

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Naučno veće Medicinskog fakulteta u Beogradu, na svojoj sednici održanoj 22. decembra 2011. godine, odredilo je članove Komisije za ocenu završne doktorske disertacije pod nazivom: „PREDIKTIVNA VREDNOST LIDOKAINSKOG TESTA U PLANIRANJU HIRURŠKOG LEČENJA OBOLJENJA JETRE“, kandidata Mr sci. med. dr Ivana Palibrka, lekara, specijaliste anesteziologije sa reanimatologijom, zaposlenog u Centru za anesteziologiju i reanimatologiju Kliničkog centra Srbije. Mentor za izradu teze je Prof. dr Miroslav Milićević.

Određena je Komisija u sastavu:

1. Prof. dr Nevena Kalezić, Centar za anesteziologiju i reanimatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd
2. Doc. dr Marija Plješa-Ercegovac, Institut za biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd
3. Prof. dr Ljiljana Gvozdenović, Klinika za anesteziju i intenzivnu terapiju, Klinički centar, Novi Sad

Članovi Komisije su pregledali doktorsku disertaciju i podnose Naučnom Veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

**IZVEŠTAJ**

Doktorska disertacija Mr sci med. dr Ivana Palibrka pod nazivom: „PREDIKTIVNA VREDNOST LIDOKAINSKOG TESTA U PLANIRANJU HIRURŠKOG LEČENJA OBOLJENJA JETRE“ napisana je na 140 strana. Podeljena je na osam poglavlja, uvod, hipotezu i cilj istraživanja, materijal i metod, rezultate, diskusiju, zaključak, skraćenice korišćene u tekstu i literaturu. Disertacija sadrži 7 slika, 41 tabela, 15 grafika i 160 referenci iz domaće i strane literature.

**A. Prikaz sadržaja disertacije**

Uvod ove disertacije je obuhvatio anatomske i funkcionalne karakteristike jetre. Opisane su anatomska, funkcionalna i hirurška podela jetre. Naglašen je značaj ovog organa za funkcionisanje organizma. U posebnom odeljku obrađena je procena jetrine funkcije koja se vrši pomoću statičkih i dinamskih testova i uz korišćenje scoring sistema.

Funkcionalne i druge karakteristike specifične za bolesnike sa cirozom izmenjenom jetrom kao i bolesnike sa primarnim i sekundarnim tumorima jetre su obrađene u posebnim odeljcima. Prikazan je značaj hirurškog lečenja tumora jetre, naznačene nove hirurške tehnike i njihov značaj za očuvanje funkcionalne sposobnosti ovog organa.

Obrađena je transplantacija jetre kao aktuelna terapijska procedura u lečenju terminalnog stadijuma hronične insuficijencije jetrine funkcije. Prikazan je značaj funkcionalnih testova i scoring sistema (MELD (Model for End Stage Liver Disease) i PC (Pugh Child skor) kod potencijalnog primaoca organa u proceni težine oboljenja i u određivanju optimalnog trenutka za transplantaciju jetre.

Hipoteza istraživanja kao i ciljevi su jasno definisani. Pretpostavljeno je da je lidokainski test, kao kvantitativni test mikrozomalne funkcije jetre, dobar pokazatelj funkcionalne rezerve jetre. Ciljevi se odnose na ocenu vrednosti lidokainskog testa u proceni funkcionalne sposobnosti jetre. U okviru toga se procenjuje prediktivna vrednost ovog testa kao pokazatelja očekivane dužine života bolesnika sa jetrom u terminalnom stadijumu njene insuficijencije, u slučaju da ne dođe do transplantacije ovog organa. Pored toga pored se rezultati dobijeni ovim testom sa prediktivnom vrednošću kliničke slike oboljenja i scoring sistemima koji se koriste u proceni jetrine funkcije.

Kada su u pitanju bolesnici sa primarnim i sekundarnim (metastatskim), tumorom jetre cilj se odnosi na preoperativnu procenu jetrine funkcije i njenu korelaciju (prediktivnu vrednost) sa ispoljenim postoperativnim komplikacijama u zavisnosti od vrste tumora. Jedan od ciljeva je korišćenje lidokainskog testa u proceni brzine oporavka jetrine funkcije posle resekcije jetre različitim hirurškim tehnikama.

U poglavlju materijal i metod opisan je protokol ispitivanja za svaki cilj posebno. Jasno su istaknute dve grupe ispitanika. Prva grupa od 18 bolesnika koji su se nalazili u terminalnom stadijumu hronične jetrine insuficijencije i koji su čekali transplantaciju organa i druga grupa, 43 bolesnika, sa primarnim i sekundarnim tumorom jetre koji su podvrgnuti resekciji jetre. U okviru grupe bolesnika sa tumorima su definisane dve grupe bolesnika u zavisnosti od hirurške tehnike (grupa kod kojih je jetra resecirana klasičnom, klamp kraš tehnikom (CC-RJ), 14 bolesnika, i druga grupa kod koje je za resekciju jetre korišćena radiofrekventna elektroda (RF-RJ) 29 bolesnika).

U disertaciji akcenat je na lidokainskom testu, kao dinamskom testu jetrine funkcije. Značaj ovog testa je u tome što se korišćeni lidokain jedino metabolize u jetri. Smanjenje koncentracije lidokaina u serumu u vremenu nam govori o jetrinoj mikrozomalnoj funkciji. Za razliku od MEGX testa, gde se meri koncentracija metabolita lidokaina u serumu ovde se meri koncentracija samog lidokaina koja se smanjuje sa vremenom. Koncentracija lidokaina

u serumu je određivana u 15., 30. i 90. minutu od intravenske aplikacije lidokaina. Na osnovu dobijenih podataka izračunavani su farmakokinetički parametri: klirens i poluvreme eliminacije lidokaina za svakog bolesnika. Ovaj test je pokazatelj metaboličke funkcije jetre.

Pored ovog definisani su statički funkcionalni testovi koji nam pokazuju funkciju jetre i koji su praćeni u ovoj disertaciji. Aktivnosti alanin i aspartat aminotransferaze kao pokazatelji ćelijskog hepatocelularnog integriteta; koncentracija ukupnog i direktnog bilirubina u serumu kao pokazatelj ekskretorne funkcije; vrednosti albumina i protrombinskog vremena iskazani kroz INR (International Normalised Ratio) kao pokazatelji sintetske funkcije jetre.

Svim bolesnicima je rađen lidokainski test na isti način. Bolesnicima koji su čekali na transplantaciju jetre, test je rađen samo jednom na početku perioda praćenja, a bolesnicima sa primarnim i sekundarnim tumorima jetre lidokainski test je rađen preoperativno, 3. i 7. postoperativnog dana. Paralelno sa ovim testom određivani su i drugi biohemijski parametri (glikemija, ureja, kreatinin, ukupni i direktni bilirubin, proteini, albumini, aktivnost alanin aminotransferaze i aspartat aminotransferaze, alfa amilaza, laktat dehidrogenaza, gama glutamil transferaza), hematološki (broj eritrocita, leukocita, trombocita, vrednost hemoglobina i hematokrita) i osnovni parametri koagulacije (fibrinogen, parcijalno trombotično vreme, protrombinsko vreme). Bolesnicima u terminalnom stadijumu insuficijencije jetre su određivane i vrednosti MELD i PC skora.

U grupi bolesnika koji su čekali transplantaciju jetre, dobijene vrednosti lidokainskog testa (klirens i vreme polueliminacije lidokaina) su korelirane sa biohemijskim parametrima, MELD i PC scoringom kao i u odnosu na preživljavanje bez načinjene transplantacije tokom perioda praćenja.

U grupi bolesnika sa primarnim i metastatskim tumorom preoperativni farmakokinetički parametri lidokaina (poluvreme eliminacije i klirens) su korelirani sa biohemijskim parametrima i sa postoperativnim komplikacijama. Bolesnici iz ove grupe su podvrgnuti hirurškoj resekciji jetre jednom od dve pomenute tehnike (RF nasuprot CC-RJ) radi odstranjenja tkiva sa malignitetom. Postoperativno 3. i 7. dana rađeni su lidokainski test (farmakokinetički parametri) i određivane biohemijske analize. Poređenjem tih vrednosti sa preoperativnim određivano je vreme do normalizovanja funkcije jetre u odnosu na vrstu hirurške tehnike.

Sve varijable opisane su klasičnim deskriptivnim metodama statistike. Atributivna obeležja opisana su apsolutnim i relativnim brojevima a numerička merama centralne tendencije (aritmetička sredina ( $\bar{X}$ ) i medijana (MED)) i merama varijabiliteta (standardna devijacija (SD), minimalna i maksimalna vrednost). Za poređenje atributivnih obeležja posmatranja korišćen je Pirson-ov  $\chi^2$  test (tablice kontingencije) ili Fišer-ov test.

Izbor testova za analizu numeričkih obeležja posmatranja vršen je zavisno od prirode njihove raspodele koja je ispitivana korišćenjem Koglomorov–Smirnov-og testa. U slučaju normalne raspodele podataka za testiranje razlike između dve grupe ispitanika korišćen je t-test dok je kod neparametarskih podataka korišćen Mann Whitney U test.

Za analizu promena vrednosti lidokainskog testa između ispitanika kod kojih je rađena različita operativna tehnika uklanjanja tumora jetre, korišćena je dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima.

Primenom logističke regresije, ispitivana je razlika u posmatranim parametarima između ispitanika sa različitim poreklom tumora jetre. Kaplan Majer-ovim krivama preživljavanja praćen je ishod kod ispitanika sa oboljenjima jetre i indikacijom za transplantraciju. Log Rank testom ispitivana je razlika u preživljavanju u odnosu na neke od posmatranih faktora: Pugh Child i MELD skor u odnosu na vrednosti lidokainskog testa. Cox-ovom regresionom analizom ispitivani su prediktori preživljavanja u ovoj grupi ispitanika.

U okviru grupe obolelih, kod kojih je planirana transplantacija, određivane su i cut off (kritične, tačke preseka) vrednosti posmatranih kliničkih skorova za ocenu težine bolesti, kao i lidokainskog testa, sa najvećom senzitivnošću i specifičnošću u smislu dalje prognoze bolesti, odnosno njenog ishoda.

Dobijeni rezultati su prikazani tekstualno, tabelarno i grafički.

U diskusiji je na adekvatan i sistematičan način analiziran značaj dobijenih rezultata za kliničku praksu. Dobijeni rezultati su tumačeni u odnosu na rezultate drugih studija.

## **B. Opis postignutih rezultata**

Bolesnici koji su u terminalnom stadijumu hronične jetrine insuficijencije i nalaze se na listi za transplantaciju su prosečne starosti 45 godina, anemični, sa povišenom vrednošću bilirubina i smanjenom sintetskom sposobnosti faktora koagulacije. Klirens lidokaina je bio smanjen, a poluvreme eliminacije produženo u odnosu na vrednosti kod zdravih osoba iz drugih studija. Skoro 90% ima cirozom izmenjenu jetru. Najveći broj bolesnika prema PC skoringu, ima umereno ili ozbiljno oštećenje jetrine funkcije praćeno varikozitetima jednjaka i ascitesom. MELD skor je bio povišen i svrstavao ove bolesnike u grupu kojoj je potrebna transplantacija.

Cut off vrednosti PC i MELD skora za težinu bolesti i rizik od umiranja su bile 9 odnosno 16,5. Poluvreme eliminacije se pokazala kao vrednost koja više korelira sa težinom oboljenja nego vrednost klirensa lidokaina. Vrednosti klirensa i poluvremena eliminacije lidokaina nisu nezavisni pokazatelji težine bolesti što se pokazalo za anemiju, hipoalbuminemiju i postojanje HCV infekcije.

Bolesnici koji su čekali na transplantaciju jetre praćeni su od trenutka njihovog uključanja u studiju i određivanja skora pa do 31. januara 2011. Od 18 bolesnika do završetka praćenja umrlo je njih 12. Posmatrajući težinu oboljenja (u trenutku počinjanja praćenja) prema PC i MELD skoringu, nije bilo statistički značajne razlike između bolesnika koji su umrli i onih koji su bili živi u trenutku prekida praćenja. Takođe, nije bilo statistički značajne razlike u vrednosti klirensa i poluvremena eliminacije lidokaina (u trenutku počinjanja praćenja) između bolesnika koji su umrli i onih koji su bili živi u trenutku prekida praćenja. Vrednosti serumskog albumina i AT3 su bile statistički značajno niže kod bolesnika koji su umrli u posmatranom vremenskom periodu. Vrednost Hgb je bila statistički značajno viša kod umrlih bolesnika. Cut-off vrednost za CL lidokaina od 35 L/h je pokazala najveću senzitivnost od 54% kao prediktor umiranja, dok je vrednost  $t_{1/2}$  od 1,1 h pokazala najveću senzitivnost od 67% kao prediktor umiranja. PC skoring se pokazao kao senzitivniji od MELD skoringa kao prediktor umiranja kod bolesnika na listi za transplantaciju (70,1 vs. 62,5%) pri cut-off-u za PC od 9 i MELD od 16,5.

Bolesnika sa primarnim i metastatskim tumorom u ovoj studiji je bilo 43. Sa primarnim tumorom ih je bilo 13 a sa metastatskim 30. Tako su oformljene dve grupe. Grupa bolesnika sa primarnim i grupa sa metastatskim tumorom jetre. Biohemijski, koagulacioni i hematološki rezultati su pokazali statistički značajnu razliku između bolesnika sa primarnim i sekundarnim tumorom samo u vrednostima glukoze, ureje i ukupnih proteina. Ovi parametri su statistički značajno bili niži kod bolesnika sa metastatskim tumorom. Vrednosti CL i  $t_{1/2}$  lidokaina nisu se statistički značajno razlikovale između ove dve grupe bolesnika. U veličini resekcije nije bilo razlike između grupa, ali je tokom resekcije primarnih tumora statistički značajno više korišćen Pringlov manevar. Febrilnost, kao jedna od postoperativnih komplikacija, je jedina statistički značajno bila izraženija u grupi metastatskih tumora. Kao nezavisni prediktor razlike dobijen logističkom regresijom, multivarijantnom analizom, između ove dve grupe bolesnika, odnosno prediktor postoperativnih komplikacija su ranije dobijene transfuzije krvi i snižene vrednosti ureje koje karakterišu bolesnike iz grupe sa metastatskim tumorima.

Bolesnici sa tumorima jetre su operisani ili klasičnom – “clamp-crush” (CC-RJ) ili radiofrekventnom resekcijom (RF-RJ). Grupu CC-RJ je činilo 14 a grupu RF-RJ 29 bolesnika. Brzina postoperativnog oporavka jetrine funkcije je merena povratkom praćenih parametara funkcije jetre (albumina, AST(GOT), ALT(GPT), ukupnog bilirubina, INR-a, Cl i  $t_{1/2}$  lidokaina) na preoperativne vrednosti. Ovi parametri su pored preoperativno, određivani i trećeg i sedmog postoperativnog dana. Osim u vrednosti albumina, koje su bile niže postoperativno u grupi CC-RJ, nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima praćenih parametara između grupa. Bolesnici grupe RF-RJ su dobili statistički značajno više albumina tokom postoperativnog oporavka. CL lidokaina je sedmog postoperativnog dana skoro

dostigao preoperativnu vrednost u obe grupe. Vreme polueliminacije lidokaina se u grupi CC-RJ sedmog postoperativnog dana nije statistički značajno razlikovala od preoperativne (1,23 vs. 1,02h), dok je u grupi RF-RJ ta vrednost sedmog postoperativnog dana i dalje bila statistički značajno duža od preoperativne (1,15 vs. 0,97h).

### **C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature**

MELD skor se daje prednost u proceni težine insuficijencije jetre u odnosu na PC skor. (Durand i saradnici, 2005; Kamath i saradnici, 2001; Northup i saradnici, 2005). Kao i u drugim studijama produženje poluvremena eliminacije leka je u većoj korelaciji sa stepenom oštećenja jetre od klirensa lidokaina (Orlando i saradnici, 2003;).

Hepatitis C virusna infekcija je etiološki faktor terminalnog stadijuma jetrine insuficijencije koji je povezan sa težinom ove bolesti. Takođe, anemija je simptom povezan sa težinom bolesti. Ovi rezultati našeg kandidata su u korelaciji sa rezultatima drugih autora da su virusne infekcije u bliskoj vezi sa težinom insuficijencije jetrine funkcije i da je anemija važan simptom tj. njena komplikacija (Huet, 1983; Garg, 2011; Gisbert, 2009 i Serra, 2004 sa saradnicima).

Sintetska funkcija jetre posmatrana kroz snižene vrednosti albumina i AT3 je povezana sa težinom bolesti što je pokazano u studiji našeg kandidata i u drugim radovima (Serra i saradnici, 2004, Knot i saradnici, 1984).

Postoje brojne studije koje porede specifičnost i senzitivnost MELD i PC scoring sistema kao prediktore preživljavanja bolesnika u terminalnom stadijumu hronične insuficijencije jetre. Međutim nema studija koje su pratile metabolizam lidokaina kroz poluvreme eliminacije i klirens i poredile ga sa vrednostima gore pomenutih scoring sistema. Uglavnom je u studijama korišćen MEGX test u kojima je merena vrednost metabolita lidokaina monoetilglicinksilidida (MEGX) u jednom trenutku. U studiji Bhise-a iz 2007 i Garg-a iz 2011, MEGX test se pokazao kao ravnopravan prediktor preživljavanja sa senzitivnošću i specifičnošću skoro indentičnom kao kod MELD skoringa. Rezultati studije našeg kandidata su drugačiji. Naime poluvreme eliminacije lidokaina (za cut off od 1,102) ima senzitivnost od 67%, skoro kao PC skor (70,1%) a više od MELD-a (62,5%).

Značajan je i rezultat u studiji našeg kandidata da se kao nezavisni prediktor mortaliteta kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom jetrine funkcije ispoljila veća vrednost hemoglobina u odnosu na one bolesnike koji su preživeli. Taj rezultat je u skladu sa Elizaldinom studijom iz 1998, koji objašnjava tu pojavu povećanom viskoznošću krvi koja vodi ka povećanju intrapulmonalnog pritiska i otpora u plućnoj cirkulaciji. Pored povišene vrednosti hemoglobina, kao nezavisni prediktor mortaliteta se izdvojila i HCV infekcija kao etiološki

faktor nastanka ciroze i hronične insuficijencije jetrine funkcije. Slični rezultati su zabeleženi kod Bhal-a, 2011 i Rinell-a, 2011 sa saradnicima.

Hemioterapija i dobijene transfuzije krvi pre hirurške intervencije imaju uticaj na oporavak bolesnika posle resekcije jetre. Na prvom mestu na infektivne komplikacije. Ovo su dve karakteristike bolesnika sa metastaskim tumorom koje ih statistički značajno odvajaju od bolesnika sa primarnim tumorom jetre. To je rezultat koje je dobio naš kandidat a u skladu je sa rezultatima drugih studija (Van Hazel i saradnici, 2009; Yedibela i saradnici, 2005; Ahmad i saradnici, 2007; Zorzi i saradnici, 2007; Behma i saradnici, 1998; Parikh i saradnici, 2003, Shiba i saradnici, 2009; Dionigi i saradnici, 2009).

Niske preoperativna vrednost ureje i glukoze u serumu dobijene su ovoj studiji. Vrednost ureje u serumu izdvojena je kao nezavisni prediktor komplikacija kod bolesnika sa metastaskim tumorom jetre. Ove promene su u skladu sa nalazima da se posle resekcije jetre dešavaju promene u hepatocitima slične kao kod stetatohepatitisa (Van Hazel i saradnici, 2009; Yedibela i saradnici, 2005; Ahmad i saradnici, 2007; Zorzi i saradnici, 2007; Behma i saradnici, 1998; Ida i saradnici, 2009).

Lidokainski test kod bolesnika sa primarnim ili metastaskim tumorom jetre nije se pokazao kao prediktor postoperativnog morbiditeta i mortaliteta posle resekcija jetre. Verovatni uzrok je što su ovi bolesnici pripadali grupama A i B PC skora. Nije bilo studija sa kojima bi se poredili ovi naši rezultati.

U disertaciji našeg kandidata parametri pokazatelji jetrine funkcije se menjaju vremenom tokom postoperativnog oporavka. Pri tome nema statsitički značajne razlike u sledećim posmatranim parametrima: INR, AST (GOT), ALT(GPT), T-Bil i CL lidokaina u odnosu na tehniku resekcije jetre (radiofrekventna resekcije ili clamp-crush tehnika resekcije). Vrednosti ovih parametara su se vratile skoro na preoperativne tokom sedam postoperativnih dana. Ovo korelira sa nalazima drugih studija (Lesurtel i saradnici, 2005; Delis i saradnici, 2009; Nagasue i saradnici, 1987; Mitsuo i saradnici, 2007). Vrednost albumina kao sintetskog parametra jetre je bila viša u postoperativnom toku u grupi sa radiofrekventnom resekcijom jetre ali to je moguće da bude posledica veće količine albumina date u ovoj grupi tokom postoperativnog toka, a što je posledica različitih kriterijuma kod operatora nastalih kao posledica kontradiktornih mišljenja u korišćenju albumina i njihovom uticaju na postoperativni morbiditet i mortalitet (de Boer i saradnici, 2007; Vincent i saradnici, 2003; Wilkers i saradnici, 2001 i Haynes sa saradnici, 2003.).

Poluvreme eliminacije je statistički značajno duže u odnosu na preoperativnu vrednost u grupi RF-RJ. Razlog tome je povećanje volumena distribucije i smanjenje klirensa lidokaina

kao posledica veće količine albumina (Hill i saradnici, 1998; Olkkola i saradnici, 2005; Grover i saradnici, 2009;).

Rezultati disertacije upućuju da se lidokainski test ne može posmatrati kao nezavisni pokazatelj jetrine mikrozomalne funkcije. On se može koristiti, ali zajedno sa drugim testovima i scoring sistemima. Na taj način dobija se potpuna slika o jetrinoj funkciji.

#### **D. Objavljeni ili saopšteni rezultati koji čine deo teze**

Ivan Palibrk, Biljana Miličić, Ljuba Stojilković, Nebojša Manojlović, Vladimir Dugalić, Vesna Bumbaširević, Nevena Kalezić, Marinko Žuvela, Miroslav Milićević. Clamp-Crushing vs. Radiofrequency-Assisted Liver Resection: Changes in Liver Function Tests. Hepato-Gastroenterology DOI 10.574/hge 11539 2012;59(115-116):Ahead of print.

## E. Zaključak

Doktorska disertacija kandidata dr Ivana Palibrka, pod naslovom: „PREDIKTIVNA VREDNOST LIDOKAINSKOG TESTA U PLANIRANJU HIRURŠKOG LEČENJA OBOLJENJA JETRE“, daje odgovore na pitanja i nedoumice vezane za procenu pravog trenutka za transplantaciju jetre, dužinu preživljavanja bolesnika u terminalnom stadijumu hronične insuficijencije jetre, sepen oštećenja funkcije jetre sa primarnim i sekundarnim tumorima, uticaj tehnike resekcije na brzinu postoperativnog oporavka jetrine funkcije. Tema disertacije je aktuelni, savremeni, naučni hirurški problem u čijem središtu se nalazi lidokainski test kao pomoćno oruđe u proceni jetrine funkcije. Ovu problematiku po nama dostupnim podacima još niko nije proučavao u našoj zemlji.

Disertacija ima jasno izloženu hipotezu, ciljeve, adkvatnu metodologiju u okviru prospektivne studije. Rezultati su jasni i u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima iz ove oblasti i doprineće boljem razumevanju funkcije jetre i lečenju bolesnika sa različitim oboljenjima ovog organa koja zahtevaju hiruršku intervenciju.

Imajući u vidu do sada navedeno, Komisija predlaže Naučnom Veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu završne doktorske disertacije dr Ivana Palibrka i odobri javnu odbranu iste.

U Beogradu, 31.01.2012.

Mentor

Članovi komisije

Prof. dr Miroslav Milićević

Prof. dr Nevena Kalezić

Prof. dr Ljiljana Gvozdenović

Doc. dr Marija Plješa – Ercegovac