

Оригинални научни чланак/Original Scientific Paper

## КСЕНОБИОТИЦИМА ИЗАЗВАНА ХЕПАТОТОКСИЧНОСТ И УТИЦАЈ ТИПИЗАЦИЈЕ ХУМАНОГ ЛЕУКОЦИТНОГ АНТИГЕНА (HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-XЛА)

Миодраг Жунић<sup>1</sup>, Драгица Жунић<sup>2</sup>, Марко Жунић<sup>3</sup>, Рада Јешић<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Универзитетски клинички центар Марибор, Клиника за хирургију,

Одељење за анестезију, интензивну негу и терапију бола, Словенија

<sup>2</sup> ОБ Мурска Собота, одељење за инфективне и тропске болести, Словенија

<sup>3</sup> КБЦ Земун, Служба ортопедије са трауматологијом, Београд

<sup>4</sup> КЦС Клиника за гастроентерологију и хепатологију, Београд

## XENOBIOTICS-INDUCED HEPATOTOXICITY AND AN INFLUENCE OF HLA TYPISATION

Miodrag Žunić, Dragica Žunić, Marko Žunić, Rada Ješić

<sup>1</sup> University Medical Centre Maribor, Division of Surgery,

Department of Anaesthesiology, Intensive Care and Pain Management, Slovenia

<sup>2</sup> General Hospital Murska Sobota, Department of Infectious Diseases, Slovenia

<sup>3</sup> University Medical Center Zemun, Division of Surgery,

Department of Orthopaedics Surgery and Traumatology, Belgrade

<sup>4</sup> University Clinical Center, Department of Hepatology,

Clinic for Gastroenterology and Hepatology, Belgrade, Serbia

Примљен/Received: 16.6.2013.

Прихваћен/Accepted: 1.4.2014.

### САЖЕТАК

**Увод:** Повећано пријављивање случајева хепатотоксичности изазване лековима рефлектује растући број нових агенаса који су уведени у клиничку праксу последњих деценија и настављају и даље да се уводе. Томе треба придодати и модернизацију савремене индустрије, као и нове хемијкалије које се у њој примењују. Ксенобиотицима изазвана хепатотоксичност се појављује као стални проблем, препун изазова за лекаре, здравствене институције, као и за фармацеутску индустрију, али и индустрију уопште. Неколико новијих генетичких студија је доказало постојање бројних ХЛА алела, који су широким опсегом различитих клиничких реакција хиперсензитивности повезани са структурно различитим нискомолекуларним компонентама.

**Циљеви истраживања:** Истраживање најчешћих узрочника хепатотоксичности у популацији грађана Републике Србије, указивање на значај преосетљивости организма на делујући агенс, упоређивање значаја хепатотоксичности деловања лекова у односу на друге ноксе у људском окружењу и скретање пажње на значај хепатотоксичности изазване идиосинкризијом.

**Материјал и методе:** анализирана 52 пацијента са дијагнозом хепатотоксичности (анамнеза, детаљна клиничка обрада пацијентата, хистопатолошке анализе јетре, дијагностички ултразвук абдомена, лабораторијско одређивање стандардних функционалних тестова јетре). У периоду од 1.4.2005 до 1.4.2009, код ових пацијентата Института за гастроентерологију и хепатологију Клиничког центра Србије у Београду праћени су функционални тестови јетре и морфолошки

налаз. коришћени биомаркери битни за диференцијалну дијагнозу, праћење тока болести и одговора на терапију.

Налази резултата испитаника су упоређени са вредностима налаза пацијената у контролној групи, коју су сачињавала 52 пацијента са дијагнозом хроничног хепатитиса друге (вирусне) етиологије.

**Резултати:** За настанак токсичних оштећења јетре, код насих испитаника били су присутни следећи узрочници, који су сврстани у сродне групе: индустријски токсини: (укупно 8 исп.), храна и напитци (9 исп.), антиреуматици и аналгетици (6 исп.), антиаритмици (4 исп.), антилипемици (4 исп.), антибиотици (4 исп.), витамини (3 исп.), антихипертензивни лекови (3 исп.), антиагрегациони лекови (2 исп.), антиепилептици (2 исп.), лекови код остеопорозе (2 исп.), антихипертиреоидни лекови (1 исп.), орални антидијабетици (1 исп.), орални контрацептиви (1 исп.), глукокортикоиди (1 исп.) и антидепресиви (1 исп.). Од 52 пацијента из групе испитаника су добијени резултати ХЛА типизације за 29 испитаника. Од 52 пацијента из контролне групе, добијени су резултати ХЛА типизације за 22 пацијента.

**Закључак:** Рад указује на хепатотоксичност која је релативно честа појава у нашој популацији. Структура ксенобиотика, који доводе до хепатотоксичности у нашим условима је таква да је, појединачно, у највећој мери узрокована индустријским токсинима, као и храном и напцима, више него лековима. Потребно је испитати који су на састојци хране који утичу на хепатотоксичност. ХЛА типизацијом је потребно обухватити ширу друштвену популацију, како би се направила база података са учесталостима одређених ХЛА хаплотипова у нашој популацији у циљу правовремене идентификације пацијената са ризиком за развој хепатотоксичности.

**Кључне речи:** ксенобиотици, хепатотоксичност, ХЛА

## ABSTRACT

**Introduction:** The increased reporting of cases of drug-induced liver injuries, reflects the growing number of new agents introduced into clinical practice in the last decades. It should be added to the modernization of industries, and new chemicals which it applied. Drug-induced liver injuries make up a persisting and challen-

ging problem for physicians, health agencies and pharmaceutical firms.

**Research objectives:** The aim of the study is the determination of the most common causes of drug-induced liver injury in our surroundings. We compared the importance of hepatotoxic action of drugs in relation to other noxa in human environment. We determined the importance of the body sensitivity on the acting agents. We also examined the importance of different drugs in the development of hepatotoxicity, regardless the dose.

**Materials and methods:** We analyzed 52 patients with a diagnosis of hepa-totoxic liver injury (medical history, detailed clinical evaluation of patients, histopathological analysis of the liver, abdominal ultra sound, laboratory determination of standard liver function tests) and followed up for 12 months. In the period from 01.04.2005 to 01.04.2009, in these patients of the Institute of Gastroenterology and Hepatology, Clinical Center of Serbia in Belgrade, we monitored liver functional tests and morphological findings. We used biological markers relevant for the differential diagnosis, monitoring of disease progression and response to therapy.

The results of the patients with hepatotoxic liver injury were compared with the values of the findings of the 52 patients in the control group, with the diagnosis of chronic viral hepatitis, hospitalized in the same institution during the same time.

**Results:** The causes of toxic liver damage in our study were following agents, classified into groups: Industrial toxins (8 patients), Food and beverages (9 pts), Antirheumatics and analgesics (6 pts), Antiarrhythmic drugs (4 pts) Antilipemic (4 pts), Antibiotics (4 pts), Vitamins (3 pts), Antihypertensive drugs (3 pts), Antiplatelet drugs (2 pts), Anticonvulsants (2 pts), Drugs for osteoporosis (2 pts), Antihypertireoidni drugs (1 pt), Oral antidiabetic agents (1 pt), Oral contraceptives (1 pt), Glucocorticoids (1 pt) and Anti-depressants (1 pt). We got the results of HLA typing for 29 patients of the 52 patients with hepatotoxic liver injury and for 22 patients of 52 patients with chronic viral hepatitis.

**Conclusion:** The paper points to hepatotoxicity, which is not rare in our population. Structure of xenobiotics causing liver toxicity in our environment is mainly industrial toxins, as well as food and beverages, more than drugs. It would be necessary to examine what are the ingredients of food causing hepatotoxicity. It would be very important to cover the wider po-

population with HLA typing, in order to create a database with the frequency of certain HLA haplotypes in our population for the identification of patients at risk for developing hepatotoxicity.

**Key Words:** xenobiotics, hepatotoxicity, HLA

## УВОД

Ксенобиотицима (КБ) изазвана хепатотоксичност (ХТ) се појављује као стални проблем, препун изазова за лекаре, здравствене институције, као и за фармацеутску индустрију<sup>1</sup>, али и индустрију уопште. Годишња инциденца ХТ изазване лековима (који укључују како прописане, тако и непрописане терапијске агенсе) је процењена на 1 до 10 на 100000 пацијената, или око 10% свих нежељених дејстава лекова<sup>2,3</sup>. Повећано пријављивање случајева ХТ изазване лековима рефлектује растући број нових агенаса који су уведени у клиничку праксу последњих деценија и настављају и даље да се уводе<sup>4</sup>. Томе треба придодати и модернизацију савремене индустрије, као и нове хемијкалије које се у њој примењују. До маја 2011. године регистровано је укупно 60 милиона различитих хемијских једињења, а тај број је од 2009. године порастао за 10 милиона једињења<sup>5</sup>. Преко 1000 различитих КБ је уплетено у развој ХТ<sup>2</sup>.

Упркос великом напретку током протеклих 20 година, механизми ХТ многих лекова су остали непознати<sup>6,7,8,9</sup>. Сваки појединачни лек може имати неколико токсичних ефеката на јетру, или може произвести како токсични, тако и алергијски хепатитис код различитих пацијената<sup>7,8,10,11</sup>. Високохепатотоксична хемијска једињења могу директно изазвати иреверзibilне лезије на кључним субцелуларним структурама, нарочито на митохондријама и плазма мембрани. Формирање реактивних метаболита може довести до два главна типа хепатитиса код људи<sup>7,8,10,11</sup>:

1) токсични хепатитис, чија се појава може предвидети после масивног прекорачења дозе, нпр. парацетамол, и

2) имуноалергијски хепатитис, код кога лек изазива нежељени имуни одговор директно против јетре<sup>10-16</sup>.

Постоје бројне хипотезе, које објашњавају способност лекова да изазову имуни одговор против ћелија домаћина. Лекови или њихови метаболити се могу везати ковалентно за протеине пре него што су преузети од стране специјализованих антиген презентујућих ћелија.

Такви протеини, приликом даље обраде у ћелијама, бивају раздељени на пептидне фрагменте, који потом могу бити презентовани преко Т ћелија молекулама I и II класе главног хистокompatибилног комплекса (major histocompatibility complex – МХЦ). Постоји и други концепт "фармаколошке интеракције са имуним рецепторима" (П-И), који сугерише нековалентно везивање између лека, Т ћелијског рецептора и МХЦ молекула, при чему се Т ћелије директно стимулишу, независно од ћелијског процеса<sup>17</sup>.

ХЛA алели се налазе у МХЦ регији на хромозому 6, који је најполиморфнија регија у људском геному. Целокупна МХЦ регија, укључујући ХЛA алеле класе I, II и III гена, показује висок ниво неравнотеже у повезивању (linkage disequilibrium – ЛД), због чега је постојање узрочне повезаности са ХЛA алелима тешко доказати. Неколико новијих генетичких студија (genome-wide association study (GWAS) је доказало постојање бројних ХЛA алела, који су широким опсегом различитих клиничких реакција хиперсензитивности повезани са структурно различитим нискомолекуларним компонентама<sup>17,18</sup>.

Кључна улога ХЛA молекула у имунском препознавању и доказивању укључености Т ћелија специфичних за лекове у неколико реакција (које су у вези са реакцијама повезаним са ХЛA), указује да је у тај процес укључен имунски систем, али не говори о умешаности појединачних ХЛA алела. Функционалана улога ХЛA класе I је показана само за хиперсензитивност изазвану абакавиром. Потенцијална клиничка корист ХЛA генетских маркера је у скорашњим студијама показана при истраживању ефикасности и ризика код пацијената оболелих од мултипле склерозе, који су били на терапији интерфероном бета<sup>17</sup>.

Повезаност ХЛA са ХТ изазваном лековима је показана у GWAS при класи I ХЛA-A за тиклопидин, ХЛA-B за флуоксацилин, при класи II ХЛA-DRB1 за амоксицилин клавуланску киселину (АК), лумиракоксиб и ксимелагартан, а мутације митохондријалне полимеразе  $\gamma$ 1 са реакцијом на натријум валпроат<sup>3,17</sup>.

Циљеви ове студије су били истраживање најчешћих узрочника ХТ у популацији грађана Републике Србије, указивање на значај преосетљивости организма на делујући агенс, упоређивање значаја ХТ деловања лекова у односу на друге ноксе у људском окружењу и

скретање пажње на значај ХТ изазване идиосинкразијом.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У нашој студији су анализирана 52 пацијента са дијагнозом ХТ (анамнеза, детаљна клиничка обрада пацијената, хистопатолошке анализе јетре, дијагностички ултразвук абдомена, лабораторијско одређивање стандардних функционалних тестова јетре). У периоду од 1.4.2005 до 1.4.2009, код ових пацијената Института за гастроентерологију и хепатологију Клиничког центра Србије (КЦС) у Београду праћени су функционални тестови јетре и морфолошки налаз. Не постоји златни стандард, специфичан серумски биомаркер (БМ) или карактеристична клиничка слика, која са сигурношћу идентификује лек као узрок за ХТ. Због тога су коришћени БМ битни за диференцијалну дијагнозу, праћење тока болести и одговора на терапију (ниво серумског билирубина, повећање активности серумских трансaminaза, повећање активности серумске гама глутамил трансферазе и алкалне фосфатазе, повећање аутоимунских маркера). За дијагнозу су коришћени нови делимично модификовани критеријуми пораста активности серумских трансaminaза. Ово је укључивало пораст активности аланинске трансaminaзе (АЛТ) или аспартат трансaminaзе (АСТ), појединачно за више од 5 пута у односу на нормалну активност (upper limit normal-УЛН) без симптома, или повећање активности АЛТ 2 пута УЛН, или повећање билирубина 2 пута УЛН у комбинацији са повећањем АЛТ или АСТ. Са друге стране, појединачно повећање активности АСТ или АЛТ за мање од 5 пута УЛН са симптомима је такође доказивало ХТ<sup>19</sup>. Због могућности да услед нежељене реакције на КБ дође до хроничног оштећења јетре, што се према подацима из литературе јавља у 5-10%<sup>2</sup> (поједини аутори овај налаз означавају као “хронична“ ХТ<sup>20</sup>), пацијенти су праћени до 12 месеци.

Критеријум за укључивање пацијената у студију је била дијагноза ХТ.

Критеријум за искључивање пацијената из студије је била дијагноза оштећења јетре друге етиологије.

Критеријуми за укључивање пацијената из контролне групе у студију је била дијагноза хроничног хепатитиса друге (вирусне) етиологије.

Налази резултата испитаника су упоређени са вредностима налаза пацијената у кон-

тролној групи, коју су сачињавала 52 пацијента са дијагнозом хроничног хепатитиса друге (вирусне) етиологије<sup>21</sup>.

ХЛА типизација је урађена у Институту за трансфузију крви Републике Србије у Београду на одељењу за типизацију ткива.

Типизација ХЛА класе I је урађена серолошким тестовима. Из крви узете на хепарин на градијенту густине се одвоје лимфоцити. Подеси им се густина и додају се у Тераскијеве плочице у које су претходно накапани специфични серуми. Након инкубације додаје се зечји комплемент и поново инкубира. Ћелије се боје трипан плавом бојом и одмах се врши читавање. Ако желимо трајнији препарат, ћелије се боје еозином и фиксирају формалдехидом, те се читавање може вршити и следећег дана.

Типизација ХЛА класе II је урађена молекулском техником ланчане реакције полимеразом (polymerase chain reaction - ПЦР), ниске резолуције. ПЦР је реакција умножавања дела ДНК помоћу Таq полимеразе, уз присуство специфичних олигонуклеотидних почетних делова (енглески "primer"), који препознају комплементарне делове ДНК, као калупа и вежу се на њих. За избор одговарајућих почетних делова потребно је познавање нуклеотидног низа оног дела секвенце циљне ДНК, који се жели умножити. У овом случају то су гени ХЛА система.

Типизацију ткива смо урадили на апарату GeneAmp PCR system, Applied Biosystems.

Од статистичких метода за анализу података употребљена је дескриптивна статистичка анализа (аритметичка средина, стандардна девијација, опсег), а од статистичких тестова т-тест за независне узорке и т-тест за зависне узорке. Такође смо користили и Mann Whitney-ев тест за поређење непараметарских варијабли код независних узорака и Wilcoxon-ов тест за везане узорке. Корелацију међу групама утврдили смо Spearman-овим тестом корелације. За статистичку анализу свих података коришћен је статистички програмски пакет СПСС за Windows софтвер.

Вредност  $p < 0,05$  сматрана је статистички значајном.

## РЕЗУЛТАТИ

За настанак токсичних оштећења јетре, код наших испитаника били су присутни узрочници приказани у Табели 1.

Табела 1. Учесталост и врста ксенобиотика у настанку токсичних оштећења јетре код наших испитаника

КСЕНОБИОТИЦИ	Н	УЗРОЧНИЦИ (број пацијената)		
Индустријски токсини	8	Инсектициди (1), пестициди (2), барутне честице (1), боје и лакови (1), токсичне материје у тешкој индустрији (1), етиленгликол (1), олово (1).		
Храна и напаци	9	Coca Cola® и газирани напаци (2), сумња на адитиве, конзервансе и повећану количину пестицида, инсектицида и антибиотика у храни (7).		
Антиреуматици и аналгетици	6	НСАИЛ* (4): Диклофенак®- диклофенак (2), Indometacin®-индометацин (1), Flugaline®- флурбипрофен (1)	салазопирин(1)	парацетамол(1)
Антиаритмици	4	Amiodaron®-амиодарон (2)	Atenolol®- атенолол (1)	Presolol®- метопролол (1)
Антилипемиици	4	Sortis®-аторвастатин (2)	Cholipam®- симвастатин (1)	Lipanol®- ципрофибрат (1)
Антибиотици	4	Panklav®-амоксицилин- клавуланска киселина (1)	Eritromicin®- еритромицин (1)	Palitrex®- цефалексин (2)
Витамици	3	Мултивитамински препарати		
Антихипертензивни лекови	3	CortiazemR®-дилтиазем (1)	Prilenap®- еналаприл (1)	Lorista®-лосартан (1)
Антиагрегациони лекови	2	Aspirin protect®-ацетилсалицилна киселина (1)	Zyllt®-цлопидогрел (1)	
Антиепилептици	2	Eftil®-валпроинска киселина, натријум валпроат (2)		
Лекови код остеопорозе	2	Alendronat®-алендронат (1)	Fosamax®- алендронат (1)	
Антихипертиреоидни лекови	1	Tivoral®-тиамазол (1)		
Орални антидијабетици	1	Siofor®- метформин (1)		
Орални контрацептиви	1	Yasmine®-дроспиренон/етинилестрадиол (1)		
Глукокортикоиди	1	Pronizon®-преднизон (1)		
Антидепресиви	1	Xanax®-алпразолам (1)		

Н=Број испитаника, \*НСАИЛ=нестероидни анти-инфламаторни лекови

Табела 2. Највећи пораст активности јетриних ензима су забележени код следећих КБ

Биолошки маркери	Ксенобиотик	Највећа апсолутна вредност	Јединице
АСТ (СГОТ)*	Инсектициди	430	UI*****
АЛТ (СГПТ)**	Барут	1215	UI*****
АЛП***	Боје и лакови	795	UI*****
ГГТ ****	Тиамазол	2339	UI*****

\*АСТ (СГОТ)-аспартанска аминотрансфераза (серумска глутаминска-оксалоацетична трансминаза)

\*\*АЛТ (СГПТ)-аланинска аминотрансфераза (серумска глутаминска пирувинска трансминаза)

\*\*\*АЛП-алкална фосфатаза

\*\*\*\*ГГТ-гама глутамил трансфераза

\*\*\*\*\*UI-интернационална јединица

Од 52 пацијента из групе испитаника, добијени су резултати ХЛA типизације за 29 испитаника. Од 52 пацијента из контролне групе, добијени су резултати ХЛA

типизације за 22 пацијента. ХЛA класа I антигена представљена је са локусима следеће учесталости, приказаним у Табели 3.

Табела 3. Дистрибуција ХЛА класе I антигена код наших пацијената

ХЛА класа I	Група испитаника	Контролна група	ХЛА класа I	Група испитаника	Контролна група
A1	15	7	B5	2	1
A2	10	9	B8	9	5
A3	5	7	B12	0	2
A4	0	2	B13	0	1
A8	0	3	B14	1	0
A9	0	1	B16	0	3
A10	0	1	B17	0	1
A11	4	3	B18	0	1
A24	9	1	B21	1	0
A26	2	3	B27	5	5
A29	1	0	B35	9	7
A30	0	1	B37	1	0
A31	0	2	B38	5	2
A32	0	5	B39	0	1
			B44	11	3
			B49	0	1
			B51	7	2
			B57	1	0
			B60	3	0
			B61	0	1

Табела 4. Дистрибуција ХЛА класе II антигена код наших пацијената

ХЛА класа I	Група испитаника	Контролна група	ХЛА класа I	Група испитаника	Контролна група
DR1	5	0	DQ1	1	3
DR2	0	4	DQ2	3	0
DR3	2	0	DQ7	0	2
DR4	5	0	DQ8	2	0
DR5	1	0			
DR6	1	0			
DR7	1	0			
DR11	0	1			
DR16	2	0			
DR17	0	3			
DR51	4	5			
DR52	2	3			
DR53	1	0			

## ДИСКУСИЈА

Не ретко, дијагностификовање ХТ је отежано услед недостатка специфичних знакова у већини случајева и често се ослања на искључивање других узрока<sup>7</sup>. Постојање ХТ се не може доказати са сигурношћу, или се погрешно доказује у око 25% случајева<sup>2</sup>. Хепатичке нежељене реакције остају непрестана брига приликом прописивања великог броја

лекова у свакодневној клиничкој пракси. ХТ је водећи узрок акутне јетрине инсуфицијенције (АЈИ) у западном свету са парацетамолом, као водећим узрочником иза кога следе антибиотици<sup>19</sup>. Наше истраживање је показало да парацетамол није водећи узрок ХТ у нашим условима, али да антибиотици заузимају значајно место.

У Индији су антитуберкулозни лекови главни узрочници ХТ и АЈИ изазване лековима, како код одраслих, тако и код деце, учествујући са 5,7-22% свих АЈИ. Парадоксно је да би већина могла бити превенирана, јер је емпиријска терапија туберкулозе у Индији у 43-60% случајева ХТ узрок за АЈИ<sup>19</sup>. У нашој студији нисмо имали пацијенте који су били на терапији лековима против туберкулозе.

У неким случајевима, учесталост и озбиљност нежељених реакција на лекове може довести до њиховог повлачења са тржишта, док код других (нпр. статина) повећано искуство са продуженим коришћењем је доказало њихов сигурносни профил и добар однос ризик/корист<sup>22</sup>. Стални мониторинг представља камен-темељац ране дијагнозе и ефикаснијег менаџмента. Тако се, упркос овом ризику, терапија статинма препоручује код кардиолошких болесника са обољењем јетре<sup>23</sup>, а почетно повећање активности серумских трансминаза на почетку терапије статинима не би смело да нас обесхрабри<sup>24</sup>. Међутим, наша студија је показала постојање ХТ изазваних аторвастатином. Случајеви АЈИ услед ХТ изазване аторвастатином су забележени у шпанском, шведском, али и у регистру Сједињених Америчких Држава (САД), укупно 16 пацијената<sup>25</sup>. Зато је кључна ствар опажање развоја касних нежељених реакција, које нису биле обухваћене краткотрајним клиничким истраживањима. Стога, постмаркетиншко праћење остаје најважније код сваког новоуведеног агенса<sup>22</sup>.

Учесталост лековима изазване ХТ у Србији је око 0,04 на милион становника. То је мање у поређењу са 0,43 у УСА; 0,34 у Шведској; 0,12 у УК; 0,07 у Шпанији и 0,05 у Холандији<sup>26</sup>. На основу процењеног броја становника у Србији од око 7,3 милиона, предпостављеног броја нежељених реакција на лекове (adverse drug reaction-АДР), који се креће око 1500 случајева годишње, сматра се да 3,9% свих АДР отпада на ХТ у Р.Србији.

Пријављивање нежељених ефеката на лекове је се вршило преко српског система за фармаковигиланцу, који је установљен 1995. године у КЦС. Његову улогу 2005. године је преузео Национални центар за фармаковигиланцу, који функционише у оквиру Агенције за лекове и медицинска средства Србије (АЛИМС). Пријава нежељених дејстава на лек се обавља волонтерски, путем образаца за пријаву.

Наша студија се, тако, нашла у врло широј области у којој многе појединости нису разјашњене до краја, а свакодневни напредак науке, који се манифестује откривањем нових хемијских једињења која се примењују у медицини или се налазе у људском окружењу, ситуацију само додатно усложњава. То доказује чињеница да је нашим истраживањем приказано 28 различитих лекова окривљених за ХТ у нашим условима, а прегледом шпанског, шведског и регистра САД-а уочено је 76 најчешћих изазивача ХТ<sup>25</sup>.

Прегледом литературе уочавају се покушаји систематизације КБ и последица њихове употребе<sup>27,28</sup>. Мишљења смо да је потребно да се таква систематизација направи и у нашим условима.

Наши резултати у односу на ноксу се могу поделити у 2 основне групе: 1. лекови за примену код људи и 2. остали КБ. Показали смо да се у групи антибиотика у односу на све друге лекове ХТ јавља у 11,4%. То је у складу са подацима из Јапана (14,3%), али ниже у односу на Сједињене Америчке Државе (45%), Шпанију (32%), или Шведску (27%)<sup>19</sup>. Антибиотици који се у свету највише окривљују за настанак ХТ су: АК, нитрофурантоин, флуклоксацилин, триметропримсулфометоксазол, изониазид и други лекови против туберкулозе<sup>29</sup>. Подаци говоре да је код антибиотика скоро половина случајева везана за АК<sup>30</sup>, што је потврдило и наше истраживање. Аналгетицима и антиреуматицима изазвана ХТ је у нашој студији 17,1%, док је учесталост ХТ услед аналгетика у САД-у 5%. У Шведској учесталост ХТ изазвана НСАИЛ износи 4,8%. При томе је учесталост ХТ изазвана парацетамолом у Србији значајно мања у односу на базе података других држава<sup>19, 25, 26</sup>. ХТ изазвана диклофенаком је значајно ређа у САД-у у поређењу са регистрима европских земаља<sup>24</sup>, док се у нашем истраживању она јавља чешће од свих других ХТ изазваних лековима из исте групе. Учесталост ХТ изазване антиепилептицима је у складу са подацима за Индију – 11%<sup>19</sup>. Ови лекови се често сврставају у широку групу тзв. лекова који утичу на централни нервни систем (ЦНС). Ту се међу другим сврставају и лекови који се користе за општу анестезију (халотан<sup>6</sup>, севофлуран<sup>25</sup>, фенобарбитон<sup>31</sup>). У нашем истраживању нисмо имали пацијенте са ХТ изазваном овом групом лекова. У нашој студији 8,6% свих ХТ код лекова се односи на мултивитаминске препарате, док је тај део у Јапану приближно једнак и износи 10%<sup>19</sup>.

Еналаприл и еритромицин, који се појављују као узрочници ХТ у нашем истраживању, јављају се и у регистрима европских земаља (Шпанија, Шведска), док се не појављују у регистру САД-а<sup>24</sup>.

Лекови у нашој студији су чинили 67,3% свих КБ.

Забрињавајућим се чини податак да индустријски токсини учествују са 15,4% као узрочни фактори ХТ, а ХТ изазвана храном и напитуцима са чак 17,3% од свих КБ. Као примесе у храни и дијететским додацима, који су изазвали ХТ, нађени су тешки метали, лекови и бактерије<sup>32</sup>. Иако се данас у везу са ХТ доводи све већи број хемијских једињења коришћених у индустрији<sup>33</sup>, прецизних података о проценту учешћа других КБ (осим лекова, дијететских додатака и биљних препарата) у настанку ХТ у свету нисмо нашли.

Претходни радови су укључивали повезаност појаве лековима изазване ХТ и одређених ХЛА хаплотипова<sup>2,7,8,17,34</sup>. У Србији се ХЛА типизација не ради на широј друштвеној популацији и зато не постоји база података са ХЛА типовима становништва, било МХЦ класе I или класе II. Због тога није било могуће упоредити наше податке са учесталошћу у општој популацији, те смо изнели податке из литературе који говоре у прилог појединим ХЛА типовима, карактеристичним за КБ доведене у везу са ХТ, а присутне код испитаника у нашој студији.

ХЛА-Б8 заједно са ХЛА-ДР3 чешће се јавља код пацијената који су оболели од примарног склерозирајућег холангитиса (primary sclerosing cholangitis – ПСХ), укључујући и онај изазван лековима<sup>11,16</sup>. Овакве хистолошке промене су најчешће праћене токсичним ефектима лекова (флоксуридин или 5-флуородексојуридин) после интра-артеријске инфузије код терапије пацијената са метастазама<sup>2</sup>. Наша 4 пацијента, који су имали ове алеле су имали исте хистолошке промене (ПСЦ), а имали су ХТ услед излагања индустријским токсинима. Нове GWS студије су указале на потенцијално учешће не-ХЛА гена у настанку ПСЦ<sup>35,36</sup>.

ХЛА Б14, ХЛА –ДР3 и ХЛА Б27 су чешћи код пацијената са сликом аутоимуног хепатитиса, који се често јавља код пацијената са ХТ услед терапије преднизолом<sup>7, 8, 24, 34,37</sup>. То је био пример нашег пацијента на истој терапији, који је поседовао ХЛА-Б27 и ХЛА-ДР3 алеле.

ХЛА ДР1 и ХЛА ДQ1 су по наводима из литературе учесталији код испитаника који су користили АК киселину са клиничком сликом холестазе<sup>38,39</sup>, која је карактеристична и за остале ХТ изазване антибиотицима, заједно са ХЛА Б51<sup>2, 22</sup>, што се потпуно уклопило у клиничку слику наша 2 испитаника код којих су антибиотици окривљени за ХТ. ХЛА ДQ1 је често описан код ХТ изазване лековима против туберкулозе (изониазид, рифампицин, пиразинамид)<sup>17</sup>. Пацијент код кога је терапија цефалексином окривљена за настанак ХТ је имао ХЛА Б57, који се у литератури везује за флуоклоксацилин<sup>17</sup>. ХЛА ДР1 се везује и за ХТ изазвану ксимелагатраном<sup>2</sup>.

ХЛА ДР3 и ХЛА ДР4 су чешће присутни код ХТ узроковане метформином, која се ређе појављује<sup>40</sup>, а исте алеле су имали и наши пацијенти. ХЛА ДР1 и ХЛА ДР4 се појављују код ХТ узроковане диклофенаком<sup>17</sup> (што су потврдила оба примера из нашег истраживања), као и ХЛА Б27 код већег броја пацијената са ХТ изазваном НСАИЛ<sup>41</sup>. У јапанској студији је ХЛА А33 повезан са ХТ изазваном тиклопидином<sup>17</sup>. Код наших испитаника нисмо срели овај алел нити у контролној, нити у групи испитаника.

Хлорпромазин може изазвати ХТ код особа који су носиоци ХЛА-ДР6<sup>2</sup>, док је у нашем случају носилац таквог гена развио ХТ при терапији са алпрозоламом. ХЛА-А11 је карактеристичан за трицикличне антидепресиве<sup>2</sup>, а у нашем истраживању је био присутан код пацијента који је у терапији користио тиамазол.

## ЗАКЉУЧАК

Рад указује да је ХТ релативно честа појава у нашој популацији о којој би морали да размишљају сви лекари, када прописују лекове пацијентима и сви пацијенти када узимају терапију на своју руку, лекове који се издају без рецепта и биљне препарате.

Структура КБ, који доводе до ХТ у нашим условима је таква да је, појединачно, у највећој мери узрокована индустријским токсинима, као и храном и напитуцима, више него лековима. Нарочито би било потребно испитати који су то састојци хране који утичу на ХТ. Наша студија је показала да код употребе лекова посебно треба бити опрезан при употреби антибиотика, аналгетика, антиаритмика, антилипемика, аналгетика и антиреуматика.

Наши резултати ХЛА типизације за преднизон, метформин и АК се у потпуности



слажу са подацима других аутора. Потребно би било ХЛA типизацијом обухватити ширу друштвену популацију, како би се направила база података са учесталости одређених ХЛA хаплотипова у нашој популацији, у циљу правремене идентификације пацијената са ризиком за развој ХТ.

У циљу формирања нових сазнања о узрочно-последичној вези примене лекова и појаве ХТ, потребна је активна улога здравствених радника у систему спонтаног пријављивања нежељених реакција на лекове.

Резултати наших испитивања су потврдили да је неопходно детаљно клиничко испитивање пацијената и стално унапеђивање биохемијских и патохистолошких метода за дијагностику и праћење ХТ. Утицај ХЛA типизације код појединих врста ХТ може да помогне у дијагностици и прогнози болести<sup>21, 42</sup>.

Биоинформатички приступ је такође важан у дефинисању механизма имунских реакција, које су повезане са специфичним ХЛA типовима<sup>43, 44</sup>. Данас је то омогућено на основу секвенчне ХЛA типизације, која постаје све бржа и јефтинија, а резултује у повећаној доступности за појединца.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Andrade RJ, Lucena MI, Kaplowitz N, et al. Outcome of acute idiosyncratic drug-induced liver injury: Long-term follow-up in a hepatotoxicity registry. *Hepatology* 2006; 44 (6): 1581-8.
2. Larson AM. Drugs and the liver. Patterns of drug induced liver injury. UpToDate. (posećeno u februaru 2014 na [www.uptodate.com/contents/drug-induced-liver-injury](http://www.uptodate.com/contents/drug-induced-liver-injury)).
3. Farmer A, Brind A. Drug-induced Liver Injury. *Medicine*. Elsevier Ltd. 2011; 39 (9): 536-40.
4. Teschke R, Frenzel K, Glass X, Schulze J, Elckhoff A. Herbal Hepatotoxicity: a critical review. *Br J Clin Pharmacol*. 2012; 75(3): 630-6.
5. Wahlang B, Beier JJ, Clair HB, et al. Toxicant-associated Steatohepatitis. *Toxicol Pathol* 2013; 41(2):343-60.
6. Eliasson E, Kenna JG. Cytochrome P-450 2E1 is a cell surface autoantigen in halothane hepatitis. *Mol Pharmacol* 1996; 50: 573-82.
7. Farrell GC. Drug-induced liver disease. London: Churchill Livingstone, 1994.
8. Farrell GC. Drug-induced hepatic injury. *J Gastroenterol. Hepatol*. 1997; 12 (9-10): 242-50.
9. Pessayre O, Larrey D, Biour M. Drug-induced liver injury. In: Bircher J, Benhamou J, McIntyre N, eds. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. Oxford, England: Oxford University Press; 2005: 24-45.
10. Chitturi S, George J. Hepatotoxicity of Commonly Used Drugs: Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Antihypertensives, Antidiabetic Agents, Anticonvulsants, Lipid-Lowering Agents, Psychotropic Drugs. *Seminars in Liver Disease*. 2002; 22 (2): 1-15.
11. Degott C, Feldmann G, Larrey D, Durand-Schneider AM, Grange D, Machyehki JP, et al. Drug-induced prolonged cholestasis in adults: a histological semiquantitative study demonstrating progressive ductopenia. *Hepatology* 1992; 17: 244-51.
12. Delomenie C, Mathelier-Fusade P, Longuemaux S, Rozenbaum W, Leynadier F, Krishnamoorthy R, et al. Glutathione S-transferase (GSTM1) null genotype and sulphonamide intolerance in acquired immunodeficiency syndrome. *Pharmacogenetics*. 1997; 7: 519-20.
13. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Toxic and Drug-Induced Hepatitis. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York, NY: McGraw-Hill Professional; 2003: 296.
14. Blumenthal D, Brunton L, Parker K, Lazo JS. Goodman and Gilman's *Pharmacological Basis of Therapeutics* Digital Edition. McGraw-Hill Professional; 2006.
15. Dossing M, Andreassen BP Drug-induced liver disease in Denmark. An analysis of 572 cases of hepatotoxicity reported to the Danish board of adverse reaction to drugs. *Stand J Gastroenterology*. 1982; 17: 205-11.
16. Edmondson HA, Henderson B, Benton B. Liver-cell adenomas associated with use of oral contraceptives. *N Engl J Med*. 1976; 294 (9): 470-2.
17. Alfirević A, Gonzalez-Galarza F, Bell C, et al. In silico analysis of HLA associations with drug-induced liver injury: use of HLA-genotyped DNA archive from healthy volunteers. *Genome Medicine*. 2012; 4 (51): 1-14.
18. Stephens C, Lucerna MI, Andrade RJ. Genetic variations in drug-induced liver injury (DILI): resolving the puzzle. *Front. Gene*. 2012; 16:3: 253.
19. Devarbhavi H. An Update on Drug-induced Liver Injury. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2012; 2 (3): 247-59.
20. Maddur H, Chalasani N. Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury: A Clinical Update. *Curr Gastroenterol Rep*. 2011;13:65-71.
21. Žunić M. Kliničke, biohemijske i patohistološke karakteristike toksičnih oštećenja jetre i značaj HLA tipizacije u ispoljavanju hepatotoksičnosti. Magistarska teza. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu. 2010.
22. Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC, Vega JL, Camarago R. Hepatotoxicity in Patients with Cirrhosis, an Often Unrecognized Problem Lessons from a Fatal Case Related to Amoxicillin/Clavulanic Acid. *Digestive Diseases and Sciences*. 2001; 46(7): 1416-9.
23. Bader T. Yes! Statins can be given to liver patients. *Journal of Hepatology* 2012; 56: 305-7.
24. Chang CY, Schiano TD. Review article: drug hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 1135-51.
25. Suzuki A, Andrade RJ, Bjornsson E, et al. Drugs Associated with Hepatotoxicity and their Reporting Frequency of Liver Adverse Events in VigiBase™. *Drug Saf*. 2010; 33 (6): 503-22.
26. Petronijević M, Ilić K and Suzuki A. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* 2011; 20: 416-23.

27. Fau D, Mounia L, Farrell G, Moreau A, Moulis C, Feldmann G, et al. Diterpenoids from germander, an herbal medicine, induce apoptosis in isolated rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1997; 113: 1334-46.
28. Grant M, Lafaine M, Rockey C, Don C. Drug-induced liver injury. *Current Opinion in Gastroenterology* 2012; 28 (3): 198-202
29. Stine JG, Lewis JH. Hepatotoxicity of Antibiotics. *Clin. Liver Dis.* 2013; 17: 609-42.
30. Papay JI, Clines D, Rafi R, et al. Drug-induced liver injury following positive drug rechallenge. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009. 54: 84-90.
31. Pinna AP, Locci G, Furn M, Fanni D, Faa G, Nurchi AM. DILI (drug induced liver injury) in a 9-month-old infant: a rare case of Phenobarbital-induced hepatotoxicity. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* 2013; 2 (1): 93-5.
32. Navarro VJ, Bonkovsky HI, Hwang SH, Vega M, Barnhart H, Serrano J. Catechins in Dietary Supplements and Hepatotoxicity. *Dig. Dis. Sci.* 2013; 58: 2682-90.
33. Cohen SM, Heywood E, Pillai A. Hepatotoxicity Associated with the Use of White Flood, a Nutritional Supplement. *Practical Gastroenterology*. 2012; 10: 46-8.
34. Dowd JG. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999; 2: 1261-315.
35. Melum E, Franke A, Schramm C, et al. Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis identifies two non-HLA susceptibility loci. *Nature Genetics*. 2011; 43: 17-9.
36. GP Aithal, Daly AK. Preempting and preventing drug-induced liver injury. *Nature Genetics* 2010; 42: 650-1
37. Yuan L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver injury. *Clin Liver Dis* 2013; 17: 507-18.
38. Stephens C, Lorez-Nevot MA, Ruiz-Cabello F, et al. HLA Allels Influence the Clinical Signature of Amoxicillin-Clavulanate Hepatotoxicity. *PLoS ONE*. 2013; 8(7): e6811
39. Patel SJ, Milwid MJ, King Kr, et al. Closing the Gap on Drug-Induced Liver Injury. *Hepatology*. 2012; 56 (2): 781-3.
40. Deutsch M, Kountouras D, Dourakis SP. Metformin hepatotoxicity. *Ann Intern Med* 2004; 140(5): w25
41. Pessayre D, Larrey D. Mechanisms of drug-induced hepatitis. In: Guillouzo A, editor. *Liver Cells and Drugs*. Colloque: INSERM/John Libbey Eurotext Ltd., 1988; 142: 12942.
42. Kaplowitz N. Avoiding Idiosyncratic DILI: Two Is Better Than One. *Hepatology*. 2013; 58 (1): 15-7.
43. Howell BA, Yang Y, Kumar R, et al. In vitro to in vivo extrapolation and species response comparisons for drug-induced liver injury (DILI) using DILIsym™: a mechanistic, mathematical model of DILI. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn*. 2012; 39(5): 527-41.
44. Howell BA, Siler SQ, Watkins PB. Use of a systems model of drug-induced liver injury (DILIsym) to elucidate the mechanistic differences between acetaminophen and its less-toxic isomer, AMAP, in mice. *Toxicol Lett*. 2014; 226 (2): 163-72.