

Prof. dr hab. n. med. n. zdr. Alicja Bartkowska-Śniatkowska  
Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pediatrycznej  
Instytut Pediatrii  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
Tel. 61 84 91 478  
Tel. kom. 605 558 292  
Poznań 07.03.2024

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu	
	
RPW/4469/2024 P Data: 2024-03-14	
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIBLIOTEKA NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	15-03-2024
L. dz. RN-BM/	421/2024

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. **Małgorzaty Grotowskiej**

pod tytułem:

**„Wykorzystanie metod spektroskopowych dla obrazowania funkcji  
mikrokrążenia w anestezjologii i intensywnej terapii”**

**“Application of spectroscopic methods for microcirculation imaging in  
anesthesiology and intensive therapy”**

Promotor Prof. dr hab. n. med. Waldemar Goździk

Monitorowanie hemodynamiczne jako ocena wydolności układu krążenia stało się kamieniem węgielnym intensywnej terapii. Celem nadrzędnym oceny wydolności układu krążenia jako całości jest zaalarmowanie lekarza o jego niewydolności, zanim dojdzie do ciężkich i nieodwracalnych zmian narządowych. Zatem powinno ono być łatwe i proste do przeprowadzenia, z minimalnym ryzykiem dla chorego, jak również dostarczać danych rzetelnych, powtarzalnych i wiarygodnych.

Problem monitorowania wydolności układu krążenia w różnych stanach chorobowych nie jest jednak tak prosty jak by się wydawać mogło.

Zazwyczaj przy łóżku chorego oceniamy parametry hemodynamiczne w wymiarze „makro”, co jednak okazało się niewystarczające i w większości współczesnych publikacji naukowych co raz więcej miejsca zajmuje analiza i opisy parametrów w wymiarze „mikro”. Ta tendencja jest niezwykle wyraźna zwłaszcza w ostatnich latach, w których wzrastająca liczba doniesień naukowych porusza problem wydolności i/lub niewydolności mikrokrążenia

VIDI'

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
FACULTAS MEDICINAE  
Pracownia  
prof. dr hab. Agnieszka Małoń

i związanych z tym zjawiskiem nieprzewidywalnych konsekwencji dla pacjentów jak i dla leczących ich lekarzy.

Zrozumiałe jest, że wstępne leczenie ostrej niewydolności krążenia, niezależnie od przyczyny, opiera się na szybkiej i wczesnej korekcie makroparametrów hemodynamicznych, których jednak głównym celem jest dążenie do utrzymania lub przywrócenia prawidłowej i wystarczającej dostawy tlenu  $DO_2$  ( $DO_2$  - Oxygen Delivery) do tkanek i komórek obwodowych, poprzez zachowane makrokrążenie. Kluczowe w tym procesie jest dostarczenie do tkanek i komórek takiej ilości tlenu, która pozwoli mitochondriom na wytwarzanie dostatecznej ilości energii w postaci ATP, decydując o przeżyciu. Tym bardziej jest to interesujące, gdyż we wstrząsie typu dystrybucyjnego parametry „makro” mogą osiągać wartości prawidłowe, podczas gdy mikrokrążenie jest już istotnie zaburzone, często w sposób nieodwracalny, prowadząc do ciężkiej niewydolności wielonarządowej, a nierzadko również do śmierci pacjenta.

Wśród tych tzw. „grubych” i dość prostych klinicznych wykładników łatwym i szybkim do wykonania testem jest ocena powrotu kapilarnego, który jak się okazuje znacznie lepiej koreluje z rokowaniem chorych niż stan ciężkości oceniany skalami takimi jak APACHE, SAPS i inne. Ocena powrotu kapilarnego pozwala ocenić krążenie skórne, jednakże nie jest silnym wykładnikiem służącym do oceny globalnej wydolności układu krążenia, zwłaszcza gdy inne czynniki jak leki, uraz czy gorączka mogą zaburzać jego ocenę. Może służyć jednak wczesnej ocenie pacjenta odwodnionego a także jako wykładnik aktywacji współczulnej i hipoperfuzji, zwłaszcza we wczesnej resuscytacji płynowej. Co więcej, opisano wprawdzie słabą ale jednak korelację, znacznie przedłużonego powrotu kapilarnego z wysokością SVI i stężeniem mleczanów we krwi u pacjentów w ciężkim stanie klinicznym.

Historia badań nad mikrokrążeniem sięga wprawdzie ubiegłego wieku, jednakże ze względu na konieczność stosowania skomplikowanych narzędzi i technik nadal nie są one powszechnie używane w codziennej praktyce klinicznej. Podwaliny dla badań klinicznych dały badania eksperymentalne oparte na monitorowaniu mikrokrążenia u zwierząt doświadczalnych. W populacji ludzkiej również takie badania są możliwe do przeprowadzenia z zachowaniem zasad etycznych, głównie w zakresie nieinwazyjności. W tym właśnie miejscu wpisują się metody spektroskopowe, których przewaga nad takimi metodami jak mikrodializa jest niezwykle ważna.

W pracy poruszono z jednej strony problem zmian w mikrokrążeniu ocenianych zarówno w badaniu klinicznym jak i badaniu eksperymentalnym. Z drugiej zaś, oceniano wpływ wybranych leków na mikrokrążenie z zastosowaniem metod spektroskopowych.

Oceniana rozprawa doktorska to cykl monochromatyczny dwóch artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie PubMed oraz znajdujących się na liście Journal Citation Reports (Thomson Reuters) uzupełnionych o opracowanie składające się łącznie na 89 stron maszynopisu:

1. Grotowska M, Goździk. W Intraoperative intravenous infusion of lidocaine increases total and small vessel densities of sublingual microcirculation: a randomized prospective pilot study. *J Int Med Res.* 2023;51:3000605231209820.doi10.1177/03000605231209820.PMID: 37940618  
IF 1.6, MEiN 40
2. Grotowska M, Harbut P, Frostell C, Goździk W. Fluid resuscitation, but not inhaled nitric oxide, improves microcirculation in septic pigs. *Adv Clin Exp Med.* 2023 Jun;32(6):667-676. doi: 10.17219/acem/156700. PMID: 36482820  
IF 2.2, MEiN 140

Łączny sumaryczny współczynnik oddziaływania dla ww. cyklu prac (IF) wynosi 3.8, a liczba punktów MNiSzW – 180. Obydwie prace zostały opublikowane w 2023 roku. Szczególnie należy podkreślić, że druga z tych pozycji została opublikowana w czasopiśmie o wysokim współczynniku IF oraz wysokiej punktacji MNiSzW, co może zagwarantować wysoką liczbę cytowań. Pozycja pierwsza została opublikowana w czasopiśmie naukowym znajdującym się w czwartym kwartylu (Q4), podobnie jak druga (Q4), wg bazy JCR w dziedzinach spoza anestezjologii i intensywnej terapii. Jednakże jest to zrozumiałe po uwzględnieniu doświadczalnego charakteru badania, z zastosowaniem metod nie stosowanych rutynowo w codziennej klinicznej anestezjologicznej praktyce. Jednak to w żaden sposób nie umniejsza wartości pracy, wręcz przeciwnie może stać przyczyną rozszerzenia badań w tym kierunku zmierzający do poprawy jakości znieczuleń i leczenia krytycznie chorych pacjentów.

Wszyscy współautorzy złożyli wymagane oświadczenia o własnym wkładzie merytorycznym w prezentowanych manuskryptach, podkreślając zarazem indywidualny wkład i zaangażowanie lek. Małgorzaty Grotowskiej w opracowanie koncepcji badań i hipotez

badawczych, rekrutacje pacjentów i tworzenie baz danych, przeprowadzenie badań, opracowanie wyników jak i przygotowanie oraz wysłanie manuskryptów do publikacji.

Praca zawiera 7 głównych rozdziałów oraz 5 dodatkowych, w tym piśmiennictwo i oświadczenia współautorów. W jej skład wchodzi wstęp i opis projektu oraz wyniki, które zostały omówione jako podsumowanie obu publikacji. Wnioski recenzowanej dysertacji zostały zaprezentowane w sposób sumaryczny z obu publikacji jako osobny rozdział.

Praca zawiera 89 pozycji piśmiennictwa, z czego tylko 4 pochodzą sprzed roku 2000, a wszystkie pozostałe zostały opublikowane po 2000 roku. Interesujące jest zacytowanie w pracy publikacji z 1902 roku, autorstwa Williama Maddocka Baylissa, angielskiego fizjologa, profesora University College London, pioniera badań nad humoralną i nerwową regulacją czynności narządów wewnętrznych i krążenia. Za swoją działalność naukową otrzymał on w 1911 roku nagrodę Royal Medal, a w 1919 Copley Medal, a także posiadał tytuł szlachecki *Sir*.

Aspekt historyczny ujęty przez Doktorantkę zasługuje na wyróżnienie i pochwałę, podkreślając znaczenie, ale zarazem i trudny oraz żmudny proces nad opracowywaniem technik i metod leczenia.

Praca w części wstępnej porusza wiele aspektów, od definicji, budowy i funkcji mikrokrążenia, poprzez mechanizmy jego regulacji, do metod ocen z wykorzystaniem spektroskopowych metod obrazowania, co decyduje o różnorodności i interesującym charakterze pracy doktorskiej.

W części pierwszej Autorka przedstawia w sposób bardzo wnikliwy techniki obrazowania mikroskopowego z zastosowaniem obrazowania spektralnego z wykorzystaniem polaryzacji ortogonalnej, mikroskopii ciemnego pola z iluminacją strumieniem bocznym oraz mikroskopii ciemnego pola z iluminacją światłem odbitym. Opisy tych metod są bardzo wnikliwe, uzupełnione o obrazy sporządzone przez Autorkę, co w sposób ciekawy uzupełnia pracę.

Praca posiada dwa główne cele badawcze. Za cel pierwszy postawiono sobie ocenę wpływu dożylnego wlewu lidokainy na mikrokrążenie u pacjentów poddawanych zabiegom operacyjnym w obrębie jamy brzusznej. Z kolei celem drugiej - eksperymentalnej pracy było zbadanie wpływu resuscytacji płynowej oraz dwóch substancji tj. wziewnego tlenu azotu oraz hydrokortyzonu na mikrokrążenie u prosiąt z wyindukowaną sepsą. Duże uznanie należy się Autorce za podjęcie trudu oceny specyficznych zmian w mikrokrążeniu w dwóch niezależnych i zaprojektowanych przez siebie badaniach – klinicznym i eksperymentalnym, na które uzyskano odpowiednich komisji bioetycznych.

Realizując cele Doktorantka przeprowadziła pilotażowe, prospektywne, jednośrodkowe, randomizowane, z podwójnie ślepą próbą badanie kliniczne, co zasługuje na pozytywną ocenę. Do badania poddano randomizacji 12 pacjentów, z których 6 zakwalifikowano do grupy badanej i 6 do grupy kontrolnej. W obu grupach zastosowano ten sam model postępowania i nie różniły się one statystycznie, z wyjątkiem podaży lidokainy w grupie badanej. Próba była podwójnie zaślepiona, więc ocena stanu pacjentów podczas, jak i po zabiegu była obiektywna. W obu grupach przeprowadzono obrazowanie mikrokrążenia metodą SPF, testem okluzji naczyń (VOT), przy zachowanym monitorowaniu hemodynamicznym. Istotnym wynikiem nie tylko z punktu widzenia badacza, ale przede wszystkim dla wartości klinicznej było stwierdzenie, że po 2 godzinach wlewu dożylnego lidokainy całkowita gęstość naczyń (TDV) i gęstość małych naczyń (sVD) zwiększyła się istotnie statystycznie w porównaniu z wynikami otrzymanymi w grupie kontrolnej. Takie zjawisko może mieć ogromne znaczenie kliniczne i wartość prognostyczną w wybranych grupach pacjentów, co wymaga dalszych badań klinicznych.

Realizując drugi cel Doktorantka uzasadniła w części wstępnej w sposób wyczerpujący wybór zastosowanych leków tj. tlenu azotu i hydrokortyzonu oraz płynoterapii w modelu kałowego zapalenia otrzewnej u prosiąt. Badane zwierzęta przydzielono losowo do jednej z trzech grup w celu oceny wpływu płynoterapii skojarzonej z noradrenaliną, hydrokortyzonem i iNO (grupa 1), wyłącznie płynoterapii w połączeniu z noradrenaliną (grupa 2) oraz braku stosowania jakiegokolwiek z ww. leków i płynów (grupa 3). Badanie zaplanowano na 30 godzin obserwacji, w czasie których mikrokrążenie oceniano za pomocą urządzenia MicroScan. U wszystkich badanych osobników rozwinęła się sepsa z towarzyszącym jej pogorszeniem przepływu kapilarnego. Niestety nie udało się wykazać terapeutycznego wpływu ani hydrokortyzonu, ani iNO na perfuzję naczyń włosowatych u badanych zwierząt w pierwszych dwóch grupach. W tym miejscu warto zaznaczyć, że jednak dodatkowo zwierzęta te były poddane terapii płynowej oraz wlewom noradrenaliny. W grupie trzeciej brak jakiegokolwiek postępowania leczniczego, nawet płynoterapii, wiązał się ze 100-procentową śmiertelnością, jeszcze przed zaplanowanym końcem badania. I jest to niezwykle ważna informacja, że wczesna płynoterapia ma istotne znaczenie kliniczne, choć w praktyce najczęściej ten wczesny etap wstrząsu nie jest dostatecznie szybko i zbyt rzadko rozpoznawany przez lekarzy. Tym bardziej uzyskane przez Doktorantkę wyniki mogą i podkreślają zasadność wczesnej płynoterapii i leczenia wazopresyjnego, wpływając na rokowanie u chorych z sepsą i wstrząsem septycznym, co wpisuje się w aktualnie obowiązujące zalecenia i rekomendacje

towarzystw naukowych. Choć wyniki te uzyskano w badaniu obarczonym pewnymi ograniczeniami, które zostały rzetelnie przedstawione przez Autorkę, to zasługują one na analizę i kontynuację w dalszych badaniach klinicznych.

Rozprawa doktorska na podstawie cyklu prac jest wyraźnie dwuwątkowa. Pierwsza część dotyczy badania klinicznego oceny mikrokrążenia z zastosowaniem wlewu dożylnego lidokainy. W drugiej części Doktorantka prezentuje uzyskane na podstawie badania eksperymentalnego. Według mojej wiedzy liczba doniesień w tym zakresie ciągle wzrasta, jednak każda nowa publikacja może przyczynić się do udoskonalenia i poprawy postępowania leczniczego u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym, u których wynik leczenia jest nadal niepewny pomimo wprowadzenia co raz bardziej nowoczesnych metod. Prace z tego cyklu stanowią ważne uzupełnienie wiedzy na temat monitorowania tak specyficznego narządu jakim jest mikrokrążenie, które jak wykazały badania Doktorantki, może charakteryzować się wyjątkową heterogennością. Wiedza na ten temat może przyczynić się do udoskonalenia metod terapeutycznych, gdyż stosowanie na co dzień spektroskopowych metod monitorowania wydaje się póki co niemożliwym wyzwaniem.

Autorka słusznie opisuje ograniczenia swoich badań, podkreślając niewielką liczebność grup, co zwłaszcza w badaniu eksperymentalnym wydaje się być mniej istotne.

Doktorantka sformułowała cztery wnioski w pracy. Wnioski zostały zdefiniowane w sposób rzeczywisty, odzwierciedlający uzyskane wyniki badań. Na podkreślenie zasługuje fakt konkretnego sformułowania wniosków, które w sposób bezpośredni odpowiadają na postawione sobie wcześniej cele badawcze. Sugerowałabym jedynie zmianę kolejności wniosku czwartego na drugi, tak aby zachować układ badania klinicznego i następnie badania eksperymentalnego.

Po zapoznaniu się z pracą chcę skierować dodatkowe pytania i komentarze do Doktorantki:

1. W pracy zabrakło wyjaśnienia dlaczego zastosowano właśnie taki protokół płynoterapii wg Cannessa. Poza tym zacytowana pozycja 59 nie jest oryginalną pracą opisującą ten protokół, więc wydaje mi się, że oryginalna pozycja byłaby bardziej odpowiednia: *Cannesson M et al. Perioperative goal-directed therapy and postoperative outcomes in patients undergoing high-risk abdominal surgery: a historical-prospective comparative effectiveness study. Critical Care 2015;19:261*
2. Sugeruję użycie w pracy określenia 0,9% NaCl niż sól fizjologiczna.

3. Jak wynika z tabeli 2, str. 53, istotność statystyczną wykazano nie tylko w odniesieniu do TVD i sVD, ale również PVD i psVD, co nie zostało jednak opisane w wynikach pracy.
4. Jak można wytłumaczyć rozejście zespolenia u pacjenta w grupie otrzymującej lidokainę, jeżeli większość pracy sugeruje pozytywny wpływ wydolnego mikrokrążenia na powikłania pooperacyjne?
5. Akapit pierwszy ze strony 64 powtarza się na stronie 66 (W grupie 3....itd.)
6. Tabela 6 ze strony 66 w mojej opinii nie odzwierciedla wyników korelacji zamieszczonych w opisie tabeli. Może bardziej odpowiednie byłoby przedstawienie graficzne tych wyników – pozostawiam to do przemyślenia i ewentualnego wyjaśnienia. Jak rozumieć z tabeli, że wartości były istotne statystycznie?

Oceniana rozprawa doktorska przedstawia bardzo ciekawy temat, unikatowy ze względu na zastosowanie w badaniach nowoczesnych metod obrazowania mikrokrążenia, dzięki czemu czyta się ją z dużym zainteresowaniem. Doktorantce nie udało się uniknąć bardzo pojedynczych błędów stylistycznych czy określeń typu „sól fizjologiczna” czy „sfigmometr”.

Wobec istotnie ważnego charakteru publikacji, jakim jest ocena mikrokrążenia w różnych stanach klinicznych, oceniam pracę bardzo pozytywnie. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595, z późn. zm) i tym samym wnioskuję do rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Małgorzaty Grotowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Alicja Bartkowska-Śniatkowska

Poznań 12/03/2024

Alicja Bartkowska-Śniatkowska