aktywność osteoblastów [Prior, 1990].

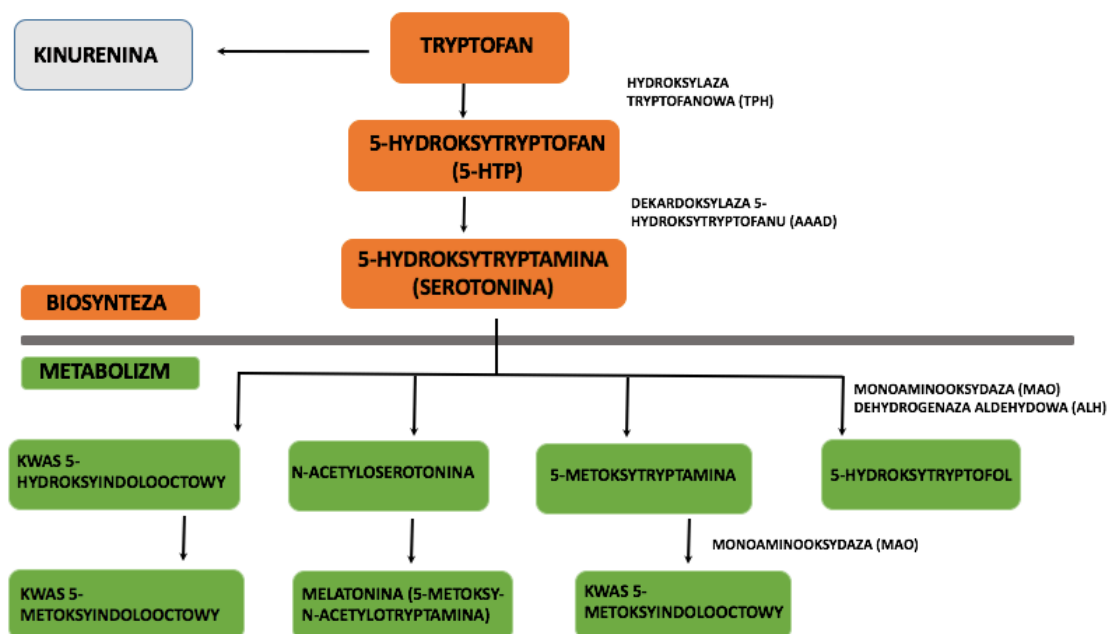
Wpływ obecności różnych wariantów genetycznych receptora progesteronowego PGR potwierdzono w aspekcie epidemiologii migreny [Joshi i wsp., 2010], mięśniaków i raka endometrium [Junqueira i wsp., 2007] oraz poronień [Razdaibiedina i wsp., 2018].

W pracy Joshi i wsp. analizowano zależność między obecnością wariantów polimorfizmu PROGINS (rs1042838) genu PGR na ryzyko zapadalności na migrenę. Wykazano, iż obecność genotypu T1T2 działała protekcyjnie, co więcej, zależność tę zaobserwowano tylko w grupie kobiet [Joshi i wsp., 2010]. W badaniu Junqueira i wsp. przedstawiono, iż genotyp T2T2 polimorfizmu PROGINS występował istotnie statystycznie częściej wśród pacjentek z rakiem endometrium, natomiast obecność wariantu T1T2 dominowała wśród kobiet, u których stwierdzono mięśniaki macicy [Junqueira i wsp., 2007]. Razdaibiedina i wsp. wykazali, że występowanie genotypu T2T2 polimorfizmu PROGINS zwiększa ryzyko poronień samoistnych.

1.9. Serotonina i receptory serotoninowe

5-hydrokсыtryptamina (5-HT), czyli serotonina, jest aminą biogenną, pełni rolę neurotransmitera w OUN, jest też hormonem tkankowym. Około 90% krążącej 5-HT w całym organizmie produkowane jest w komórkach enterochromatofilnych błony śluzowej jelit. Serotonina syntetyzowana również przez neurony serotonergiczne oraz płytki krwi, w której jest magazynowana. Odpowiada za odczuwanie i reakcję na stres, ból, reguluje nastrój oraz procesy snu [Berger i wsp., 2009]. Serotonina powstaje z L-tryptofanu w dwuetapowej reakcji z udziałem hydroksylazy tryptofanowej (TPH) oraz dekarboksylazy 5-hydrokсыtryptofanu

(AAAD). Rozkładana jest przez monoaminooksydazę (MAO) i dehydrogenazę aldehydową (ALDH) do kwasu 5-hydroksyindoloctowego (5-HIAA) [Dorszewska i wsp., 2017]. Na Rycinie 4 przedstawiono schemat biosyntezy i metabolizmu serotoniny.



Rycina 4. Schemat biosyntezy i metabolizmu serotoniny wg Dorszewskiej w modyfikacji własnej.

Okolo 1-2% tryptofanu przyjętego z pokarmem zostaje przekształcone do serotoniny [Keszthelyi i wsp., 2009]. Niedobór serotoniny stwierdza się w wielu stanach chorobowych, ale przyczyny tego zjawiska nie są dokładnie znane. Przewlekły stres, zarówno psychiczny lub fizyczny, powoduje wzrost stężenia glikokortykosteroidów, a to aktywuje pirolazę wątrobową. Pirolaza zamiast metabolizować tryptofan do serotoniny, kieruje szlak przekształceń tryptofanu do kinureniny i jej pochodnych [Saleem i wsp., 2008; Miura i wsp., 2008].

Serotonina jest związkiem hydrofilnym oraz silnie lipofobowym, dlatego jej przenikanie przez błony komórkowe jest utrudnione. W związku z tym, aby wywołać efekty biologiczne, wiąże się ze swoimi receptorami na błonach komórkowych. Dotychczas poznano 21 podtypów receptorów serotoniny, które podzielono na 7 klas ze względu na budowę chemiczną: receptory 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ oraz 5-HT₇, a wśród nich wyróżnia się receptory presynaptyczne i postsynaptyczne [Ganong, 2009]. Receptory, których polimorfizm genowy był oceniany w prezentowanej dysertacji, to receptory 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A},

5-HT_{2C}, 5-HT_{3A} oraz 5-HT_{3B}. Wszystkie te receptory serotoninowe biorą udział w regulacji czynności motorycznej i wydzielniczej przewodu pokarmowego [Hansen, 2003]. Receptory 5-HT₁ poprzez interakcję z białkiem G₁ hamują cyklazę adenylanową. Należący do tej klasy receptor 5-HT_{1B} zwiększa napięcie dolnego zwieracza przełyku, zmniejsza napięcie mięśni żołądka, przyspiesza perystaltykę jelita cienkiego. Receptory 5-HT₂ w wyniku aktywacji fosfolipazy C prowadzą do przekształcenia fosfatydyloinozytolu do diacylglicerolu i trifosforanu inozytolu, będącymi czynnymi przekąźnikami komórkowymi. Receptor 5-HT_{2A} oraz 5-HT_{2C} przyspieszają perystaltykę zarówno jelita cienkiego, jak i grubego. Receptory z klasy 5-HT₃, w przeciwieństwie do pozostałych klas receptorów, są receptorami jonotropowymi, aktywującymi kanały dla Na⁺, Ca²⁺ oraz K⁺ [Kilpatrick i wsp., 1992]. Pobudzenie receptorów 5-HT_{3A} oraz 5-HT_{3B} odpowiada za nasilenie perystaltyki żołądka i jelit. Istnieje ścisły związek między pobudzeniem receptorów 5-HT₃ na nerwach błędnych a występowaniem nie tylko nudności i wymiotów, ale także biegunek. Jak wspomniano w dziale dotyczącym leczenia nudności i wymiotów pooperacyjnych, antagoniści receptora 5-HT₃ mają zastosowanie w terapii zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego.

Serotonina bierze też udział w regulacji czucia bólu, co potwierdzają liczne badania [Zhou i wsp., 2018; Żylicz i wsp., 2003; Pierce i wsp., 1996; Fozard, 1984]. W jednej z prac przedstawiono wpływ przedoperacyjnego podawania dezocyny na natężenie bólu pooperacyjnego [Zhou i wsp., 2018]. Dezocyna jest lekiem opioidowym, działającym na receptory opioidowe MOR i KOR. W tym badaniu pacjentów podzielono na dwie grupy-otrzymującą placebo oraz dezocynę. Stwierdzono, że natężenie bólu jak i zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe było istotnie statystycznie mniejsze w grupie, która otrzymała dezocynę. Co jest jednak istotne, pacjenci ci mieli wyższe stężenie serotoniny we krwi, co potwierdza, że substancja ta odgrywa istotną rolę w przekąźnictwie bólu [Zhou i wsp., 2018]. Jak wspomniano w części poświęconej przewodzeniu bólu, receptory serotoninowe mogą być pobudzone na różnych poziomach drogi przewodzenia bólu, a więc też na różnych poziomach działają stosowane leki analgetyczne. Receptory presynaptyczne 5-HT₃, zlokalizowane w rogach tylnych rdzenia kręgowego, mogą wpływać na wydzielanie transmiterów bólowych (substancja P, glutamina), a tym samym modulować impuls odpowiadający za czucie bólu [Żylicz i wsp., 2003]. W zwojach rogów tylnych wykryto również obecność mRNA receptorów 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} oraz 5-HT_{2C} (wszystkie będące tematem zainteresowania niniejszej pracy), co sugeruje obecność tych receptorów w obwodowych nerwach czuciowych [Pierce i wsp., 1996]. Z kolei receptory 5-HT₃ występują we włóknach typu C (bezmielinowe włókna odpowiadające za wolne przewodzenie bodźca bólowego), a obecność receptorów 5-

HT_{2A} potwierdzono w beźmielinowych aksonach w obrębie połączenia skórno-naskórkowego [Fozard, 1984].

Za pośrednictwem receptorów serotoninowych można wzmacniać lub osłabiać czucie różnego rodzaju bólu [Bingham i wsp., 2001, Tokunaga i wsp., 1998, Eschaliier i wsp., 1989, Giordano i wsp., 1998]. Sumatryptan, będący agonistą receptora 5-HT_{1B/1D}, zmniejsza ból wywołany podwyższeniem temperatury, natomiast nie bierze udziału w odczuwaniu bólu związanego z uszkodzeniem nerwu (doświadczenie na myszach, u których wywołano stan zapalny, podając miejscowo karageninę) [Bingham i wsp., 2001]. W badaniu na szczurach wykazano z kolei, że agoniści receptora 5-HT_{2A} przyspieszają reakcję szczurów na ból wywołany wysoką temperaturą (szybsza ucieczka od źródła wysokiej temperatury) [Tokunaga i wsp., 1998]. W innej pracy wywoływano natomiast ból u szczurów poprzez generowanie miejscowego stanu zapalnego poprzez podanie karageniny [Eschaliier i wsp., 1989]. Szczury, którym podano wcześniej antagonistę receptora 5-HT₃, odczuwały mniejszy ból. Podobne wyniki uzyskano na grupie ochotników, którym podano ondansetron (antagonistę receptora 5-HT₃), a następnie mierzono ból wywołany miejscowym podaniem kapsaicyny [Giordano i wsp., 1998]. Osoby, które otrzymały wcześniej ten lek, odczuwały ból o mniejszym nasileniu.

Obecnie coraz więcej uwagi poświęca się ocenie polimorfizmów genetycznych receptorów serotoninowych oraz w jaki sposób obecność poszczególnych wariantów może zmieniać ich działanie. Odmienną funkcję receptorów serotoninowych zbadano w kontekście m.in. skłonności do samobójstw [Molina-Guzman i wsp., 2017], przewlekłej obturacyjnej choroby płuc [Verde i wsp., 2018], zespołu nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD- ang. attention-deficit hyperactivity disorder) [Hou i wsp., 2018] czy schizofrenii [Sujitha i wsp., 2014].

W pracy Moliny-Guzman wykazano, iż allel C w przypadku polimorfizmu rs4272555 genu receptora HTR2C działa protekcyjnie na skłonność do samobójstw, natomiast obecność allelu G w polimorfizmie rs2428707 zwiększa ryzyko podjęcia próby samobójczej [Molina-Guzman i wsp., 2017]. Autorzy z Hiszpanii przedstawili natomiast korelację między występowaniem allelu A w polimorfizmie rs6311 genu HTR2A a ryzykiem rozwoju POChP u osób uzależnionych od nikotyny. [Verde i wsp., 2018]. Celem badania Sujitha i wsp. była ocena, czy polimorfizmy genu receptora HT2A odgrywają rolę w patogenezie schizofrenii. Wykazano, że genotyp GG i CC w przypadku wariantu rs6311 występował istotnie statystycznie częściej wśród pacjentów ze schizofrenią [Sujitha i wsp., 2014]. W metaanalizie przeprowadzonej przez Hou i wsp. zaobserwowano częstsze występowanie allelu G w

przypadku polimorfizmu rs6296 receptora HTR1B oraz genotypu GG polimorfizmu rs6295 receptora HTR1A wśród dzieci z zespołem nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD) w porównaniu z grupą kontrolną [Hou i wsp., 2018].

1.10. Serotonina a hormony płciowe

Ze względu na fakt, że płeć żeńska jest czynnikiem ryzyka nudności i wymiotów pooperacyjnych [Weinert,2008; Apfell i wsp., 2012a], zaczęto brać pod uwagę możliwe powiązanie nudności i wymiotów z układem hormonalnym. W dotychczas opublikowanych badaniach nie udało się jednak poznać i opisać w sposób kompletny i ostateczny patomechanizmu bólu oraz mdłości i wymiotów występujących po operacji, w powiązaniu do układu hormonalnego kobiet.

Niedawno rozpoczęto badania nad powiązaniem pomiędzy układem serotonergicznym a hormonami płciowymi. Sugestię występowania korelacji pomiędzy stężeniem estradiolu a serotoniny w surowicy zaznaczyli niektórzy autorzy [Genazzani i wsp., 1990; Lu i wsp., 1999; Pecins-Thompson i wsp., 1996]. Według Lu i wsp. estrogeny działają modulująco na stężenie serotoniny poprzez regulację hydroksylazy tryptofanu- enzymu niezbędnego w szlaku metabolicznym, przekształcającym tryptofan do serotoniny [Lu i wsp., 1999]. Kolejni autorzy dowiedli, że podaż estrogenów powoduje wzrost mRNA hydroksylazy tryptofanu [Pecins-Thompson i wsp., 1996]. Gennazzani i wsp. [Genazzani i wsp., 1990] w doświadczeniach na zwierzętach obserwowali istotny wzrost wydzielania serotoniny po podaniu estrogenów egzogennych. Podczas cyklu miesięczkowego również dochodzi do wahań stężenia serotoniny- najwyższe stężenia występują w okresie okołowulacyjnym, następnie premenstruacyjnym, a niższe na początku cyklu [Hindberg i wsp., 1992]. Estrogenom przypisuje się działanie hamujące aktywność enzymów rozkładających serotoninę- obniżenie stężenia serotoniny we krwi wykryto u kobiet po menopauzie, u których produkcja estrogenów jest naturalnie zmniejszona [Wiśniewska-Jarosińska i wsp., 2009]. Inne badanie, przeprowadzone na modelu zwierzęcym wykazało, że zarówno terapia estrogenami jak i gestagenami, może mieć wpływ na stężenie serotoniny [Gundlach i wsp., 2002]. Hormony te, poprzez działanie na poziomie genowym, zmniejszają aktywność enzymu rozkładającego serotoninę- monoaminooksydazy.

Wpływ stężeń hormonów płciowych oraz to, w jaki sposób mogą one modulować odruch wymiotny, nie jest znane. Na podstawie badań nad niepowściągliwymi wymiotami ciężarnych wysunięto kilka hipotez [Lagiou i wsp., 2003; Taşkin i wsp. 2009]. W jednej z

prac przedstawiono, że nie tylko wzrost gonadotropiny kosmówkowej, ale także wzrost stężenia estradiolu wiąże się z częstszymi nudnościami i wymiotami w ciąży [Lagiou i wsp., 2003]. Z kolei w innej pracy wykazano dodatnią korelację pomiędzy estradiolem, ale też progesteronem, a ryzykiem niepowściągliwych wymiotów w ciąży [Taşkin i wsp. 2009].

Badania dotyczące wpływu tamoksifenu (leku będącego selektywnym modulatorem receptora estrogenowego, stosowanego w terapii nowotworu piersi) wykazały, że podwyższone stężenie estradiolu, prawdopodobnie w mechanizmie stymulacji nadnerczowej produkcji dehydroepiandrosteronu, który jest aromatyzowany do estrogenów [Pommier i wsp., 1987]. Terapia tamoksifenem obarczona jest pojawieniem się efektów ubocznych w postaci nudności i wymiotów, niewykluczone więc, że związane jest to nie tylko z obecnością toksycznych metabolitów tamoksifenu, ale dolegliwości te mają też podłoże hormonalne [Flynn i wsp., 2017].

W kilku pracach podejmowano temat wpływu fazy cyklu miesięczkowego, stężenia estradiolu i progesteronu na zmiany w odczuwaniu bólu, ale wnioski są niejednoznaczne [Ribeiro-Dasilvaa i wsp., 2011; Apkhazava i wsp., 2018a; Ivković i wsp., 2018]. W jednym z badań wykazano różnice w tolerancji bólu i odpowiedzi na leki przeciwbólowe u pacjentek przyjmujących antykoncepcję hormonalną, od pacjentek nie stosujących egzogennych hormonów [Ribeiro-Dasilvaa i wsp., 2011]. Do badania włączono 65 kobiet. Ból rejestrowano przed i po podaniu morfiny, pentazocyny, lub placebo, sprawdzając odpowiedź na podany lek przeciwbólowy. Leki podawano każdej pacjentce (w przypadku pacjentek nie przyjmujących antykoncepcji dwukrotnie; w trakcie fazy folikularnej i lutealnej); rejestrując ból na dany bodziec bólowy przed i po podaniu leku. Obserwowano różnice między grupami w odczuwaniu bólu; zarówno w odniesieniu do jego rodzaju (wysoka temperatura, ucisk); jak i od fazy cyklu, w której próg bólu w stosunku do danego bodźca był niższy. Kobiety, które nie przyjmowały egzogennych hormonów, wykazywały większą wrażliwość na ból wywołany bodźcem termicznym, zwłaszcza w fazie folikularnej. Natomiast badane, które przyjmowały antykoncepcję hormonalną, miały niższy próg tolerancji bólu wywołanego uciskiem. Wykazano, że u kobiet nie stosujących antykoncepcji, morfina działała szybciej, zwłaszcza w folikularnej fazie cyklu [Ribeiro-Dasilvaa i wsp., 2011]. Wadą tego badania, której nie sposób nie zauważyć, jest jednak niewielka grupa badawcza, na podstawie której trudno wysuwać ostateczne wnioski. Apkhazava i wsp. naświetlili z kolei zależność wrażliwości na ból wywołany bodźcem termicznym i mechanicznym od fazy cyklu i stężenia progesteronu [Apkhazava i wsp., 2018a; Apkhazava i wsp., 2018b]. Niższy próg bólu korelował z wyższym stężeniem progesteronu i dominował w fazie lutealnej, zarówno w odniesieniu do bólu

wywołanego bodźcem termicznym, jak i mechanicznym. Ivković i wsp., oceniali z kolei zależność stężenia estradiolu na nasilenie dysfunkcji stawu skroniowo-żuchwowego [Ivković i wsp., 2018]. Stan ten objawia się przewlekłym bólem, zaburzeniami żucia, a w konsekwencji nawet depresją i pogorszeniem jakości życia [Cairns, 2010; Orlando i wsp., 2007]. W pracy Ivković podzielono pacjentki na trzy grupy- pacjentki miesiączkujące regularnie, pacjentki po menopauzie oraz pacjentki ciężarne. Wykazano, że najmniej dolegliwości zgłaszały pacjentki w ciąży, a ból był odwrotnie proporcjonalny do jej zaawansowania, co korelowało też z wyższymi stężeniami estradiolu. Pacjentki po menopauzie, u których stężenie estradiolu było niskie, zgłaszały z kolei najwięcej dolegliwości. Do badania włączono jednak tylko 64 pacjentki, więc analizowane podgrupy nie były liczne, przez co trudno o jednoznaczne wnioski.

Powyższe, co prawda nieliczne prace, stanowią inspirację, aby zbadać temat kompleksowo, ponieważ mimo przesłanek nadal nie jest jasne, czy żeński układ hormonalny i układ serotoninowy oddziałują na siebie oraz czy te ewentualne zależności mogą mieć wpływ na ból i nudności pooperacyjne.

1.11. Polimorfizm receptorów analizowanych w badaniu

Przy wyborze analizowanych polimorfizmów receptorów kierowano się założeniem, że te warianty genetyczne mogą warunkować predyspozycję do wystąpienia nudności i wymiotów pooperacyjnych lub mieć wpływ na nasilenie odczuwanych dolegliwości bólowych. Hipotezę tę oparto na informacjach o wpływie hormonów płciowych oraz serotoniny na te dolegliwości, o których wspomniano uprzednio.

Wybór oceny poszczególnych polimorfizmów receptorów ESR1 i PGR a także serotoninowych HTR1B, HTR2A, HTR2C oraz HTR3A i 3B wynikał z faktu, że stanowią one przedmiot zainteresowania autorów, wykazano ich wielorakie potencjalne oddziaływanie i podkreśla się ich liczne funkcje. To budzi nadzieję, że wynikiem odmiennej wrażliwości na ból i podatności na wystąpienie nudności oraz wymiotów pooperacyjnych wśród kobiet i mężczyzn jest również inne działanie tych receptorów, wynikające ze zmian na poziomie genu.

Wybór ocenianych polimorfizmów, ze względu na ich mnogość, jest zawsze procesem trudnym; zwłaszcza, gdy tak jak w niniejszej rozprawie, wykonuje się pionierskie badania w określonej dziedzinie. Należy bowiem podkreślić, że większość z przedstawianych wariantów genetycznych- polimorfizmów- została po raz pierwszy oceniona w kontekście związku z

występowaniem PONV i bólu pooperacyjnego w prezentowanej dysertacji. Utrudnieniem jest także wieloczynnikowy, złożony charakter analizowanych cech.

Ogromne nadzieje pokłada się w badaniach asocjacyjnych całego genomu, znanych jako GWAS (ang. Genome-Wide Association Studies). Jest to technika, która umożliwia równoczesną identyfikację setek tysięcy polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) oraz określenie, czy mają związek z daną, badaną cechą. GWAS oparta jest na technologii mikromacierzy i umożliwia odnalezienie markerów genetycznych danej cechy poprzez stwierdzenie istotnych statystycznie różnic w częstościach występowania jego alleli w genomach dwóch grup, różniących się pod względem badanej cechy [Maresso i wsp., 2008; Gunderson i wsp., 2005]. Wadą techniki GWAS są jednak ogromne koszty tych badań, czasochłonność oraz konieczność włączenia do analizy kilku tysięcy, a nawet- w przypadku badania cech złożonych- kilkunastu tysięcy osób. Warto też dodać, że technika GWAS nie daje ostatecznej odpowiedzi, który polimorfizm i wariant genetyczny na pewno decyduje o wystąpieniu danej cechy, a jedynie jest narzędziem filtrującym, pozwalającym skupić dalsze badania (oraz środki finansowe) na najbardziej prawdopodobnych genach i ich polimorfizmach. Jak łatwo zauważyć, nie istnieje prosta metoda, pozwalająca na dobór analizowanych wariantów genetycznych, które z pewnością będą się wiązały z badaną cechą.

Prezentowana rozprawa doktorska jest próbą poszukiwania nowych, dotąd nie zidentyfikowanych wariantów genetycznych, mogących przyczyniać się do zwiększonego ryzyka pojawienia się PONV i bólu pooperacyjnego. W dostępnej literaturze nie znaleźliśmy żadnej pracy, w której podjęto by się w sposób kompleksowy analizy występowania bólu oraz nudności i wymiotów pooperacyjnych od cech genetycznych pacjentek i gospodarki hormonalnej. Niniejsza dysertacja jako jedna z pierwszych porusza ten temat zarówno z perspektywy stężeń hormonów płciowych, jak i na poziomie genów, oceniając występowanie wariantów genetycznych receptorów hormonalnych.

2. CEL PRACY

Celem pracy była ocena częstości występowania nudności i wymiotów oraz bólu pooperacyjnego po histeroskopii i laparoskopii ginekologicznej. Oceniono też zależność występowania tych dolegliwości u pacjentek od fazy cyklu miesięczkowego, ale również od stężeń estradiolu, progesteronu, serotoniny oraz polimorfizmu genów ich receptorów. Badania miały odpowiedzieć na pytanie, kiedy najlepiej przeprowadzać planową operację (w której fazie cyklu, ewentualnie przy jakich stężeniach hormonów). Dotychczas opublikowano niewiele prac na ten temat, wyniki są rozbieżne; nie ustalono jednego stanowiska. Ocena ewentualnego podłoża hormonalnego tych dolegliwości może przyczynić się do poszerzenia wiedzy o oddziaływaniach i zależnościach między serotoniną a hormonami płciowymi (estradiolem i progesteronem). Celem pracy było również wyróżnienie grup ryzyka wśród pacjentek, które w sposób szczególny narażone są na występowanie wyżej wymienionych dolegliwości. W przypadku potwierdzenia podłoża genetycznego nudności, wymiotów i bólu pooperacyjnego na podstawie oceny polimorfizmu genów receptorów serotoninowych, estrogenowych i progesteronowych, informacje te mogłyby w przyszłości zostać wykorzystane do badań nad nowymi lekami przeciwbólowymi i przeciwwymiotnymi, działającymi na poziomie receptorowym.

Cel ten realizowano poprzez analizę w grupie pacjentek poddanych histero-laparoskopii ginekologicznej:

1. Nasilenia nudności, wymiotów oraz bólu pooperacyjnego w czasie 24- godzinnej obserwacji po zabiegu (ocena na podstawie udostępnionej pacjentkom ankiety)
2. Zapotrzebowania na leki przeciwbólowe i przeciwwymiotne
3. Wpływu fazy cyklu miesięczkowego na PONV i ból pooperacyjny
4. Stężenia hormonów: estradiolu, progesteronu i serotoniny w dniu operacji oraz ich wpływu na PONV i ból pooperacyjny
5. Ocenę wpływu wieku, BMI pacjentek oraz czasu trwania operacji na nudności, wymioty i ból pooperacyjny.
6. Częstości występowania, a także ocenę zależności występowania dolegliwości pooperacyjnych od polimorfizmów genów:
 - a. +331G/A (rs10895068) oraz ins/del (progins) genu receptora progesteronowego (PRG)

- b. -397T>C (rs2234693) genu receptora estrogenowego 1 (ESR1)
- c. 14396A > G (rs1176713) genu receptora serotoninowego 3A (HTR3A)
- d. rs1176744, rs11214763, rs3782025 oraz rs1672717 genu receptora serotoninowego 3B (HTR3B)
- e. rs6313 genu receptora serotoninowego 2A (HTR2A)
- f. rs6296 genu receptora serotoninowego 1B (HTR1B)
- g. rs6318 genu receptora serotoninowego 2C (HTR2C)

3. MATERIAŁ I METODYKA

3.1. MATERIAŁ

Badanie przeprowadzono wśród 300 pacjentek poddanych histero-laparoskopii ginekologicznej i spełniających poniżej omówione kryteria. Wszystkie chore skierowane były do szpitala celem wykonania operacji z powodu niepłodności. Wskazania do zabiegu były następujące: podejrzenie endometriozy, zespół policystycznych jajników (PCOS), podejrzenie niedrożności jajowodów, torbiele jajników, mięśniaki macicy, niepłodność idiopatyczna.

Pacjentki kwalifikowano do analizy w obrębie Kliniki Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w okresie od stycznia 2016 do stycznia 2017 roku. Do udziału w pracach badawczych włączono kobiety w wieku 18-40 lat. Dokładnie zebrano wywiad dotyczący długości i regularności cykli miesięczkowych, zapytano o datę ostatniej miesiączki, celem określenia dnia cyklu, a także o przeszłość położniczą (porody, poronienia). Ważnym zagadnieniem były również choroby przewlekłe oraz przyjmowane przez chore leki, zwłaszcza hormonalne i psychiatryczne; stosowanie ich dyskwalifikowało z udziału w badaniu. Wszystkie chore były poinformowane o celu pracy oraz jej zakresie. Wyjaśniono dokładnie, w jaki sposób mają one wypełniać część ankiety dotyczącą dolegliwości pooperacyjnych- bólu i nudności oraz wymiotów. Aby zebrać dane dotyczące histeroskopii i laparoskopii (czasu trwania zabiegu, wykonanych procedur), a także zastosowanych leków anestetycznych do znieczulenia, środków przeciwbólowych oraz przeciwwymiotnych w okresie pooperacyjnym, posłużono się dokumentacją medyczną chorych. Udział w badaniu był dobrowolny; pacjentki wyraziły na niego pisemną zgodę i w każdej chwili mogły zrezygnować z uczestnictwa. Na wykonanie analizy uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu nr 1047/15. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej.

Występowanie dolegliwości oceniano na podstawie ankiety, przekazanej pacjentkom w dniu przyjęcia do szpitala dzień przed zabiegiem (ankieta znajduje się w suplemencie dołączonym do rozprawy doktorskiej). Ból oceniany był za pomocą 11- punktowej skali numerycznej (NRS - Numerical Rating Scale). Skala NRS zawiera 11 stopni nasilenia bólu - od 0 do 10, gdzie 0 oznacza całkowity brak bólu, natomiast 10- najgorszy wyobraźalny ból. Ankieta zawierała także pytania dotyczące obecności i nasilenia nudności oraz wymiotów pooperacyjnych, które były oceniane jako: 0- brak dolegliwości, 1-nudności, 2- oprócz nudności występowały też wymioty.

Zarówno nudności, wymioty jak i ból, początkowo oceniano 2, 6, 12 i 24 godziny po

zabiegu. Ze względu jednak na możliwy wpływ leków anestetycznych, podawanych w trakcie operacji oraz ewentualnie zleczanych przez anesteziologa przeciwbólowych leków opioidowych po wybudzeniu ze znieczulenia ogólnego, zrezygnowano z oceny dolegliwości we wczesnej fazie po zabiegu. Leki te mogły wpływać nie tylko na ocenę bólu, ale także, ze względu na działanie emetogenne, na poziom nudności i wymiotów [Apfel i wsp.,2002]. Pierwsza ocena nudności, wymiotów i bólu następowała po 6 godzinach od operacji, kiedy pacjentki były już wybudzone, świadome i wypisane z oddziału pooperacyjnego.

Analizie poddano również konieczność podawania leków przeciwwymiotnych i przeciwbólowych w czasie pooperacyjnym. Brano pod uwagę tylko leki, które zostały zaordynowane na prośbę pacjentki, gdy odczuwała ona dolegliwości. Źródłem tych danych były historie choroby pacjentek i karty zleceń leków. Leki przeciwwymiotne podawano w momencie pojawienia się wymiotów u chorych (zlecano 4 mg ondansetronu dożylnie). Z kolei w momencie odczuwania bólu, w przypadku jego nasilenia > 4 punktów w skali NRS, podawano lek opioidowy, a gdy występował ból o mniejszym natężeniu, leczenie rozpoczynano od zaordynowania leku nieopiodowego (paracetamolu, ketoprofenu lub diklofenaku). Obserwowano następnie stan pacjentki, monitorując, czy nie wymaga ona kolejnej dawki leku lub zastosowania leku silniejszego, zgodnie z drabiną analgetyczną.

3.1.1. Charakterystyka grupy badanej.

Pacjentki włączone do badania były w wieku 18-40 lat (średnia 32,5+/-5 lat, mediana 28 lat). W przeddzień operacji wykonywano ultrasonograficzne badanie przezpochwowe (aparatury ALOKA ProSound Alpha 6 CV) z oceną narządów miednicy mniejszej, w tym pomiar grubości endometrium oraz pomiar pęcherzyków jajnikowych. Na podstawie wywiadu miesięczkowego, oceny hormonalnej, obrazu ultrasonograficznego oraz wizualizacji jajników i ewentualnej obecności ciała żółtego stwierdzonego podczas laparoskopii, oceniano, w jakiej fazie cyklu znajdowała się pacjentka w czasie zabiegu. W przypadku obecności ciała żółtego oraz stężenia progesteronu powyżej 1,4 ng/ml, stwierdzano, iż pacjentka jest w fazie lutealnej [Roos i wsp., 2015; Prior i wsp., 2015]. Gdy stężenie progesteronu było niższe, pacjentka kwalifikowana była do fazy folikularnej. Pacjentki w trakcie menstruacji nie były włączone do badania (w przypadku wystąpienia krwawienia miesięczkowego chorą dyskwalifikowano też z zabiegu i ustalano inny termin). Pobranie krwi, celem oznaczenia hormonów płciowych, serotoniny oraz polimorfizmów genów ich receptorów, odbywało się o godzinie 6:00 w dniu operacji. Krew żylną pobierano do dwóch osobnych probówek. Próbkę

krwi żyłnej w ilości około 5 ml pobierano do probówek S-Monovette (Sarstedt, Niemcy) z żelem K2E celem oceny polimorfizmów genetycznych. Żel K2E zawiera kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA, ethylene diamine tetraacetic acid) w postaci soli dwupotasowej w stężeniu 1,6 mg EDTA/ml krwi. Oznakowane probówki przechowywano do czasu izolacji DNA w temperaturze -20°C. Celem oceny stężenia hormonów krew żylną w ilości około 5 ml pobierano natomiast do probówki z heparyną. Oznaczenia stężeń hormonów: estradiolu oraz progesteronu, a także serotoniny, wykonywano na bieżąco.

Krew pobierano na czczo, a dodatkowo na dwa dni przed operacją pacjentki pouczono, aby stosowały dietę ubogą w tryptofan, który jest substratem do produkcji serotoniny (wykluczenie z diety żółtych serów, kakao, czekolady, pestek dyni, słonecznika, sezamu, soi, siemienia lnianego, wieprzowiny, bananów). Była to zarazem dieta lekkostrawna, ubogoresztkowa, konieczna do właściwego przygotowania jelit przed zabiegiem.

3.1.1.1. Laparoscopia i histeroscopia ginekologiczna

Wszystkie pacjentki poddane zostały zabiegowi jednego typu- laparoskopii ginekologicznej połączonej z histeroskopią. Histeroscopia wykonywana była równolegle w czasie laparoskopii.

Zabieg rozpoczynano od wprowadzenia do jamy otrzewnej igły Veressa, przebijając pierścień pępkowy pacjentki. Jest to jedyny moment zabiegu, który wykonuje się bez kontroli wzroku. Następnie, za pomocą insuflatora podłączonego do igły, wprowadzano gaz (dwutlenek węgla), celem wytworzenia odmy brzusznej w ten sposób, by ciśnienie w jamie brzusznej wynosiło 12-14 mmHg [Noszczyk, 2007]. Po uzyskaniu odpowiedniego ciśnienia, insuflator zastępowano instrumentem optycznym- laparoskopem. Następnym krokiem było założenie trokarów, w celu wprowadzania przez nie narzędzi operacyjnych. Po wykonaniu odpowiednich procedur operacyjnych wyjmowano narzędzia, trokary (pod kontrolą wzroku), na końcu laparoskop. Po usunięciu gazu z jamy otrzewnej zaszywano miejsca nacięć w pępku i w miejscach trokarów. Wszystkie pacjentki, ze względu na niepłodność w wywiadzie, w czasie laparoskopii miały też sprawdzoną drożność jajowodów za pomocą chromoskopii (używano barwnika- błękitu metylenowego).

Chore włączone do niniejszej rozprawy w większości (86% pacjentek) miały wykonaną histeroskopię diagnostyczną; tylko u 14% wykonano histeroskopię operacyjną, w sytuacji stwierdzenia i konieczności usunięcia polipów, mięśniaków podśluzówkowych, zrostów czy nacięcia przegrody macicy. Jama macicy rozprężana była nie za pomocą

dwutlenku węgla, który stosuje się w laparoskopii do rozprężenia jamy otrzewnej, ale przy użyciu soli fizjologicznej.

Po założeniu wzierników i uchwyceniu szyjki macicy kulociągiem, wkładano histeroskop przez szyjkę do jamy macicy, kontrolując na ekranie monitora położenie końca histeroskopu. Oceniano kształt i wielkość jamy macicy oraz drożność ujść wewnętrznych jajowodów. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowości anatomicznych, wykonano odpowiednie procedury operacyjne.

3.1.1.2. Znieczulenie do operacji

Wszystkie pacjentki otrzymywały premedykację w postaci doustnej (midazolam w dawce 7,5 mg, podawany godzinę przed planowym zabiegiem). Z analizy wykluczono pacjentki, u których zastosowano podtlenek azotu, ze względu na jego udowodnione, silne działanie emetogenne. Do indukcji znieczulenia stosowano fentanyl, propofol oraz rokuronium. U wszystkich chorych stosowano sztuczną wentylację i intubację (wykonywano wentylację bierną, nie stosowano wentylacji czynnej ze względu na większe ryzyko PONV). Jako podtrzymanie znieczulenia wykorzystywano fentanyl, podawany co 20-30 minut, rokuronium co 30-40 minut operacji, a także sewofluran lub desfluran w należnym MAC (minimalne stężenie pęcherzykowe, ang. minimal alveolar concentration). Wybudzenie następowało w oddziale wybudzeń; ekstubacja wykonywana była po uzyskaniu powrotu wydolnej czynności mięśni oddechowych.

3.1.1.3 Kryteria wykluczenia

Kryteria wykluczenia z udziału w badaniu:

- pacjentki przyjmujące leki hormonalne (antykontracepcja hormonalna, hormonalna terapia zastępcza, preparaty progesteronu, leki indukujące owulację)- z wyjątkiem sytuacji, gdy leki te zostały odstawione na miesiąc przed badaniem,
- przyjmowanie leków psychiatrycznych, które mogą mieć wpływ na stężenie serotoniny (przede wszystkim leki przeciwdepresyjne),
- menstruacja,
- choroba lokomocyjna w wywiadzie,
- palenie papierosów,
- uczulenie na jakiegokolwiek leki przeciwbólowe i przeciwwymiotne,

- wykluczono pacjentki o dużym ryzyku operacyjnym- do badania włączono tylko pacjentki zakwalifikowane przez anestezjologów jako ASA I (z definicji pacjent bez obciążeń schorzeniami dodatkowymi, spożywający alkohol w niewielkich ilościach lub wcale, niepalący) lub ASA II- według klasyfikacji jest to pacjent z niezbyt nasiloną chorobą układową, dodatkowo do tej grupy zalicza się też osoby z BMI między 30-39,9 kg/m² [Doyle i wsp., 2017],
- do analizy włączono tylko te chore, które były operowane po raz pierwszy,
- wykluczono pacjentki, u których wykonano konwersję laparoskopii do laparotomii.

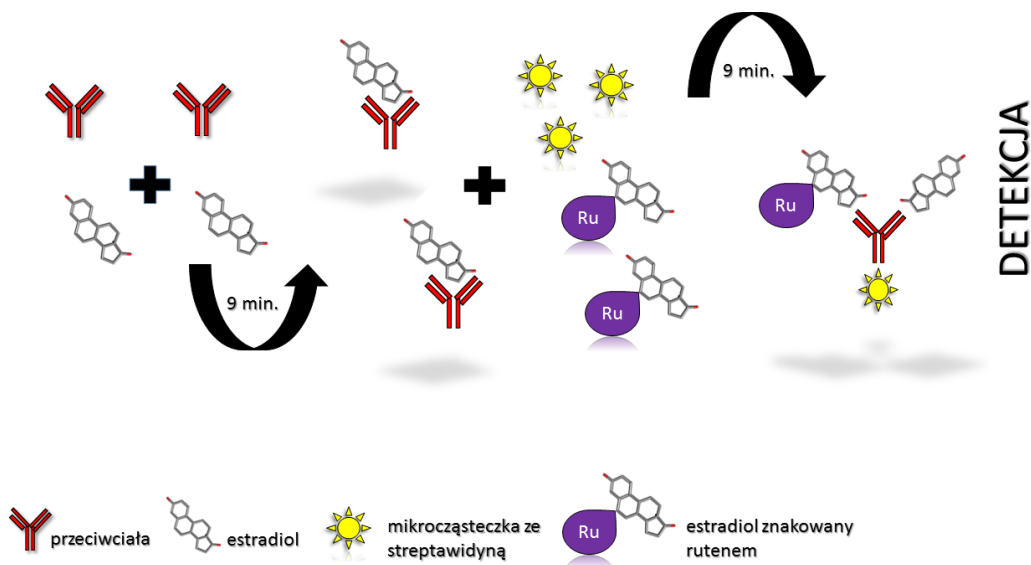
3.2. METODYKA

3.2.1. ANALIZA HORMONALNA

3.2.1.1 Oznaczenie 17-β estradiolu – test Elecsyc Estradiol III oraz progesteronu - test Elecsyc Progesterone III

Ocenę stężenia zarówno estradiolu jak i progesteronu wykonano na analizatorze COBAS e 601 firmy Roche Diagnostics (USA) w ciągu 2 godzin od pobrania krwi. Analizę wykonano w Głównym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu. Do oznaczeń wykorzystano technikę elektrochemiluminescencyjną (ECLIA). Metoda ta opiera się na zmianie napięcia na elektrodzie platynowej, co inicjuje reakcję utleniania i redukcji związków rutenu, znakujących kompleksy immunologiczne opłaszczone na cząsteczkach koloidów tlenku żelaza. Kompleks rutenu, przechodząc ze stanu wzbudzonego w stan podstawowy, imituje impuls chemiluminescencyjny, który po przekształceniu w sygnał elektryczny, stanowi podstawę do pomiaru stężenia analitu w badanej próbce.

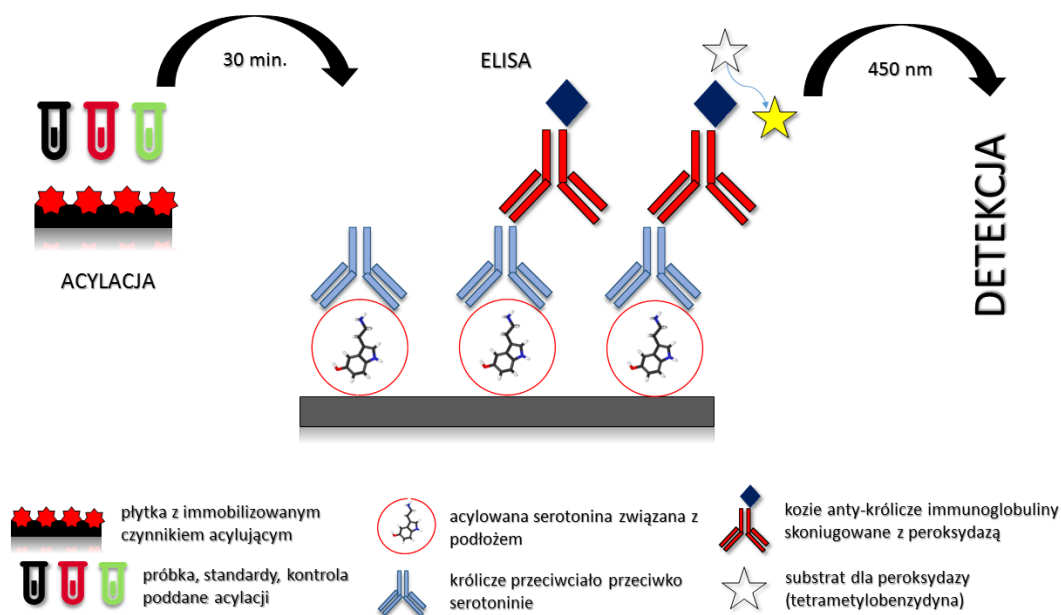
Na Rycinie 5 przedstawiono schemat oznaczania stężeń hormonów płciowych na przykładzie estradiolu.



Rycina 5. Schemat oznaczania stężenia 17- β estradiolu (materiał producenta- Roche Diagnostics, w modyfikacji własnej).

3.2.1.2. Oznaczenie serotoniny (Serotonin Research ELISA, LDN, Niemcy)

Do oznaczania stężenia serotoniny wykorzystano metodę pośrednią ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) – test immunoenzymatyczny. Służy on do wykrywania określonych białek przy użyciu przeciwciał, skoniugowanych z odpowiednim enzymem [Ebrahimi, 2004]. Płytkę opłaszczono antygenem i inkubowano z przeciwciałem pierwszorzędowym, które wiązało się z badanym białkiem (serotoniną). Powstały kompleks uwidocznił dzięki dodaniu specyficznego przeciwciała drugorzędowego, związanego z enzymem- peroksydazą. Po dodaniu odpowiedniego substratu (tetrametylobenzydyny) uzyskiwano reakcję barwną, a odczyt absorbancji produktu, warunkującej stężenie badanego analitu, następowało w spektrofotomerze przy długości wiązki 450 nm. Na Rycinie 6 przedstawiono schemat oznaczania stężenia serotoniny metodą ELISA.



Rycina 6. Schemat oznaczania stężenia serotoniny metodą ELISA (materiał producenta w modyfikacji własnej).

3.2.2. ANALIZA GENETYCZNA

3.2.2.1. Izolacja DNA oraz jakościowa i ilościowa ocena wyizolowanego DNA (QIAGEN, Hilden, Niemcy)

Oznaczenia polimorfizmów genetycznych przeprowadzane były w Pracowni Biologii Molekularnej w Klinice Perinatologii i Chorób Kobiety Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Próbki krwi obwodowej w objętości ok. 5 ml, pobrane od pacjentek włączonych do badania, zostały zmieszane z antykoagulantem- kwasem etylenodiaminotetraoctowym (EDTA, ethylene diamine tetraacetic acid) w postaci soli dwupotasowej w stężeniu 1,6 mg EDTA/ml krwi (Na_2EDTA) i zamrożone w -20°C do czasu dalszej analizy.

Po rozmrożeniu genomowe DNA z leukocytów krwi obwodowej zostało wyekstrahowane przy użyciu QIAGEN System (QIAmp DNA Blood Midi Kit; QIAGEN, Hilden, Germany), zgodnie z zaleceniami producenta. W początkowym etapie preparatyki, celem rozbicia błony komórkowej leukocytów i uwolnienia z nich DNA, wykorzystano enzym proteinazę K w ilości 20 μl oraz 200 μl buforu do lizy (AL – oznaczenie buforu nadane przez firmę). Całość poddawano następnie działaniu temperatury 56°C przez 10 minut, a później przenoszono do kolumny zawierającej żel krzemionkowy. Następnym krokiem było wirowanie materiału

z prędkością 8000 obrotów na minutę (rpm) przy użyciu wirówki Eppendorf 5804R (Niemcy). W dalszej kolejności kolumna była przenoszona do nowej probówki, a pozostały przesącz odrzucono. Dalsze działania miały na celu oczyszczenie uzyskanego DNA. Polegały na dwukrotnym przemyciu z zastosowaniem 500 µl buforów (A1 i A2- oznaczenie buforów przez firmę) oraz dwukrotnym odwirowaniu (1 minutę 8000 obrotów/min oraz 3 minuty 14000 obrotów/min). Kolejną czynnością było nałożenie na kolumnę 200 µl buforu do elucji (bufor AE), który po upływie 5 minut wirowano (1 minutę 8000 obrotów/min). Dzięki tym zabiegom otrzymywano oczyszczone DNA, służące do dalszej analizy genetycznej.

Kolejną procedurą, przed przystąpieniem do analizy genetycznej, była weryfikacja jakości i stężenia otrzymanego DNA. W tym celu zastosowano metodę spektrofotometryczną oraz elektroforezę na żelu agarozowym. Analizę przeprowadzono używając spektrofotometru BioPhotometr firmy Eppendorf. Stężenie DNA oceniano, mierząc jego absorbancję przy długości fali 260 nm i przyjmując, że stężenie wynosi 50 µg/ml jeśli absorbancja A260 wynosi 1 [Słomski i wsp., 2008]. W ten sposób można obliczyć stężenie DNA korzystając ze wzoru:

$$\text{Stężenie DNA} = \text{absorbancja przy 260 nm} \times \text{rozcieńczenie} \times 50$$

Do weryfikacji jakości otrzymanego DNA wykorzystano również elektroforezę, przeprowadzając ją na żelach agarozowych w stężeniach 0,8%, używając przyłożonego napięcia do elektrod 120V przez 3 godziny. DNA prawidłowo powinno być widoczne w postaci pojedynczego prążka.

3.2.2.2. Reakcja łańcuchowej polimerazy i polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych

Reakcja łańcuchowej polimerazy i polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych PCR/RFLP (polymerase chain reaction/ restriction fragments length polymorphism), polega na powieleniu fragmentu DNA, w obrębie którego występuje miejsce wiążące enzym restrykcyjny (tzw. miejsce restrykcyjne), a następnie produkt reakcji poddaje się działaniu odpowiedniego enzymu. Na skutek tego działania powstają krótsze odcinki DNA, które następnie można rozdzielić na żelu agarozowym za pomocą elektroforezy. Celem reakcji jest odszukanie polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP – single nucleotide polymorphism)- mutacji punktowych.

Do przeprowadzenia każdej reakcji PCR potrzebne były odpowiednie składniki: nić DNA (matryca), startery (użyte startery zaprojektowane były przy użyciu programu Primer3) [Rozen i wsp., 2000], termostabilna polimeraza Taq- odpowiedzialna za syntezę komplementarnego łańcucha DNA, trójfosforany wszystkich czterech deoksyrybonukleozydów (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), będące substratami dla polimerazy oraz odpowiednie środowisko reakcji- sterylna woda, bufor, jony magnezu w postaci $MgCl_2$ - wpływające na wydajność reakcji PCR.

Probówki wraz z zawartością umieszczano w termocyklerze Dyad DNA Engine (BioRad, Stany Zjednoczone), a reakcję PCR przeprowadzano w około 30-35 powtarzających się cyklach, na które składały się trzy etapy:

- Etap pierwszy - denaturacja

Poprzez poddanie helisy DNA działaniu temperatury 94-98°C; na tym etapie dochodziło do przerwania wiązań wodorowych. Efektem było powstanie dwóch pojedynczych nici, które w późniejszym etapie ulegały amplifikacji- stanowiły one wzór do syntezy wybranych fragmentów zawierających badane geny.

Etap drugi - przyłączanie starterów (annealing)

Reakcja ta zachodziła w temperaturze niższej niż denaturacja, swoistej dla danych starterów (około 40-65°C). Trwała ok. 20-40 sekund, a w tym czasie dochodziło do związania starterów do komplementarnych odcinków matrycy DNA, początkowym i końcowym, wyznaczającymi dany fragment, ulegający powieleniu.

Etap trzeci - wydłużanie starterów (elongacja)

Temperatura reakcji na tym etapie była uzależniona od właściwości danej polimerazy- zapewniając optymalną wydajność procesu- zwykle 72°C. Etap ten trwał około 30 sekund. Do tworzenia nowych odcinków wykorzystywane były dezoksynukleotydy z mieszaniny.

Uzyskane po tym etapie pracy fragmenty, zawierające dany polimorfizm badanego genu, zostały poddane działaniu enzymów restrykcyjnych. Każdy enzym restrykcyjny przecina wiązania diestrowe łańcucha DNA w swoistym dla siebie miejscu. Na skutek tego procesu powstały krótkie odcinki łańcucha DNA, tzw. fragmenty restrykcyjne. Odcinki te rozdzielano następnie za pomocą elektroforezy. Po dodaniu buforu obciążającego nakładano próbki na 2-3% żel agarozowy (TiBMolBiol, Polska). Uzyskane wyniki udokumentowano za pomocą systemu UVI – KS4000/Image PC (Syngen Biotech, USA).

Wybarwienie bromkiem etydyny i wizualizacja w świetle UV pozwoliła na uwidocznienie otrzymanych fragmentów w postaci prążków. Zmiana nawet pojedynczego nukleotydu w sekwencji DNA (polimorfizm) powodowała, że dany enzym restrykcyjny nie dokonał

hydrolizy w specyficznym dla siebie miejscu i w dwóch porównywanych próbkach DNA powstawały odcinki o różnej długości. W takich przypadkach stwierdzano polimorfizm otrzymanych fragmentów DNA. Badanie to umożliwiło określenie genotypu pacjentek pod względem badanych genów receptorów hormonalnych: estrogenowego, progesteronowych oraz serotoninowych. Tabele: 1,2,3,4,5 i 6 zawierają zbiorczo przedstawione odpowiednio: charakterystykę badanych polimorfizmów, startery użyte do reakcji PCR, skład mieszanin reakcyjnych a także warunki dla poszczególnych etapów reakcji PCR, skład mieszanin do hydrolizy poszczególnymi enzymami restrykcyjnymi, wielkości fragmentów po reakcji hydrolizy oraz zastosowane enzymy restrykcyjne dla wszystkich badanych polimorfizmów.

Tabela 1. Charakterystyka badanych polimorfizmów.

Gen	Pozycja genu na chromosomie	Nazwa zwyczajowa	Nr w bazie danych NCBI (dbSNP)
PGR	11q22.1	+331G/A	rs10895068
		Ins/del (PROGINS)	rs1042838
ESR1	6q25.1-q25.2	-397T>C	rs2234693
HTR3A	11q23.2	14396A > G	rs1176713
HTR3B	11q23.2	386A > C	rs1176744
		-	rs11214763
		696 + 3792G > A	rs3782025
		697-971G > A	rs1672717
HTR2A	13q14.2	102T>C	rs6313
HTR1B	6q14.1	861G>C	rs6296
HTR2C	Xq23	-	rs6318

Tabela 2. Charakterystyka starterów stosowanych do amplifikacji badanych genów.

Polimorfizm	Sekwencja starterów	Długość produktu PCR	Temp. przyłączenia startera
PRG +331G/A	F 5'-CAC TAC TGG GAT CTG AGA TC-3'; R 5'-CAC AAG TCC GGC ACT TGA GT-3'	262 pz	60°C
PROGINS ins/del	F 5'-GGCAGAAAGCAAAATAAAAAGA-3' R 5'-AAAGTATTTTCTTGCTAAATGTC-3'	allel T1 wielkości 149 pz, allel T2 (polimorficzny): 455 pz.	51°C
ESR1(rs2234693) -351A>G	F 5'-CTGCCACCTATCTGTATCTTTTC CTATTCTCC-3' R 5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCG ATTATCTGA-3'	619 pz	63°C
5HTR3A (rs1176713)	R 5'-GGTCTCCCTCTCTTGCCAAT-3' F 5'-GGGCCTAAGCAGAAATCCTC-3'	594 pz	66°C
5HTR2A (rs6313)	F 5'-CAAGGTGAATGGTGAGCAGA-3' R 5'-ATGACAAGGAAACCCAGCAG-3'	458 pz	63°C
5HTR1B(rs6296)	F 5'-GTGTGGGTCTTCTCCATCTCTA-3' R 5'-GCAGGCATCTTGCAGATAG-3'	516 pz	60°C
5HTR2C (rs6318)	F 5'-AGCAGTTGTTTGCATGAGC-3' R 5'-CCATAAAGGATTGCCAGGAG-3'	397 pz	57°C
5HTR3B (rs11214763)	R 5'-AGGCAGATGTTGGAAATGGTAT-3' F 5'-GACAGTGGTTCTTGGGCTCTT-3'	410 pz	60°C
5HTR3B (rs1672717)	R 5'-TTTACTTACCACTTGCTGTGTGC-3' F 5'-GCCGTCTTCAAACCTCCAAA-3'	767 pz	60°C
5HTR3B (rs3782025)	R 5'-GCAAACTGCCCTACCTACA-3', F 5'-TAATCCAGAGCGACCCATAGTC-3'	522 pz	61°C
5HTR3B (rs1176744)	R 5'-GCATCATACTTGGTCTGGATTACA- 3' F 5'-GTTGCTCATTCTTCTCAA-3'	679 pz	60°C

Tabela 3. Skład mieszanin reakcyjnych.

Polimorfizm	DNA [μ L]	Woda sterylna [μ L]	Bufor 10 x stężony	MgCl ₂ 25mM	dNTP 2,5 mM	Starter F 50 pmol/ μ L	Starter R 50 pmol/ μ L	Polimeraza DNA 5U/ μ L	Suma
PRG +331G/A	2	16,4	2,5	1,5	2	0,2	0,2	0,2	25
PROGINS ins/del	2	16,4	2,5	1,5	2	0,2	0,2	0,2	25
ESR1 (rs2234693)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR3A (rs1176713)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR3B (rs1176744)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR2A (rs6313)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR1B (rs6296)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR2C (rs6318)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR3B (rs11214763)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR3B (rs1672717)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20
5HTR3B (rs3782025)	1,5	14	2	1,2	0,5	0,1	0,1	0,6	20

Tabela 4. Warunki dla poszczególnych etapów reakcji PCR.

Polimorfizm	Denaturacja wstępna		Denaturacja właściwa		Wiązanie starterów		Synteza		Synteza końcowa		Ilość cykli
	Temp (°C)	Czas (min)	Temp (°C)	Czas (min)	Temp (°C)	Czas (min)	Temp (°C)	Czas (min)	Temp (°C)	Czas (min)	
PRG +331G/A	95	3	95	0,5	60	0,5	72	1	72	10	35
PROGINS ins/del	95	1	95	0,5	51	0,5	72	1	72	5	30
ESR1 (rs2234693)	94	3	94	0,5	63	0,5	72	1	72	5	35
5HTR3A (rs1176713)	94	3	94	0,5	66	0,5	72	1	72	5	35
5HTR3B (rs1176744)	94	3	94	0,5	60	0,5	72	1	72	5	35
5HTR2A (rs6313)	94	3	94	0,5	62	0,5	72	1	72	5	35
5HTR1B (rs6296)	94	3	94	0,5	60	0,5	72	1	72	5	35
5HTR2C (rs6318)	94	3	94	0,5	57	0,5	72	1	72	5	35
5HTR3B (rs11214763)	94	3	94	0,5	60	0,5	72	1	72	5	35
5HTR3B (rs1672717)	94	3	94	0,5	60	0,5	72	1	72	5	35
5HTR3B (rs3782025)	94	3	94	0,5	61	0,5	72	1	72	5	35

Wszystkie reakcje PCR przeprowadzono używając termocyklera Dyad DNA Engine (BioRad, Stany Zjednoczone)

Tabela 5. Składy mieszanin do hydrolizy produktu PCR enzymami restrykcyjnymi.

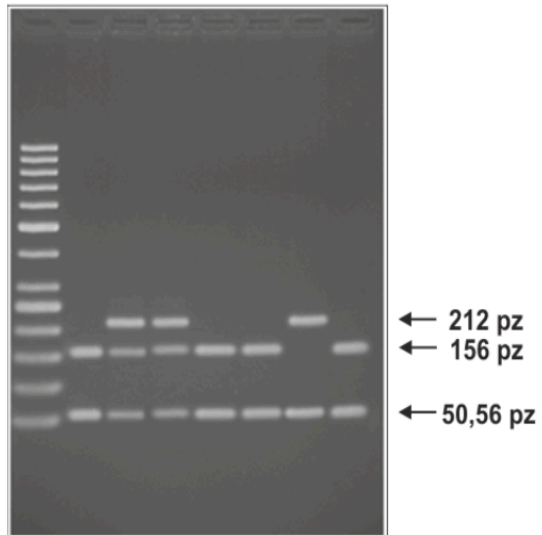
Polimorfizm	Woda sterylna	Bufor 10x	Enzym restrykcyjny		Produkt PCR	Suma	Czas i temperatura hydrolizy	Inaktywacja enzymu
			Stężenie wyjściowe	Objętość na 1 próbkę (μl)				
	(μl)	(μl)			(μl)	(μl)	(°C/godz)	65°C
PRG +331G/A	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
PROGINS ins/del	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
ESR1 (rs2234693)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR3A (rs1176713)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	26°C/16 godzin	65°C
5HTR3B (rs1176744)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR2A (rs6313)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR1B (rs6296)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR2C (rs6318)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	55°C/16 godzin	80°C
5HTR3B (rs11214763)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR3B (rs1672717)	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C
5HTR3B rs3782025	2,5	2,5	10μ/μl	1	19	25	37°C/16 godzin	65°C

Inkubacja mieszanin w cieplarni (Memmert, Niemcy)

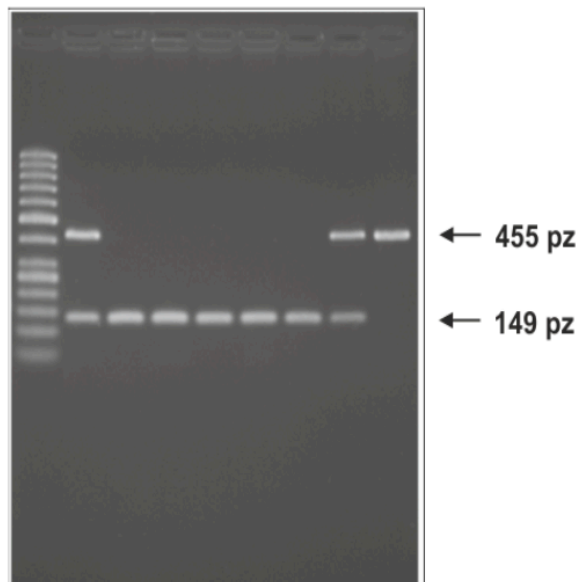
Tabela 6. Wielkości fragmentów po hydrolizie oraz zastosowane enzymy restrykcyjne.

Polimorfizm	Enzym restrykcyjny	Rozpoznawana sekwencja	Wielkość produktu PCR	Wielkość fragmentów po hydrolizie
PRG +331G/A	<i>BspLI</i>	5'-CC [^] GG-3' 3'-GG [^] CC-5'	262 pz	GG: 156, 56, 50 pz, AA 212, 50 pz, GA: 212, 156, 56, 50 pz.
PROGINS ins/del	-	-	allel T1 wielkości 149 pz, allel T2 (polimorficzny): 455 pz.	-
ESR1 (rs2234693)	<i>PvuII</i>	5'-CAG [^] CTG-3' 3'-GTC [^] GAC-5'	1374 pz	CC: 619, TC: 619 +343 + 276, TT: 343 + 276
5HTR3A (rs1176713)	<i>FspBI</i>	5'-C [^] TAG-3' 3'-GAT [^] C-5'	594 pz	TT:225+369, CT:225+369+594, CC:594
5HTR3B (rs1176744)	<i>MboI</i>	5'- [^] GATC-3' 3'-CTAG-5'	679 pz	GT: 583+320+263+96, TT: 583+96, GG-320+263+ 96
5HTR2A (rs6313)	<i>MspI</i>	5'-C [^] CGG-3' 3'-GGC [^] -5'	458 pz	CC: 282 + 176, CT: 457 + 282 + 176, TT: 458
5HTR1B (rs6296)	<i>HindII</i>	5'-GTY [^] RAC-3' 3'-CAR [^] YTG-5'	516 pz	GG: 516, GC: 516 + 345 + 171, CC: 345 + 171
5HTR2C (rs6318)	<i>BsrDI</i>	5'-GCAATGNN [^] -3' 3'-CGTTAC [^] NN-5'	397 pz	GG: 225 +115 + 57, GC: 340 + 225 + 115 + 57, CC: 340 +57
5HTR3B (rs11214763)	<i>NsiI</i>	5'-ATGCA [^] T-3' 3'-T [^] ACGTA-5'	410 pz	GG:317+93, GA: 317+286+93+31, AA: 286 +93+31
5HTR3B (rs1672717)	<i>HpaII</i>	5'-C [^] CGG-3' 3'-GGC [^] C-5'	767 pz	CT: 411+356+310+46, CC: 411+ 310+46, TT: 411+356
5HTR3B (rs3782025)	HaeIII	5'-GG [^] CC-3' 3'-CC [^] GG-5'	622 pz	CT: 522+277+245, CC: 277+245, TT:522

Na Rycinie 7 przedstawiono przykładowy wynik badania po hydrolizie restrykcyjnej enzymem BspLI (ocena polimorfizmu +331G/A receptora PRG) natomiast na Rycinie 8 przedstawiono przykładowy wynik badania po reakcji PCR (ocena polimorfizmu PROGINs ins/del receptora PGR).



Rycina 7. Przykładowy wynik badania po hydrolizie restrykcyjnej enzymem BspLI.



Rycina 8. Przykładowy wynik badania po reakcji PCR.

3.2.3. ANALIZA STATYSTYCZNA

Dla statystycznego porównania analizowanych cech (parametrów medycznych) użyto zarówno metod parametrycznych jak i nieparametrycznych. Metody parametryczne dotyczyły tych z badanych cech, które miały charakter ciągły. Dla wybranych cech jakościowych, obserwowanych w różnych skalach, po uśrednieniu cechy te zostały potraktowane także jako ciągłe. Z kolei wybrane cechy ciągłe, ze względu na ich bardzo dużą wariancję (zmiennosc), celem wychwycenia ich wpływu na badane cechy subiektywne, analizowane były w postaciach zagregowanych. Dla tych porównań użyto testu t- Studenta, lub jego zmodyfikowanej przez Welcha wersji, w przypadku stwierdzonych istotnie różnych wariancji, poprzedzonego wcześniejszym testem zgodności z rozkładem normalnym dla badanych cech. Dla cech nieciągłych w porównaniach posłużono się testem chi-kwadrat (tablice kontyngencji) oraz testem U Manna-Whitneya (faktycznie porównującym mediany). Obliczenia przeprowadzono przy pomocy pakietu Statistica 13.1.

3.2.3.1. Statystyczna agregacja danych- opis metody

Aby ocenić dolegliwości pacjentek (zarówno PONV jak i ból pooperacyjny), wykonano statystyczną agregację danych. Dzięki takiej metodzie przedstawienia danych, możemy ocenić nasilenie występowania poszczególnych dolegliwości przez cały okres pooperacyjny, na podstawie punktowych ocen pacjentek w poszczególnych godzinach po zabiegu. Daje to informację, jak pacjentka czuła się przez cały pobyt w szpitalu po operacji i jest z pewnością bardziej wartościową, obiektywną oceną. Jak już wspomniano, ból oceniany był w skali od 0 do 10 punktów (0- brak bólu, 10- największy możliwy do wyobrażenia ból). Nudności i wymioty oceniane były z kolei jako na poziomie (w skali): 0, 1, 2. Dodatkowo pacjentki oceniały też przez jaki czas (w godzinach) odczuwały nudności w ciągu tej dwudziestoczerogodzinnej obserwacji. Dzięki przekształceniu danych punktowych jako dane standaryzowane możliwa była agregacja danych (sumowanie). W jej efekcie zarówno punkty, za pomocą których pacjentki oceniły swój stan (0,1,2) jak i czas dolegliwości w godzinach oceniane były łącznie.

Aby dokonać agregacji danych, najpierw obliczono średnią przyznawanych punktów w konkretnej godzinie (wraz z odchyleniem standardowym). Następnie od oceny każdej pacjentki odjęto średnią i wynik podzielono przez odchylenie standardowe. Standaryzowane dane są ujemne lub dodatnie- im wynik niższy, tym pacjentka na tle grupy odczuwała

mniejsze dolegliwości, im wyższy- większe. Wyniki zbliżone do zera (po standaryzacji) oznaczały dolegliwości bliskie średniej oceny wszystkich badanych pacjentek. Oszacowanie średniego w grupie nasilenia dolegliwości dla każdej z pacjentek w całym okresie pooperacyjnym zrealizowane były poprzez uśrednione sumowanie zestandaryzowanych danych (ocen) z każdej ocenianej godziny. Poniżej przedstawiono wzór, w jaki sposób obliczono cechy standaryzowane i zagregowane.

$$\text{Cecha standaryzowana} = \frac{\text{cecha mierzona} - \text{średnia}}{\text{odchylenie standardowe}}$$

$$\text{Cecha zagregowana} = \frac{\text{cecha standaryzowana}_1 + \text{cecha standaryzowana}_2 + \dots}{\text{ilość ocenianianych cech}} \quad [\text{średnia}]$$

Pacjentki, których wynik oceny bólu lub nudności po agregacji był ujemny, odczuwały mniej tych dolegliwości na tle grupy (przydzielono je do grupy „ból mały” lub „nudności małe”), a pacjentki, których wynik oceny bólu i nudności po agregacji był wartością dodatnią, odczuwały tych dolegliwości więcej (przydzielono je do grupy „ból duży” lub „nudności duże”). Należy mieć na uwadze, że agregacja wystandaryzowanych danych (ocen) jest metodą, która pozwala na ocenę natężenia dolegliwości u pojedynczej osoby w porównaniu do reszty osób z badanej grupy. W Tabeli 7 przedstawiono sposób przedstawienia danych jako cechy standaryzowane i zagregowane. Są to wartości ocen poszczególnych pacjentek z ankiety (cechy mierzone), oceny po standaryzacji oraz wyniki po agregacji danych.

Tabela 7. Standaryzacja i agregacja danych- przykład na podstawie oceny bólu przez wybrane losowo pacjentki.

Pacjentka	CECHY MIERZONE			CECHY STANDARYZOWANE			AGREGACJA-
	ból 6 godz.	ból 12 godz	ból 24 godz	ból 6 godz	ból 12 godz.	ból 24 godz	uśrednienie standaryzowanych danych
1	0	0	0	-1,562	-1,673	-1,396	-1,561
2	0	0	0	-1,562	-1,673	-1,396	-1,561
3	0	0	2	-1,562	-1,673	-0,577	-1,288
4	0	0	0	-1,562	-1,673	-1,396	-1,286
5	1	0	0	-1,374	-1,673	-1,396	-1,148
6	1	1	1	-1,374	-1,225	-0,986	-1,137
7	2	1	1	-1,152	-1,225	-0,986	-1,137

123	4	4	2	-0,009	0,12	-0,577	-0,003
124	4	4	2	-0,009	0,12	-0,577	-0,003
125	4	4	2	-0,009	0,12	-0,577	-0,003
126	5	4	0	0,124	0,12	-1,396	-0,001
127	6	5	5	0,366	0,568	0,651	0,006
128	6	5	3	0,366	0,568	-0,168	0,008
129	6	5	3	0,366	0,568	-0,168	0,008
130	6	6	0	0,366	1,016	-1,396	0,023

278	9	9	6	2,26	2,36	1,06	1,839
279	9	10	8	2,26	2,808	1,879	2,399
280	9	10	8	2,26	2,808	1,879	2,399
281	10	10	10	2,587	2,808	2,697	2,672
282	10	10	10	2,587	2,808	2,697	2,672
Średnia	3,85	3,73	3,41				
Odch. std	2,31	2,23	2,44				

4. WYNIKI

4.1. Charakterystyka danych klinicznych analizowanych pacjentek

Do badań zakwalifikowano 300 pacjentek rasy kaukaskiej. Średnia wieku wynosiła 32,5 \pm 5 lat, mediana 28 lat (najmłodsza pacjentka miała 18 lat, najstarsza 40 lat). BMI pacjentek wynosiło średnio 23,3 \pm 4,1 kg/m², mediana 22,4 kg/m² (u pacjentki z najwyższym BMI wskaźnik ten wynosił 42,4 kg/m², u pacjentki z najniższym BMI-16 kg/m²). Wszystkie pacjentki uczestniczące w badaniu miały regularne cykle miesięczne. Jako cykle regularne, zgodnie z przyjętym powszechnie normami, przyjęto cykle trwające 28 \pm 5 dni. [Bręborowicz GH i wsp., 2010]. Jedna trzecia pacjentek operowana była w lutealnej fazie cyklu miesięcznego (100 pacjentek), a dwie trzecie (200 kobiet) miała wykonany zabieg w fazie folikularnej. Średnie stężenie progesteronu w fazie folikularnej wynosiło 0,70 \pm 0,34 ng/ml, natomiast w fazie lutealnej 5,62 \pm 3,46 ng/ml (p<0,05). W przypadku estradiolu stężenia te wynosiły 122,55 \pm 92,62 pg/ml i 145,87 \pm 105,40 pg/ml, odpowiednio w fazie folikularnej i lutealnej (p>0,05). Jedna trzecia (98 pacjentek) była wcześniej w ciąży (kobiety z niepłodnością wtórną), które stanowiły 32,6% wszystkich badanych. Z niepłodnością pierwotną do badania włączono 202 kobiety (67,4%).

Każda pacjentka została poddana histero-laparoskopii ginekologicznej. Niepłodność występowała u każdej pacjentki, u części kobiet podejrzewano lub rozpoznano również przed zabiegiem: zespół policystycznych jajników (PCOS), niedrożność jajowodów, endometriozę, torbiele jajników, mięśniaki macicy. Niepłodność idiopatyczna stwierdzona była u 61 pacjentek (20,3%). Czas trwania operacji wynosił średnio 47,5 \pm 29,5 minuty, mediana 40 minut (najkrótszy zabieg trwał 15 minut, najdłuższy 190 minut). Tabela 8 przedstawia charakterystykę pacjentek zakwalifikowanych do badania.

Tabela 8. Charakterystyka pacjentek włączonych do badania.

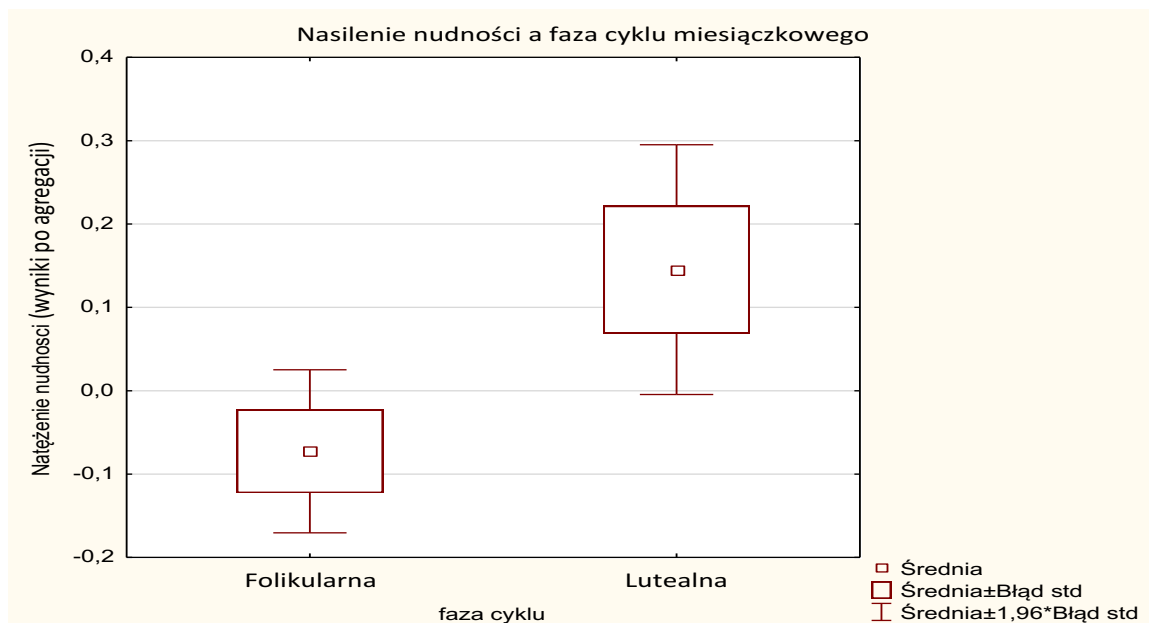
Charakterystyka	Liczba pacjentek
- podejrzenie endometriozy	60
- PCOS	37
- podejrzenie niedrożności jajowodów	53
- torbiel jajnika	47
- niepłodność idiopatyczna	61
- mięśniaki	42
Operacja w fazie cyklu:	

- lutealnej	100
- folikularnej	200
Wywiad położniczy:	
• Uprzednia ciąża	
-tak	98
-nie	202
• Zakończona poronieniem	
-tak	48
-nie	252
• Zakończona porodem	
-tak	61
-nie	239

4.2. Zależność nudności i wymiotów pooperacyjnych (PONV) od analizowanych czynników

Ponad połowa operowanych kobiet (179 pacjentek, co stanowiło 59,7% grupy), zgłaszała nieznaczne dolegliwości w zakresie PONV. Zgodnie z przyjętą metodyką, były to pacjentki, których wynik oceny nudności po agregacji był ujemny, odczuwały więc mniej tych dolegliwości na tle całej grupy (przydzielono je do grupy z małym poziomem nudności- w odniesieniu do wszystkich analizowanych kobiet). Natomiast u 121 pacjentek, które stanowiły 40,3% wszystkich chorych, pojawiały się bardziej nasilone nudności z towarzyszącymi wymiotami lub bez wymiotów (były to pacjentki, których wynik oceny nudności po agregacji był wartością dodatnią, a więc odczuwały te dolegliwości w większym natężeniu- przydzielono je do grupy z dużym poziomem nudności).

Wykazano istotnie statystyczną różnicę w zakresie natężenia nudności i wymiotów pooperacyjnych od fazy cyklu miesięczkowego, w którym przeprowadzono zabieg. W grupie kobiet operowanych w fazie folikularnej, na 200 pacjentek tylko 69 osób zgłaszało nasilone dolegliwości (34,5%). Z kolei w grupie pacjentek operowanych w fazie lutealnej, natężenie PONV było większe ($p=0,0036$). Wśród 100 pacjentek operowanych w tej fazie, ponad połowę (52%) zakwalifikowano do grupy ze znacznie nasilonymi dolegliwościami w zakresie PONV (na tle całej grupy zgłaszały ich więcej od średniej). Na Wykresie 1 przedstawiono nasilenie dolegliwości w zależności od fazy cyklu, w której miała miejsce operacja.



Wykres 1. Nasilenie nudności i wymiotów w zależności od fazy cyklu.

Nasilenie nudności przedstawiono w postaci wartości zagregowanych (bezzjednostkowych).
 $p=0,0036$

Nie wykazano natomiast różnicy między stężeniami hormonów płciowych oraz serotoniny na nasilenie PONV. Stężenie estradiolu w grupie z niewielkimi dolegliwościami wynosiło $113,5 \pm 84,8$ pg/ml, a w grupie, dla której te dolegliwości były bardziej uciążliwe, wynosiło $127,5 \pm 88,2$ pg/ml ($p=0,173$). W przypadku progesteronu, stężenie tego hormonu w grupach wynosiło odpowiednio $3,3 \pm 6,2$ ng/ml vs $4,0 \pm 4,8$ ng/ml ($p=0,304$), natomiast średnie stężenie serotoniny to $183,5 \pm 138,4$ ng/ml oraz $175,6 \pm 132,1$ ng/ml ($p=0,618$). Nie wykazano też istotnych zależności pomiędzy stężeniami poszczególnych hormonów względem siebie- zarówno między estradiolem i serotoniną, progesteronem a serotoniną oraz estradiolem i progesteronem. Współczynnik korelacji Pearsona dla hormonów estradiol/progesteron wynosił 0,065, dla hormonów serotonina/estradiol -0,003, a dla hormonów serotonina/progesteron 0,016.

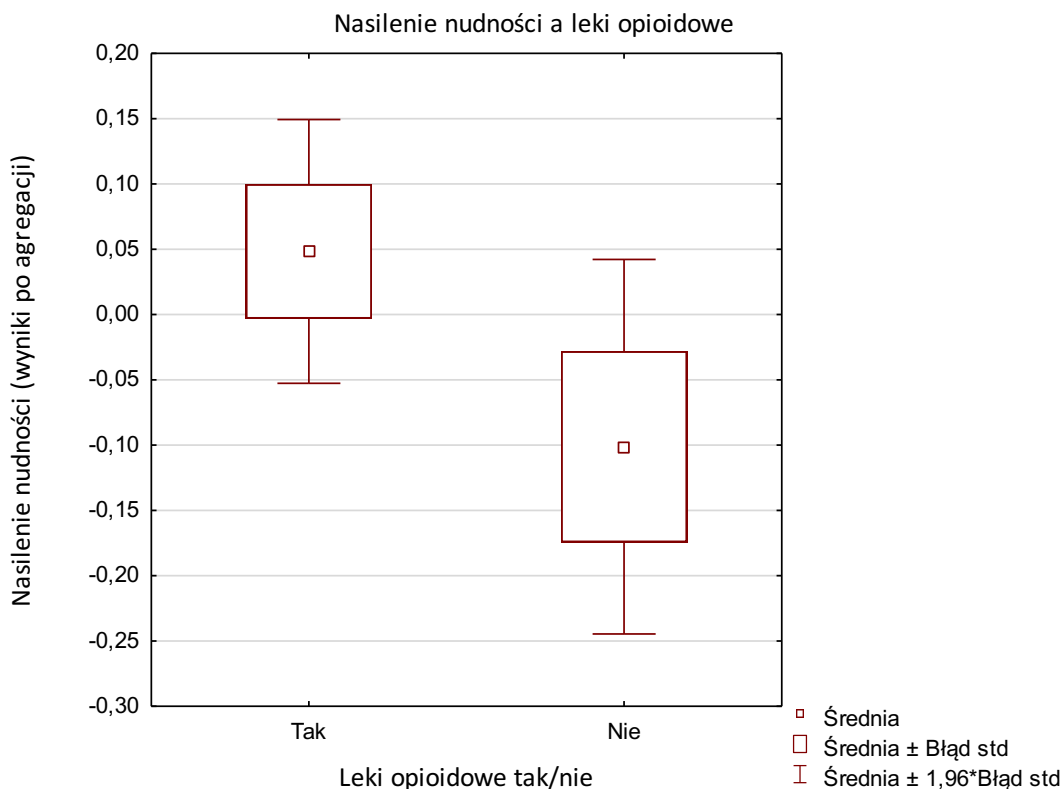
Nie zaobserwowano również wpływu wieku na nasilenie objawów. Wiek pacjentek, których dolegliwości były niewielkie, wynosił $32,1 \pm 5,2$ lata, a w grupie zgłaszającej znaczne dolegliwości $33,0 \pm 4,4$ lata ($p=0,097$). Również czas trwania operacji nie miał wpływu na nasilenie PONV. Grupa kobiet, która nie zgłaszała silnych wymiotów i nudności, operowana była średnio $48,6 \pm 31$ minut, a pacjentki, dla których te dolegliwości były bardziej dokuczliwe, operowane były $45,8 \pm 27,3$ minuty ($p=0,424$).

Wykazano natomiast istotną statystycznie różnicę w odczuwaniu nudności i wymiotów pooperacyjnych w zależności od BMI pacjentek. Pacjentki, które odczuwały ich więcej, miały niższy wskaźnik BMI wobec pacjentek, dla których PONV nie były tak dokuczliwe ($23,7 \pm 4,1 \text{ kg/m}^2$ vs $22,7 \pm 4,0 \text{ kg/m}^2$, $p=0,031$). Tabela 9 zawiera zbiorczo zebrane wyniki pacjentek, dotyczące wpływu wyżej wymienionych czynników na PONV, przedstawione jako podział na dwie grupy (poziom nudności mały i duży).

Tabela 9. Zależność wpływu wybranych czynników na nudności i wymioty pooperacyjne (PONV).

Poziom nudności		Wiek (lata)	Czas trwania (min)	Estradiol (pg/ml)	Progesteron (ng/ml)	Serotonina (ng/ml)	BMI
MAŁY (n=179)	średnia	32,1	48,6	113,5	3,3	183,5	23,7
	Odch. stand	5,2	31,0	84,8	6,2	138,4	4,1
DUŻY (n=121)	średnia	33,0	45,8	127,5	4,0	175,6	22,7
	Odch. stand	4,4	27,3	88,2	4,8	132,1	4,0
	p	0,097	0,424	0,173	0,304	0,618	0,031

W związku z faktem, iż same leki z grupy opioidowych leków przeciwbólowych mają działanie emetogenne, zostało sprawdzone, czy w przypadku pacjentek zakwalifikowanych do badania nie zaszła taka zależność. Nie stwierdzono jednak zależności pomiędzy podaniem leków przeciwbólowych (morfiny i tramadolu) a nasileniem nudności i wymiotów pooperacyjnych (PONV). Wśród pacjentek, które zgłaszały nieznaczne dolegliwości, 115 (64%) otrzymało opioid, a wśród pacjentek, które skarżyły się na duże nasilenie PONV, 88 (72%) otrzymała wcześniej lek opioidowy. Różnica nie była jednak istotna statystycznie ($p=0,1234$). Wykres 2 przedstawia zależność nasilenia PONV od podania leków opioidowych.



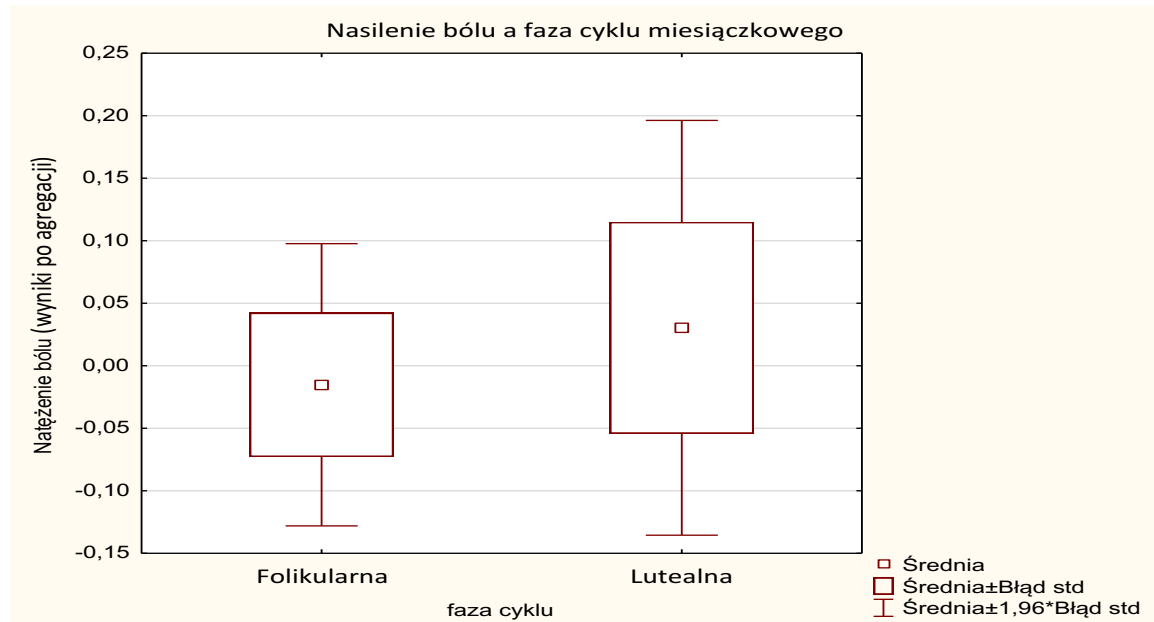
Wykres 2. Wpływ leków opioidowych na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Nasilenie nudności przedstawiono w postaci wartości zagregowanych (bezzjednostkowych). tak- lek podano, nie- leku nie podano, $p=0,1234$

4.3. Zależność bólu pooperacyjnego od analizowanych czynników

Nasilenie dolegliwości bólowych podzieliło badane pacjentki na dwie, prawie równe pod względem liczebności grupy. Nieco ponad połowa (156 pacjentek, co stanowiło 52% grupy), zgłaszała nieznaczne dolegliwości w zakresie bólu pooperacyjnego. Zgodnie z przyjętą metodyką, były to pacjentki, których wynik oceny bólu po agregacji był ujemny, odczuwały więc mniej tych dolegliwości na tle całej grupy (przydzielono je do grupy z małym poziomem bólu). Natomiast 144 pacjentki, które stanowiły 48% grupy, zgłaszały silne dolegliwości bólowe (pacjentki, których wynik oceny bólu po agregacji był wartością dodatnią, a więc odczuwały tych dolegliwości więcej (przydzielono je do grupy z dużym poziomem bólu).

W przeciwieństwie do PONV, nie wykazano wpływu fazy cyklu miesięczkowego, w której przeprowadzano zabieg, na nasilenie bólu pooperacyjnego. Wśród chorych operowanych w fazie folikularnej, na znaczne dolegliwości skarżyło się 95 pacjentek

(47,5%), a wśród 100 pacjentek operowanych w fazie lutealnej, prawie połowa (49%) zgłaszała znaczny ból pooperacyjny, ($p=0,8063$). Na Wykresie 3 przedstawiono nasilenie dolegliwości bólowych w zależności od fazy cyklu, w której miała miejsce operacja.



Wykres 3. Nasilenie bólu pooperacyjnego w zależności od fazy cyklu.

Nasilenie bólu przedstawiono w postaci wartości zagregowanych (bezejednostkowych).

$p=0,8063$

Nie zaobserwowano również żadnych zależności między natężeniem bólu a wiekiem pacjentek, ich BMI, długością trwania operacji oraz stężeniami hormonów płciowych i serotoniny w surowicy krwi. Stężenie estradiolu w grupie z małym poziomem bólu wynosiło $122,9 \pm 90,3$ pg/ml, a w grupie, dla której te dolegliwości były bardziej uciążliwe, wynosiło $115,1 \pm 82,0$ pg/ml ($p=0,436$). W przypadku progesteronu, stężenia tego hormonu w grupach wynosiło odpowiednio $3,3 \pm 4,0$ ng/ml vs $3,9 \pm 7,1$ ng/ml ($p=0,330$), natomiast średnie stężenia serotoniny to $170,2 \pm 112,6$ ng/ml w grupie z małym poziomem bólu oraz $191,4 \pm 156,7$ ng/ml w grupie z dużym poziomem bólu ($p=0,182$). Wiek pacjentek, których dolegliwości były niewielkie, wynosił $32,3 \pm 4,5$ lata, a w grupie zgłaszającej znaczne dolegliwości $32,7 \pm 5,3$ lata ($p=0,569$). Również czas trwania operacji nie miał wpływu na nasilenie PONV. Grupa kobiet, która nie zgłaszała silnego bólu, operowana była średnio $45,2 \pm 27,2$ minut, a pacjentki, dla których te dolegliwości były bardziej dokuczliwe, operowane były $49,9 \pm 31,8$ minut ($p=0,569$).

W przeciwieństwie do nasilenia nudności i wymiotów pooperacyjnych, nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie odczuwania bólu w zależności od BMI pacjentek. Pacjentki, które odczuwały większy ból, miały BMI wynoszące średnio $23,4 \pm 4,0 \text{ kg/m}^2$, a pacjentki, które zgłaszały ból mniejszy- $23,2 \pm 4,1 \text{ kg/m}^2$, ($p=0,639$). Tabela 10 zawiera zbiorczo zebrane wyniki pacjentek, dotyczące wpływu wyżej wymienionych czynników na odczuwany ból pooperacyjny, przedstawione jako podział na dwie grupy (poziom bólu duży i mały).

Tabela 10. Zależność wpływu wybranych czynników na nasilenie bólu pooperacyjnego.

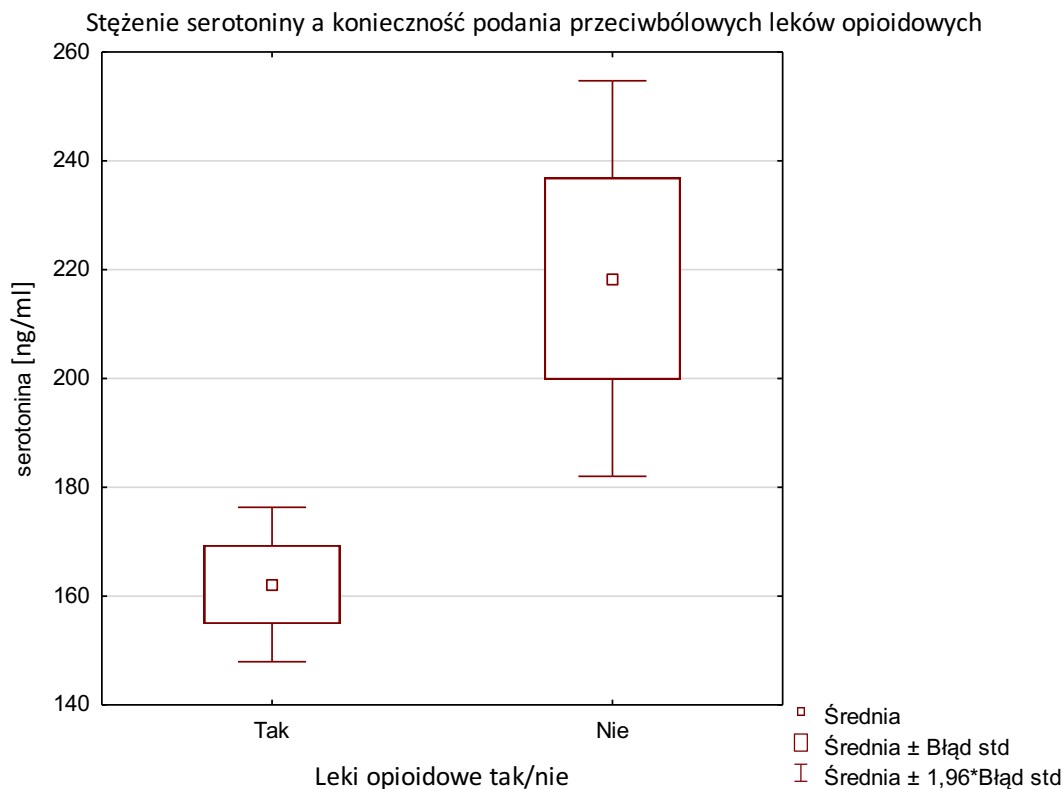
Poziom bólu		Wiek (lata)	Czas trwania (min)	Estradiol (pg/ml)	Progesteron (ng/ml)	Serotonina (ng/ml)	BMI
MAŁY (n=156)	średnia	32,3	45,2	122,9	3,3	170,2	23,2
	Odch. stand	4,5	27,2	90,3	4,0	112,6	4,1
DUŻY (n=144)	średnia	32,7	49,9	115,1	3,9	191,4	23,4
	Odch. stand	5,3	31,8	82,0	7,1	156,7	4,0
	p	0,569	0,173	0,436	0,330	0,182	0,639

W niniejszej pracy nie wykazano zależności nasilenia nudności i wymiotów od nasilenia bólu- współczynnik korelacji Pearsona wynosił 0,138 (porównywano subiektywne oceny pacjentek, wykonywane 6, 12 i 24 godziny po zabiegu, które następnie wystandaryzowano i poddano statystycznemu zsumowaniu- agregacji). Co więcej, potrzeba podania leku przeciwwymiotnego również nie zależała od natężenia bólu pooperacyjnego. Wśród 156 pacjentek, które zgłaszały niewielkie nasilenie bólu, lek przeciwwymiotny otrzymały 32 (20,5%) chore, natomiast w grupie operowanych kobiet, które skarżyły się na znaczne dolegliwości (144 osoby), otrzymały go 33 pacjentki (25,2%), ($p=0,6136$). Nie zaobserwowano też różnic w zakresie zapotrzebowania na leki przeciwbólowe- opioidowe i nieopiodowe, między pacjentkami podzielonymi w zależności od fazy cyklu, w której były operowane ($p=0,179$).

Pomimo, iż jak wspomniano wcześniej, nie wykazano zależności pomiędzy nasileniem bólu, odczuwanego przez pacjentki (subiektywne oceny pacjentek na tle grupy, poddane agregacji) a stężeniem serotoniny w surowicy krwi, zaobserwowano z kolei istotną zależność między koniecznością podania opioidowego leku przeciwbólowego a stężeniem serotoniny. Brano pod uwagę zarówno podanie morfiny, jak i tramadolu. Stężenie serotoniny było istotnie statystycznie niższe w grupie pacjentek, które wymagały podania tych opioidowych leków i wynosiło średnio $160,3 \pm 104,0 \text{ ng/ml}$, natomiast w grupie, w której nie zaistniała potrzeba podania morfiny ani tramadolu, stężenie serotoniny było wyższe i

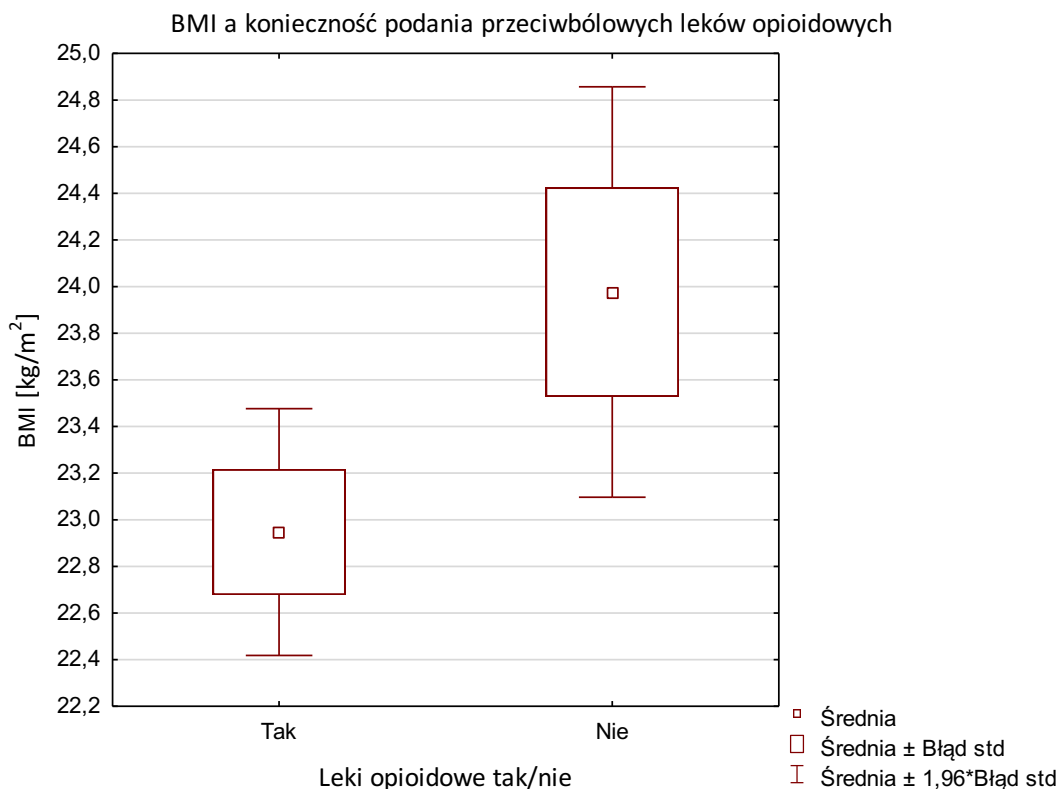
wynosiło 216,1±182,1 ng/ml (p=0,001). Wykres 4 przedstawia zależność konieczności podania opioidowego leku przeciwbólowego od stężenia serotoniny.

Choć nie wykazano zależności między poziomem nasileniem bólu (subiektywne oceny pacjentek, poddane agregacji) a wskaźnikiem BMI pacjentek, to istotnie statystyczna zależność została potwierdzona pomiędzy koniecznością podania opioidowych leków przeciwbólowych a BMI. Wśród chorych, które nie wymagały podania tych leków, BMI było wyższe i wynosiło 24,0±4,4 kg/m², natomiast BMI pacjentek, u których wystąpiła konieczność podania leku opioidowego, było niższe i wynosiło 23,0± 3,9 kg/m² (p=0,044). Na Wykresie 4 przedstawiono zależność konieczności podania opioidowego leku przeciwbólowego od BMI pacjentek.



Wykres 4. Związek konieczności podania opioidowego leku przeciwbólowego od stężenia serotoniny.

tak- lek podano, n- leku nie podano, p=0,006



Wykres 5. Wpływ BMI pacjentek na potrzebę podania opioidowego leku przeciwbólowego. tak- lek podano, nie- leku nie podano, p=0,044

4.4. Wpływ polimorfizmów genetycznych na nasilenie bólu pooperacyjnego i PONV.

Analizę genetyczną poprzedzono arytmetycznym wyznaczeniem procentowej frekwencji występowania poszczególnych genotypów i alleli badanych polimorfizmów, otrzymując wartości obserwowane. W kolejnym etapie wartości obserwowane porównano z wartościami oczekiwanymi, które zostały obliczone na podstawie prawa Hardy-Weinberga [Winter i wsp., 2010]. Prawo to opisuje jest niżej przedstawionym równaniem:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Litery „p” i „q” oznaczają częstość występowania poszczególnych alleli danego genu ($p = nA/2N = 2nAA + nAa/2N$, $q = na/2N = 2naa + nAa/2N$; natomiast „A” i „a” oznaczają allele konkretnego genu). Każda populacja, w której rozkład genotypów potwierdza zależność $p^2 + 2pq + q^2$, niezależnie od absolutnych wartości p i q, znajduje się w stanie genetycznej

równowagi. Używając kalkulatorów statystycznych, dostępnych na stronach internetowych:
<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>,

<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>

wyznaczono wartości (liczebności) oczekiwane poszczególnych genotypów oraz odpowiadające im rozkłady procentowe wśród badanych pacjentek. Następnie porównano różnice pomiędzy wartościami obserwowanymi a wyznaczonymi wartościami oczekiwanymi, co miało na celu określenie zgodności ich rozkładu z prawem Hardy’ego-Weinberga. Brak różnic istotnych statystycznie ($p > 0,05$), w rozkładzie pomiędzy wartościami obserwowanymi a wartościami oczekiwanymi (test dokładny Fishera, χ^2 -test Chi-kwadrat) poszczególnych genotypów oznacza, że rozkład taki spełnia prawo Hardy’ego-Weinberga. Natomiast brak równowagi może mieć istotny wpływ na dalszą analizę statystyczną, zwłaszcza, gdy badana grupa nie jest zbyt liczna. Warunkiem zaistnienia równowagi Hardy’ego-Weinberga jest odpowiednia liczebność populacji, brak selekcji, losowe kojarzenie osobników, brak dryfu genetycznego, brak istotnych mutacji [Kulinskaya i wsp., 2009; Rohlfis i wsp., 2008].

Rozkład wszystkich badanych genotypów spełniał założenia rozkładu zgodnego z prawem Hardy’ego-Weinberga. Tabela 11. przedstawia analizę rozkładu wszystkich badanych genotypów oraz ocenę równowagi Hardy’ego-Weinberga.

Tabela 11. Rozkład genotypów wszystkich badanych polimorfizmów oraz ocena równowagi Hardy’ego-Weinberga.

	Genotypy	n	Allel C	Allel T	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	Polimorfizm ESR1 (rs2234693)	CC	83	166	0	83 (27,66%)	84,3 (28,10%)
CT		152	152	152	152 (50,66%)	49,5 (49,83%)	
TT		0	0	130	65 (21,66%)	66,3 (22,10%)	
Suma genotypy		300	318	282	300 (100%)	300 (100%)	
Suma allele		600	0,53	0,47			
	Genotypy	n	Allel T1	Allel T2	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	Polimorfizm PRG (ins/del)	T1T1	214	428	0	214 (71,33%)	211,1 (70,56%)
T1T2		76	76	76	76 (25,33%)	80,6 (26,88%)	
T2T2		10	0	20	10 (3,33%)	7,7 (2,56%)	

	Suma genotypy	300	504	96	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,84	0,16			
Polimorfizm PGR (+331G/A)	Genotypy	n	Allel A	Allel G	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	AA	6	12	0	6 (2,0%)	3,5 (1,17%)	p>0,05 (test Chi-kwadrat oraz dokładny Fishera)
	AG	53	53	53	53 (17,67%)	58 (19,32%)	
	GG	241	0	482	241 (80,33%)	238,5 (79,51%)	
	Suma genotypy	300	65	535	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,11	0,89			
Polimorfizm 5HTR2A (rs6313)	Genotypy	n	Allel C	Allel T	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	CC	121	242	0	121 (40,33%)	124,2 (41,39%)	p>0,05 (test Chi-kwadrat oraz dokładny Fishera)
	CT	144	144	144	144 (48,0%)	137,7 (45,89%)	
	TT	35	0	70	35 (11,67%)	38,2 (12,72%)	
	Suma genotypy	300	386	214	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,64	0,36			
Polimorfizm 5HTR1B (rs6296)	Genotypy	n	Allel C	Allel G	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	CC	28	56	0	28 (9,33%)	22,4 (7,47%)	p>0,05 (test Chi-kwadrat oraz dokładny Fishera)
	GC	108	108	108	108 (36,0%)	119,2 (39,72%)	
	GG	164	0	328	164 (54,67%)	158,4 (52,80%)	
	Suma genotypy	300	164	436	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,27	0,73			
Polimorfizm 5HTR2C (rs6318)	Genotypy	n	Allel C	Allel G	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	CC	10	20	0	10 (3,33%)	8,7 (2,89%)	p>0,05 (test Chi-kwadrat oraz dokładny Fishera)
	GC	82	82	82	82 (27,33%)	84,7 (28,22%)	
	GG	208	0	416	208 (69,33%)	206,7 (68,89%)	
	Suma genotypy	300	102	498	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,17	0,83			

Polimorfizm 5HTR3A (rs1176713)	Genotypy	n	Allel C	Allel T	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	CC	8	16	0	8 (2,67%)	11,4 (3,80%)	p>0,05 (test Chi- kwadrat oraz dokładny Fishera)
	CT	101	101	101	101 (33,67%)	94,2 (31,40%)	
	TT	191	0	382	191 (63,67%)	194,4 (64,80%)	
	Suma genotypy	300	117	483	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,2	0,8			
Polimorfizm 5HTR3B (rs1176744)	Genotypy	n	Allel G	Allel T	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	GG	30	60	0	30 (10,0%)	36,8 (12,25%)	p>0,05 (test Chi- kwadrat oraz dokładny Fishera)
	GT	150	150	150	150 (50,0%)	136,5 (45,50%)	
	TT	120	0	240	120 (40,0%)	126,8 (42,25%)	
	Suma genotypy	300	210	390	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,35	0,65			
Polimorfizm 5HTR3B (rs11214763)	Genotypy	n	Allel A	Allel G	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	AA	7	14	0	7 (2,33%)	8,5 (2,83%)	p>0,05 (test Chi- kwadrat oraz dokładny Fishera)
	AG	87	87	87	87 (29,0%)	84,0 (28,0%)	
	GG	206	0	412	206 (68,67%)	207,5 (69,17%)	
	Suma genotypy	300	101	499	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,17	0,83			
Polimorfizm 5HTR3B (rs3782025)	Genotypy	n	Allel A	Allel G	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność
	CC	69	138	0	69 (23,0%)	74,0 (24,67%)	p>0,05 (test Chi- kwadrat oraz dokładny Fishera)
	CT	160	160	160	160 (53,33%)	150,0 (50,0%)	
	TT	71	0	142	71 (23,67%)	76,0 (25,33%)	
	Suma genotypy	300	298	302	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,49	0,51			
Polimorfizm 5HTR3B	Genotypy	n	Allel C	Allel T	n obserwowane (%)	n oczekiwane (%)	Istotność

(rs1672717)	CC	44	88	0	44 (14,67%)	50,8 (16,95%)	p>0,05 (test Chi- kwadrat oraz dokładny Fishera)
	CT	159	159	159	159 (53,0%)	145,3 (48,44%)	
	TT	97	0	194	97 (32,33%)	103,8 (34,61%)	
	Suma genotypy	300	247	353	300 (100%)	300 (100%)	
	Suma allele	600	0,41	0,59			

n- liczba pacjentów

Nie wykazano, aby obecność jakiegokolwiek z badanych wariantów genetycznych, miała wpływ na nasilenie bólu oraz nudności i wymiotów pooperacyjnych. Zarówno w odniesieniu do polimorfizmu -397T>C (rs2234693) genu ESR, kodującego receptor estrogenowy, polimorfizmu +331G/A (rs10895068) oraz polimorfizmu typu insercja/delecja (proins) genu PGR, kodującego receptor progesteronowy, nie wykazano, aby miały one wpływ na natężenie analizowanych dolegliwości. Także żaden z wybranych polimorfizmów genowych receptorów serotoninowych HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A oraz HTR3B nie korelował z nasileniem PONV i bólu pooperacyjnego ($p>0,05$).

Celem oceny różnic posłużono się analizą wariancji, a porównywane były średnie wartości nudności lub bólu, w postaci zagregowanej, w trzech grupach występujących wariantów genów. Przykładowo, dla badanego polimorfizmu genu HTR3A, występujące warianty to postać niezmutowana TT- występująca najczęściej, heterozygota CT oraz wariant zmutowany CC, pojawiający się w analizowanej grupie chorych najrzadziej. Średnie oceny poziomu nudności, przedstawione jako wartości zagregowane, to odpowiednio: 0,014 dla postaci niezmutowanej, -0,038 dla heterozygoty oraz 0,095 dla wariantu zmutowanego. Jak wynika z zasad stosowania agregacji, pacjentki, których wynik oceny bólu lub nudności po agregacji był ujemny, odczuwały mniej tych dolegliwości na tle grupy, a pacjentki, których wynik oceny bólu i nudności po agregacji był wartością dodatnią, odczuwały tych dolegliwości więcej. W tym przypadku różnica nie była jednak istotna statystycznie ($p=0,806$). Również w przypadku innych polimorfizmów, analizowanych w rozprawie, nie wykazano istotnych różnic między grupami pacjentek o różnych wariantach genetycznych, zarówno w odniesieniu do bólu, jak i nudności i wymiotów pooperacyjnych ($p>0,05$).

Tabela 12 zawiera podsumowanie wyników, dotyczących wpływu wszystkich badanych polimorfizmów na PONV, natomiast Tabela 13 jest podsumowaniem zależności wariantów genetycznych na ból pooperacyjny.

Tabela 12. Wpływ wszystkich badanych polimorfizmów na PONV.

Polimorfizm	Genotypy	Liczebność	Średnia	Odchylenie stand.	p
ESR1 rs2234693	CC	83	-0,065	0,652	
	CT	152	0,020	0,795	
	TT	65	0,027	0,697	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,665
PGR ins/del	T1T1	214	0,030	0,730	
	T1T2	76	-0,039	0,788	
	T2T2	10	-0,361	0,412	
Ogółem		300	0,007	0,742	0,481
PGR +331G/A	AA	6	-0,136	0,746	
	GA	53	-0,018	0,754	
	GG	241	0,014	0,742	
Ogółem		300	0,007	0,742	0,911
5HTR2A rs6313	CT	121	-0,065	0,652	
	CC	144	0,020	0,795	
	TT	35	0,027	0,697	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,409
5HTR1B rs6296	GG	164	-0,046	0,740	
	GC	108	0,049	0,733	
	CC	28	0,063	0,692	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,529
5HTR2C rs6318	GG	208	-0,046	0,739	
	GC	82	0,049	0,755	
	CC	10	0,063	0,640	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,662
5HTR3A rs1176713	CC	8	0,095	0,716	
	CT	101	-0,038	0,768	
	TT	191	0,014	0,721	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,806
5HTR3B rs1176744	TT	120	0,004	0,688	

	GT	150	-0,001	0,814	
	GG	30	-0,040	0,526	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,966
5HTR3B rs11214763	AA	7	0,134	0,798	
	AG	87	0,044	0,788	
	GG	206	-0,024	0,713	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,709
5HTR3B rs3782025	TT	69	-0,056	0,741	
	CT	160	0,001	0,754	
	CC	71	0,045	0,691	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,729
5HTR3B rs1672717	TT	97	-0,034	0,720	
	CC	44	0,010	0,588	
	CT	159	0,015	0,783	
Ogółem		300	-0,002	0,735	0,875

Tabela 13. Wpływ wszystkich badanych polimorfizmów na ból pooperacyjny.

Polimorfizm	Genotypy	Liczebność	Średnia	Odchylenie stand.	p
ESR1 rs2234693	CC	83	0,038	0,873	
	CT	152	-0,038	0,820	
	TT	65	0,001	0,795	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,799
PGR ins/del	T1T1	214	-0,0030	0,827	
	T1T2	76	0,017	0,852	
	T2T2	10	0,030	1,025	
Ogółem		300	-0,018	0,833	0,914
PGR +331G/A	AA	6	0,925	0,074	
	GA	53	-0,069	0,867	
	GG	241	-0,020	0,826	
Ogółem		300	-0,018	0,833	0,134
5HTR2A rs6313	CT	121	0,033	0,794	

	CC	144	0,017	0,874	
	TT	35	-0,066	0,857	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,618
5HTR1B rs6296	GG	164	-0,018	0,792	
	GC	108	0,011	0,902	
	CC	28	-0,033	0,756	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,952
5HTR2C rs6318	GG	208	-0,051	0,851	
	GC	82	0,085	0,787	
	CC	10	0,118	0,564	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,422
5HTR3A rs1176713	CC	8	0,126	0,769	
	CT	101	-0,029	0,886	
	TT	191	0,002	0,800	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,891
5HTR3B rs1176744	TT	120	0,007	0,829	
	GT	150	-0,068	0,813	
	GG	30	0,235	0,886	
Ogółem		300	-0,002	0,827	0,258
5HTR3B rs11214763	AA	7	0,212	0,620	
	AG	87	0,119	0,922	
	GG	206	-0,068	0,785	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,180
5HTR3B rs3782025	TT	69	-0,063	0,815	
	CT	160	0,019	0,865	
	CC	71	-0,020	0,759	
Ogółem		300	-0,009	0,827	0,789
5HTR3B rs1672717	TT	97	0,027	0,893	
	CC	44	-0,033	0,766	
	CT	159	-0,025	0,806	
Ogółem		300	-0,002	0,827	0,874

5. DYSKUSJA

5.1. Częstość występowania PONV i bólu pooperacyjnego

W przedstawianej rozprawie doktorskiej, odsetek nasilonych nudności wraz z wymiotami pooperacyjnymi wynosił aż 40%. Podkreśla to częstość tego powikłania oraz pokazuje, jak istotnym problemem klinicznym są nudności i wymioty pooperacyjne, zmniejszające komfort pacjentek. W licznych pracach, oceniających częstość występowania PONV, przedstawiane są różne dane; odsetek ten wynosi od 30 do 50% [Apfell i wsp., 2004; Gupta i wsp., 2003] ale w grupach ryzyka jest dużo wyższy i wynosi nawet 70-80% [Habib i wsp., 2004; Gan, 2010].

Trudno porównać, czy nasilenie dolegliwości w zakresie PONV w badanej grupie było wyższe bądź niższe od opisywanych w innych pracach. Wynika to chociażby z faktu, że opublikowane badania dotyczą dolegliwości pooperacyjnych zarówno wśród kobiet jak i mężczyzn, analizowane jest nasilenie PONV po różnego rodzaju zabiegach, nie tylko laparoskopii. Zamieszczone publikacje, które dotyczą nudności i wymiotów wyłącznie po laparoskopii ginekologicznej, dotyczą przede wszystkim oceny skuteczności leczenia wymiotów pooperacyjnych, a nie analizę częstości ich występowania [Tseng i wsp., 2006; Ismail i wsp., 2018; Akn i wsp., 2017]. Tym niemniej, w każdej z prac łatwo zauważyć, że nawet w przypadku zastosowania leczenia lub profilaktyki, odsetek PONV jest duży i stanowi ważny problem, z którym borykają się lekarze wielu specjalizacji, wykonujący zabiegi różnego typu [Tseng i wsp., 2006; Jeong-Woo i wsp., 2008].

W prezentowanej rozprawie doktorskiej analizowano dolegliwości pacjentek poddanych laparoskopii ginekologicznej, wraz z histeroskopią. Były to chore operowane z powodu niepłodności, a wykonanie histeroskopii było niezbędne w diagnostyce niepłodności. Zważywszy jednak na fakt, że histeroskopia była wykonywana równolegle w czasie laparoskopii, nie wymagała więc podania dodatkowych leków anestetycznych i przedłużała zabieg w stopniu minimalnym, uznano, że można porównywać pacjentki włączone do analizy w niniejszej rozprawie z chorymi z innych badań, poddanymi wyłącznie laparoskopii ginekologicznej. Co więcej, w przypadku 86% kobiet, histeroskopia była zabiegiem tylko diagnostycznym, nie związanym z jakimkolwiek uszkodzeniem tkanek- u pozostałych pacjentek dokonano usunięcia polipa endometrialnego lub mięśniaka podśluzówkowego (8%), wycięcia zrostów wewnątrzmacicznych (4%) czy też nacięcia/wycięcia przegrody (2%). Czas wykonania tych zabiegów nie był jednak dłuższy niż 15 minut. Warto zaznaczyć, że

histeroskopie wykonywane jako samodzielny zabieg są uważane przez pacjentki za niebolesne (średnia ocena bólu po zabiegu 2 w skali VAS), a czynnikiem, który zwiększa dolegliwości bólowe po zabiegu, są zrosty wewnątrzsztykowe i konieczność mechanicznego rozszerzania szyjki [Mazzon i wsp., 2014], które nie wystąpiło u pacjentek włączonych do niniejszej rozprawy. Odnośnie badań dotyczących nudności i wymiotów pooperacyjnych po operacjach endoskopowych, to brak jest prac, które oceniałyby te dolegliwości tylko po samej histeroskopii. Wszystkie cytowane badania dotyczą wyłącznie laparoskopii ginekologicznych. Zważywszy na fakt, że histeroskopia jest dużo mniej inwazyjnym zabiegiem niż laparoscopia, uznano, że można dokonać porównań tych dolegliwości między pacjentkami poddanymi laparoskopii, jak i tymi, które poddane zostały histero-laparoskopii, jak miało miejsce w niniejszej dysertacji.

W badaniu Jeang-Woo wykazano, iż odsetek PONV wśród wszystkich kobiet włączonych do badania wynosił 60,2% w ciągu 24- godzinnej obserwacji [Jeong-Woo i wsp., 2008]. W porównaniu do wyników niniejszej dysertacji, odsetek PONV w cytowanej pracy był wyższy. W innej publikacji, w której analizowano odsetek występowania PONV po laparoskopii ginekologicznej, u kobiet, które nie otrzymały profilaktyki przeciwwymiotnej, odsetek PONV był wyższy niż w prezentowanej rozprawie i wynosił 59% [Tseng i wsp., 2006]. Brano jednakże pod uwagę również dolegliwości, które pojawiały się w pierwszych dwóch godzinach po zabiegu, gdzie nasilenie PONV mogło wynikać z zastosowanego znieczulenia ogólnego i emetogennego działania leków. W przedstawianej rozprawie, pierwsza ocena tych dolegliwości następowała dopiero po sześciu godzinach od zabiegu, by uniknąć możliwego wpływu leków anestetycznych i opioidów podawanych na sali operacyjnej.

W innej pracy porównywano skuteczność różnych metod profilaktyki PONV [Albooghobeish i wsp., 2017]. Zaobserwowano statystycznie istotną różnicę w nasileniu dolegliwości między grupami ($p < 0,02$), ale tylko w okresie pierwszej godziny od zabiegu- mniejsze dolegliwości wykazywały pacjentki, u których zastosowano jakąkolwiek profilaktykę. Natomiast w przypadku oceny nasilenia PONV w kolejnej godzinie, nie zaobserwowano już istotnych różnic między grupami pacjentek. Wniosek płynący z powyższej pracy jest taki, iż zastosowanie profilaktyki PONV często zawodzi i nie zawsze przyczynia się do poprawy komfortu pacjentów.

Podsumowując, trudno porównywać uzyskane wyniki, gdyż opublikowano niewiele prac dotyczących wyłącznie oceny odsetka dolegliwości związanych z PONV po laparoskopii ginekologicznej, gdzie nie zastosowano żadnej ingerencji i nie porównywano różnych metod

leczenia lub profilaktyki. Wszystkie te prace potwierdzają natomiast wagę problemu, gdyż nawet w przypadku stosowania profilaktyki przeciwwymiotnej, odsetek PONV był nadal wysoki. Dodatkowo, jak wspomniano wcześniej, profilaktyka oparta tylko na farmakoterapii, prezentowana w powyżej cytowanych pracach, posiada liczne wady. Mimo zmniejszenia odsetka PONV, każda grupa leków antyemetogennych może bowiem wywoływać niepożądane efekty uboczne [Carlisle i wsp., 2006; Nazar i wsp., 2009; Lischke i wsp., 1994]. Celem prezentowanej rozprawy doktorskiej było między innymi poszukiwanie innych czynników ryzyka PONV, związanych z podłożem genetycznym i hormonalnym. Jednocześnie ideą dysertacji była więc próba poprawy komfortu operowanych pacjentów poprzez rozwój profilaktyki nefarmakologicznej.

Odsetek nasilonych dolegliwości bólowych w prezentowanej rozprawie doktorskiej wynosił 48%. Tak jak w przypadku nudności i wymiotów, tak i w przypadku bólu, trudno porównywać, czy nasilenie bólu w prezentowanej grupie różniło się od natężenia dolegliwości przedstawionego w dotychczas opublikowanych badaniach. Wśród prac poświęconych ocenie bólu jedynie po laparoskopii ginekologicznej, większość autorów skupiała się przede wszystkim na porównywaniu różnych metod technik zabiegowych i profilaktycznego podawania leków na natężenie bólu pooperacyjnego. W jednej z prac oceniano odsetek występowania bólu w zależności od rodzaju techniki wykonania laparoskopowej histerektomii- porównywano metodę operowania z jednego cięcia (LESS- ang. laparoendoscopic single site surgery) oraz tradycyjnego, za pomocą kilku trokarów [Kliethermes i wsp., 2017]. Do badania włączono 70 pacjentek, które podzielono na dwie równe grupy. Zaobserwowano mniejszy odsetek zgłaszanego bólu wśród pacjentek operowanych metodą pojedynczego nacięcia ($p=0,06$). W przeciwieństwie do metodyki niniejszej rozprawy, autorzy tej publikacji oceniali ból aż do trzech tygodni od zabiegu, kontaktując się z pacjentkami. Trudno też o porównania z wynikami prezentowanej dysertacji, gdyż brak jest chociażby informacji, jaki odsetek pacjentek zgłaszało ból silny, a badano jedynie w jakim stopniu nasilenie bólu różniło się między grupami. W cytowanej pracy grupa badawcza nie była też liczna (łącznie 70 pacjentek, dodatkowo podzielonych na podgrupy).

W 2017 roku opublikowano metaanalizę, porównującą odsetek bólu po zabiegach na przydatkach (tradycyjna laparoscopia vs laparoscopia LESS), w której przedstawiono wyniki wszystkich badań dotyczących tego tematu, opublikowanych między 1975 a 2015 [Schmitt i wsp., 2017]. Nie wykazano różnicy w nasileniu bólu po 6 i 24 godzinach po zabiegu między pacjentkami operowanymi tymi dwoma metodami (odpowiednio $p=0,75$ oraz $p=0,45$).

Metaanaliza nie zawierała jednak informacji dotyczących częstości występowania bólu pooperacyjnego.

Ciekawą pracę opublikował Hsien i wsp., którzy oceniali rodzaj występującego po laparoskopii bólu: w miejscu rany pooperacyjnej („ból chirurgiczny”) oraz bólu niezwiązanego z raną, zlokalizowanego w okolicy barków, międzyżebrowo, podprzeponowo („ból niechirurgiczny”) [Hsien i wsp., 2017]. Autorzy ci zaobserwowali, że u kobiet, które miały duże napięcie tkanek mięśni brzucha (nieródki, bez rozstępów skórnych), dominował ból niezwiązany z raną, a u kobiet z wiotkością tkanek (wieloródki, z rozstępami) dominował ból w miejscu rany. „Ból niechirurgiczny” pojawił się u 63,64% nieródek, natomiast „ból chirurgiczny” u 71,43% wieloródek. Wśród pacjentek z rozstępami skórnymi ból w miejscu rany pojawił się aż u 93,93% kobiet, a wśród kobiet bez rozstępów ten ból zgłaszało tylko 52,94% pacjentek. Łączny odsetek bólu („chirurgicznego” i „niechirurgicznego”) w cytowanej pracy wydaje się bardzo duży, jednak trudno porównywać to badanie z wynikami niniejszej rozprawy, ponieważ w prezentowanej dysertacji celowo nie skupiano się na podziale rodzaju bólu pacjentek, oceniając całkowity komfort pooperacyjny.

Przytaczana praca Hsien i wsp. podkreśla natomiast ważny fakt obecności związanego z laparoskopią innego rodzaju bólu [Hsien i wsp., 2017]. Operacje przeprowadzane metodą laparotomii, operacje ortopedyczne, neurochirurgiczne czy laryngologiczne, cechują się jedynie występowaniem bólu związanego z uszkodzeniem tkanek. Operacje laparoskopowe natomiast, poza bólem w miejscu operowanym, wiążą się też z ryzykiem pojawienia się dolegliwości uwarunkowanych samą techniką zabiegu, a mianowicie koniecznością wytworzenia odmy brzusznej. Dotychczas opublikowane badania wykazały, że odsetek bólu barków po laparoskopii wynosi od 35 do nawet 80% [Craciunas i wsp., 2014; Kerimoglu i wsp., 2015]. Odma brzuszna, wytwarzana celem umożliwienia przeprowadzenia zabiegu i osiągnięcia dobrej wizualizacji narządów, jest rezultatem wprowadzenia do jamy otrzewnej gazów, przede wszystkim dwutlenku węgla [Yu i wsp., 2017; Cheong i wsp., 2018]. Uważa się, że dwutlenek węgla jest główną przyczyną pooperacyjnego bólu barków, ponieważ powoduje rozciągnięcie otrzewnej, podrażnienie przepony i nerwu przeponowego, czego konsekwencją jest ból w rzucie czwartego dermatomu szyjnego [Coventry, 1995; Korrel i wsp., 1996]. Liczne prace potwierdziły zależność między zaleganiem gazów w jamie otrzewnej po laparoskopii (koniecznych do osiągnięcia odmy) a nasileniem bólu pooperacyjnego w okolicy barków [Kerimoglu i wsp., 2015; Jackson i wsp., 1996, Sarli i wsp., 2000]. Jak można zauważyć na podstawie powyższych informacji, nawet laparoscopia diagnostyczna, mimo iż jest zabiegiem krótkim, mało inwazyjnym i wiążącym się z mniejszą

rana pooperacyjną niż laparotomia, może powodować u pacjentów ból, wydawałoby się nieadekwatny do długości zabiegu czy stopnia uszkodzenia tkanek. Nie można więc bagatelizować bólu pooperacyjnego w kontekście laparoskopii oraz trzeba mieć na uwadze, że ból ten ma dwojaki charakter i pochodzenie.

Tsai i wsp. opublikowali pracę, w której analizowali nefarmakologiczne metody zmniejszenia bólu po laparoskopii ginekologicznej [Tsai i wsp., 2013]. Do badania włączono 100 pacjentek i podzielono je na dwie grupy- kontrolną oraz badawczą. W grupie badawczej zastosowano płucne manewry rekrutacyjne oraz infuzję soli fizjologicznej do jamy otrzewnowej, celem zmniejszenia stężenia dwutlenku węgla. Płucne manewry rekrutacyjne polegały na otwarciu wcześniej zapadniętych i utrzymaniu już otwartych obszarów płuc, przez zastosowanie wysokiego, dodatniego ciśnienia końcowo-wydechowego [Wadełek, 2017]. Wzrost ciśnienia wewnątrzopłucznego powodował wzrost ciśnienia wewnątrzotrzewnowego, co ułatwiało usunięcie dwutlenku węgla z jam ciała. Infuzja soli fizjologicznej zastosowana pod koniec operacji, miała również na celu ułatwienie usunięcia nadmiaru dwutlenku węgla z organizmu. Ciepły roztwór soli w objętości 15-20 ml/kg masy ciała wprowadzano do jamy brzusznej i zostawiano otwarte zastawki trokarów, aby dwutlenek węgla mógł być przez nie usunięty [Suginami i wsp., 2009]. Dodatkowo roztwór soli stanowił bufor, w którym gaz ten mógł się szybciej rozpuścić [Tsai i wsp., 2011]. W grupie kontrolnej wprowadzany wcześniej gaz był usuwany biernie poprzez pozostawione otwarte zastawki trokarów oraz delikatne uciskanie powłok brzusznych. Co ciekawe, zastosowane procedury zmniejszyły odsetek bólu nie tylko związanego z operacją, w miejscu rany pooperacyjnej, ale też bólu „niechirurgicznego”- zlokalizowanego w okolicy obręczy barkowej czy też górnej części jamy brzusznej. Należy jednak wspomnieć, że mimo, iż zastosowane w cytowanym badaniu nefarmakologiczne sposoby zmniejszenia bólu po laparoskopii okazały się skuteczne, to nadal odsetek bólu, nawet wśród pacjentów, u których je zastosowano, był wysoki. W grupie badawczej odsetek bólu w 12 i 24 godzinie po zabiegu wynosił odpowiednio 78 i 72%, natomiast w grupie kontrolnej aż 92 i 90%, w poszczególnych godzinach ($p < 0,006$ oraz $p < 0,001$). Porównując odsetek bólu między pacjentkami włączonymi do powyższego badania oraz pacjentkami włączonymi do przedstawianej pracy doktorskiej, odsetek bólu w cytowanej publikacji był znacznie wyższy. Częstość występowania nasilonego bólu w niniejszej rozprawie wynosiła 48%, ale przez cały okres obserwacji, stąd również nie można dokładnie porównywać tych wyników. Celowa agregacja danych, na podstawie punktowych ocen pacjentek, miała umożliwić ocenę dolegliwości występujących w ciągu całego pobytu w szpitalu. Wiedza o stanie pacjentki

przez cały okres hospitalizacji jest z pewnością bardziej wartościową, obiektywną oceną oraz dostarcza przydatne klinicznie informacje. Należy jednak pamiętać, że agregacja wystandaryzowanych danych jest metodą, która pozwala na ocenę cech pojedynczej osoby (w tym przypadku natężenia dolegliwości) w porównaniu do reszty osób z danej, badanej grupy (klasyfikacja zależna od grupy badanej). Na podstawie agregacji można porównać pacjentki między sobą oraz powiedzieć, która czuła się lepiej w aspekcie danej dolegliwości, ale nie można, na podstawie wyniku po agregacji, porównać wyników pacjentek z wynikami innych chorych, będących przedmiotem analizy innego badania, innej grupy chorych.

Dodatkowo warto zaznaczyć, że płucne manewry rekrutacyjne, zastosowane jako profilaktyka bólu w wyżej cytowanej pracy [Tsai i wsp., 2013], nie mogą być stosowane u wszystkich pacjentów- zwłaszcza u chorych z niewydolnością prawokomorową serca, niewydolnością hemodynamiczną czy wysokim ciśnieniem wewnątrzczaszkowym [Khanna i wsp., 2013; Liu i wsp., 2014]. U tych osób pozostaje przeprowadzenie zabiegu w sposób typowy, a w razie bólu zastosowanie leczenia farmakologicznego, które, jak zaznaczono wcześniej, także nie jest pozbawione działań niepożądanych ze strony zastosowanych leków analgetycznych.

Cel niniejszej rozprawy był przede wszystkim utylitarny, a główną ideą była poprawa komfortu pacjentek po operacjach. W związku z tym, korzystano z metody badawczej, która oceniałaby stan pacjentek przez cały okres pooperacyjny (agregacja), a także analizowano zużycie leków, co stanowiło kompleksową i całościową analizę dolegliwości pooperacyjnych pacjentek.

5.2. Wiek i BMI a PONV i ból pooperacyjny

5.2.1. Wiek i BMI a PONV

Pacjentki włączone do analizy w niniejszej rozprawie, były w wieku rozrodczym (18-40 lat), stanowiąc jednorodną grupę badawczą. Nie wykazano związku między wiekiem a nasileniem dolegliwości w zakresie nudności i wymiotów. Z większości badań można wnioskować, że młodszy wiek wiąże się ze zwiększonym ryzykiem pojawienia się nudności i wymiotów po zabiegach [Sinclair i wsp., 1997, Apfell i wsp., 2012a; Apfell i wsp., 2012b]. Grupa pacjentów młodszych, przed 50 rokiem życia, cechuje się istotnie statystycznie zwiększonym ryzykiem pojawienia się PONV [OR; 95%, CI: 1.79 (1.39-2.30) [Apfell i wsp., 2012b]. W metaanalizie dokonanej przez Apfel wykazano, iż z każdą dekadą życia ryzyko

pojawienia się PONV znacznie spada (OR 0.88 na dekadę, 0.84-0.92) [Apfell i wsp., 2012a]. W opracowaniu Sinclaira również można znaleźć informację, iż wśród pacjentów dorosłych istnieje ujemna korelacja między wiekiem a nasileniem PONV [Sinclair i wsp., 1997]. Brak zależności między wiekiem a nasileniem nudności i wymiotów w prezentowanej rozprawie może wynikać z niewielkich różnic wieku pacjentek (kobiety w wieku 18-40 lat). Być może w przypadku analizowania dolegliwości także u pacjentek starszych, zauważono by istotne różnice. Nie wiadomo jednak, czy nie wynikałyby one wyłącznie z wieku badanych chorych, czy także np. z różnic w gospodarce hormonalnej lub stężeniach serotoniny. Wszystkie pacjentki włączone do analizy w niniejszej dysertacji miały regularne cykle miesięczkowe. U kobiet po menopauzie naturalnie spada stężenie estrogenów, a jak potwierdzono w pracy Wiśniewskiej-Jarosińskiej i wsp. [Wiśniewska–Jarosińska i wsp., 2009], estrogeny hamują aktywność enzymów rozkładających serotoninę- w związku z tym także stężenie serotoniny u kobiet po menopauzie jest niższe. Receptory serotoninowe biorą udział w odruchu wymiotnym [Wiesmann i wsp., 2015; Drobnik i wsp., 1993], a grupą leków, którą uważa się za najbardziej skuteczną w leczeniu wymiotów są antagoniści receptora serotoninowego 5-HT₃ [Scuderi i wsp., 1993; McKenzie i wsp., 1993]. W związku z tym można przypuszczać, że różnice w nasileniu PONV od wieku pacjentów, który były stwierdzane w innych pracach, mogą mieć złożoną przyczynę i wynikać nie tylko z wieku, ale też z innych stężeń hormonów płciowych i serotoniny, które zmieniają się wraz z wiekiem.

Dużą rolę w pojawieniu się dolegliwości pooperacyjnych, w tym PONV, odgrywa lęk i niepokój przed zabiegiem [Van den Bosch i wsp., 2005]. Uważa się, że czynnikiem ryzyka niepokoju jest płeć żeńska, a także młodszy wiek pacjentów [Mavridou i wsp., 2013]. Niedawno przeprowadzono w naszej klinice badanie, dotyczące lęku przed laparoskopią i dolegliwościami pooperacyjnymi [Mrozikiewicz i wsp.- praca oddana do recenzji do czasopisma *Analgesia&Anaesthesia*]. Grupa włączona do analizy obciążona była czynnikami ryzyka- stanowiły ją młode (≤ 40 roku życia) kobiety. Wykazano, że odsetek obaw i niepokoju pacjentek był wysoki; lęk dotyczył przede wszystkim możliwości pojawienia się bólu, nudności i wymiotów pooperacyjnych, a co więcej, właśnie te dolegliwości pojawiały się u pacjentek najczęściej i były najbardziej dokuczliwe [Mrozikiewicz i wsp.]. Warto zauważyć, że zaledwie 3 pacjentki spośród 200 włączonych do powyższego badania, nie zgłosiły obaw w zakresie żadnego ocenianego powikłania pooperacyjnego.

Wcześniej opublikowane prace sugerują, że nasilony niepokój przed operacją zwiększa zapotrzebowanie na leki anestetyczne, zarówno do indukcji jak i podtrzymania znieczulenia ogólnego [Maranets i wsp., 1999]. Być może jest to powód, dlaczego lęk nasila

PONV- większe dawki podawanych leków, w większości emetogennych, muszą być dłużej eliminowane z organizmu.

Opublikowano niewiele badań, dotyczących wpływu masy ciała na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Jednocześnie prezentują one odmienne stanowiska. Philip i wsp. sugerują, iż pacjenci ze znaczną otyłością mają wyższe ryzyko wystąpienia PONV [Philip, 1997]. Wynika to prawdopodobnie z dłuższego okresu metabolizowania leków anestetycznych i opioidowych (o działaniu emetogennym), zgromadzonych w tkance tłuszczowej w czasie operacji, a także trudności z intubacją; wyższym ryzykiem wprowadzenia powietrza do przełyku i żołądka [Philip, 1997]. W metaanalizie Kranke i wsp. nie zaobserwowano jednak, by wraz ze wzrostem BMI te dolegliwości pooperacyjne były częstsze lub bardziej nasilone [Kranke i wsp., 2001]. W prezentowanej rozprawie doktorskiej wykazano natomiast, że pacjentki z niższym wskaźnikiem BMI odczuwały większe nasilenie PONV. Odmienne wnioski, od tych opublikowanych w innych, nielicznych pracach, być może wynikają z faktu, że samo BMI nie odzwierciedla ilości tkanki tłuszczowej w organizmie. Jak wiadomo, są też osoby wysportowane z dużą ilością tkanki mięśniowej, przez co BMI czasem może wskazywać na lekką nadwagę, mimo iż zawartość tkanki tłuszczowej jest niska. Być może rozwiązaniem byłoby branie pod uwagę nie BMI ani samej masy ciała, ale wykonywanie analizy składu masy ciała pacjentów.

Innym, niezbadanym jeszcze aspektem, jest możliwość wpływu hormonów takich jak grelina, leptyna czy kisspeptyna na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Zarówno stężenia, jak i działanie tych hormonów, jest odmienne u osób z nadmierną masą ciała [Koch i wsp., 2014b; Cummings i wsp., 2002; Kołodziejski i wsp., 2018]. Leptyna jest hormonem tkankowym, którego poziom wzrasta w normalnych warunkach po posiłku, wysyłając informację do ośrodkowego układu nerwowego o wypełnieniu żołądka [Chan i wsp., 2003]. W prawidłowych warunkach konsekwencją jest spadek łaknienia, odczuwanie sytości [Huszar i wsp., 1997; Cone, 2005]. U osób otyłych stwierdza się natomiast tzw. leptynooporność- mimo prawidłowych, wysokich wartości leptyny, mózg nie odczytuje poprawnie wysyłanej informacji i osoba taka nadal odczuwa głód [Hamilton i wsp., 1995; Considine i wsp., 1996]. Również stan przewlekłego dodatniego bilansu energetycznego (przyjmowanie pokarmów wysokokalorycznych połączone z brakiem ruchu) sprzyja powstawaniu oporności na leptynę [Koch i wsp., 2014b]. Grelina natomiast jest wytwarzana przez komórki nabłonkowe żołądka; odpowiada za pobudzenie apetytu. Jej produkcja i stężenie spada po posiłku, co jest sygnałem dla ośrodkowego układu nerwowego, że osoba jest najedzona [Camilleri i wsp., 2009]. Niestety u osób otyłych ten mechanizm, jak i w przypadku leptyny, jest zaburzony; procesy

hamowania głodu i pobudzania apetytu działają nieprawidłowo, inaczej niż u osób z prawidłową masą ciała. Co więcej, dieta i szybki spadek masy ciała powodują wzrost stężenia greliny (i tym samym nasilenie odczucia głodu), dlatego po restrykcyjnej diecie tak trudno jest utrzymać szczupłą sylwetkę [Cummings i wsp., 2002]. U pacjentów po operacjach leczenia otyłości (zmniejszenie żołądka) obserwuje się znaczący spadek stężenia greliny [Karamanakos i wsp., 2008]. Wynika to głównie z redukcji ilości komórek, które ją wydzielają. Poza faktem, że po operacji możliwość przyjmowania dużych ilości pokarmu jest utrudniona, to także spadek apetytu, wynikający ze spadku stężenia greliny, okazuje się kluczowy dla utrzymania długofalowych efektów odchudzania [Anderson i wsp., 2013]. Kisspeptyna jest również niedawno odkrytym hormonem; odgrywa liczne role w organizmie; m.in. reguluje metabolizm oraz procesy dojrzewania płciowego [Cortés i wsp., 2015, Wolfe i wsp., 2018]. Jej stężenie jest odmienne u osób szczupłych i otyłych- w badaniu Kołodziejskiego i wsp. pacjentki z prawidłowym wskaźnikiem BMI ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) miały wyższe stężenia kisspeptyny w porównaniu z pacjentkami otyłymi ($BMI > 35 \text{ kg/m}^2$), $p < 0,01$ [Kołodziejski i wsp., 2018]. Również u dorosłych samic myszy chroniczna otyłość powodowała spadek stężenia kisspeptyny na poziomie genu (spadek ekspresji Kiss1 mRNA w jądrach okołokomorowym i łukowatym podwzgórza) [Quennell i wsp., 2011]. Zarówno grelina jak i leptyna, poprzez wpływ na receptory kisspeptyny, działają wspólnie na oś podwzgórze-przysadka-gonada [Wolfe i wsp., 2018]. Ten układ oddziaływań może być więc wspólnym mianownikiem między gospodarką hormonalną i otyłością.

Autorzy nie są zgodni co do wpływu BMI na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Powyższe informacje są sygnałem, że badania dotyczące kisspeptyny, leptyny oraz greliny, mogą być kluczowe w poznaniu przyczyny zmian w natężeniu PONV u osób z różną masą ciała. Prawdopodobnie nie tyle BMI wpływa na te dolegliwości pooperacyjne, ale mechanizm ten jest bardziej złożony.

5.2.2. Wiek i BMI a ból pooperacyjny

Brak jest badań oceniających czynniki ryzyka wystąpienia bólu po laparoskopiiach ginekologicznych. Większość analiz odnośnie wpływu BMI na nasilenie bólu pooperacyjnego wykonano na pacjentach, u których przeprowadzono zabiegi ortopedyczne w obrębie dużych stawów, kręgosłupa, operacje onkologiczne, bariatryczne oraz operacje przepuklin. Są to jednak prace poświęcone ocenie występowania bólu przewlekłego, a nie występującego do 24 godzin po operacji, jak było to oceniane w niniejszej rozprawie. W badaniu dotyczącym

występowania przewlekłego bólu po operacjach rekonstrukcji stawu kolanowego nie potwierdzono, aby wyższe BMI korelowało z nasilonym bólem [Rice i wsp., 2018]. Również w innej pracy, poświęconej ocenie bólu i szybkości rekonwalescencji po zabiegach w obrębie stawu kolanowego, nie stwierdzono różnic między pacjentami o różnym BMI [Collins i wsp., 2017].

W przedstawianej rozprawie doktorskiej także nie znaleziono zależności między BMI a nasileniem bólu; wykazano natomiast pośrednią korelację- wśród pacjentek, u których wystąpiło większe zapotrzebowanie na opioidowe leki przeciwbólowe, BMI było niższe. Być może różne wyniki zależą od zmiennej osobniczo farmakokinetyki leków, a nie wskaźnika BMI czy zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie. W pracy Bart i wsp. wykazano, że dawki metadonu (opioidu), konieczne do uzyskania efektu analgetycznego, zależą w głównej mierze od obecności poszczególnych polimorfizmów receptorów opioidowych, zmieniających ich funkcje [Bart i wsp., 2014]. W metaanalizie Kuip i wsp. przedstawiono, iż na metabolizm fentanylu, a więc także na jego zapotrzebowanie, ma wpływ działanie enzymu CYP3A4. Zarówno warianty genetyczne genu tego enzymu, jak i jednoczesne przyjmowanie leków i substancji, będących inhibitorami lub katalizatorami CYP3A4, odgrywają znaczącą rolę w farmakokinetyce fentanylu [Kuip i wsp., 2017]. W innym badaniu, autorzy norwescy analizowali zależność wieku, płci oraz BMI na zapotrzebowanie na inny lek opioidowy- oksykodon. Przedstawiono, że jedynie płeć ma istotne znaczenie w farmakokinetyce leku- mniejsze stężenia oksykodonu obserwowano po podaniu tej samej dawki u kobiet, niż u mężczyzn [Andreassen i wsp., 2011]. Jest to kolejny dowód, iż podłoże hormonalne może odgrywać ważną rolę nie tylko w patogenezie różnych schorzeń, ale też powinno być brane pod uwagę podczas doboru odpowiedniej terapii czy dawkowania leków.

Tak jak w przypadku wpływu BMI na nasilenie nudności i wymiotów, tak i w związku z wpływem BMI na natężenie bólu pooperacyjnego, warto zaznaczyć możliwość zależności tych dolegliwości od hormonów- kisspeptyny, leptyny oraz greliny, których stężenia, jak już wspomniano, są inne u osób otyłych [Koch i wsp., 2014b; Cummings i wsp., 2002; Kołodziejki i wsp., 2018]. Temat ten nie jest do końca zbadany, natomiast nieliczne, opublikowane prace, podkreślają możliwość wpływu leptyny, greliny oraz kisspeptyny na przekąźnictwo i odczuwanie bólu [Ataoglu i wsp., 2018]. U pacjentów z fibromialgią- chorobą zapalną, cechującą się przewlekłym bólem wielu grup mięśni i stawów, wykazano wyższe stężenia leptyny niż u osób zdrowych [Ataoglu i wsp., 2018]. W przypadku greliny natomiast, badanie na modelu zwierzęcym wykazało, że jej podawanie zmniejsza ból, prawdopodobnie w wyniku działania przeciwzapalnego (spadek mediatorów zapalnych IL-

10- interleukiny i TNF- β - czynnik martwicy nowotworów) [Azzizadeh i wsp., 2017]. W badaniu na myszach zasygnalizowano natomiast, że kisspeptyna może wzmacniać odczuwanie bólu, a leki działające na jej receptor mogą być punktem uchwytu nowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych [Spampinato i wsp., 2011].

Autorzy nie są do końca zgodni do wpływu BMI na odczuwanie bólu po zabiegach. Być może analizując stężenia wyżej wymienionych hormonów, wyjaśnionoby, w jaki sposób wysokie BMI, a raczej nadmierna tkanka tłuszczowa, mogą wpływać na nasilenie bólu. Dodatkowo, prawdopodobnie czynniki genetyczne oraz hormonalne odgrywają bardziej istotną rolę w natężeniu dolegliwości bólowych, aniżeli BMI; stąd rozbieżności w wynikach przedstawionych w różnych pracach [Bart i wsp., 2014; Kuip i wsp., 2017; Andreassen i wsp., 2011].

W prezentowanej rozprawie nie wykazano również korelacji między wiekiem badanych kobiet a natężeniem bólu. Prawdopodobnie wynika to z niewielkiego rozrzutu wieku chorych, które stanowiły młode pacjentki w okresie rozrodczym, lub obecności innych czynników ryzyka, które maskowały ewentualny wpływ wieku na nasilenie tych dolegliwości. W kilku badaniach, oceniających zależność dolegliwości od wieku, postuluje się, że wśród pacjentów młodszych ryzyko pojawienia się bólu pooperacyjnego jest większe. Badania te dotyczą jednak głównie oceny ryzyka wystąpienia bólu przewlekłego, a nie bólu ostrego; poza tym w analizowanych grupach wiek pacjentów był bardziej zróżnicowany (oceniano zarówno dolegliwości u dzieci, osób w wieku rozrodczym i ludzi starszych) [Janssen i wsp., 2011; Smith i wsp., 1999]. W badaniu Smitha i wsp. wykazano, że u starszych pacjentek poddanych mastektomii, ryzyko bólu przewlekłego jest najmniejsze [Smith i wsp., 1999]. Wśród kobiet w wieku powyżej 70 lat, ból przewlekły pojawił się u 26% operowanych pacjentek, w grupie wiekowej między 50 a 69 rokiem życia u 40%, natomiast aż 65% pacjentek poniżej 50 roku życia doświadczyło bólu przewlekłego po zabiegu. Autorzy tłumaczą to jednak gorszym rokowaniem, szybszym postępem choroby oraz opornością na radioterapię oraz chemioterapię, które częściej pojawiają się u młodszych kobiet [Smith i wsp., 1999].

W pracy Ivkovic i wsp. zaobserwowano różnice w odczuwaniu bólu, związanego z dysfunkcją stawu skroniowo-żuchwowego, między pacjentkami miesiączkującymi regularnie, kobietami po menopauzie oraz pacjentkami ciężarnymi [Ivković i wsp., 2018]. Najwięcej dolegliwości stwierdzono u kobiet po menopauzie, co korelowało z niskimi stężeniami estradiolu. W przypadku innych, wyżej cytowanych publikacji, których autorzy stwierdzają ujemną korelację bólu pooperacyjnego z wiekiem chorych, nie można więc wykluczyć, że

przyczyną takiego stanu jest nie sam wiek kobiet, ale też stężenia hormonów płciowych [Janssen i wsp., 2011; Smith i wsp., 1999]. Niniejsza rozprawa doktorska dotyczy analizy dolegliwości wyłącznie kobiet w wieku przedmenopauzalnym, stanowiących jednorodną grupę badawczą pod względem płci i wieku. Prawdopodobnie jest to przyczyna, dlaczego nie wykazano wpływu wieku na natężenie bólu pooperacyjnego. Gdyby do analizy włączono też kobiety starsze, po menopauzie, być może zaobserwowano by istotne różnice. Nie wiadomo jednak, czy powodem byłby tylko różny wiek, czy raczej odmienności w zakresie statusu hormonalnego.

5.3. Czas trwania zabiegu oraz rodzaj operacji a PONV i ból pooperacyjny

Opublikowano kilka prac, odnoszących się do porównania czynników związanych z zabiegiem (czas trwania i rodzaj zabiegu, użyte znieczulenie, grupy leków) na nasilenie PONV i bólu pooperacyjnego [Apfell i wsp., 2012b; Janssen i wsp., 2008; Misiołek i wsp., 2014]. Laparoskopie, a zwłaszcza laparoskopie ginekologiczne, uważane są za zabiegi obarczone dużym ryzykiem wystąpienia PONV [Apfell i wsp., 2012a, Sinclair i wsp., 1999]. Poza laparoskopiami [OR 1.37 (1.07–1.77)], także pozostałe zabiegi ginekologiczne [OR 1.24 (1.02–1.52)] oraz operacje pęcherzyka żółciowego [OR 1.90 (1.36–2.68)], uważane są za interwencje, po których incydenty PONV występują częściej [Apfell i wsp., 2012b]. Zdaniem innych autorów, trudno jest udowodnić, że konkretny rodzaj zabiegu stanowi niezależny czynnik ryzyka [Gan, 2006]. Nie można też wykluczyć innych, ważnych aspektów, takich jak wiek oraz płeć, które mogły mieć wpływ na nasilenie dolegliwości i zaważyć na wynikach porównań rodzaju zabiegu na nasilenie PONV [Gan, 2006].

W prezentowanej dysertacji nie zaobserwowano wpływu czasu trwania zabiegu na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Niektórzy autorzy postulują, że wraz ze wzrostem czasu trwania operacji obserwuje się nasilenie PONV [Sinclair i wsp., 1999]. Tłumaczą to dłuższą ekspozycją na wziewne leki anestetyczne, większymi dawkami podanych leków, które później dłużej są metabolizowane. Nie wiadomo jednak, czy są to niezależne czynniki ryzyka- porównywano duże grupy pacjentów różnej płci, wieku, poddanych różnego typu zabiegom, także trwającym ponad 3 godziny. Oceniając też czynniki PONV zależne od zabiegu, postuluje się, że to rodzaj użytych leków anestetycznych jest silniejszym czynnikiem ryzyka PONV, aniżeli czas trwania ekspozycji na znieczulenie. Do najbardziej emetogennych leków zalicza się wziewne leki anestetyczne, takie jak podtlenek azotu, sewofluran czy desfluran [OR 1.82, (1.56-2.12)] [Apfell i wsp., 2012a]. Pacjentki

włączone do analizy w prezentowanej rozprawie otrzymały zbliżony rodzaj znieczulenia- użyto tych samych leków, dopasowując jedynie ich dawki do masy ciała czy też czasu trwania zabiegu. Wszystkie chore otrzymały zarówno propofol, który jest uważany za lek względnie bezpieczny pod kątem indukcji PONV [Song i wsp., 1998], jak i fentanyl, będący lekiem z grupy opioidowych leków przeciwbólowych, mogących mieć działanie emetogenne. Do znieczulenia zastosowano także halogenowe pochodne- desfluran lub sewofluran, dopasowując dawki według minimalnego stężenia pęcherzykowego (MAC). Z analizy wyłączono natomiast pacjentki, które otrzymały podtlenek azotu, ze względu na jego silne działanie prowymiotne. Jak zaznaczono w metodyce rozprawy, nie oceniano dolegliwości, które pojawiły się we wczesnym okresie pooperacyjnym, właśnie ze względu na możliwy wpływ zastosowanych leków na natężenie PONV. Pierwsza analiza następowała w 6 godzinie po operacji. Być może to było przyczyną, dlaczego nie wykazano zależności między czasem trwania operacji (co pośrednio koreluje też z dawkami leków anestetycznych), a nasileniem PONV.

Laparoskopia, z powodu umiarkowanego uszkodzenia tkanek, uważana jest za zabieg o pośrednim ryzyku wystąpienia bólu pooperacyjnego [Ip i wsp., 2009]. Niewiele jest prac oceniających wpływ czasu trwania zabiegu i znieczulenia na nasilenie bólu pooperacyjnego. W jeden z prac opublikowanej przez Gagliese i wsp. nie wykazano korelacji między czasem trwania zabiegu a zapotrzebowaniem na morfinę ($r = 0.12$, $p=0.06$) [Gagliese i wsp., 2008]. Było to badanie wielośrodkowe, przeprowadzone wśród 246 pacjentów różnej płci i wieku, poddanych zabiegom różnego rodzaju- nie tylko laparoskopii, ale też laparotomii, operacjom ortopedycznym. Wykazano silny wpływ wieku na nasilenie dolegliwości i zużycie morfiny, natomiast czas trwania operacji nie odgrywał żadnej roli w natężeniu bólu pooperacyjnego. Również wśród 212 pacjentów, poddanych zabiegom okulistycznym w znieczuleniu ogólnym, nie wykazano zależności bólu pooperacyjnego od czasu trwania operacji [Huijing i wsp., 2018]. Podobne wyniki uzyskano w prezentowanej rozprawie doktorskiej. Brak wpływu długości zabiegu na nasilenie bólu, zgodne wśród autorów, jest prawdopodobnie wynikiem obecności innych czynników ryzyka, które mają istotny wpływ na natężenie bólu pooperacyjnego. Być może wspomniany wcześniej rodzaj zabiegu, wiek operowanych osób oraz ich płeć czy też inna faza cyklu miesięczkowego, stanowią silniejsze czynniki ryzyka nasilenia tych dolegliwości, aniżeli czas trwania operacji [Ip i wsp., 2009; Hsien i wsp., 2017; Janssen i wsp., 2011].

5.4. PONV i ból pooperacyjny a estradiol i progesteron

Wstępne badania dotyczące powiązań między układem serotonergicznym a hormonami płciowymi skłoniły niektórych autorów do poszukiwań wpływu gospodarki hormonalnej kobiet na nasilenie nudności, wymiotów oraz bólu pooperacyjnego [Genazanni i wsp., 1990; Lu i wsp., 1999; Pecins-Thompson i wsp., 1996].

W niniejszej rozprawie doktorskiej nie wykazano wpływu stężeń hormonów płciowych- estradiolu i progesteronu, na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych. W grupie pacjentek z niewielkimi dolegliwościami w zakresie PONV (chore, których wynik oceny nudności po agregacji był ujemny- odczuwały mniej tych dolegliwości na tle całej grupy), jak i w grupie pacjentek z dużymi dolegliwościami (chore, których wynik oceny nudności po agregacji był wartością dodatnią), zarówno stężenie progesteronu jak i estradiolu nie różniło się istotnie ($p>0,05$).

Mimo wszystko, przedstawiono istotną statystycznie różnicę w nasileniu PONV między pacjentkami, które były w różnych fazach cyklu miesięczkowego w trakcie operacji. Chore operowane w fazie lutealnej zgłaszały silniejsze dolegliwości, aniżeli te operowane w fazie folikularnej. Średnie stężenie progesteronu w fazie folikularnej było niższe i wynosiło $0,70\pm 0,34$ ng/ml, natomiast w fazie lutealnej było wyższe- $5,62\pm 3,46$ ng/ml ($p<0,05$). W przypadku estradiolu stężenia te wynosiły $122,55\pm 92,62$ pg/ml i $145,87\pm 105,40$ pg/ml, odpowiednio w fazie folikularnej i lutealnej i nie różniły się istotnie ($p>0,05$). Być może duży rozrzut wyników w zakresie stężeń hormonów płciowych spowodował, że nie wykazano istotnych różnic w zakresie stężeń progesteronu i estradiolu, a wykazano różnice w kwestii fazy cyklu. Stężenie hormonów pacjentek operowanych tuż po miesiączce, było z pewnością inne niż chorych, u których zabieg przeprowadzono przed owulacją, mimo, iż operowane były w jednej fazie- folikularnej. Tak samo, analizując różne pacjentki operowane w fazie lutealnej, inne stężenia hormonów występowały u tych, które operowane były tuż po owulacji i u tych chorych, u których wykonano histero-laparoskopię przed miesiączką. Warto podkreślić, że z analizy wykluczono pacjentki w czasie menstruacji (nie było więc chorych operowanych w pierwszych dniach cyklu), gdzie w innych pracach włączono je do badania [Beattie i wsp., 1991]. Również kryteria zakwalifikowania pacjentek do danej grupy w prezentowanej rozprawie były jednoznaczne. Jako fazę lutealną ustalono obecność ciała żółtego, stwierdzono w badaniu ultrasonograficznym lub podczas operacji, z jednoczesnym stężeniem progesteronu w surowicy krwi powyżej 1,4 ng/ml [Roos i wsp., 2015; Prior i wsp., 2015].

Średnie stężenie estradiolu nie różniło się w grupach kobiet operowanych w fazie folikularnej i lutealnej ($p > 0,05$); większe było natomiast stężenie progesteronu w fazie lutealnej ($p < 0,05$). Progesteron i estradiol są hormonami, działającymi rozkurczowo na zwieracz przełyku; opóźniają opróżnianie żołądka, hamują perystaltykę przewodu pokarmowego, w związku z tym mogą powodować nasilenie nudności [Zia i wsp., 2016]. W prezentowanej rozprawie doktorskiej nie wykazano wpływu progesteronu na nasilenie nudności i wymiotów; być może wynika to z synergistycznego działania estradiolu, który również uważa się za hormon o działaniu emetogennym [Harmon i wsp., 2000a, Lagiou i wsp., 2003; Ji i wsp., 2007]. Średnie stężenie estradiolu nie różniło się istotnie między grupami, jednakże aż 20% chorych operowanych w fazie folikularnej miało stężenie estradiolu powyżej 200 pg/ml (w tym 8% powyżej 300 pg/ml), natomiast wśród pacjentek, u których zabieg przeprowadzono w fazie lutealnej, tylko 12% kobiet miało stężenie estradiolu powyżej 200 pg/ml (w tym 2% chorych powyżej 300 pg/ml). W kilku badaniach postulowano, że wyższy pik estradiolu przed owulacją zwiększa ryzyko wystąpienia nudności i wymiotów pooperacyjnych. Badania te dotyczyły pacjentek poddanych procedurze pobrania pęcherzyków jajnikowych przed zabiegiem zapłodnienia pozaustrojowego, który uważa się za obarczony istotnym ryzykiem wystąpienia PONV, właśnie ze względu na нефизjologiczne, wysokie stężenia estradiolu [Lindblad i wsp., 1990]. Podsumowując, uzyskane w prezentowanej rozprawie doktorskiej wyniki- większe nasilenie PONV w grupie pacjentek operowanych w fazie lutealnej i brak wpływu hormonów płciowych na te dolegliwości, mogą wynikać z synergistycznego działania progesteronu i estradiolu na upośledzenie motoryki układu pokarmowego, a w konsekwencji na nasilenie nudności i wymiotów [Zia i wsp., 2016]. Sugerują to badania dotyczące niepowściągliwych wymiotów ciężarnych- kobiety, u których wystąpiły te dolegliwości, cechowały się wyższym stężeniem estradiolu i progesteronu, a prowymiotne działanie tych hormonów uważa się za jeden z czynników ryzyka [Depue i wsp., 1987; Body i wsp., 2016].

Prawdopodobnie muszą też istnieć inne czynniki, które miały wpływ na pojawienie się różnic w grupach analizowanych względem fazy cyklu miesięczkowego. Wyniki opublikowanych do tej pory badań nie są jednoznaczne. Większość z nich skupiała się na ocenie zależności między fazami cyklu, nie oceniając, tak jak w przeciwieństwie do niniejszej rozprawy, stężenia hormonów. Dodatkowo podział pacjentek na podgrupy był różny; część autorów wyróżniała jedynie dwie fazy- folikularną i lutealną, a niektórzy wyodrębniali jeszcze fazę okołowulacyjną i menstruacyjną [Honkaavara, 1991; Harmon i wsp., 2000a; Jeong-Woo i wsp., 2008]. Natomiast w wielu pracach kwalifikacje chorych do odpowiedniej grupy nie

zawsze były precyzyjne- opierano się na danych z wywiadu, a nie wykonywano oceny ultrasonograficznej czy też pomiaru stężenia progesteronu [Harmon i wsp., 2000a, Šimurina i wsp., 2012; Panditrao i wsp., 2011].

W jednym z badań wysunięto hipotezę, że konieczność podawania leków przeciwwymiotnych u kobiet operowanych w różnych fazach cyklu jest odmienna. [Honkaavara, 1991]. Honkavaara i wsp. wykazali, że PONV były najwyższe w fazie lutealnej (pojawiły się wśród 77% operowanych laparoskopowo pacjentek), co odzwierciedlone zostało też w zapotrzebowaniu na leki antiemetyczne. Potwierdzałyby to wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie- pacjentki, u których zabiegi przeprowadzane były w lutealnej fazie cyklu, odczuwały większy dyskomfort w zakresie nudności i wymiotów pooperacyjnych. Z kolei Harmon i wsp. [Harmon i wsp., 2000a] przedstawili pracę, w której częstsze występowanie PONV występowało w grupie kobiet operowanych w okresie okołomenstruacyjnym (25-10 dzień cyklu) w porównaniu do grupy operowanej w okresie okołoolulatoryjnym ($p < 0,05$). Wyniki te tłumaczono niższym stężeniem estradiolu w grupie chorych, wśród których PONV manifestowane były częściej ($p = 0,04$). Była to jednak tylko hipoteza autorów, gdyż stężenie estradiolu nie było przez nich oznaczane. Ze względu na inny podział pacjentek nie można też porównać uzyskanych wyników- w grupie, w której odsetek PONV był wyższy (okołomenstruacyjna), znajdowały się pacjentki operowane zarówno w późnej fazie lutealnej, jak i chore operowane we wczesnej fazie folikularnej, a więc także w czasie menstruacji. Do analizy w prezentowanej dysertacji nie włączono kobiet w okresie miesiączki; co więcej, stanowiło to dyskwalifikację z zabiegu. Część autorów nie wykazała żadnego wpływu fazy cyklu ani stężeń hormonów płciowych na ryzyko nudności i wymiotów [Jeong-Woo i wsp., 2008].

Šimurina i wsp. z kolei oceniali wpływ fazy cyklu na wystąpienie PONV we wczesnej (0-2 godziny) oraz późnej (2-24 godziny) fazie pooperacyjnej [Šimurina i wsp., 2012]. Wykazano większy odsetek tych dolegliwości przez cały okres obserwacji (24 godziny) u kobiet operowanych w fazie folikularnej, aczkolwiek oceniając PONV tylko w późnej fazie pooperacyjnej, nie zaobserwowano już różnic w nasileniu dolegliwości. Trudno więc wykluczyć ewentualny wpływ środków podawanych w czasie znieczulenia na wystąpienie nudności i wymiotów we wczesnej fazie po zabiegu, która nie była celowo oceniana w prezentowanej rozprawie (0-2 godziny). Być może różnice w nasileniu PONV między porównywanymi grupami nie wynikały więc z innej fazy cyklu, w której wykonano zabieg, ale zastosowanego znieczulenia.

Podobne wyniki do badania Simuriny otrzymali też Panditrao i wsp., którzy oceniali PONV 30 min, 60 min, 90 min, 2 godziny, 6 godzin oraz 12 i 24 godziny po zabiegu [Panditrao i wsp., 2011]. Do badania włączono tylko pacjentki regularnie miesiączkujące, co 28 dni, a podziału na fazy cyklu dokonano na podstawie dnia cyklu, a nie stężenia hormonów czy oceny ultrasonograficznej. Pacjentki operowane w dniach cyklu od 1 do 14 włączono do grupy operowanej w fazie folikularnej, a mające zabieg w 15-28 dniu cyklu- do grupy operowanej w fazie lutealnej. Podział pacjentek według dnia cyklu nie wydaje się najbardziej obiektywną metodą, zważywszy chociażby na fakt, że pacjentki często nie pamiętają pierwszego dnia ostatniej miesiączki, a dodatkowo u każdej kobiety stężenia hormonów w tych samych dniach cyklu mogą być inne. Panditrao i wsp. wykazali wyższy odsetek nudności i wymiotów pooperacyjnych w grupie pacjentek operowanych w fazie folikularnej; istotnie statystycznie różnice wystąpiły 30 minut, 90 minut oraz 12 godzin po operacji. Do badania włączono ocenę dolegliwości również w pierwszych dwóch godzinach po zabiegu, kiedy nie można wykluczyć wpływu nie tylko gospodarki hormonalnej, ale przede wszystkim leków użytych do znieczulenia, które wykazują działania emetogenne. W przypadku odrzucenia oceny dolegliwości 30, 60 oraz 90 minut po operacji, rezultaty mogłyby być odmienne, dlatego trudno o ostateczną interpretację uzyskanych przez autorów wyników. W prezentowanej rozprawie świadomie pominięto ocenę PONV w pierwszych godzinach po operacji (analizowano dopiero dolegliwości od 6 godziny po zabiegu), by wykluczyć możliwy wpływ zastosowanych leków na natężenie PONV. Podsumowując, obie te prace [Šimurina i wsp., 2012; Panditrao i wsp., 2011] wskazują na częstszy odsetek PONV u kobiet operowanych w fazie folikularnej, aczkolwiek występujące przede wszystkim we wczesnej fazie pooperacyjnej, która celowo nie była oceniana w prezentowanej rozprawie.

Beattie i wsp., w swojej analizie podzielili pacjentki na operowane w czasie menstruacji, oraz na te, u których zabieg przeprowadzono w innych dniach cyklu [Beattie i wsp., 1993]. Potwierdzono wyższy odsetek PONV w grupie pacjentek operowanych w czasie miesiączki. W niniejszej dysertacji celowo nie włączono do analizy pacjentek, które były w trakcie menstruacji; krwawienie miesiączkowe stanowiło też dyskwalifikację z zabiegu (brak możliwości wykonania histeroskopii i chromoskopii, które są istotnymi elementami diagnostyki niepłodności). W związku z powyższym, nie jest możliwe porównanie powyżej pracy z prezentowaną rozprawą.

Część autorów jest natomiast zdania, że duże znaczenie w natężeniu PONV ma regularność cyklu- Harmon i wsp. większy odsetek tych powikłań pooperacyjnych obserwowali w przypadku pacjentek z nieregularnymi cyklami miesiączkowymi [Harmon i

wsp., 2000b]. Odsetek wystąpienia PONV wynosił 40,5% w grupie pacjentek miesiączkujących nieregularnie w porównaniu do 20,5% w grupie pacjentek z regularnymi cyklami miesiączkowymi. Nie oceniano zarówno fazy cyklu, ani stężeń hormonów w dniu operacji, a grupa badawcza była o połowę mniejsza niż w niniejszej rozprawie, co można uznać za wady zastosowanej metodyki. Poza tym, wszystkie pacjentki, których dolegliwości były oceniane w przedstawianej dysertacji, miały regularne cykle miesiączkowe, a więc trudno o porównania cytowanej pracy z niniejszą rozprawą.

Podsumowując, rozbieżności w wynikach w prezentowanych pracach wynikają w dużej mierze z odmiennej metodyki. Kwalifikacja pacjentek do grup operowanych w innych fazach cyklu oparta na wywiadzie, a nie ocenie laboratoryjnej czy ultrasonograficznej, włączenie do analizy nudności i wymiotów występujących w pierwszych godzinach po zabiegu, kiedy istotny wpływ na nie mają podawane podczas operacji leki anestetyczne, zakwalifikowanie do badań pacjentek w czasie menstruacji, małe grupy badawcze- to tylko niektóre mankamenty dotychczas opublikowanych prac. Przyjęta w niniejszej rozprawie metodyka- zarówno kwalifikacja pacjentek do odpowiedniej fazy cyklu, jednorodna grupa badawcza, analiza dolegliwości w oparciu o agregację (służąca do oceny stanu pacjentek przez cały okres pooperacyjny) daje podstawy do wysunięcia wniosku, iż kobiety operowane w drugiej fazie cyklu miesiączkowego odczuwają więcej nudności i wymiotów pooperacyjnych. Kolejne prace, oparte o taką samą, jednolitą metodykę, mogłyby przyczynić się do potwierdzenia tego stanowiska.

Od niedawna zgłębia się też temat zależności fazy cyklu miesiączkowego, w której odbywał się zabieg, na ryzyko pojawienia się bólu pooperacyjnego. W prezentowanej rozprawie nie wykazano odmienności w zakresie subiektywnej oceny bólu przez pacjentki (przedstawionej w formie wyników po agregacji), ani zapotrzebowania na leki przeciwbólowe od fazy cyklu miesiączkowego.

W jednej z prac wykazano większy odsetek tych dolegliwości, jak i zużycia leków analgetycznych, w grupie pacjentek operowanych w fazie lutealnej cyklu miesiączkowego [Piroli i wsp., 2018]. Badanie to dotyczyło chorych operowanych metodą laparoskopii ginekologicznej. Ból oceniano 15, 30, 45, 60 min od zakończenia zabiegu oraz 12 i 24 godziny po laparoskopii. Aż cztery pomiary wykonywane były we wczesnej fazie po zabiegu, w którym wpływ na dolegliwości miały z pewnością podawane na sali operacyjnej leki anestetyczne [Apfell i wsp., 2002]. W prezentowanej dysertacji celowo pominięto pomiar dolegliwości w tym okresie, a pierwsza ocena następowała, tak jak w przypadku nasilenia PONV, w 6 godzinie po zabiegu. Analizowano bowiem tylko dolegliwości, które nie zależały

od zaordynowanych niezależnie od pacjentki leków, a ich pomiar następował dopiero po wypisaniu z oddziału pooperacyjnego, gdy chora była świadoma, co miało wpływ na postrzeganie komfortu pooperacyjnego. W niedawno przeprowadzonej analizie przez Ahmed i wsp. oceniano zarówno nasilenie bólu, jak i zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe u kobiet poddanych histerektomii w 6, 12 i 24 godziny po zabiegu. Wykazano nieznaczną, ale statystycznie istotną przewagę nasilenia bólu w 12 godzinie po operacji u kobiet operowanych w fazie lutealnej [Ahmed i wsp., 2012]. Histerektomia wykonywana była jednak w laparotomii, a nie metodą laparoskopową. Co więcej, do badania włączono tylko 60 pacjentek, a więc grupa badawcza była znacznie mniejsza od grupy włączonej do niniejszej dysertacji. Dodatkowo, analizowano osobno dolegliwości bólowe w poszczególnych godzinach po operacji (6, 12 i 24), a w przypadku prezentowanej rozprawy dokonano statystycznej agregacji danych, dzięki której analizowano dolegliwości bólowe, które wystąpiły przez cały okres 24-godzinnej obserwacji, nie dzieląc jej na punktowe oceny bólu. Ahmed i wsp., poza subiektywną oceną bólu, oceniał też zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe, tak jak to miało miejsce w prezentowanej rozprawie. Tak samo jak wykazano w niniejszej dysertacji, autorzy ci nie zaobserwowali różnic w zużyciu leków od fazy cyklu miesięczkowego.

W innej pracy analizowano natomiast zależność bólu pooperacyjnego nie tylko od fazy cyklu, ale również od występowania zespołu napięcia przedmiesiączkowego (PMS) [Arab i wsp., 2015]. Pacjentki z PMS cechowały się wyższym odczuwaniem bólu, niezależnie od fazy cyklu, natomiast najsilniejsze dolegliwości bólowe oraz konieczność podawania analgetyków po operacji zgłaszały pacjentki z PMS operowane w fazie folikularnej. Z tej pracy wynika, że ból jest najslabiej odczuwany przez kobiety w fazie lutealnej, które dodatkowo nie mają PMS w wywiadzie. Do badania włączono 140 kobiet, a więc ponownie grupa badawcza była istotnie mniejsza od analizowanej w prezentowanej rozprawie. Co więcej, pacjentki poddane były operacjom różnego typu- histerektomii (z dostępu prostego i poprzecznego), miomektomii oraz cholecystektomii w laparotomii.

W innej pracy, przeprowadzonej wśród kobiet poddanych cholecystektomii laparoskopowej, nie wykazano z kolei, aby faza cyklu miała jakikolwiek wpływ na dolegliwości bólowe w ciągu 24 godzin po zabiegu [Sari i wsp. 2018]. Uzyskano więc te same wnioski, jak w niniejszej dysertacji, ale odmienna była jednak metodyka pracy- wnioski opierano o wyniki punktowych ocen bólu, które wykonywano przez dobę po zabiegu, ale co cztery godziny. W prezentowanej rozprawie punktowe oceny bólu w skali VAS przekształcono w cechy wystandaryzowane i zagregowane, aby móc ocenić stan chorych przez cały pobyt pooperacyjny. Również Sener i wsp. [Sener i wsp., 2005] nie zauważyli, aby

zapotrzebowanie na przeciwbólowe leki opioidowe było zależne od fazy cyklu. Do analizy włączono jednak tylko 67 kobiet, które dodatkowo podzielono na 4 podgrupy- operowane w fazie menstruacyjnej, wczesnej fazie folikularnej, późnej fazie folikularnej oraz w fazie lutealnej. W obu tych pracach (Sari oraz Sennera i wsp.) ustalono to samo stanowisko co w prezentowanej rozprawie doktorskiej- brak wpływu fazy cyklu na nasilenie bólu pooperacyjnego i zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe.

Jak łatwo zauważyć, autorzy dotąd opublikowanych, nielicznych badań, nie są do końca zgodni co do ostatecznych wniosków na temat wpływu fazy cyklu, w której wykonuje się operacje, na natężenie bólu u pacjentek. Zamieszczone dotychczas prace opierają swoje wnioski na wynikach uzyskanych wśród małych grup pacjentek, poddanych zabiegom różnego typu, u których ocena dolegliwości i postępowanie związane z leczeniem bólu i PONV było odmienne. Z pewnością atutem prezentowanej rozprawy jest jednolita grupa badawcza, którą stanowiły tylko kobiety w wieku rozrodczym, miesiączkujące regularnie, poddane operacji jednego typu- histero-laparoskopii. W badaniach, w których celowo pominięto ocenę dolegliwości w pierwszych godzinach po zabiegu (aby wykluczyć wpływ podawanych na sali operacyjnej leków anestetycznych i przeciwbólowych), przeważa stanowisko zgodne z przyjętym w niniejszej dysertacji- faza cyklu nie wpływa na nasilenie bólu pooperacyjnego i zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe.

5.5. Ból i PONV a serotonina

Wpływ serotoniny na regulację procesu odczuwania bólu i nudności jest postulowany przez część autorów [Zhou i wsp., 2018; De Winter 2012; Spiller, 2008]. Dowodem wpływu serotoniny na modulację bólu jest chociażby fakt, że na drodze zstępującej hamującej ból, stanowi ona ważny neurotransmitter, dlatego celem uśmierzenia bólu stosuje się leki hamujące jej zwrotny wychwyt (tramadol, amitryptylina) [Damjanov, 2010; Żylicz i wsp., 2003]. Tezę, iż serotonina odgrywa ważną rolę w powstawaniu odruchu wymiotnego potwierdza z kolei fakt, że jednymi z najbardziej skutecznych leków przeciwwymiotnych są antagoniści receptora serotoninowego $5HT_3$ [Scuderi i wsp., 1993; 9-McKenzie i wsp., 1993]. Dodatkowo, serotonina jest też wydzielana lokalnie w miejscu uszkodzenia tkanek, wynikającego z ich nacięcia lub koagulacji w trakcie operacji [De Winter 2012; Spiller, 2008]. W konsekwencji dochodzi do powstania lokalnej reakcji zapalnej oraz bólu w miejscu operowanym. W związku z tym, że ból także może powodować odruch wymiotny na drodze stanu zapalnego i

wydzielania mediatorów zapalenia, postuluje się, że serotonina jest ogniwem łączącym zarówno ból, jak i nudności i wymioty pooperacyjne [Faerber i wsp., 2007].

W świetle powyższych informacji można wywnioskować, że wysokie stężenie serotoniny będzie wpływać ochronnie na odczuwanie bólu, ale z drugiej strony, może nasilać ryzyko pojawienia się nudności i wymiotów. Niewiele jest jednak badań, w których oceniano stężenie serotoniny wśród operowanych pacjentów i jej wpływ na nasilenie dolegliwości pooperacyjnych. Hipotezy dotyczące tych zależności poparte są jedynie wiedzą o patofizjologii bólu i odruchu wymiotnego.

W prezentowanej rozprawie doktorskiej nie udowodniono wpływu stężenia serotoniny na nasilenie bólu i PONV. Mimo to, pośrednio zaobserwowano pewną korelację- u pacjentek, które miały wyższy poziom serotoniny, zapotrzebowanie na opioidowe leki przeciwbólowe było niższe. Chociaż nie potwierdzono więc zależności stężenia serotoniny na odczuwanie bólu, oceniane przez pacjentki w ciągu 24 godzin (dane poddane następnie agregacji), ani też między jej stężeniem a zapotrzebowaniem na nieopiodowe leki przeciwbólowe, to jednak wpływ na zużycie silniejszych, opioidowych leków analgetycznych, niejako potwierdza teorię, że wyższe stężenie serotoniny działa ochronnie na odczuwanie bólu. Teza ta ugruntowana jest znajomością patofizjologii reakcji bólowej, którą omówiono powyżej. Przyczyną, dlaczego wykazano zależność między koniecznością podania leków opioidowych a stężeniem serotoniny i brak tych zależności między oceną bólu przez pacjentki, może wynikać z obecności dwóch typów bólu pooperacyjnego, charakteryzującego wyłącznie zabiegi laparoskopowe [Hsien i wsp., 2017]. W prezentowanej rozprawie celowo nie wyszczególniano rodzaju bólu, który dotyczył pacjentek, na tzw. ból chirurgiczny- w miejscu operowanym oraz niechirurgiczny- pojawiający się w okolicy barków, spowodowany odłą brzuszną, niezbędną do przeprowadzenia laparoskopii. Tematem zainteresowania prezentowanej dysertacji była bowiem całościowa analiza komfortu pooperacyjnego pacjentek i próba jego poprawy. Chore oceniały kilkakrotnie w ciągu doby ogólne odczucie dolegliwości, w skali od 0-10 (skali NRS), a wyniki te następnie przedstawiono w postaci zagregowanej, tak, by przedstawiały ogólny obraz kliniczny pacjentek, przez cały okres pooperacyjnej obserwacji. Podawane leki analgetyczne działają przede wszystkim na ból w miejscu operowanym, który wynika z pobudzenia nocycceptorów, wydzielania szeregu substancji, będących mediatorami zapalenia i powstania lokalnego odczynu zapalnego [Damjanov, 2010; Misiołek i wsp., 2014; Faerber i wsp., 2007], a nie ból niechirurgiczny. Jak wykazały opublikowane dotąd, nieliczne prace, u osób młodszych, których powłoki brzuszne są zwarte, o dużym stopniu napięcia tkanek, ból rzutujący do okolic barków, spowodowany

podrażnieniem przepony i nerwów przeponowych, stanowi istotny odsetek bólu pooperacyjnego [Craciunas i wsp., 2014; Kerimoglu i wsp., 2015]. Dualistyczny charakter bólu, typowy wyłącznie dla zabiegów endoskopowych, może być więc przyczyną, dlatego wykazano zależność stężenia serotoniny od zapotrzebowania na przeciwbólowe leki opioidowe, a nie wykazano takiej korelacji między oceną bólu przez pacjentki.

Nie znaleziono prac, które poświęcone byłyby ocenie stężenia serotoniny u pacjentek poddanych laparoskopii ginekologicznej. Co więcej, również publikacji poświęconych zależności stężenia serotoniny na nasilenie dolegliwości pooperacyjnych, niezależnie od rodzaju zabiegu, jest niewiele. Jest to więc cały czas temat niezbadany, poparty jedynie wiedzą z zakresu patofizjologii powstawania bólu i odruchu wymiotnego.

W badaniu poświęconym ocenie bólu po cholecystektomii laparoskopowej stwierdzono, iż pacjenci, u których stężenie serotoniny było wyższe, odczuwali mniejszy ból, a także zapotrzebowanie na leki przeciwbólowe było u nich mniejsze [Zhou i wsp., 2018]. Do analizy włączono 80 pacjentów, zarówno mężczyzn, jak i kobiety, a wnioski dotyczące bólu pooperacyjnego oparto o punktowe oceny bólu, wykonane kilkakrotnie w ciągu pierwszej doby pooperacyjnej, stosując skalę NRS. W zakresie wpływu stężenia serotoniny na zapotrzebowanie na leki analgetyczne wykazano zgodne wnioski z niniejszą rozprawą (podawano jednak tylko jeden rodzaj leku opioidowego), ponadto grupa badawcza w cytowanej pracy była zdecydowanie mniej liczna, stanowili ją pacjenci starsi (średnia wieku powyżej 50 lat) i niejednorodna pod względem płci pacjentów. W innej pracy badano stężenie serotoniny u pacjentów z przewlekłym bólem odcinka lędźwiowego kręgosłupa przez 14 dni po operacji ortopedycznej [Farhanchi i wsp., 2018]. Do badania włączono 40 pacjentów-kobiety i mężczyzn. Analizując dolegliwości pacjentów jako jedną grupę, wykazano spadek dolegliwości bólowych po operacji, natomiast stężenie serotoniny nie zmieniło się istotnie. Dzieląc natomiast chorych na podgrupy względem płci, zaobserwowano zależność między wzrostem stężenia serotoniny a mniejszym bólem po operacji, jednak tylko w podgrupie mężczyzn. Nie odnotowano takiej korelacji wśród kobiet. Badanie to podkreśla więc obecność niewyjaśnionych ostatecznie powiązań między układem serotonergicznym a hormonalnym. Twórcy pracy nie odnieśli się jednak do odmienności między wpływem stężenia serotoniny na nasilenie bólu wśród kobiet i mężczyzn, a wydaje się to ważnym zagadnieniem, wartym dalszych badań.

W przypadku oceny stężenia serotoniny i jej korelacji z poziomem nudności i wymiotów pooperacyjnych, znaleziono jedynie jedną publikację, w której autorzy dokonali takiej analizy [Zhou i wsp., 2018]. Wśród pacjentów poddanych cholecystektomii

laparoskopowej wykazano ujemną zależność pomiędzy stężeniem serotoniny a nasileniem nudności i wymiotów pooperacyjnych. Zaprzeczałoby to przyjętej teorii, opartej o znajomość odruchu wymiotnego i mechanizmu leczenia nudności, iż wyższe stężenie serotoniny nasila PONV [Scuderi i wsp., 1993; McKenzie i wsp., 1993; Faerber i wsp., 2007]. Do analizy włączono jednak tylko 80 chorych, zarówno mężczyzn, jak i kobiety, a w związku z brakiem innych publikacji, poświęconych ocenie stężenia serotoniny na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych, nie pozwala to na ustalenie ostatecznego stanowiska. W prezentowanej dysertacji nie wykazano, aby stężenie serotoniny miało wpływ na nasilenie PONV. Być może nowe światło na to zagadnienie rzuciłoby wykonanie dodatkowych badań laboratoryjnych, chociażby oceny stężenia metabolitu serotoniny w moczu- kwasu 5-hydroksyindolooctowego, które wykonuje się w niektórych schorzeniach z towarzyszącym nadmiernym wydzielaniem serotoniny, np. guzach neuroendokrynych [Dorszewska i wsp., 2017]. Część autorów uważa, że pomiar metabolitów serotoniny jest bardziej wartościowy niż ocena jej stężenia we krwi, gdyż metabolity odzwierciedlają pośrednio, jakie stężenie serotoniny występowało w organizmie przez dłuższy czas; pomija się też możliwość wpływu diety na jej poziom we krwi [Kema i wsp., 1992; Lindström i wsp., 2018]. Pacjentki włączone do analizy w prezentowanej rozprawie były pouczone, aby stosować dietę ubogą w tryptofan przez kilka dni przed zabiegiem, także można wykluczyć wpływ diety na istotne fluktuacje w stężeniu serotoniny. Wykonanie dobowej zbiórki moczu, celem pomiaru kwasu 5-hydroksyindolooctowego, nie było jednak technicznie możliwe w dniu operacji, a celem dysertacji była ocena stężeń hormonów płciowych i serotoniny dokładnie w dniu zabiegu, na nasilenie dolegliwości pooperacyjnych.

W pracy Cengiz i wsp. poświęconej zależności stężenia serotoniny i wystąpieniu niepowściągliwych wymiotów ciężarnych wykazano, że wśród kobiet, u których stężenie tej aminy biogennej było wyższe, pacjentki częściej doświadczały tego powikłania we wczesnej ciąży [Cengiz i wsp., 2015]. Badanie wykonano wśród 87 kobiet (połowę stanowiły kobiety, u których te dolegliwości nie wystąpiły); oceniano również stężenie estradiolu. Nie wykazano jednak korelacji między stężeniem estradiolu a nasileniem wymiotów ani między stężeniem estradiolu a stężeniem serotoniny [Cengiz i wsp., 2015]. Pozostałe badania, oceniające nasilenie PONV po laparoskopii, poświęcone były analizie wpływu stymulacji punktu P6 za pomocą akupunktury [Albooghobeish i wsp., 2017; Turgut i wsp., 2007; Cooke i wsp., 2015]. U części pacjentów jest to skuteczna prewencja nudności i wymiotów, a autorzy postulują, iż wynika to ze zmniejszenia stężenia serotoniny lub zaburzenia jej transmisji. W żadnej z cytowanych prac nie dokonano jednak oceny stężenia serotoniny wśród chorych; posiłkowano

się jedynie wiedzą z zakresu patofizjologii odruchu wymiotnego. Jak wynika z powyższych informacji, niewiele jest badań, oceniających stężenie serotoniny wśród pacjentów poddawanych operacjom, nie tylko laparoskopowym.

Brak prostej zależności między nasileniem PONV i bólu a stężeniem serotoniny, wykazane w niniejszej rozprawie, a jednocześnie potwierdzenie, iż jej niskie stężenie częściej wiąże się z koniecznością podania opioidowych leków przeciwbólowych, podkreśla złożoność problemu. Prezentowana rozprawa jest pierwszym badaniem, w którym poddano ocenie stężenie serotoniny u pacjentek poddanych histeroskopii i laparoskopii ginekologicznej.

Można założyć, że zaobserwowanie PONV wśród pacjentek włączonych do niniejszej rozprawy w większym stopniu zależało od innych czynników- głównie oddziaływań hormonalnych, o czym świadczy występowanie większych dolegliwości u kobiet operowanych w fazie lutealnej.

5.6. PONV i ból pooperacyjny a warianty genetyczne receptorów ESR1 i PGR

W przypadku polimorfizmu receptorów estrogenowych i progesteronowych, brak jest prac, oceniających ich wpływ na dolegliwości takie jak ból czy nudności oraz wymioty pooperacyjne. Nie ma więc możliwości, aby porównać uzyskane wyniki z danymi opublikowanymi przez innych autorów. Decyzja, aby zbadać te zależności, wynikała z przesłanek dotyczących wpływu gospodarki hormonalnej- fazy cyklu, stężeń hormonów płciowych- na te dolegliwości.

Nie wykazano zależności między obecnością konkretnych wariantów genetycznych receptorów estrogenowego ESR1 oraz progesteronowego PGR na nasilenie PONV i bólu pooperacyjnego. Należy jednak pamiętać, że analizowano jedynie jeden polimorfizm dotyczący receptora estrogenowego i dwa dotyczące receptora progesteronowego. Ich wybór był losowy; są to polimorfizmy badane często, ale oceniano je dotychczas w innych aspektach [Lazaros i wsp. 2010; Hu i wsp., 2017; Joshi i wsp., 2010]. Przykładowo, polimorfizm genu ESR1 analizowany był w kontekście wpływu na jakość nasienia [Lazaros i wsp. 2010], na gęstość kości i osteoporozę [Mondockova i wsp., 2018], występowanie raka piersi [Hu i wsp., 2017], niepłodność partnerską [Liaqat i wsp., 2015] czy też zespół przedwczesnej niewydolności jajników [He i wsp., 2015]. Z kolei receptor progesteronowy i jego warianty genetyczne oceniany był w aspekcie epidemiologii migreny [Joshi i wsp., 2010], endometriozy [Pabalan i wsp., 2014], mięśniaków i raka endometrium [Junqueira i wsp., 2007], raka piersi [Qi i wsp., 2017] oraz poronień [Razdaibiedinai wsp., 2018]. Metodyka ich

oznaczania była więc dobrze opisana, ale ewentualny wpływ na dolegliwości pooperacyjne, jak dotąd był nieznan. Być może poszukiwanie i analiza innych polimorfizmów tych receptorów przyniesie odpowiedź, czy natężenie PONV i bólu pooperacyjnego ma podłoże genetyczne. Przesłanki dotyczące zależności między stężeniem estrogenów i progesteronu na powyższe dolegliwości pooperacyjne pozwalają mieć nadzieję, że znalezienie odpowiednich polimorfizmów, które odpowiadają za odmienności w odczuwaniu PONV i bólu, są być może tylko kwestią czasu. Mnogość wariantów genetycznych stanowi jednak spore utrudnienie w poszukiwaniach. Mimo wszystko wydaje się, że podjęcie trudu tych badań jest warte włożonego wysiłku. Nie tylko wyjaśniłoby to bowiem odmienne stanowiska autorów i rozbieżne wyniki badań, dotyczące korelacji hormonów płciowych i PONV oraz bólu pooperacyjnego, ale mogłoby przyczynić się do opracowań nowych leków, działających na poziomie receptorowym.

5.7. Warianty genetyczne receptorów serotoninowych a PONV i ból pooperacyjny

W przypadku receptorów serotoninowych, są one zdecydowanie lepiej przebadane pod kątem ewentualnego wpływu na analizowane dolegliwości pooperacyjne aniżeli receptory estrogenowe i progesteronowe. W jednym z badań zwrócono uwagę, iż polimorfizm pojedynczego nukleotydu rs3758987 w genie kodującym receptor serotoninowy HT3RB jest statystycznie częściej powiązany z wystąpieniem pooperacyjnych nudności i wymiotów u kobiet po laparoskopii ginekologicznej [Ma i wsp., 2013]. Do grupy włączono jednak nie tylko pacjentki w wieku rozrodczym; znaczną część chorych stanowiły pacjentki powyżej 40. roku życia, które były poddane histerektomii. Z kolei w innej pracy badano polimorfizmy receptora HTR3A (rs33940208, rs1985242, rs10160548). Wykazano, że haplotyp CTT jest związany z większym ryzykiem nudności i wymiotów pooperacyjnych, a haplotyp TAG jest czynnikiem protekcyjnym przed tymi komplikacjami [Joy i wsp., 2014]. Było to jednak badanie prowadzone na grupie zarówno kobiet jak i mężczyzn, w dodatku poddanym zabiegom różnego typu: zarówno laparoskopii, jak i laparotomii, operacjom kardiochirurgicznym, torakochirurgicznym. W pracy przeprowadzonej przez Lehmann i wsp. badano predyspozycje genetyczne do występowania nudności i wymiotów w ciąży oraz odpowiedź na ich leczenie w zależności od polimorfizmu receptorów serotoninowych: HTR3A i HTR3B [Lehmann i wsp., 2008]. Spośród polimorfizmów pojedynczego nukleotydu, które były przedmiotem badań również tej rozprawy, analizowano polimorfizm HTR3B rs1176744 oraz rs3782025. Lehmann i wsp. badali odpowiedź na terapię lekami

przeciwwymiotnymi: prometazyną, prochlorpromazyną oraz metoklopramidem i ondansetronem wśród 29 ciężarnych kobiet. Wykazano, iż nosicielstwo wariantu CC w przypadku rs1176744, który zwiększa powinowactwo serotoniny do tego receptora, wiąże się z koniecznością podania większej ilości leków antiemetogennych. Z kolei wariant AG w przypadku polimorfizmu rs3782025 łączy się z mniejszą skłonnością do wymiotów w ciąży. Badanie przeprowadzono jednak na nielicznej grupie pacjentek. W innym badaniu, wykonanym w 17 różnych europejskich ośrodkach klinicznych wśród 1600 pacjentów z chorobą nowotworową, wykazano związek wariantów genetycznych receptora serotoninowego HTR3B (rs1176744, rs3782025 oraz rs1672717) z nasileniem nudności i wymiotów wywołanych terapią opioidami [Laugsand i wsp., 2011]. W przypadku polimorfizmu rs1176744 genotyp GT [OR 1.31 (1.08-1.59); p=0,0012], polimorfizmu rs3782025 genotyp CT [OR 1.41 (1.10-1.79); p=0,0029], a polimorfizmu rs1672717 genotyp CT [OR 1.59 (1.24-2.04), p=0,001], związane były z wyższym ryzykiem nudności. Należy jednak zwrócić uwagę, że badanie to dotyczyło nudności występujących wśród chorych onkologicznych, a nie dolegliwości związanych z zabiegiem operacyjnym. Powyższe polimorfizmy, oceniane przez Laugsand i wsp. były też analizowane w niniejszej rozprawie, jednak nie wykazano żadnych zależności między obecnością konkretnego wariantu genetycznego a nasileniem nudności i wymiotów pooperacyjnych. Prawdopodobnie wynika to z doboru pacjentów, włączonych do rozprawy oraz innego mechanizmu powstawania tego typu wymiotów. Jak wspomniano wcześniej, w licznych metaanalizach potwierdzono, że płeć żeńska jest najsilniejszym czynnikiem ryzyka wystąpienia PONV. Może to powodować maskowanie wpływu czynników genetycznych przez tak ważny czynnik ryzyka, jakim jest płeć. Ze względu jednak na mnogość możliwych polimorfizmów, które nie zostały jeszcze przebadane w kontekście tych dolegliwości, nie można wykluczyć, że obecność pewnych niezbadanych wariantów genetycznych, jest również ważnym czynnikiem wystąpienia PONV.

Wrażliwość na odczuwanie bólu, według części autorów, jest także zależna od polimorfizmu receptorów serotoninowych. Autorzy jednej z prac wykazali wpływ polimorfizmu rs1176744 receptora HTR3B (polimorfizm badany również w niniejszej pracy) na występowanie tzw. zjawiska pain catastrophizing- opisywanie bólu w odpowiedzi na ten sam bodziec oraz radzenie sobie z bólem różni się u osób z różnymi odmianami receptorów [Horjales-Araujo i wsp., 2013] Genotyp TT wiązał się z gorszym radzeniem sobie z bólem. Do analizy włączono jednak zarówno kobiety jak i mężczyzn, dlatego nie wiadomo, czy to zróżnicowanie nie wynikało także z odmiennej płci badanych osób. Również w innej pracy zaznaczono, że obecność różnych wariantów polimorfizmu rs1176744 ma związek z

odczuwaniem bólu [Jounger i wsp., 2016]. Co ciekawe, u nosicielek genotypu AC stwierdzono większe nasilenie bólu, czego nie zaobserwowano u mężczyzn. Dodatkowo uczestnikom badania podawano też granisetron (antagonistę receptora 5-HT₃), celem redukcji bólu. Wykazano zmniejszenie dolegliwości u homozygot CC, ale tylko wśród kobiet. U mężczyzn nie wykazano różnic w zależności od wariantów genetycznych receptora HTR3B. Jak zaznaczyli autorzy pracy, badanie przeprowadzono na zbyt małej grupie, by wysnuwać ostateczne wnioski, aczkolwiek wyniki są też sygnałem, że gospodarka hormonalna i hormony płciowe mają istotne znaczenie w odczuwaniu dolegliwości bólowych. W innej pracy badano natomiast różnice w odczuwaniu bodźców termicznych (reakcję na zimno i ciepło), na grupie 49 ochotników różnej płci i wieku w zależności od wariantu polimorfizmu rs6295 genu receptora 5-HT_{1A}. Wykazano odmienną reakcję na temperaturę wśród homozygot CC oraz nosicieli zmutowanego genotypu [Lindstedt i wsp., 2012], niemniej jednak niewielka grupa badawcza nie pozwala na wysuwanie ostatecznych wniosków.

Przeciwnego zdania, że polimorfizm genetyczny receptorów serotoninowych miał wpływ na nasilenie bólu, są autorzy norwescy, którzy przeprowadzili analizę wpływu 25 różnych polimorfizmów genetycznych na skuteczność leczenia bólu opioidami, wśród prawie 3000 pacjentów onkologicznych, w tym kobiet i mężczyzn [Klepstad i wsp., 2011]. W pracy tej nie wykazano, by jakikolwiek genotyp (w tym warianty genetyczne receptora serotoninowego HTR3A- rs1176713, a także HTR3B- rs1176744, rs3782025 oraz rs1672717, będące przedmiotem badań prezentowanej rozprawy), związany był ze zmienną wrażliwością lub opornością na działanie przeciwbólowe opioidowych leków przeciwbólowych. Nie można jednak postawić znaku równości między grupą badaną w cytowanej analizie, a pacjentkami włączonymi do niniejszej dysertacji.

W prezentowanej rozprawie nie wykazano, by obecność konkretnych wariantów genetycznych badanych receptorów serotoninowych miała wpływ na nasilenie nudności, wymiotów pooperacyjnych oraz dolegliwości bólowych. Być może badanie przeprowadzone na większej grupie pacjentek lub poszerzenie metodyki o inne, rzadziej analizowane polimorfizmy, wykazałoby odmienne wnioski. Ocena polimorfizmów genetycznych jest stosunkowo nową metodą diagnostyczną w medycynie; stąd ilość wykonanych dotąd analiz nie jest duża. Poszukiwania wariantów genetycznych, od których występowania mogą zależeć badane dolegliwości, wydaje się być zadaniem ambitnym i czasochłonnym. W prezentowanej dysertacji udało się ocenić jedenaście polimorfizmów, od których obecności nie wykazano jednak nasilenia ani nudności, ani też bólu pooperacyjnego. Tak jak w przypadku każdych innych analiz medycznych, potrzeba cierpliwości i czasem wielu lat badań. Włożona praca jest

jednak niezbędna, gdyż skala problemu, dotyczącego dolegliwości pooperacyjnych, jest istotna, a ilość operacji endoskopowych będzie stale wzrastać.

6. WNIOSKI

1. Na podstawie uzyskanych wyników należy przyjąć, że ból oraz nudności i wymioty, występujące po histero-laparoskopiach ginekologicznych, są częste i stanowią istotny problem kliniczny.
2. Planowe zabiegi endoskopowe korzystniej jest przeprowadzać w fazie folikularnej u kobiet, gdyż ryzyko pojawienia się nudności i wymiotów jest wtedy mniejsze, natomiast faza cyklu nie odgrywa istotnej roli w natężeniu bólu pooperacyjnego.
3. Pacjentki z niższym stężeniem serotoniny w surowicy krwi wymagają częściej podania opioidowych leków przeciwbólowych po operacjach histero-laparoskopowych.
4. Analizowane polimorfizmy genetyczne receptorów: estrogenowego ESR1 (rs2234693), progesteronowego PGR (rs10895068 oraz ins/del- progins) oraz serotoninowego HT3A (rs1176713), HTR3B (rs1176744, rs11214763, rs3782025, rs1672717), HTR1B (rs6296), HTR2A (rs6313) oraz HTR2C (rs6318) nie mają wpływu na nasilenie badanych dolegliwości pooperacyjnych.

7. STRESZCZENIE

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

Autor: Natalia Ignaszak-Kaus

Słowa kluczowe: nudności i wymioty pooperacyjne, PONV, ból pooperacyjny, SNP, polimorfizm pojedynczego nukleotydu, faza cyklu miesięczkowego, serotonina, hormony płciowe, polimorfizm genów receptorów, receptor serotoninowy, receptor ESR1, receptor PGR

Wstęp: Aktualnie wykonuje się coraz więcej zabiegów endoskopowych, również w ginekologii. Szeroki wachlarz wykonywanych w endoskopii procedur, a także krótki czas hospitalizacji oraz szybki okres rekonwalescencji, to tylko niektóre z korzyści, które niosą ze sobą operacje histero-laparoskopowe. Nudności i wymioty pooperacyjne (PONV) oraz ból pooperacyjny u chorych stanowią jednak nadal istotny problem kliniczny. Obawy przed ich wystąpieniem są częstą przyczyną odwoływania wielu planowych zabiegów. PONV i ból pooperacyjny wydłużają także czas hospitalizacji i rekonwalescencji, podwyższając tym samym koszty leczenia. Jak wynika z licznych badań, zarówno leczenie bólu jak i PONV nie jest optymalne. Jednym z czynników ryzyka PONV jest płeć żeńska, co pozwala przypuszczać, że hormony płciowe żeńskie mogą mieć wpływ na nasilenie dolegliwości.

Cele: **1.** Analiza częstości występowania PONV i bólu pooperacyjnego po histero-laparoskopii ginekologicznej. **2.** Ocena zapotrzebowania na leki przeciwbólowe i przeciwwymiotne po zabiegach endoskopowych. **3.** Ocena zależności występowania nudności, wymiotów i bólu pooperacyjnego u pacjentek poddanych laparoskopii ginekologicznej od fazy cyklu miesięczkowego. **4.** Ewaluacja zależności występowania powyższych dolegliwości od stężeń estradiolu, progesteronu i serotoniny. **5.** Oszacowanie ryzyka wystąpienia opisanych powikłań od wieku, BMI pacjentek oraz czasu trwania operacji. **6.** Analiza zależności występowania tych dolegliwości pooperacyjnych od

polimorfizmów genów receptorów estrogenowych (ESR1), progesteronowych (PGR) oraz serotoninowych (HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTR3B).

Material: Badanie przeprowadzono wśród 300 pacjentek leczących się z powodu niepłodności, poddanych histero-laparoskopii ginekologicznej. Chore włączone do badania były w wieku 18-40 lat. Pacjentki kwalifikowano do badań w obrębie Kliniki Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Badania przeprowadzono od stycznia 2016 do stycznia 2017 roku. Wykluczono pacjentki w trakcie menstruacji, przyjmujące leki hormonalne, psychiatryczne, a także palące papierosy, mające chorobę lokomocyjną, uczulone na jakiegokolwiek leki przeciwbólowe i przeciwwymiotne. Włączono do badania tylko pacjentki zakwalifikowane jako ASA I i II (niskie ryzyko operacyjne, bez obciążeń).

Metody: Występowanie bólu, nudności i wymiotów oceniano na podstawie ankiety. Ból oceniany był w 11- punktowej skali NRS, natomiast PONV oceniano zgodnie ze schematem: 0-brak dolegliwości, 1-nudności, 2- oprócz nudności pojawiły się też wymioty. Analizie poddano też konieczność podawania leków przeciwwymiotnych i przeciwbólowych (opiodowych i nieopiodowych) w okresie pooperacyjnym. Na podstawie wywiadu miesięczkowego, oceny hormonalnej, obrazu ultrasonograficznego oraz wizualizacji jajników i ewentualnej obecności ciała żółtego, stwierdzonej podczas laparoskopii, oceniano, w jakiej fazie cyklu znajdowała się pacjentka w czasie zabiegu. Stężenie estradiolu, progesteronu i serotoniny oznaczane było metodą ELISA- testem immunoenzymatycznym. W celu przeprowadzenia badań genetycznych, wyizolowane DNA powielano metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Produkty PCR porównywano ze wzorcem wielkości przy użyciu elektroforezy. Polimorfizmy badanych genów oznaczano przy pomocy techniki PCR połączonej z analizą polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP). Aby ocenić dolegliwości pacjentek, wykonano statystyczną agregację danych. Dzięki takiej metodzie przedstawienia danych, oceniono nasilenie występowania poszczególnych dolegliwości przez cały okres pooperacyjny, na podstawie punktowych ocen pacjentek w poszczególnych godzinach po zabiegu. Pacjentki, których wynik oceny bólu lub nudności po agregacji był ujemny, odczuwały mniej tych dolegliwości na tle grupy (przydzielono je do grupy z małym poziomem bólu lub małym poziomem nudności), a pacjentki, których wynik oceny bólu i nudności po agregacji był wartością dodatnią, odczuwały tych dolegliwości więcej (przydzielono je do grupy z dużym poziomem bólu lub z dużym poziomem nudności).

Wyniki: Średnia wieku pacjentek wynosiła 32,5±/5 lat, BMI pacjentek wynosiło średnio 23,3±/4,1 kg/m². Dwie trzecie pacjentek (200 kobiet) miało wykonany zabieg w fazie folikularnej, natomiast jedna trzecia (100 pacjentek) operowana była w lutealnej fazie cyklu miesięczkowego. Czas trwania operacji wyniósł średnio 47,5±/29,5 minuty. Silne nudności i wymioty po operacji zgłosiło 40,3% operowanych, natomiast znaczne dolegliwości bólowe 48,0% pacjentek. W grupie chorych operowanych w fazie folikularnej, natężenie PONV było mniejsze- silne dolegliwości zgłosiło jedynie 34,5% kobiet (69 pacjentek), natomiast wśród chorych, u których zabieg przeprowadzono w fazie lutealnej, natężenie PONV było znacząco większe- silne dolegliwości zgłaszało 52% kobiet (p=0,0036). Nie wykazano natomiast wpływu fazy cyklu na nasilenie bólu (p>0,05). Nie wykazano także wpływu czasu trwania operacji oraz wieku pacjentek na oceniane dolegliwości (p>0,05). Nie zaobserwowano zależności między stężeniami hormonów płciowych oraz serotoniny na nasilenie bólu i PONV (p>0,05). Wykazano natomiast, iż stężenie serotoniny było istotnie statystycznie niższe w grupie pacjentek, które wymagały podania opioidowych leków przeciwbólowych i wynosiło średnio 160,3±/104,0 ng/ml, natomiast w grupie, w której nie wystąpiła taka potrzeba, stężenie serotoniny było wyższe i wynosiło 216,1±/182,1 ng/ml (p=0,006). Zaobserwowano też, że BMI pacjentek, które wymagały zaordynowania opioidowych leków przeciwbólowych, było niższe, w porównaniu z chorymi, które nie wymagały podania tych leków (odpowiednio 23,0±/3,9 kg/m² vs 24,0±/4,4 kg/m², p=0,044). Co więcej, niższe BMI korelowało też z większymi dolegliwościami w zakresie PONV (p=0,031). Analizowane w rozprawie polimorfizmy receptorów: estrogenowego (ESR1), progesteronowego (PRG) oraz serotoninowych (HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTR3B), nie miały wpływu na nasilenie dolegliwości pooperacyjnych (p>0,05).

Wnioski: **1.** Na podstawie uzyskanych wyników należy przyjąć, że ból oraz nudności i wymioty, występujące po histero-laparoskopiach ginekologicznych, są częste i stanowią istotny problem kliniczny. **2.** Planowe zabiegi endoskopowe korzystniej jest przeprowadzać w fazie folikularnej u kobiet, gdyż ryzyko pojawienia się nudności i wymiotów jest wtedy mniejsze, natomiast faza cyklu nie odgrywa istotnej roli w natężeniu bólu pooperacyjnego. **3.** Pacjentki z niższym stężeniem serotoniny w surowicy krwi wymagają częściej podania opioidowych leków przeciwbólowych po operacjach histero-laparoskopowych. **4.** Badane polimorfizmy genetyczne nie mają wpływu na nasilenie powyższych dolegliwości pooperacyjnych.

8. SUMMARY

Title: The relationship between postoperative nausea, vomiting (PONV), postoperative pain and concentration of estradiol, progesterone, serotonin and its receptors genes polymorphism among patients after gynaecologic hysterolaparoscopy.

Author: Natalia Ignaszak-Kaus

Key words: postoperative nausea and vomiting, PONV, postoperative pain, SNP, single nucleotide polymorphism, phase of menstrual cycle, serotonin, sex hormones, receptors genes polymorphism, serotonin receptor, ESR1 receptor, PGR receptor

Introduction: Today there are more and more laparoscopic surgeries being done all over the world. A wide range of performed procedures, short time of hospitalization and fast recovery time- there are only several from all benefits. Postoperative pain, nausea and vomiting among patients are still an important clinical problem. Concerns about the occurrence of these ailments are a frequent cause of cancellation of planned surgeries. PONV and pain extend the duration of hospitalization and recovery; increase therefore the cost of treatment. According to the numerous studies, both pain and PONV treatment are not optimal. One of the main risk factor of PONV is female gender, therefore we can hypothesize those female hormones can influence or increasing the complaints.

Aims of the study: **1.** Checking the prevalence of postoperative pain and PONV after hysterolaparoscopy **2.** Evaluation of the need for analgesics and antiemetic drugs after hysterolaparoscopy. **3.** Evaluation of the correlation between postoperative pain and PONV and the phase of the menstrual cycle. **4.** Checking the relationship between risk of occurrence of the above complaints and the concentration of estradiol, progesterone and serotonin. **5.** The risk of occurrence complications from age, patients' BMI and the time of operation. **6.** The assessment of the relationship between postoperative complaints and receptors genes polymorphism: estrogen (ESR1), progesterone (PGR) and serotonin (HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTR3B).

Material: Three hundred female patients at the age of 18-40 years old undergoing laparoscopic gynaecologic surgery will be enrolled in the study. The patients were qualified to the study at the Clinic of Infertility and Reproductive Endocrinology, Poznań University of Medical Sciences from January 2016 to January 2017. Exclusion criteria were: menstruation, taking hormonal or psychiatric drugs, smoking cigarettes, locomotive disease, the allergy to any analgesics or antiemetic drugs. Only patients qualified as ASA I or II were included (low operative risk, without health burden).

Methods: The occurrence of pain and PONV was assessed on the base of the questionnaire. The pain was measured using 11- point NRS score, PONV was assessed according to the instructions: 0- no complaints, 1- only nausea, 2- nausea and vomiting. The necessity of using the antiemetic and analgesics drugs was analyzed too. Based on the interview, hormonal assessment, transvaginal ultrasound image and the possible presence of the corpus luteum found during laparoscopy were assessed the menstrual phase. The blood samples were collected at six o'clock am in the day of operation to determine the concentration of sex hormones, serotonin and to evaluate the receptor polymorphism. The concentration of estradiol, progesterone and serotonin were estimated by ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). DNA was isolated from patients' blood, amplified in polymerase chain reaction (PCR) and compared with an assay in electrophoresis. PCR-RFLP was used to analyze SNPs. To evaluate the patients' complaints, the statistical data aggregation was done. Due to this method, the evaluation of intensification of afflictions, which occurred for all the postoperative period, based on scores at particular hours after operation (6,12 and 24) could be done. These patients, which the score after aggregation was negative, felt fewer ailments on the ground of group (they were qualified to the group „low-intensity pain” or „slight nausea”), these patients, which the score after aggregation was positive, felt these ailments more (they were qualified to the group „high-intensity pain” lub „severe nausea”).

Results: The average age of patients was 32,5+/-5 years old, average BMI was 23,3+/-4,1 kg/m². One third of patients were operated in the luteal phase of the cycle (100 patients), two-thirds (200 patients) were operated in the follicular phase. The duration of the surgery was on average 47,5+/-29,5 minutes. About 40% of patients had strong PONV, significant pain ailments had 48% of all women. In the group of patients who were operated in the luteal phase, the severity of PONV was greater (p=0,0036). There was no correlation between pain intensity and phase of the menstrual cycle (p>0,05). There were no relationship between the

duration of the surgery, patients' age and the ailments ($p>0,05$). In evaluation of the relations between sex hormones and serotonin concentrations on postoperative pain and PONV, there were no correlations ($p>0,05$). There were demonstrated, that patients with lower concentration of serotonin required the administration of the opioid analgesics drugs. The concentration of serotonin was statistically significant lower than among patients who did not need these drugs ($160,3\pm 104,0$ vs $216,1\pm 182,1$ ng/ml; $p=0,006$). The patients with lower BMI also did not require these medicines ($p=0,044$). What is more, the lower BMI was correlated with greater severity of PONV ($p=0,031$). There was no relation between genotypes of SNPs of estrogen, progesterone and serotonin receptors and the intensity of postoperative complaints ($p>0,05$).

Conclusions: **1.** Based on the results, it should be assumed that pain and PONV after gynecological hysterolaparoscopy are common and this is a relevant clinical problem. **2.** It is better to perform elective surgery in the follicular phase of the cycle because the risk of nausea and vomiting is then lower, whereas the phase of the cycle does not play an important role in the severity of postoperative pain. **3.** The lower concentration of serotonin, the higher need for opioid analgesics. **4.** Receptors genes polymorphisms, which were assessed in this study, do not influence on the intensity of postoperative complaints.

9. SUPLEMENT

9.1. ANKIETA DLA PACJENTEK

1. Wiek
2. Czy była już Pani w ciąży?
Tak/nie
3. Ile razy?.....
4. Czy ciąża zakończyła się (można zaznaczyć kilka odpowiedzi):
 - a) Porodem
 - b) Porodem przedwczesnym (przed 37 tyg. Ciąży)
 - c) Poronieniem.
5. Dzień cyklu (w dniu operacji)
6. Długość cykli w ciągu ostatnich 6 miesięcy:
 - a) Najkrótszy
 - b) Najdłuższy
7. Czy miesiączki są regularne:
 - Tak
 - Nie
8. Czy w ostatnich 3 miesiącach stosowała Pani leki hormonalne:
 - Tak, jakie.....
 - Nie
9. Jakie leki obecnie Pani zażywa:
.....
.....
.....
10. Choroby przewlekłe:.....
11. Palenie papierosów TAK/NIE
12. Ból pooperacyjny 2 godziny po operacji (skala od 0 do 10)
13. Ból pooperacyjny w 6 godzin po operacji (skala od 0 do 10).....

14. Ból pooperacyjny 12 godzin po operacji (skala od 0 do 10)

15. Ból pooperacyjny 24 godziny po operacji (skala od 0 do 10)

16. Czy w ciągu 2 godzin po operacji:

- wystąpiły nudności lub wymioty?

- Nie
- Tylko nudności
- Pojawiły się zarówno nudności jak i wymioty

17. Czy w 6 godzinie po operacji:

- wystąpiły nudności lub wymioty?

- Nie
- Tylko nudności
- Pojawiły się zarówno nudności jak i wymioty
-

18. Czy w 12 godzinie po operacji:

- wystąpiły nudności lub wymioty?

- Nie
- Tylko nudności
- Pojawiły się zarówno nudności jak i wymioty

18. Czy w 24 godzinie po operacji:

- wystąpiły nudności lub wymioty?

- Nie
- Tylko nudności
- Pojawiły się zarówno nudności jak i wymioty

19. Jaki był całkowity czas trwania uczucia nudności/wymiotów (w godzinach, łącznie)

.....

9.2. DANE WYPEŁNIANE PRZEZ LEKARZA

1. Przyczyna operacji (powód skierowania):

.....
.....

2. Co zdiagnozowano/wykonano podczas operacji?

.....
.....

3. Czas trwania operacji

4. Czy były potrzebne leki przeciwwymiotne? Leki, dawka

.....
.....

5. Czy podano leki przeciwbólowe opioidowe?

- Tak
- Nie

6. Jakie leki i w jakich dawkach zastosowane zostały do znieczulenia ogólnego

.....

7. Opis USG i stężenie hormonów w dniu operacji:

- endometrium

- macica

- jajnik lewy

- jajnik prawy

- estradiol

-progesteron

- serotonina

8. Polimorfizmy receptorów:

- estrogenowego:

- progesteronowego:

- serotoninowego:

10. PIŚMIENICTWO

Ahmed A, Khan F, Ali M, Haqnawaz F, Hussain A i wsp. Effect of the menstrual cycle phase on post-operative pain perception and analgesic requirements. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2012;56(5):629-35.

Ahn EJ, Choi GJ, Kang H, Baek CW. Comparison of Ramosetron with Palonosetron for Prevention of Postoperative Nausea and Vomiting in Patients Receiving Opioid-Based Intravenous Patient-Controlled Analgesia after Gynecological Laparoscopy. *Biomed Res Int.* 2017;(12):1-6.

Albooghobeish M, Mohtadi A, Saidkhani V, Fallah H. Between Effects of Acupuncture and Metoclopramide on Postoperative Nausea and Vomiting after Gynaecological Laparoscopy: A Randomized Controlled Trial. *Anesth Pain Med.* 2017;7(5):e12876.

American Society of Health System Pharmacists ASHS Therapeutic guidelines on the management of nausea and vomiting in adult and pediatric patients receiving chemotherapy or radiation therapy or undergoing surgery. *Am J Health Syst Pharm.* 1999;56:729–764.

Anderson B, Switzer NJ, Almamar A, Shi X, Birch DW i wsp. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma ghrelin levels: a systematic review. *Obes Surg.* 2013; 23(9): 1476-1480.

Andreassen TN, Klepstad P, Davies A, Bjordal K. Influences on the pharmacokinetics of oxycodone: a multicentre cross-sectional study in 439 adult cancer patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011;67(5):493-506.

Apfell CC, Kranke P, Katz MH, Goepfert C, Papenfuss T. Volatile anaesthetics may be the main cause of early but not delayed postoperative vomiting: a randomized controlled trial of factorial design. *Br J Anaesth.* 2002;88:659–668.

Apfell CC, Korttila K, Abdalla M, Kerger H, Turan A. A factorial trial of six interventions for the prevention of postoperative nausea and vomiting. *N Engl J Med.* 2004; 350:2441–2451.

Apfell CC, Heidrich FM, Jukar-Rao S, Jalota L, Hornuss C. Evidence-based analysis of risk factors for postoperative nausea and vomiting. *British Journal of Anaesthesia* 2012a;109(5): 742–53.

Apfell CC, Philip BK, Cakmakkaya OS, Shilling A, Shi YY i wsp. Who is at risk for postdischarge nausea and vomiting after ambulatory surgery? *Anesthesiology*. 2012b;117:475–86.

Apkhazava M, Kvachadze I, Tsagareli M. Correlation between heat pain threshold degree and trpv1 receptor protein level over various phases of the ovarian-menstrual cycle. *Georgian Med News*. 2018a; (Issue):117-123.

Apkhazava M, Kvachadze I, Tsagareli M, Mzhavanadze D, Chichinadze G. Correlation between mechanical pain sensitivity degree and mor protein concentration over various phases of the ovarian-menstrual cycle. *Georgian Med News*. 2018b;(279):137-143.

Arab M, Mirkheshti A, Noghabaei G, Ashori A, Ghasemi T i wsp. The Effect of Premenstrual Syndrome and Menstrual Phase on Postoperative Pain. *Anesth Pain Med*. 2015; 5(2):e19333.

Arslan A, Cicek R, Kalender HU, Yilmaz H. Preventing postoperative nausea and vomiting after laparoscopic cholecystectomy: a prospective, randomized, double-blind study. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2011;72:1e12.

Ataoglu S, Ankarali H, Samanci R, Ozsahin M. The relationship between serum leptin level and disease activity and inflammatory markers in fibromyalgia patients. *North Clin Istanbul*. 2018;5(2):102-108.

Azizzadeh F, Mahmoodi J, Sadigh-Eteghad S, Farajdokht F. Ghrelin Exerts Analgesic Effects through Modulation of IL-10 and TGF- β Levels in a Rat Model of Inflammatory Pain. *Iran Biomed J*. 2017;21(2):114-9.

Bardiau FM, Taviaux NF, Albert A, Boogarest JG, Stadler M. An intervention study to enhance postoperative pain management. *Anasth Analg*. 2003;96: 179-185.

Barros RP, Gustafsson JA. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab* 2011;14(3): 289-299.

Bart G, Lenz S, Straka RJ, Brundage RC. Ethnic and genetic factors in methadone pharmacokinetics: a population pharmacokinetic study. *Drug Alcohol Depend*. 2014;1;145:185-93.

Beattie WS, Lindblad T, Buckley DN, Forrest JB. The incidence of postoperative nausea and vomiting in women undergoing laparoscopy is influenced by the day of menstrual cycle. *Can J Anaesth*. 1991;38(3):298-302.

Beattie WS, Lindblad T, Buckley DN, Forrest JB. Menstruation increases the risk of nausea and vomiting after laparoscopy. A prospective randomized study. *Anesthesiology*. 1993;78(2):272-6.

Benhamou DB, Brodner M, De Andres G, Draisci J, Moreno-Azcoita G i wsp. Postoperative Analgesic Therapy Observational Survey (PATHOS): A practice pattern study in 7 Central/Southern European countries. *Pain*. 2008;136(1-2):134-41.

Berger M, Gray JA, Roth BL. The Expanded Biology of Serotonin. *Annu. Rev. Med*. 2009; 60(1): 355–66.

Bingham S, Davey PT, Sammons M, Raval P, Overend P i wsp. Inhibition of inflammation-induced thermal hypersensitivity by sumatriptan through activation of 5-HT(1B/1D) receptors. *Exp. Neurol*. 2001; 167, 65–73.

Blanca-López N, Pérez-Sánchez N, Agúndez JA, García-Martin E i wsp. Allergic Reactions to Metamizole: Immediate and Delayed Responses. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016; 169(4): 223-30.

Bland R. Steroid hormone receptor expression and action in bone. *Clin Sci (Lond)*. 2000;98(2):217-240.

Blaser L, Hassna H, Hofmann S, Holbro A i wsp. Leucopenia associated with metamizole: a

case-control study. *Swiss Med Wkly*. 2017(5); 147:14438.

Body C, Christie JA. Gastrointestinal Diseases in Pregnancy: Nausea, Vomiting, Hyperemesis Gravidarum, Gastroesophageal Reflux Disease, Constipation, and Diarrhea. *Gastroenterol Clin North Am*. 2016;45(2):267-83.

Bolac CS, Wallace AH, Broadwater G, Havrilesky LJ, Habib AS. The Impact of Postoperative Nausea and Vomiting Prophylaxis with Dexamethasone on Postoperative Wound Complications in Patients Undergoing Laparotomy for Endometrial Cancer. *Anesth Analg*. 2013;116(5):1041-7.

Bręborowicz GH. i wsp. *Położnictwo i ginekologia*. PZWL, Warszawa, 2010, t. II s. 682-683.

Burgstaller JM, Wertli MM, Steurer J, Kessels AG, Held U i wsp. The Influence of Pre- and Postoperative Fear Avoidance Beliefs on Postoperative Pain and Disability in Patients With Lumbar Spinal Stenosis: Analysis of the Lumbar Spinal Outcome Study (LSOS) Data. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2017;42(7):E425-E432.

Cairns BE. Pathophysiology of TMD pain—basic mechanisms and their implications for pharmacotherapy". *Journal of oral rehabilitation*. 2010; 37(6): 391–410.

Camilleri M, Papathanasopoulos A, Odunsi ST. Actions and therapeutic pathways of ghrelin for gastrointestinal disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009; 6(6): 343-352.

Carlisle JB, Stevenson CA. Drugs for preventing postoperative nausea and vomiting. *Cochrane database of systematic reviews*. 2006; 3:CD004125.

Cengiz H, Dagdeviren H, Caypinar SS, Kanawati A. Plasma serotonin levels are elevated in pregnant women with hyperemesis gravidarum. *Arch Gynecol Obstet*. 2015;291(6):1271-6.

Chakravarti A. Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet* 1999; 21(1 Suppl): 56-60.

Chan JL, Heist K, DePaoli AM. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *J Clin Invest.* 2003; 111:1409–1421.

Cheong JY, Keshava A, Witting P, Young, CJ. Effects of Intraoperative Insufflation With Warmed, Humidified CO₂ during Abdominal Surgery: A Review. *Annals of Coloproctology,* 2018; 34(3), 125–137.

Collins JE, Donnell-Fink LA, Yang HY, Usiskin IM. Effect of Obesity on Pain and Functional Recovery Following Total Knee Arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 2017;99(21):1812-1818.

Cone RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat Neurosci.* 2005; 8:571– 578.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996; 334:292–295.

Cooke M, Rapchuk I, Doi SA, Spooner A. Wrist acupuncture for post-operative nausea and vomiting (WrAP): A pilot study. *Complement Ther Med.* 2015;23(3):372-80.

Cortés ME, Carrera B, Rioseco H, Pablo del Río J i wsp. The Role of Kisspeptin in the Onset of Puberty and in the Ovulatory Mechanism: A Mini-review. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2015(5):286-91.

Coventry DM. Anaesthesia for laparoscopic surgery. *J R Coll Surg Edinb.* 1995;40:151-60.

Craciunas L, Stirbu L, Tsampras N. The use of aperitoneal gas drain following gynecological laparoscopy: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;179:224-8.

Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK i wsp. Plasma ghrelin levels after dietinduced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med.* 2002; 346(21): 1623-1630.

Damjanov I. Patofizjologia. I wyd. polskie pod redakcją A. Bręborowicza. Elsevier Urban & Partner. Wrocław 2010, s.45-46.

Depue RH, Bernstein L, Ross RK, Judd HL. Hyperemesis gravidarum in relation to estradiol levels, pregnancy outcome, and other maternal factors: a seroepidemiologic study. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156(5):1137-41.

De Vivo I, Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ. A functional polymorphism in the progesterone receptor gene is associated with an increase in breast cancer risk. *Cancer Res.* 2003;63(17):5236-8.

De Winter BY, van den Wijngaard RM, de Jonge WJ. Intestinal mast cells in gut inflammation and motility disturbances. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822:66–73.

Dobrogowski J, Meyzner-Zawadzka E, Drobnik L, Kusza K, Woroń J, Wordliczek J. Uśmierzenie bólu pooperacyjnego – zalecenia 2008. *Pain* 2008, 9: 9-22.

Dobrogowski J, Zajączkowska R, Dutka J, Wordliczek J. Patofizjologia i klasyfikacja bólu. *Pol Prz Neurol.* 2011; 7 (1): 20–30.

Dobrogowski J, Zajączkowska R, Woroń J. Opioidowe leki przeciwbólne. W: Wordliczek J, Dobrogowski J. ed. *Leczenie bólu.* PZWL, Warszawa 2017: 54–83.

Dorszewska J, Florczak-Wyspianska J, Kowalska M, Stanski M, Kowalewska A i wsp. Serotonin in Neurological Diseases. In: Shad KF, editor. *Serotonin - A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells.* InTech. 2017: 220–40.

Doyle DJ, Garmon EH. American Society of Anesthesiologists Classification (ASA Class) [Updated 2017 Oct 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441940/>

Drobnik L, Jastrzębski J. Wymioty w okresie pooperacyjnym. *Patofizjologia - zapobieganie - leczenie.* W: Jastrzębski J. *Czy nudności i wymioty są problemem w anestezjologii.* Wrocław: Materiały przygotowane na XI Zjazd PTaIT; 1993: 5-16.

Duffy RA. Potential therapeutic targets for neurokinin-1 receptor antagonists. *Expert opinion on emerging drugs*. 2004; 9:9–21.

Ebrahimi M. A Rapid ELISA Method for 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 β P) Hormone Using Acetylcholinesterase Enzyme as Tracer. *Journal of Medical Science Research*. 2004;3:103-110.

Edwards JE, McQuay HJ, Moore RA. Single dose dihydrocodeine for acute post- operative pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 4: CD002760.

Enmark E, Gustafsson JA. Orphan nuclear receptors--the first eight years. *Mol Endocrinol*. 1996;10(11):1293-307.

Erkilic E, Kesimci E, Soykut C, Doger C, Gumus T i wsp. Factors associated with preoperative anxiety levels of Turkish surgical patients: from a single center in Ankara. *Patient Prefer Adherence*. 2017;11:291-296.

Eschalier A, Kayser V, Guilbaud G. Influence of a specific 5-HT₃ antagonist on carrageenan-induced hyperalgesia in rats. *Pain* 1989; 36, 249–255.

Faerber L, Drechsler S, Ladenburger S, Gschaidmeier H, Fischer W. The neuronal 5-HT₃ receptor network after 20 years of research--evolving concepts in management of pain and inflammation. *Eur J Pharmacol*. 2007; 560:1–8.

Farhanchi A, Karkhanei B, Amani N, Aghajanloo M. Association of Serum Serotonin and Pain in Patients with Chronic Low Back Pain before and after Spinal Surgery. *Pain Res Treat*. 2018;2018:4901242.

Farhat MY, Lavigne MC, Ramwell PW. The vascular protective effects of estrogen. *FASEB J*. 1996; 10(5): 615-624.

Flynn M, Heale KA, Alisaraie L. Mechanism of Off-Target Interactions and Toxicity of Tamoxifen and Its Metabolites. *Chem Res Toxicol*. 2017;30(7):1492-1507.

Fozard JR. Neuronal 5-HT receptors in the periphery. *Neuropharmacology*. 1984; 23, 1473–1486.

Fuller PJ. The steroid receptor superfamily: mechanisms of diversity. *FASEB J*. 1991;5(15):3092-9.

Gagliese L, Gauthier LR, Macpherson AK, Jovellanos M. Correlates of postoperative pain and intravenous patient-controlled analgesia use in younger and older surgical patients. *Pain Med*. 2008;9(3):299-314.

Gan TJ, Meyer T, Apfell CC. Consensus guidelines for managing postoperative nausea and vomiting. *Anesth Analg*. 2003; 97: 62-71.

Gan TJ. Risk factors for postoperative nausea and vomiting, *Anesth Analg*. 2006;102(6):1884-98.

Gan TJ. Effective management of PONV and pain in ambulatory settings. W: Rosenblatt MA, Butterworth JF, Gross JB. *ASA Refresher Course in Anesthesiology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins; 2010:47-54.

Ganong WF. Neurohormonalne podstawy zachowania instynktownego i emocji. W: *Fizjologia*. Ganong WF (red.) Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa, 2009.

Genazzani AR, Petraglia F, Mercuri N. Effect of steroid hormones and antihormones on hypothalamic beta-endorphin concentrations intact and castrated female rats. *J Endocrinol Invest*. 1990; 13: 91-6.

Giordano J, Daleo C, Sacks SM. Topical ondansetron attenuates nociceptive and inflammatory effects of intradermal capsaicin in humans. *Eur. J. Pharmacol*. 1998; 354:13–14.

Glassman AH, Bigger JT. Antipsychotic drugs: prolonged QTc interval, torsade de pointes, and sudden death. *The American journal of psychiatry*. 2001; 158:1774–1782.

Graham JD, Clarke CL. MCE special issue on molecular mechanisms of action in progesterone signalling. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;357(1-2):1-3.

Grynkiewicz G, Gadzikowska M. Fitoestrogeny jako selektywne modulatory aktywności receptorów estrogenowych. *Post. Fitoter.* 2003;(1):28-35.

Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G. Genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nat. Genet.* 2005; 37: 549–54.

Gundlah C, Lu N, Bethea C. Ovarian steroid regulation of monoamine oxidase-A and B mRNAs in the macaque dorsal raphe and hypothalamic nuclei. *Psychopharmacology.* 2002;160(3), 271–282.

Gupta A, Wu CL, Elkassabany N, Krug CE, Parker SD i wsp. Does the routine prophylactic use of antiemetics affect the incidence of postdischarge nausea and vomiting following ambulatory surgery? A systematic review of randomized controlled trials. *Anesthesiology.* 2003;99(2):488-495.

Habib AS, El-Moalem HE, Gan TJ. The efficacy of the 5-HT₃ receptor antagonists combined with droperidol for PONV prophylaxis is similar to their combination with dexamethasone. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Can J Anaesth.* 2004;51(4):311-319.

Hamilton BS, Paglia D, Kwan AY, Deitel M. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nat Med.* 1995; 1:953–956.

Hansen MB. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. *Physiol Res.* 2003; 52(1):1-30.

Harmon D, Connor PO, Lennon M, Hamilton V, Moran C i wsp. The effects of the menstrual cycle and oestradiol concentration on postoperative nausea and vomiting. *Eur J Anaesth.* 2000a; 17: 13.

Harmon D, O'Connor P, Gleasa O, Gardiner J. Menstrual cycle irregularity and the incidence of nausea and vomiting after laparoscopy. *Anaesthesia*. 2000b;55(12):1164-7.

He M, Shu J, Huang X, Tang H. Association between estrogen receptors gene (ESR1) PvuII (T/C) and XbaI (A/G) polymorphisms and premature ovarian failure risk: evidence from a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(2):297-304.

Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G i wsp. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev*. 2007; 87(3): 905-931.

Hill RP, Lubarsky DA, Phillips-Bute B, Fortney SJ, Creed MR, Glass PS, Gan TJ. Cost-effectiveness of Prophylactic Antiemetic Therapy with Ondansetron, Droperidol or Placebo. *Anesthesiology* 2000; 92(4):958-67.

Hindberg I, Naesh O. Serotonin concentrations in plasma and variations during the menstrual cycle. *Clin Chem*. 1992; 38(10):2087-9.

Honkaavara P. Nausea and vomiting after gynecological laparoscopy depends upon the phase of the menstrual cycle. *Can J Anaesth*. 1991;38(7):876-9.

Horn CC, Wallisch WJ, Homanics GE, Williams JP. Pathophysiological and neurochemical mechanisms of postoperative nausea and vomiting. *Eur J Pharmacol*. 2014;722:55-66.

Hu X, Jiang L, Tang C, Ju Y. Association of three single nucleotide polymorphisms of ESR1 with breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *J Biomed Res*. 2017;31(3):213-225.

Huijing Y, Rongxin C, Xiufen L, Jingxia H. Risk factors associated with postoperative pain and discomfort in oculoplastic surgery with general anesthesia: a prospective study. *J Pain Res*. 2018; 11: 407–415.

Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*. 1997; 88:131–141.

Horjales-Araujo E, Demontis D, Kielland Lund E, Brix Finnerup N, Anders D i wsp. Polymorphism in Serotonin Receptor 3B Is Associated with Pain Catastrophizing. *PLoS One*. 2013;8(11):e78889.

Hong SL, Levine L. Inhibition of arachidonic acid release from cells as the biochemical action of antiinflammatory corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1976; 73:1730–1734.

Hou YW, Xiong P, Gu X, Huang X. Association of Serotonin Receptors with Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Med Sci*. 2018;38(3):538-551.

Hsien CF, Wang CL, Long CY, Chen YH. Factors Associated with Types and Intensity of Postoperative Pain following Gynecological Laparoscopic Surgery: A Cross-Sectional Study. *Biomed Res Int*. 2017;(8):1-7.

Ip H, Abrishami A, Peng PW, Wong J, Chung F. Predictors of postoperative pain and analgesic consumption: a qualitative systematic review. *Anesthesiology*. 2009;111:657-77.

Ismail EA, Abolfadl GM, Bahloul M. Comparison of intraperitoneal versus intravenous dexamethasone on postoperative nausea and vomiting after gynecological laparoscopy: a randomized clinical trial. *Korean J Anesthesiol*. 2018 Sep 18. doi: 10.4097/kja.d.18.00132. [Epub ahead of print]

Ivković N, Racic M, Lecic R, Bozovic D, Kulic M. Relationship Between Symptoms of Temporomandibular Disorders and Estrogen Levels in Women With Different Menstrual Status. *J Oral Facial Pain Headache*. 2018; 32(2):151–158.

Jackson SA, Laurence AS, Hill JC. Does post-laparoscopy pain relate to residual carbon dioxide? *Anaesthesia*. 1996;51(5):485-7.

Janssen KJ, Kalkman CJ, Grobbee DE, Bonsel GJ. The risk of severe postoperative pain: modification and validation of a clinical prediction rule. *Anesth Analg*. 2008;107(4):1330-9.

Janssen P, Potte H, Vos R, Tack J. Endogenously released opioids mediate meal-induced gastric relaxation via peripheral mu-opioid receptors. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2011;33(5), 607–614.

Jeong-Woo L, Seong-Kyu K, Kim DC, Han YJ, Seong-Hoon K. The effects of female hormones on postoperative nausea and vomiting. *Kor J Anesth*. 2008;54(1):58-62.

Ji Y, Murphy AZ, Traub RJ. Estrogen modulation of morphine analgesia of visceral pain in female rats is supraspinally and peripherally mediated. *J Pain*. 2007; 8: 494-502.

Johanson WR. Zwalczenie bólu. *Chir Wsp*. 1993;1: 118-125.

Joshi G, Pradhan S, Mittal B. Role of the oestrogen receptor (ESR1 PvuII and ESR1 325 C->G) and progesterone receptor (PROGINS) polymorphisms in genetic susceptibility to migraine in a North Indian population. *Cephalalgia*. 2010;30(3):311-20.

Jounger SL, Christidis N, Hedenberg-Magnusson B, List T, Svensson P i wsp. Influence of Polymorphisms in the HTR3A and HTR3B Genes on Experimental Pain and the Effect of the 5-HT3 Antagonist Granisetron. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168703.

Joy Lin YM, Hsu CD, Hsieh HY, Tseng CC, Sun HS. Sequence variants of the HTR3A gene contribute to the genetic prediction of postoperative nausea in Taiwan. *J Hum Genet*. 2014;59(12):655-60.

Junqueira MG, da Silva ID, Nogueira-de-Souza NC, Carvalho CV. Progesterone receptor (PROGINS) polymorphism and the risk of endometrial cancer development. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17(1):229-32.

Karamanakos SN, Vagenas K, Kalfarentzos F, Alexandrides TK. Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study. *Ann Surg*. 2008; 247(3): 401-407.

Kehlet H, Jensen TS, Woolf CJ. Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet*. 2006; 367(9522): 1618–1625.

Kema IP, Schellings AM, Meiborg G, Hoppenbrouwers CJ. Influence of a serotonin- and dopamine-rich diet on platelet serotonin content and urinary excretion of biogenic amines and their metabolites, *Clin.Chem*. 1992; 38:1730-1736.

Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee A. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil*. 2009; 21: 1239-1249.

Kerger H, Turan A, Kredel M, Stuckert U, Alsip N i wsp. Patients' willingness to pay for anti-emetic treatment. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007 Jan;51(1):38-43.

Kerimoglu OS, Yilmaz SA, Pekin A, İncesu F i wsp. Effect of drainage on postoperative pain after laparoscopic ovarian cystectomy. *J Obstet Gynaecol*. 2015;35(3):287-9.

Khanna A, Sezen E, Barlow A, Rayt H, Finch JG. Randomized clinical trial of a simple pulmonary recruitment manoeuvre to reduce pain after laparoscopy. *Br J Surg* 2013;100:1290-4.

Kil HK, Kim WO, Chung WY, Kim GH, Seo H i wsp. Preoperative anxiety and pain sensitivity are independent pre- dictors of propofol and sevoflurane requirements in general anaesthesia. *Br J Anaesth*. 2012;108(1):119–25.

Kilpatrick G, Tyers MB. The pharmacological properties and functional role of central 5-HT-3 receptors. W: *Central and Peripheral 5-HT-3 receptors* (red. M. Hamon) Academic Press, London, 1992,33-57.

Kilpatrick GJ, Smith TW. Morphine-6-glucuronide: actions and mechanisms. *Med Res Rev*. 2005;25(5):521-44.

Klepstad P, Fladvad T, Skorpen F, Bjordal K, Caraceni A i wsp. Influence from genetic variability on opioid use for cancer pain: a European genetic association study of 2294 cancer

pain patients.; European Palliative Care Research Collaborative (EPCRC); European Association for Palliative Care Research Network. *Pain*. 2011;152(5):1139-45.

Kliethermes C, Blazek K, Ali K, Nijjar JB. Postoperative Pain After Single-Site Versus Multiport Hysterectomy. *JSLs*. 2017;21(4).

Klimkiewicz J, Bartosz Rustecki B, Szewczyk G, Klimkiewicz A. Specyfika pacjentek poddanych operacjom ginekologicznym w kontekście pooperacyjnych nudności i wymiotów. *Anestezjologia i Ratownictwo*. 2014; 8: 91-99.

Koch CE, Lowe C, Pretz D, Steger J, Williams LM i wsp. High fat diet induces leptin resistance in leptin-deficient mice. *J Neuroendocrinol*. 2014b; (2):58-67.

Koch T, Kranke P. Activity-based cost analysis of opioid-related nausea and vomiting among inpatients. *J Opioid Manag* 2014a;10:415-22.

Kołodziejwski PA, Pruszyńska-Oszmałek E, Korek E, Sassek M. Serum levels of kisspeptin negatively correlate with obesity and insulin resistance in women. *Physiol Res*. 2018;67(1):45-56.

Korell M, Schmaus F, Strowitzki T, Schneeweiss SG, Hepp H. Pain intensity following laparoscopy. *Surg Laparosc Endosc*. 1996;6:375-9.

Kranke P, Apefel CC, Papenfuss T, Rauch S. An increased body mass index is no risk factor for postoperative nausea and vomiting. A systematic review and results of original data. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2001;45(2):160-6.

Kranke P, Eberhart LHJ. Possibilities and limitations in the pharmacological management of postoperative nausea and vomiting. *Eur J Anaesthesiol* 2011;28:758-65.

Kranke P, Diemunsch P. The 2014 consensus guidelines for the management of postoperative nausea and vomiting: a leapfrog towards a postoperative nausea and vomiting-free hospital. *Eur J Anaesthesiol*. 2014;31:651-3.

Krawczyk M, Wordliczek J, Czupryna A, Dobrogowski J, Dobosz M i wsp. Rekomendacje w uśmierzaniu bólu okołoperacyjnego w chirurgii ogólnej. *Pol Prz Chir.* 2012;84, 9, 1–19.

Kuhn S, Cooke K, Collins K, Jones JM, Mucklow JC. Perceptions of pain relief after surgery. *BMJ.* 1990; 30; 300(6741): 1687–1690.

Kuip EJ, Zandvliet ML, Koolen SL, Mathijssen R. A review of factors explaining variability in fentanyl pharmacokinetics; focus on implications for cancer patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2017 Feb;83(2):294-313.

Kulinskaya E, Lewin A. Testing for linkage and Hardy-Weinberg disequilibrium. *Ann Hum Genet.* 2009, 73, 253-62.

Lagiou P, Tamimi R, Mucci LA, Trichopoulos D, Adami HO i wsp. Nausea and vomiting in pregnancy in relation to prolactin, estrogens, and progesterone: a prospective study. *Obstet Gynecol.* 2003;101(4):639-44.

Laugsand EA, Fladvad T, Skorpen F, Maltoni M, Kaasa S i wsp. Clinical and genetic factors associated with nausea and vomiting in cancer patients receiving opioids. *Eur J Cancer.* 2011;47(11):1682-91.

Lazaros LA, Xita NV, Kaponis AI, Zikopoulos KA. Estrogen receptor alpha and beta polymorphisms are associated with semen quality. *J Androl.* 2010;31(3):291-8.

Lehmann AS, Renbarger JL, McCormick CL, Topletz AR, Rouse C. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 system and efficacy of 5-hydroxytryptamine type 3 receptor antagonists for postoperative nausea and vomiting. *Br J Anaesth.* 2008;101(4):441-5.

Liaqat S, Hasnain S, Muzammil S, Hayat S. Polymorphism analysis in estrogen receptors alpha and beta genes and their association with infertile population in Pakistan. *EXCLI J.* 2015;14:1085-94.

Lindblad T, Forrest JB, Buckley DN; Beattie WS. Anaesthesia decreases a hormone mediated threshold for nausea and vomiting. *Anesthesia & Analgesia*. 1990; s. 242.

Lindstedt F, Karshikoff B, Schalling M, Olgart Hoglund C, Ingvar M i wsp. Serotonin-1A Receptor Polymorphism (rs6295) Associated with Thermal Pain Perception. *PLoS ONE*. 2012;7(8): e43221.

Lindström M, Tohmola N, Renkonen R, Hämäläinen E. Comparison of serum serotonin and serum 5-HIAA LC-MS/MS assays in the diagnosis of serotonin producing neuroendocrine neoplasms: A pilot study. *Clin Chim Acta*. 2018; 482:78-83.

Lischke V, Behne M, Doelken P, Schledt U, Probst S i wsp. Droperidol causes a dosedependent prolongation of the QT interval. *Anesthesia and analgesia*. 1994; 79:983–986.

Liu H, Ma C, Zhang X, Yu C, Yang Y i wsp. Combined incisional ropivacaine infiltration and pulmonary recruitment manoeuvre for postoperative pain relief after diagnostic hysteroscopy and laparoscopy. *Chin Med J (Engl)* 2014;127:825-9.

Lu NZ, Shlaes TA, Gundlah C, Dziennis SE, Lyle RE i wsp. Ovarian steroid action on tryptophan hydroxylase protein and serotonin compared to localization of ovarian steroid receptors in midbrain of guinea pigs. *Endocrine*. 1999;11, 257–267.

Ma XX, Chen QX, Wu SJ, Hu Y, Fang XM. Polymorphisms of the HTR3B gene are associated with post-surgery emesis in a Chinese Han population. *J Clin Pharm Ther*. 2013;38(2):150-5.

Macario A, Weinger M, Carney S, Kim A. Which clinical anesthesia outcomes are important to avoid? The perspective of patients. *Anesth Analg*. 1999a; 89(3):652-658.

Macario A, Weinger M, Truong P, Lee M. Which clinical anesthesia outcomes are both common and important to avoid? The perspective of a panel of expert anesthesiologists. *Anesth Analg*. 1999b;88(5):1085-1091.

Maranets I, Kain ZN. Preoperative anxiety and intraoperative anesthetic requirements. *Anesth Analg*. 1999;89:1346–51.

Marengo K, Broeckel U. Genotyping platforms for mass-throughput genotyping with SNPs, including human genome-wide scans. *Adv Genet*, 2008; 60: 107–39.

Mavridou P, Dimitriou V, Manataki A, Arnaoutoglou E. Patient's anxiety and fear of anesthesia: effect of gender, age, education, and previous experience of anesthesia. A survey of 400 patients. *J Anesth*. 2013;27(1):104-8.

Mazzon I, Favilli A, Horvath S, Grasso M i wsp. Pain during diagnostic hysteroscopy: what is the role of the cervical canal? A pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;183:169-73.

McHugh GA, Thoms GM. The management of pain following day-case surgery. *Anaesthesia*. 2002;57(3):270-5.

McKenzie R, Kovac A, O'Connor T, Duncalf D, Angel J i wsp. Comparison of ondansetron versus placebo to prevent postoperative nausea and vomiting in women undergoing ambulatory gynecologic surgery. *Anesthesiology* 1993; 78(1):21-8.

Misiólek H, Cettler M, Woroń J, Wordliczek J, Dobrogowski J i wsp. The 2014 guidelines for post-operative pain management. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2014; 46: 221–244.

Misiólek H, Zajączkowska R, Daszkiewicz A, Woroń J. Postoperative pain management-2018 consensus statement of the Section of Regional Anaesthesia and Pain Therapy of the Polish Society of Anaesthesiology and Intensive Therapy, the Polish Society of Regional Anaesthesia and Pain Therapy, the Polish Association for the Study of Pain and the National Consultant in Anaesthesiology and Intensive Therapy. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2018;(50), 3:173–199.

Miura H, Ozaki N, Sawada M, Isobe K, Ohta T i wsp. A link between stress and depression: shifts in the balance between the kynurenine and serotonin pathways of tryptophan metabolism and the etiology and pathophysiology of depression. *Stress*. 2008; 11(3): 198-209.

Mokrowiecka A, Małecka-Panas E. Nudności i wymioty. W: Szczeklik A. Podręcznik multimedialny oparty na zasadach EBM. Choroby wewnętrzne. Przyczyny, rozpoznanie i leczenie. T. I. Kraków: Medycyna Praktyczna, 2005, s. 127–128. ISBN 83-7430-031-0.

Mokrowiecka A, Małecka-Panas E. Postępowanie u chorego z nudnościami i wymiotami. W: Yamada T: Podręcznik gastroenterologii, wydanie polskie pod redakcją E. Małeckiej-Panas. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2006: 46-55.

Molina-Guzman G, González-Castro TB, Hernández Díaz Y, Tovilla-Zárate CA i wsp. Gender differences in the association between HTR2C gene variants and suicidal behavior in a Mexican population: a case-control study. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2017;13:559-566.

Mondockova V, Adamkovicova M, Lukacova M, Grosskopf B. The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women. *BMC Med Genet.* 2018;19(1):174.

Moro ET, Godoy RC, Goulart AP, Muniz L, Modolo NS. Main concerns of patients regarding the most common complications in the post-anesthetic care unit. *Rev Bras Anesthesiol.* 2009;59(6):716-24.

Mrozikiewicz A, Ignaszak-Kaus N, Millert-Kalińska S, Seremak-Mrozikiewicz A, Pawelczyk LA, Jędrzejczak P. The assesment of preoperative anxiety and postoperative complaints among patients after gynecological hysterolaparoscopy. *Anesthesia and Analgesia - praca oddana do recenzji.*

Murray RK, Granner DK, Mayes P.A. *Biochemia Harpera.* Wyd. 5, Warszawa 2006, s.713.

Nazar CE, Lacassie HJ, Lopez RA, Munoz HR. Dexamethasone for postoperative nausea and vomiting prophylaxis: effect on glycaemia in obese patients with impaired glucose tolerance. *European journal of anaesthesiology.* 2009; 26:318–321.

Nelson LR, Bulun SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol.*2001; (3 Suppl): 116-24.

Nilsson S, Gustafsson JA. Estrogen receptors: therapies targeted to receptor subtypes. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(1): 44-55.

Noszczyk W. *Chirurgia.* Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2007. s. 720-721. ISBN 978-83-200-3640-4.

Orlando B, Manfredini D, Salvetti G, Bosco M. Evaluation of the effectiveness of biobehavioral therapy in the treatment of temporomandibular disorders: a literature review. *Behavioral Medicine.* 2007; 33 (3): 101–18.

Pabalan N, Salvador A, Jarjanazi H, Christofolini DM. Association of the progesterone receptor gene polymorphism (PROGINS) with endometriosis: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;290(5):1015-22.

Panditrao M, Panditrao MM, Panditrao MM, Azher I. A prospective study to compare the incidence of post-operative nausea, vomiting (PONV) in female patients undergoing surgical procedures under general anesthesia during proliferative and secretory phase of menstrual cycle. *Int J Stud Res.* 2011;(1),2: 51-56.

Pecins-Thompson M, Brown NA, Kohama SG, Bethea CL. Ovarian steroid regulation of tryptophan hydroxylase mRNA expression in rhesus macaques. *J. Neurosci.* 1996;16, 7021–7029.

Pergolizzi JV, Philip BK, Leslie JB, Taylor R, Raffa RB. Perspectives on transdermal scopolamine for the treatment of postoperative nausea and vomiting. *Journal of clinical anesthesia.* 2012; 24:334–345.

Philip BK. Etiologies of postoperative nausea and vomiting. *P&T.* 1997; (Suplement): 18-24. http://etherweb.bwh.harvard.edu/education/resources/ambulatory_anesthesia/Etiologies_of_PONV.pdf

Pierce PA, Xie GX, Levine JD, Peroutka SJ. 5-Hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in rat peripheral sensory and sympathetic ganglia: a polymerase chain reaction study. *Neuroscience.* 1996; 70, 553–559.

Piroli A, Mattei A, Carta G, D'Alfonso A, Palermo P i wsp. Influence of the menstrual cycle phase on pain perception and analgesic requirements in young women undergoing gynecological laparoscopy. *Pain Pract.* 2018 doi: 10.1111/papr.12727.

Pommier RF, Woltering EA, Keenan EJ, Fletcher WS. The mechanism of hormone-sensitive breast cancer progression on antiestrogen therapy. Implications for treatment and protocol planning. *Arch Surg.* 1987;122(11):1311-6.

Prior JC. Progesterone as a bone-trophic hormone. *Endocr Rev.* 1990;11(2):386-398.

Prior JC, Naess M, Langhammer A, Forsmo S. Ovulation Prevalence in Women with Spontaneous Normal-Length Menstrual Cycles - A Population-Based Cohort from HUNT3, Norway. *PLoS One.* 2015;10(8):e0134473.

Qi XL, Yao J, Zhang Y. No association between the progesterone receptor gene polymorphism (+331G/a) and the risk of breast cancer: an updated meta-analysis. *BMC Med Genet.* 2017;18(1):123.

Quennell JH, Howell CS, Roa J, Augustine RA. i wsp. Leptin deficiency and diet-induced obesity reduce hypothalamic kisspeptin expression in mice. *Endocrinology.* 2011; 152,1541-1550.

Raeder J, Gupta A, Pedersen FM. Recovery characteristics of sevoflurane- or propofol-based anaesthesia for day-care surgery. *Acta anaesthesiologica Scandinavica.* 1997; 41:988–994.

Raith E, Frank P, Freundl G. *Naturalne metody planowania rodziny.* Wyd. PWN, Warszawa 1997, s. 30, 33, 40-41, 43-47.

Razdaibiedina A, Khobzey M, Tkachenko V, Vorobiova I. Effects of Single-Nucleotide Polymorphisms in Cytokine, Toll-Like Receptor, and Progesterone Receptor Genes on Risk of Miscarriage. *Obstet Gynecol Int.* 2018:9272749. doi:10.1155/2018/9272749. eCollection 2018.

Ribeiro-Dasilvaa MC, Shinal RM, Glovera T, Williams RS, Staud R i wsp. Evaluation of menstrual cycle effects on morphine and pentazocine analgesia. *Pain*. 2011; 152(3): 614–622.

Rice DA, Kluger MT, McNair PJ, Lewis GN. Persistent postoperative pain after total knee arthroplasty: a prospective cohort study of potential risk factors. *Br J Anaesth*. 2018;121(4):804-812.

Rodriguez CS. Pain measurement in the elderly: a review. *Pain Manag Nurs*. 2001;2(2):38-46.

Rohlfsv RV, Weir BS. Distributions of Hardy-Weinberg equilibrium test statistics. *Genetics*. 2008, 180, 1609-16.

Roos J, Johnson S, Weddell S, Godehardt E. Monitoring the menstrual cycle: Comparison of urinary and serum reproductive hormones referenced to true ovulation. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2015;20(6):438-50.

Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol Biol*, 2000; 132:365-86.

Ruhaiyem ME, Alshehri AA, Saade M, Shoabi TA, Zahoor H i wsp. Fear of going under general anesthesia: A cross-sectional study. *Saudi J Anaesth*. 2016; 10(3): 317–321.

Saleem DM, Haider S, Khan MM, Shamsi T, Haleem DJ. Role of tryptophan in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *J Pak Med Assoc*. 2008; 58(2): 68-70.

Sari S, Kozanhan B, Egilmez AI, Soyder A, Aydin ON i wsp. The influence of the menstrual cycle on acute and persistent pain after laparoscopic cholecystectomy. *Rev Bras Anesthesiol*. 2018;68(3):231-237.

Sarli L, Costi R, Sansebastiano G, Trivelli M, Roncoroni L. Prospective randomized trial of low-pressure pneumoperitoneum for reduction of shouldertip pain following laparoscopy. *Br J Surg*. 2000;87(9):1161-5.

Scharfman HE, Maclusky NJ. Estrogen and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in hippocampus: complexity of steroid hormone-growth factor interactions in the adult CNS. *Front Neuroendocrinol* 2006; 27(4): 415-435.

Schmitt A, Crochet P, Knight S, Tourette C. Single-Port Laparoscopy vs Conventional Laparoscopy in Benign Adnexal Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Minim Invasive Gynecol.* 2017;24(7):1083-1095.

Scuderi P, Wetchler B, Sung YF, Mingus M, DuPen S i wsp. Treatment of postoperative nausea and vomiting after outpatient surgery with the 5-HT₃ antagonist ondansetron. *Anesthesiology* 1993; 78(1):15-20.

Sener EB, Kocamanoglu S, Cetinkaya MB, Ustun E. Effects of menstrual cycle on postoperative analgesic requirements, agitation, incidence of nausea and vomiting after gynecological laparoscopy. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;59(1):49-53.

Sinclair DR, Chung F, Mezei G. Can postoperative nausea and vomiting be predicted? *Anesthesiology.* 1999;91(1):109-18.

Šimurina T, Mraovic B, Skitarelić N, Andabaka T, Sonicki Z. Influence of the menstrual cycle on the incidence of nausea and vomiting after laparoscopic gynecological surgery: a pilot study. *J Clin Anesth.* 2012;24(3):185-92.

Słomski R, Szalata M, Wielgus K. Diagnostyka molekularna. W: Analiza DNA. Pod red.: Słomski R. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2008, 17-23.

Smith HS, Laufer A. Opioid induced nausea and vomiting. *Eur J Pharmacol.* 2014;722:67-78.

Smith WCS, Bourne D, Squair J, Phillips DO, Chambers WA. A retrospective cohort study of post mastectomy pain syndrome. *Pain.* 1999; 83: 91-5.

Song D, Whitten CW, White PF, Yu SY, Zarate E. Antiemetic activity of propofol after sevoflurane and desflurane anesthesia for outpatient laparoscopic cholecystectomy. *Anesthesiology.* 1998; 89:838–843.

Spampinato S, Trabucco A, Biasiotta A, Biagioni F. Hyperalgesic activity of kisspeptin in mice. *Mol Pain*. 2011;7:90.

Spiller R. Serotonin and GI clinical disorders. *Neuropharmacology*. 2008; 55:1072–1080.

Stein C. The control of pain in peripheral tissue by opioids. *N. Engl. J. Med*. 1995; 332: 1685–1690.

Suginami R, Taniguchi F, Suginami H. Prevention of postlaparoscopic shoulder pain by forced evacuation of residual CO₂. *JLS*. 2009;13(1):56–9.

Sujitha SP, Nair A, Banerjee M, Lakshmanan S. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) 2A receptor gene polymorphism is associated with schizophrenia. *Indian J Med Res*. 2014;140(6):736-43.

Świtalska M, Strzadała L. Non-genomic action of estrogens. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2007;61:541-7.

Takao T, Hashimoto K, De Souza EB. Interleukin-1 receptors in the brain-endocrine-immune axis. Modulation by stress and infection. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1995; 771:372–385.

Takeshita J, Litzinger MH. Serotonin Syndrome Associated With Tramadol. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2009; 11(5): 273.

Taşkin S, Taşkin EA, Seval MM, Atabekoğlu CS, Berker B i wsp. Serum levels of adenosine deaminase and pregnancy-related hormones in hyperemesis gravidarum. *J Perinat Med*. 2009;37:32–35.

Tincello DG, Taylor AH, Spurling SM, Bell SC. Receptor isoforms that mediate estrogen and progesterone action in the female lower urinary tract. *J Urol*. 2009;(181):1474-1482.

Tokunaga A, Saika M, Senba E. 5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. *Pain* 1998; 76, 349–355.

Tolksdorf W, Berlin J, Rey ER, Schmidt R, Kollmeier W i wsp. Preoperative stress. Study of the mental behavior and parameters of physiological stress in non-premedicated patients during the preoperative period. *Anaesthesist*. 1984;33(5):212-7.

Torres LM, Rodriques MJ, Montero A. Efficacy and safety of dipyron versus tramadol in the management after hysterectomy- a randomized, double-blind, multicenter study. *Reg Anest Pain Med* 2011; 26: 118–124.

Tsai HW, Chen YJ, Ho CM, Hseu SS, Chao KC i wsp. Maneuvers to decrease laparoscopy-induced shoulder and upper abdominal pain. *Arch Surg*. 2011;146(12):1360–6.

Tsai HW, Wang PH, Yen MS, Chao KC. Prevention of postlaparoscopic shoulder and upper abdominal pain: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2013;121(3):526-31.

Tseng LH, Liou SC, Chang TC, Tsai S.C. A randomized blinded study of the incidence of postoperative nausea and vomiting in women after major gynecologic laparoscopic surgery. *J Minim Invasive Gynecol*. 2006;13(5):413-7.

Turgut S, Ozalp G, Dikmen S, Savli S. Acupressure for postoperative nausea and vomiting in gynaecological patients receiving patient-controlled analgesia. *Eur J Anaesthesiol*. 2007;24(1):87-91.

Vallano A, Aguilera C, Arnau JM, Baños JE, Laporte JR. Management of postoperative pain in abdominal surgery in Spain. A multicentre drug utilization study. *Br J Clin Pharmacol*. 1999; 47(6): 667–673.

Van den Bosch JE, Moons KG, Bonsel GJ, Kalkman CJ. Does Measurement of Preoperative Anxiety Have Added Value for Predicting Postoperative Nausea and Vomiting? *Anesth Analg* 2005; 100: 1525–32.

Verde Z, Santiago C, Chicharro LM, Bandrés F i wsp. Association of HTR2A-1438G/A Genetic Polymorphism With Smoking and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Arch Bronconeumol. 2018 pii: S0300-2896(18)30314-4. doi: 10.1016/j.arbres.2018.07.021.

Wadełek J. Niedodma płuc w praktyce anestezjologicznej Część II. Zapobieganie i leczenie. Anestezjologia i Ratownictwo 2017; 11: 307-312.

Wang TF, Wu YT, Tseng CF, Chou C. Associations between dental anxiety and postoperative pain following extraction of horizontally impacted wisdom teeth: A prospective observational study. Medicine (Baltimore). 2017;96(47):e8665.

Warenik-Szymankiewicz A. Estrogeny. W: Zaburzenia hormonalne. M. Pawlikowski. Warszawa, 2003. Wydawnictwo Lekarskie PZWL: 189-190.

Weinert M. Anestezjologia. Wrocław: Elsevier Urban & Partner, 2008, s. 7-8. ISBN 978-83-60290-44-6.

Wiesmann T, Kranke P, Eberhart L. Postoperative nausea and vomiting - a narrative review of pathophysiology, pharmacotherapy and clinical management strategies. Expert Opin Pharmacother. 2015;16(7):1069-77.

Winter PC, Hickey GI, Fletcher HL. Genetyka populacji i ewolucja – Geny w populacjach: równowaga Hardy’ego-Weinberga. W: Genetyka. Krótkie wykłady. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2010, 262-271.

Wiśniewska–Jarosińska M, Klupińska G. Wydzielanie i metabolizm serotoniny u kobiet z czynnościowymi zaburzeniami przewodzenia pokarmowego w okresie pomenopauzalnym. Prz Menopauz. 2009;4: 239-243.

Wolfe A, Hussain MA. The Emerging Role(s) for Kisspeptin in Metabolism in Mammals. Front Endocrinol. 2018;9:184.

World Health Organization. Cancer pain relief. With a guide to opioid availability (2 ed.). Geneva, 1996, WHO. ISBN 92-4-154482-1. s. 15.

Wu CL, Raja SN. Treatment of acute postoperative pain. *Lancet* 2011; 377: 215–225.

Yu T, Cheng Y, Wang X, Tu B, Cheng N i wsp. (2017). Gases for establishing pneumoperitoneum during laparoscopic abdominal surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Jun 21;6:CD009569. doi: 10.1002/14651858.CD009569.pub3.

Zhou L, Zhang Y, Sun H, Hu R, Wang J, Xu G. Effect of preemptive dezocine before general anesthesia on postoperative analgesia in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy: A prospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(39):e12533.

Zia JK, Heitkemper MM. Upper Gastrointestinal Tract Motility Disorders in Women, Gastroparesis, and Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2016;45(2):239-51.

Żylicz Z, Krajnik M. Jak powstaje ból? Neurofizjologia bólu dla początkujących. *Pol Med Paliat*. 2003; 2, 1, 49–56.

11. SPIS TABEL, WYKRESÓW, RYCIN

Tabela 1. Charakterystyka badanych polimorfizmów.	42
Tabela 2. Charakterystyka starterów stosowanych do amplifikacji badanych genów.	43
Tabela 3. Skład mieszanin reakcyjnych.	44
Tabela 4. Warunki dla poszczególnych etapów reakcji PCR.	45
Tabela 5. Skład mieszanin do hydrolizy poszczególnymi enzymami restrykcyjnymi.	46
Tabela 6. Fragmenty DNA po reakcji hydrolizy oraz zastosowane enzymy restrykcyjne.	47
Tabela 7. Standaryzacja i agregacja danych- przykład na podstawie oceny bólu przez wybrane losowo pacjentki.	51
Tabela 8. Charakterystyka pacjentek włączonych do badania.	52

Tabela 9. Zależność wpływu wybranych czynników na nudności i wymioty pooperacyjne.	55
Tabela 10. Zależność wpływu wybranych czynników na nasilenie bólu pooperacyjnego.	58
Tabela 11. Rozkład genotypów wszystkich badanych polimorfizmów oraz ocena równowagi Hardy'ego-Weinberga.	61
Tabela 12. Wpływ wszystkich badanych polimorfizmów na PONV.	65
Tabela 13. Wpływ wszystkich badanych polimorfizmów na ból pooperacyjny.	66
Rycina 1. Schemat odruchu wymiotnego wg Wiesmann w modyfikacji własnej.	11
Rycina 2. Schemat drogi przekazywania bólu wg Damjanova w modyfikacji własnej.	16
Rycina 3. Schemat przemian hormonów steroidowych wg Murraya w modyfikacji własnej.	22
Rycina 4. Schemat biosyntezy i metabolizmu serotoniny wg Dorszewskiej w modyfikacji własnej.	24
Rycina 5. Schemat oznaczania stężenia 17- β estradiolu (materiał producenta- Roche Diagnostics, w modyfikacji własnej).	38
Rycina 6. Schemat oznaczania stężenia serotoniny metodą ELISA (materiał producenta w modyfikacji własnej).	39
Rycina 7. Przykładowy wynik badania po hydrolizie restrykcyjnej enzymem BspLI.	48
Rycina 8. Przykładowy wynik badania po reakcji PCR.	48
Wykres 1. Nasilenie dolegliwości w zależności od fazy cyklu.	54
Wykres 2. Wpływ leków opioidowych na nasilenie nudności i wymiotów pooperacyjnych.	56
Wykres 3. Nasilenie bólu pooperacyjnego w zależności od fazy cyklu.	57
Wykres 4. Związek konieczności podania opioidowego leku przeciwbólowego od stężenia serotoniny.	59
Wykres 5. Wpływ BMI pacjentek na potrzebę podania opioidowego leku przeciwbólowego.	60