

Р Е Ц Е Н З И Ј А
НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „МОНИТОРИНГ НА
РЕНАЛНАТА ФУНКЦИЈА КАЈ ХРОНИЧНО ТРЕТИРАНИ ПАЦИЕНТИ
СО НЕСТЕРОИДНИ АНТИИНФЛАМАТОРНИ ЛЕКОВИ - NSAID“,
ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ,
УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП

Со Одлука број 0206-379/4 од 12.8.2020 година, донесена на 23. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „Мониторинг на реналната функција кај хронично третирали пациенти со нестероидни антиинфламаторни лекови - NSAID“, пријавена и изработена од кандидатката м-р Дрита Узеири Хавзиу, во состав:

- проф. д-р Емилија Јаневиќ Ивановска – претседател;
- проф. д-р Биљана Ѓорѓеска - член, ментор;
- проф. д-р Татјана Кадифкова-Пановска – член, екстерен ментор;
- проф. д-р Милка Здравковска – член;
- проф. д-р Лутфи Зилбеари – член.

Комисијата во наведениот состав го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов

ИЗВЕШТАЈ

Анализа на трудот

Докторската дисертација со наслов „Мониторинг на реналната функција кај хронично третирали пациенти со нестероидни антиинфламаторни лекови - NSAID“, пријавена и изработена од м-р Дрита Узеири Хавзиу, е напишана на 180 страници, на А4 формат, со вкупно 41 слики и 42 табели.

Дисертацијата ги опфаќа следните поглавја: Резиме на македонски и на англиски јазик, Листа на кратенки, Вовед, Цели на истражувањето, Експериментален дел во кој се опфатени материјалите и методите на работа, Резултати и Дискусија, Заклучоци и Литература.

Во понатамошниот тек од овој извештај е даден краток осврт за секое поглавје од докторската дисертација.

Во **Воведот** кандидатката ги елаборира симптомите на мигрената како најчестата причина за главоболка која придонесува до невролошко нарушување со сериозен социоекономски товар, како и начинот и причината за најчесто користени нестероидни антиинфламаторни лекови NSAIDs како лекови за терапии за нападот на мигрена. Нивната употреба во мигрена е проследена од нивните аналгетско, антиинфламаторно и антипиретично дејство, вклучувајќи ги и другите етиологии на болката, поддржана од индиректен доказ дека простагландините се вклучени во патофизиологијата на мигрената.

Кандидатката дава детален опис на механизмите на дејство на нестероидни антиинфламаторни лекови како селективни инхибитори на COX-2, но и на одредените несакани ефекти кои се јавуваат при нивно користење. Гастроинтестиналните негативни ефекти се повеќе истражувани и квантифицирани, како што напоменува кандидатот, но многу помалку се знае за нивниот нефротоксичниот ефект.

Од овие причини, а како интерес за изработка на докторскиот труд, кандидатката преку теоретски сознанија добиени преку преглед од достапната литература детално се осврнува на дејството на нестероидни антиинфламаторни лекови врз бубрезите и несаканите ефекти кои ги предизвикуваат посебно во услови на бубрежна хипоперфузија, каде што може да резултира со акутно бубрежно оштетување (Akute kidney injury - AKI). Кандидатката укажува дека NSAID кои се користат при спречување на неурогеното посредуано воспаление во тригеминоваскуларниот систем и намалување на болката, преку инхибицијата на простагландин, може да го намали бубрежниот проток на крв и брзина на гломеруларна филтрација, со што се промовира задржувањето на натриум и вода, што предизвикува хиперренинемија и хипоалдостеронизам, намален проток во дисталните тубули со зголемена реасорпција и намалена екскреција на натриум и хлориди, намален внес на натриум во клетките за размена на натриум-калиум во дисталните нефрони. Се ова наведено доведува до хиперкалемија и хипонатремија, кој проблем добива поголеми димензии кај пациенти со висока предиспозиција кон нефротоксичност - опишани како група пациенти „под ризик“, во кои се вклучени пациенти на постара возраст, со бубрежни заболувања, хиповолемија при секундарна терапија со диуретици, со конгестивни срцеви заболувања, хипертензија, цироза, дијабетес, аминоклоксидни антибиотици, при прекумерна употреба на лекови, мешавини на аналгетици. Кандидатката посебно се осврнува на класификација на NSAID врз основа на селективна инхибиција на COX и тоа врз основа на селективната инхибиција на COX определена според коефициентот COX-1/COX-2- IC 50 дадена од Sylejman et al., каде што истите се поделени на:

- Селективни COX-1 инхибитори како што е Aspirin со коефициент COX-1/COX-2 IC 50 од 0,01.
- Неселективни COX инхибитори (лекот подеднакво ги инактивира двете изоформи на циклооксигеназата): со коефициент COX-1/COX-2 IC 50 помеѓу 0,5 и 3;
- Релативно селективни COX-2 инхибитори - се одликуваат со помала инактивација на ензимот COX-1: како што се Meloxicam, Nimesulide, Diclofenac, со коефициент COX-1/COX-2 IC 50 помеѓу 10 и 20;
- Високоселективни COX-2 инхибитори, прототип на целекоксиб (celecoxib) со коефициент COX-1/ COX-2 IC 50 помеѓу 140 и 250, искучително инхибитори, само на COX-2, познати се под името коксими и наречени како селективни COX-2 инхибитори.

Во натамошниот дел на воведот врзан за преглед на литературата, кандидатката се осврнува на видови на ренални ефекти од користењето на NSAID како втора група на причинители на AKI по нефротоксичност, по аминоклоксидите, а која ренална дисфункција е класифицирана во три фази: AKI, акутен интерстицијален нефритис и хиперкалиемија. Класификацијата е спроведена според соодветни клинички примери, дискусии и хистопатолошки наоди на избрани субјекти кои се на редовна терапија на NSAID. Кандидатката посебно укажува на значењето на правилно користење на NSAID, бидејќи според актуелните интернационални епидемиолошки студии, од хоспитализираните пациенти со AKI, смртноста е околу 60%, од кои 19-33% се последица од нефротоксичност предизвикана од лекови, каде што аналгетичите и NSAID се на второ место.

Од сите наведени податоци за несаканите ренални ефекти на NSAID, кандидатката особено обрнa внимание и на постоечките анализи за детектирање на реналното оштетување и тоа на:

- традиционалните индикатори кои не овозможуваат рано откривање на бубрежното нарушување, не можат да детектираат адекватна диференцијација помеѓу различните степени на АКІ и не можат да се искористат како сигнал за прекинување на терапијата со лекови кои манифестираат силна нефротоксичност, но и на
- одредени биомаркери, како ензими што потекнуваат од плазмата или од жлездите на урогениталниот тракт и тоа на NAG (N-acetyl- β D-glucosamidase), β -GLU (β -Glucuronidase), (NAG), γ -glytanyl transferase (γ -GT), α -glytathione-S-transferase - (α -GST), π -glutathione-S-transferase (π -GST), Alanin aminopeptidase - (AAP) и протеини и албумини кои може да се од серумско или уринарно потекло, како β 2M, α 1M, NAGL-Neutrophil Gelatine – Associated Lipocalin, Retinol binding protein (RBP), Kidney injury molecule-1 (KIM-1).

По обемниот литературен преглед следуваат **Целите на трудот**, каде што се дефинирани прецизно и практично тезите за испитувањето и изработката на истражувањето и тоа:

1. Утврдување на рана фаза на нефротоксичност при хронично ординирање на монотерапија со различни групи на NSAIDs и при комбинирана терапија со аналгетици, во споредба со контролна група и во однос на референтни вредности.
2. Предвидување на местото на оштетување на бубрезите.
3. Евалуација на степенот на безбедност при хронична употреба на различни NSAIDs.
4. Анализа на ренопротективноста на хроничната употреба на различни NSAIDs во однос на инхибиција на COX.
5. Препораки за индивидуализирана/рационална употреба на NSAIDs.

За реализирање на поставените цели преземени се следниве активности:

- Спроведување на стандарден нефролошки протокол за определување на параметри во урина и серум кај пациенти со МОН третирани со (Diclofenac и Diclofenac + Caffetin).
- Следење на активноста на специфични биоиндикатори, како сензитивни биомаркери за докажување на рана нефротоксичност кај пациенти со МОН третирани со (Diclofenac и Diclofenac + Caffetin).
- Спроведување на стандарден нефролошки протокол за определување на параметри во урина и серум кај хронично ординирани пациенти со терапија NSAIDs од најмалку 12 месеци, 5 и 10 години со различни групи на неселективни COX инхибитори, релативно селективни COX2 инхибитори, селективни COX2 инхибитори (коксиби) и пациенти со прекумерна употреба на лекови МОН со различни групи на NSAIDs во комбинација со други лекови (аналгетици, триптани и антидепресиви).

Реализацијата на предвидените цели детално се презентирани и објаснета во експерименталниот дел прикажан преку користени **Материјали за анализа, Методи и инструменти** и во делот за начинот на обработка на добиените резултати преку статистичка анализа.

За реализирање на поставените цели во докторскиот труд кандидатката користела урина и венска крв од избрани пациенти од Универзитетска клиника за неврологија – Скопје и Клиника за неврологија – Тетово, пациенти со нормална бубрежна функција, кои се на хронична монотерапија со различни групи NSAID и пациенти со главоболка од прекумерна употреба на лекови МНО на различни групи на NSAID во комбинација со други лекови (аналгетици, триптани и антидепресиви), како и контролна група од испитаници без дијагноза и без нарушувања во бубрежната функција.

Во студијата се вклучени 132 пациенти, со хронични главоболки поделени врз основа на времетраењето на главоболката: на група на пациенти со симптоматски главоболки, со главоболки >15 дена во месецот и пациенти со главоболки <15 месецот и терапевтскиот

агенс се користи претерано и редовно за 3 или повеќе месеци односно пациентите со (МНО). Од предвидените пациенти 36 се од Универзитетска клиника за неврологија – Скопје со просечната возраст 21-51 година, а просечната возраст на контролната група од испитаници 35-60 и 96 пациенти од Клинички центар - Неврологија – Тетово, со просечна возраст на пациенти 35-65 години. Просечното следење на болеста е реализирано во период од $120 \pm 12,6$ месеци.

Методи кои се користени во добивањето на резултатите се: уреа во серум преку хидролизира со ензимот уреаза, креатинин во серум/урина со Jaffe-ова метода и уреична киселина со методите на Bulger и Jons, електролити во серум, NAG - N- acetyl- β -D-glucosaminidase, одредувањет на активноста на AAR, glutamyl transferase (γ -GT), микроалбуминурија, како и β 2M, α 1M.

Пресметувањето на гломеруларната филтрациона рата (GFR) ќе се пресметува со користење на формулата на Cockcroft Gaunt.

За анализа на предвидените параметри користени се калибрирани и стандардизирани биохемиски анализатори според претходно утврдени и стандардизирани протоколи и дадена динамика.

За статистичка обработка на податоците, пресметување на средната вредност (M) и стандардното отстапување (стандардна девијација, SD) е направена во Microsoft Excel. Разликите помеѓу варијантите од пациенти кои користеа различни групи на NSAIDs се пресметани со анализа на варијанса (ANOVA) и Студентовиот T-тест. Како критериум за статистички значајна разлика е земен параметарот p, при што, $p < 0.01^{**}$ претставува статистички високосначајна разлика на вредностите со интервал на сигурност од 99% а $p < 0.05^{*}$ статистички значајна разлика на вредностите со интервал на сигурност од 95%. За тестирање на нормалноста во дистрибуцијата на податоците се користени Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilks тестовите, како и мерките skewness и kurtosis. Нумеричките, односно квантитативни белези со симетрична дистрибуција се прикажани со просек и стандардна девијација, а оние со асиметрична дистрибуција со медијана и интерквартилен ранк квалитативните, односно атрибутивни белези се прикажани со дистрибуција на фреквенции. За споредување на анализираните групи се користени, во зависност од дистрибуцијата на податоците, непараметарски и параметарски тестови за независни примероци (Mann – Whitney U test, Chi-square test, Fisher exact test, Student t-test). За статистички сигнификантни земени се вредностите на $p < 0.05$

Во поглавјата **Резултати** и **Дискусија** кандидатката прави систематизација на добиените резултати и истите ги дискутира во однос на добиените сознанија дека добиените наречени традиционални биохемиски параметри, кореспондираат со податоците од други автори и се неспецифични и нечувствителни за рано откривање на гломеруларни и тубуларни оштетувања за детектирање и адекватната диференцијација помеѓу различните степени на АКЈ, како и за прекин на терапијата при примена на нефротоксични агенси. Резултатите воедно претставуваат потврда дека не се детектирани промени во реналната функција на гломеруларно и тубуларно ниво. Резултатите кореспондират со побарувања на други автори и е докажано дека при следење на одредени уринарни биомаркери (α 1M,) кај пациенти со мигренозни болки со помош на еднодимензионална гел електрофореза и идентифицирани со масена спектрометрија, кај пациентите кои ги злоупотребувале аналгетиците и NSAIDs, пронајдена е значително различна експресија на протеинскиот профил т.е. зголеменото ниво на вредностите на α 1M, кој се смета за стабилен биоиндикатор во рамките на рН вредностите на рутинските примероци, индицира за рана нефротоксичност на тубуларно ниво. Исто така, кандидатката дава значајно видување дека при следење на на три специфични уринарни ензими (NAG, AAR и γ -GT) кај група на пациенти кои биле третирани со различни NSAIDs, утврдена е абнормална уринарна

екскреција на ензими, значително повисока во споредба со контролната група. Исто така во добиените резултати е видно дека поголема инциденца за АКІ дават Indomethacin, Ibuprofen, а истото кандидатката го има докажано преку следење на $\beta 2$ mikroglobulin, преку негово зголемување, и тоа кај сите пациенти лекувани со Piroxicam и Ketoprofen, кај 91.7% (11) пациенти лекувани со Ibuprofen, и помал број на пациенти од 50% пациенти лекувани со Celecoxib. Исто така и при следење на меѓугрупните тестирања и споредби докажала дека лекувањето со Ketoprofen (неселективен COX инхибитор) значајно повеќе ја зголемува микроалбуминуријата во однос на лекувањето со Celecoxib (високоселективни инхибитори COX2) (median 30 vs 10, $p=0.0$). Резултатите имаат големо клиничко значење, бидејќи укажуваат на рани промени на гломеруларно ниво кај пациентите третирани со комбинирана терапија во однос на третираните пациенти со селективни COX2 инхибитори Celecoxib. Резултатите кореспондираат со литературните податоци дека COX-2 инхибиторите не се ренопротективни лекови, земајќи ги последниве повеќекратни извештаи на случаи за бубрежна токсичност во постмаркетинчките сондажи. Преку добиените резултати е утврдено дека, сепак, постои и утврден ризик помеѓу хроничен аналгетски внес и развој на бубрежни заболувања.

Во поглавјето **Заклучоци** кандидатката ги извлекува следниве општи заклучоци:

- Докажана е сензитивноста на специфичните биоиндикатори за детектирање на рана фаза на нефротоксичност на гломеруларно ниво - микроалбуминурија, како и на тубуларно ниво - NAG, γ -GT, AAR, $\alpha 1M$ при хронична монотерапија со различни групи на NSAIDs и при комбинирана терапија. $\beta 2M$ како специфични биоиндикатор не покажаа одмерена сензитивност за детектирањето на рани промени во тубуларно ниво во однос на микроалбуминурија кој ни сигнализира за посензитивен индикатор.
- Не се потврдени ренални промени на гломеруларно и тубуларно ниво, при примена на различни групи на неселективни NSAIDs, преку спроведување на стандардниот нефролошки протокол освен кај пациентите третирани со Ketoprofen како традиционален NSAIDs кој значајно ги афектира серумските концентрации на калиум, односно се одразува со хиперкалемија.
- Со примена на специфичните биомаркери, потврдени се реверзибилни промени на гломеруларно и тубуларно ниво, при хронична монотерапија со различни NSAID.
- При хроничен третман на пациенти со цефалеа со главоболки од помалку од 15 дена во месецот со: неселективни инхибитори на COX, релативно селективни COX2 инхибитори и селективни инхибитори на COX2 потврдена е ренопротективноста на последните две групи во однос на неселективните инхибитори на COX кои се докажаа како понефротоксични агенси.
- Степенот на безбедност на испитуваните NSAID при хронична употреба во однос на нефротоксичност е на високо ниво, бидејќи евидентираните промени се реверзибилни и по прекинување на терапијата, состојбата се нормализира.
- Се препорачува индивидуализирана и рационална употреба на NSAIDs посебно на групата на неселективни инхибитори на COX и без комбинирање со други лекови, поради опасност од зголемување на потенцијалот за нефротоксичност, како и постојан мониторинг на реналните функции кај пациентите.

Во поглавјето **Литература**, кандидатката наведува околу 216 референци кои се однесуваат на оваа проблематика. Овој податок уште еднаш ја потврдува актуелноста на проблемот и потребата од понатамошни истражувања.

Научен придонес

Придонесот во науката на оваа докторската дисертација се состои во елаборирање на дејството на современите нестероидни антиинфламаторни лекови кои се користат како хронична терапија врз бубрезите и несаканите ефекти кои ги предизвикуваат посебно во услови на бубрежна хипоерфузија, каде што може да резултира со акутно бубрежно оштетување.

Кандидатката преку сеопфатни истражувања и користење на релевантни клинички параметри и современи методи за детекција потврди дека постои утврден ризик помеѓу хроничен аналгетски внес и развој на бубрежни заболувања и при користење на најнови лекови од групата на нестероидни антиинфламаторни лекови.

Добиените резултати се применливи во третманот на пациенти од ризични групи, а кои имаат потреба од користење на лекови од групата на нестероидни антиинфламаторни лекови.

Докторската дисертација изработена под менторство на проф. д-р Билјана Ѓорѓеска, редовен професор на Факултет за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, како интересен ментор, и проф. д-р Тајјана Кадифкова-Пановска, редовен професор на Фармацевтски факултет во Скопје при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, како екстерен ментор, е успешно завршена. Трудот е напишан јасно, на научно и стручно ниво, испитувањата и анализите се добро систематизирани, добиените резултати се презентирани на ефективен и концизен начин и добиени се конкретни заклучоци. Оваа докторска дисертација обработува актуелна тема и содржи податоци од истражувања и литература што се карактеризираат со висок степен на научна и апликативна вредност.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката пред одбраната на докторската дисертација ги објавила следните рецензирани научни трудови:

1. Drita Yzeiri Havziu, Biljana Gjorgjeska, Dragana Cvetkovska, Sefedin Bilali, Igor Nikolov (2019). Early detection of nephrotoxicity in patients with Medication overuse headache (MOH). Acta Medica Balcanica International Journal of Medical Sciences. ISSN 2545-4870; Vol. 4 No. 7-8, 13-22.
2. Drita Yzeiri Havziu, Biljana Gjorgjeska, Edita Alili Idrizi, Gjylaj Alija, Sihana Lika, Merita Dauti (2020). Monitoring of the renal function in piroxicam treated patients. Knowledge – International Journal Vol.38.4, 819-824.
3. Drita Yzeiri Havziu, Biljana Gjorgjeska, Visar Miftari, Edita Alili Idrizi, Gjylaj Alija, Arlinda Haxhiu (2020). Comparison of the adverse renal effects of different types of NSAID based on COX inhibition in patients with headaches. Mac. Pharm. Bull. Vol. 66(1)

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Мониторинг на реналната функција кај хронично третирани пациенти со нестероидни антиинфламаторни лекови – NSAID“ и донесе заклучок дека истата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран, јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални научни истражувања и резултати. Докторската дисертација врз основа на содржината, обемот и постигнатото ниво на квалитет на научна работа ги задоволува и исполнува условите потребни за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на тоа, Комисијата има чест да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Мониторинг на реналната функција кај хронично третирани пациенти со нестероидни антиинфламаторни лекови - NSAID“ пријавена и изработена од кандидатката м-р Дрита Узеири Хавзиу и да ѝ одобри јавна одбрана на истата.

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска,

претседател, редовен професор на Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип, с.р.

Д-р Биљана Ѓорѓеска,

член, ментор, редовен професор на Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип, с.р.

Д-р Татјана Кадифкова-Пановска,

член, екстерен ментор, редовен професор на Фармацевтски факултет,
Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје, с.р.

Д-р Милка Здравковска,

член, редовен професор на Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип, с.р.

Д-р Лутфи Зилбеари,

член, редовен професор на Факултет за медицински науки,
Државен универзитет во Тетово, с.р.