

Ocena rozprawy doktorskiej lek.med. Battsengel Retsen pt: „Wpływ azatiopryny, fluoksetyny i paracetamolu na aktywność wybranych enzymów wątrobowych”

Przedstawiona do oceny praca dotyczy niezwykle ważnego z punktu widzenia praktyki klinicznej działania hepatotoksycznego szeregu substancji, z których większość stosowana jest jako preparaty lecznicze.

W opracowaniach farmakologicznych charakterystyka ponad 900 preparatów wykazuje możliwość potencjalnego uszkodzenia wątroby wynikającego z ich stosowania. Z tego też względu prezentowana do oceny dysertacja zawiera niezwykle cenne dane, dąży do uporządkowania współczesnych informacji dotyczących wpływu substancji określanych jako leki na miąższ wątroby.

Poza samą strukturą chemiczną, elementem eksponowanym przez Autorkę rozprawy jest także kwestia, że istotnym czynnikiem potencjalnie zwiększającym ryzyko hepatotoksyczności jest wielkość dawki.

Autorka słusznie podkreśla, że stosunkowo najprostszą metodą oceny polekowego uszkodzenia wątroby, rozpoznania, monitoringu jest analiza aktywności enzymów wątrobowych, która pozwala wnioskować o uszkodzeniu hepatocytów, zmianach cholestatycznych czy uszkodzeniach mieszanych.

Po „Wprowadzeniu”, które Autorka określa jako rozdział 1, w rozdziale 2 omówione zostały podstawowe funkcje jednego z głównych gruczołów układu pokarmowego jakim jest wątroba. Dotyczy to aktywności metabolicznej, wydzielniczej, magazynującej a także szczególnie ważnej z punktu codziennej

praktyki klinicznej roli detoksykacyjnej. Doktorantka słusznie podkreśla, że reakcje oksydacyjno-redukcyjne, w których szczególną rolę spełniają cytochromy P450, stanowi jeden z podstawowych szlaków biotransformacji spożywanych i metabolizowanych preparatów hepatotoksycznych. Z rozdziału tego można wnioskować o dobrej znajomości zagadnienia przez Doktorantkę – fizjologii wątroby.

W części określanej mianem rozdziału 3.1 omówione zostały w sposób wyczerpujący typy uszkodzeń wątroby ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów cholestatycznych i zmian o typie stłuszczenia. Autorka słusznie podkreśla, że poza głównymi objawami cholestazy w patologii wątroby istotne jest także uwzględnianie polekowych uszkodzeń naczyń narządu, promocja zmian o typie zwłóknienia a dalej nowotworów wątroby.

W części końcowej tego rozdziału pojawiło się stwierdzenie, że polekowe uszkodzenia wątroby są trudne dla jednoznacznego zdiagnozowania. Z tego też względu tym bardziej słuszne jest zainteresowanie Kandydatki wpływem niektórych preparatów na czynność gruczołu.

Autorka w rozdziale 4 określanym jako „Wpływ badanych leków na czynność wątroby” omawia działanie popularnych preparatów, takich jak często stosowany inhibitor wychwyty serotoniny – fluoksetyna, działanie paracetamolu, leku, którego zakres stosowania trudno przecenić w zwalczaniu bólu oraz objawów towarzyszących stanom zapalnym, wreszcie azatiopryny czyli antymetabolitu pochodnego 6-merkaptopuryny o szerokim zastosowaniu w licznych modelach terapii immunosupresyjnej.

W odniesieniu do każdego z ocenianych preparatów Autorka omawia wskazania, co znakomicie ułatwia zrozumienie koncepcji pracy, a dalej poświęca się ocenie biotransformacji i toksyczności omawianych preparatów.

Dane dotyczące omawianych związków Doktorantka odnosi do najprostszej formy oceny czynności wątroby, jaką stanowi zmiana aktywności wybranych enzymów wątrobowych, szczególnie aminotransferaz, cholinesterazy, γ -glutamylotranspeptydazy i fosfatazy alkalicznej, jednocześnie krótko charakteryzując znaczenie omawianych enzymów.

W rozdziale 6 omawiane są wskaźniki gospodarki wolnorodnikowej z licznymi współczesnymi odnośnikami literaturowymi, co dodatkowo potwierdza zaangażowanie lek. med. B. Rentsen w tematykę pracy.

Autorka rozprawy omawia także wpływ alkoholu na funkcjonowanie wątroby jako elementu dodatkowo utrudniającego detoksykacyjne działanie metaboliczne, a także potencjalnie zwiększającego intensywność i ryzyko występowania uszkodzeń wątroby, nie tylko klasycznie polekowych, ale również potęgowanych przez spożycie etanolu.

Omawiany rozdział prowadzi do określenia celu i zakresu badań, które zostały ujęte w rozdziale 8 i sformułowane jako cel wiodący, podstawowy określany jako analiza laboratoryjnych wskaźników enzymatycznych wątroby w toksycznym uszkodzeniu wątroby wywołanym podawaniem wybranych leków. Jednocześnie sformułowano 3 cele robocze: próby oceny przydatności badań biochemicznych, wpływu leków na wybrane parametry biochemiczne oraz oceny hepatotoksyczności wybranych leków.

Autorka w dalszej części pracy przechodzi do charakterystyki grupy badanej, materiału i metodyki badawczej podkreślając, że oznaczenia badanych parametrów przeprowadzone były na zwierzętach ze szczegółową analizą biochemiczną enzymów i aktywności enzymatycznej w surowicy krwi jak i w homogenatach wątroby oraz analizą histopatologiczną preparatów tego narządu.

Badania przeprowadzono na 75 szczurach rasy Buffalo, przy czym wszystkie badane zwierzęta były samicami, z populacji tej wyodrębniono 25 osobników, które stanowiły grupę kontrolną. Pozostałe 50 szczurów podzielono na 4 grupy analizowane pod kątem wpływu badanych leków i mechanizmów ich toksycznego działania na miąższ wątroby.

Autorka w tej części rozprawy omawia wielkość dawki i czas stosowania wybranego preparatu. Szczególną uwagę zwrócić należy na istotną różnicę dawki w odniesieniu do stosowanego paracetamolu (1600 mg/kg m.c. vs. 1200 mg/kg m.c.). W rozdziale tym Doktorantka omawia metodykę oznaczeń biochemicznych, przygotowanie preparatów do badań histologicznych, homogenatów tkankowych).

Należy podkreślić, że praca była wykonywana po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

W rozdziale 9 zaprezentowano „Wyniki badań”, które opracowane były także statystycznie przy wykorzystaniu nieparametrycznego testu istotności U Manna-Whitneya, przy czym analizy statystyczne uzyskanych wyników wykazują istotność statystyczną przy poziomie $p < 0,05$ (Tabela 9.1, Tabela 9.2).

Uzyskane wyniki prezentowane są zarówno w formie rycin (opis preparatów histologicznych), tabel jak i w formie opisowej.

Na szczególną uwagę czytelnika zasługuje tabela 9.2, gdzie umieszczono wyniki opracowania statystycznego (test U Manna Whitneya) dotyczącego różnic aktywności badanych enzymów w surowicy grupy badanej i grupy kontrolnej. Analiza treści tej tabeli dokumentuje hepatotoksyczny wpływ każdego ze stosowanych w badaniach preparatów w porównaniu do tych wartości w grupie kontrolnej.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę, że celowym byłoby jednak przy graficznej prezentacji wyników badań liczbowych przedstawienie istotności różnic pomiędzy wynikami poszczególnych badań i odchylenia standardowego. Wydaje się, że przy przygotowaniu pracy do druku ten zabieg pozwoli na akcentację ciekawych i świadczących o dużym zaangażowaniu Autorki pracy wyników omawianej rozprawy doktorskiej.

W rozdziale 10 - „Dyskusja” ujęto omówienie wyników badań szczególnie w relacji wyników uzyskanych w grupie kontrolnej.

Autorka z dużą dozą krytycyzmu podkreśla, że uszkodzenia polekowe wątroby są prezentowane szeroko w literaturze, tym niemniej szczególną wartością wyników badań własnych jest próba oceny działania hepatotoksycznego w następstwie krótkotrwałego stosowania preparatów (ekspozycja czterodniowa).

Doktorantka omawia poszczególne badane zmienne i wyniki oddziaływania preparatów zarówno na wartości enzymów w surowicy krwi, aktywność enzymatyczną homogenatu wątrobowego, wreszcie zmiany obrazu histologicznego preparatu wątroby jako wynik ekspozycji na badane leki.

Z omawianych w rozprawie doktorskiej badań wynika, co jest udokumentowane aktualnymi doniesieniami literaturowymi, że występuje wyraźna zależność aktywności aminotransferazy asparaginianowej, alaninowej oraz fosfatazy alkalicznej i γ -glutamylotransferazy od wielkości podawanej dawki paracetamolu.

Zmniejszenie stężenia cholinesterazy w surowicy uzyskanej od zwierząt z podgrup badanych w rozumieniu Doktorantki stanowi odzwierciedlenie upośledzenia syntezy białek wątrobowych, jakkolwiek Kandydatka sama przyznaje, że obniżona wartość stężeń tego enzymu niekoniecznie musi korelować z zaburzeniami czynności wątroby.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka podkreśla istotny statystycznie wpływ ekspozycji badanych zwierząt na wyższe dawki paracetamolu zarówno w zakresie aktywności enzymów w surowicy, jak i w homogenacie tkankowym.

W tej części recenzji podkreśliłbym raz jeszcze znaczenie umieszczenia przy opisach rycin poziomu istotności zmian wartości badanych.

Doktorantka w rozdziale 10.5 omawia wyniki badań histopatologicznych uwzględniając odnośniki literaturowe. Autorka słusznie podkreśla, iż zróżnicowany obraz uszkodzeń wątroby utrudnia precyzyjną interpretację hepatotoksyczności leków, a łączyć go należy z wielkością dawki i czasem ekspozycji (dotyczy to także azatiopryny i fluoksetyny).

W rozdziale 11 – „Wnioski” lek. med. Battsengel Rentsen słusznie eksponuje znaczenie badań biochemicznych jako narzędzia pozwalającego ocenić stan aktywności komórek wątrobowych i rodzaj uszkodzenia. Wnioski 2 i 3 wynikają z siebie i w pełni odzwierciedlają obserwacje i wyniki badań umieszczonych w danej pracy. Wydaje się, że wniosek nr 2 jest właściwie odzwierciedleniem akceptowanego stanu wiedzy i może być połączony z wnioskiem 3.

Słusznie eksponowane jest stwierdzenie, iż uszkodzenie wątroby każdym z badanych leków ma cholestatyczny charakter i współwystępuje z osłabieniem aktywności cholinesterazy.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę, że w przypadku publikacji pracy wydaje się celowym dokonanie drobnych korekt w zakresie bibliografii. Przykładowo, w pozycji 11, 69 brakuje dokładniejszej charakterystyki stosowanego źródła, jest to jednak drobna nieprawidłowość redakcyjna.

Jako recenzent uważam, że prezentowana do oceny dysertacja lek. med. Battsengel Rentsen „Wpływ azatiopryny, fluoksetyny i paracetamolu na aktywność wybranych enzymów wątrobowych” spełnia regulaminowe warunki rozprawy doktorskiej – w związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego Piastów Śląskich we Wrocławiu o wszczęcie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Marian Grzymisławski

Kierownik Katedry i Kliniki
Chorób Wewnętrznych, Metabolicznych i Dietyki
Prof. dr hab. Marian Grzymisławski