

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima

Lukša, Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:857728>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-04**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Lea Lukša

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2016.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Lea Lukša

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice “Mercur” pod vodstvom doc.dr.sc. Tajane Filipec-Kanižaj i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015./2016.

Mentor rada: doc. dr. sc. Tajana Filipec-Kanižaj

POPIS KRATICA

| | |
|-----------------|--|
| DILI | Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima (<i>engl.</i> Drug-Induced Liver Damage) |
| CIOMS | Council for International Organizations of Medical Science |
| AST | Aspartat-aminotransferaza (<i>engl.</i> Aspartate Aminotransferase) |
| ALT | Alanin-aminotransferaza (<i>engl.</i> Alanine Aminotransferase) |
| ALP | Alkalna fosfataza (<i>engl.</i> Alkaline Phosphatase) |
| R | Omjer (<i>engl.</i> Ratio) |
| ULN | Gornja granica normale (<i>engl.</i> Upper Limit Normal) |
| CYP | Citokrom P450 (<i>engl.</i> Cytochrome P450) |
| UGT | Uridin 5'- difosfat – glukuronoziltransferaza (<i>engl.</i> Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase) |
| UDP | Uridin 5'- difosfat (<i>engl.</i> Uridine 5'- diphosphate) |
| SULT | Sulfotransferaza (<i>engl.</i> Sulfotransferase) |
| GST | Glutation S-transferaza (<i>engl.</i> Glutathione S-transferase) |
| NAT | N-acetiltransferaza (<i>engl.</i> N-acetyltransferase) |
| ATP | Adenozin trifosfat (<i>engl.</i> Adenosine triphosphate) |
| ABC transporter | ATP–vežući kazetni transporter (<i>engl.</i> ATP-Binding Cassette Transporters) |
| MDR1/ABCB1 | Protein višestruke rezistencije na lijekove 1/ ATP–vežući kazetni transporter podobitelj B član 4 (<i>engl.</i> Multidrug Resistance Protein 1/ATP-Binding Cassette Sub-family B Member 1) |
| MDR2/ABCB4 | Protein višestruke rezistencije na lijekove 2/ ATP–vežući kazetni transporter podobitelj B član 4 (<i>engl.</i> Multidrug Resistance Protein 2/ATP-Binding Cassette Sub-family B Member 4) |
| MRP2/ABCC2 | Protein višestruke rezistencije na lijekove 2/ATP–vežući kazetni transporter podobitelj C član 2 (<i>engl.</i> Multidrug Resistance-Associated Protein 2/ ATP-Binding Cassette Sub-family C Member 2) |
| BSEP | Pumpa za ekskreciju žučnih soli (<i>engl.</i> Bile Salt Export Pump) |
| ACE | Angiotenzin-konvertirajući enzim (<i>engl.</i> Angiotensin-Converting Enzyme) |
| TNF- α | Faktor nekroze tumora-alfa (<i>engl.</i> Tumor Necrosis Factor Alpha) |
| PSK | Primarni sklerozirajući kolangitis |

| | |
|---------|--|
| PBC | Primarna bilijarna ciroza (<i>engl. Primary Biliary Cirrhosis</i>) |
| HLA | Sustav humanog leukocitnog antigena (<i>engl. Human Leukocyte Antigen</i>) |
| SNP | Polimorfizam jednog nukleotida (<i>engl. Single Nucleotide Polymorphisms</i>) |
| GSTM1 | Glutation S-transferaza mu 1 (<i>engl. Glutathione S-transferase mu 1</i>) |
| GSTT1 | Glutation S-transferaza (GST) theta 1 (<i>engl. Glutathione S-transferase (GST) theta 1</i>) |
| SLC | Solute Carrier Transporters |
| OATP1B1 | Organski anionski transportni polipeptid 1B1 (<i>engl. Organic anion-transporting polypeptide 1B1</i>) |
| MnSOD | Superoksid dismutaza ovisna o manganu (<i>engl. Manganese-Dependent Superoxide Dismutase</i>) |
| NASH | Nealkoholni steatohepatitis (<i>engl. Non-alcoholic Steatohepatitis</i>) |
| NAFLD | Nealkoholna masna bolest jetre (<i>engl. Non-alcoholic Fatty Liver Disease</i>) |
| HAART | Visoko aktivna antiretroviralna terapija (<i>engl. Highly Active Anti-Retroviral Therapy</i>) |
| HIV | Virus humane imunodeficijencije (<i>engl. Human Immunodeficiency Virus</i>) |
| AIDS | Sindrom stečene imunodeficijencije (<i>engl. Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>) |
| NKC | Prirodne stanice ubojice (<i>engl. Natural Killer Cells</i>) |
| MCHII | Glavni sustav tkivne podudarnosti skupine II (<i>engl. Major Histocompatibility Complex Class II</i>) |
| K-18 | Keratin 18 |
| HMBG-1 | Protein visoke mobilnosti grupe B1 (<i>engl. High-Mobility Group Protein 1</i>) |
| MARS | Molecular Adsorbent Recirculating System |
| PFSA | Fractionated Plasma Separation and Adsorption System |
| UDCA | Ursodeoksikolna kiselina (<i>engl. Ursodeoxycholic Acid</i>) |

SADRŽAJ

| | | |
|---------------------|--|----|
| POPIS KRATICA | | |
| SAŽETAK..... | | |
| SUMMARY | | |
| 1 | UVOD | 1 |
| 2 | EPIDEMIOLOGIJA I UČESTALOST DILI-JA..... | 2 |
| 3 | HISTOLOŠKA GRAĐA JETRE..... | 3 |
| 4 | ULOGA JETRE U METABOLIZMU LIJEKOVA | 4 |
| 5 | VAŽNOST LIJEKOVA KAO UZROČNIKA BOLESTI JETRE | 10 |
| 5.1 | SVOJSTVA LIJEKOVA UZROČNIKA DILI-JA | 10 |
| 5.2 | KOJI ČIMBENICI ORGANIZMA UTJEČU NA RIZIK RAZVOJA DILI-JA?..... | 10 |
| 5.3 | VAŽNOST INTERAKCIJA LIJEKOVA I ORGANIZMA | 11 |
| 6 | KLASIFIKACIJA DILI-JA | 11 |
| 6.1 | PREMA MEHANIZAMU NASTANKA I PATOGENEZI..... | 12 |
| 6.1.1 | OŠTEĆENJE OVISNO O DOZI | 13 |
| 6.1.2 | OŠTEĆENJE NEOVISNO O DOZI | 14 |
| 6.2 | CIOMS-OVA KATEGORIZACIJA DILI-JA PREMA KLINIČKOJ PREZENTACIJI | 16 |
| 6.3 | PREMA PATOHISTOLOŠKOM NALAZU | 18 |
| 6.4 | PREMA VREMENU TRAJANJA | 21 |
| 7 | KLINIČKA SLIKA..... | 21 |
| 8 | ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA RIZIK RAZVOJA DILI-JA..... | 22 |
| 9 | DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA | 29 |
| 10 | KAKO POSTAVITI DIJAGNOZU? | 29 |
| 10.1 | JE LI BIOPSIJA VAŽNA? | 31 |
| 10.2 | NOVI BIOMARKERI | 32 |
| 11 | TERAPIJSKE OPCIJE | 33 |
| 12 | PROGNOZA | 34 |
| 13 | ZAHVALE..... | 36 |
| 14 | LITERATURA..... | 37 |
| 15 | ŽIVOTOPIS | 39 |

SAŽETAK

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima

Lea Lukša

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima (*engl.* Drug-Induced Liver Damage, DILI) objedinjuje niz kliničkih slika, od asimptomatskih slučajeva povišenja jetrenih enzima, do teških slučajeva akutnog ili kroničnog oštećenja jetre koji rezultiraju zatajenjem te je transplantacija jetre jedina metoda liječenja kojom se može spasiti život pacijenta.

Teški slučajevi DILI-ja su rijetki, ali mogu završiti smrću pacijenta.

Hepatotoksičnost je drugi po redu od najčešćih uzroka povlačenja lijekova s tržišta.

Poznato je više od 1000 različitih spojeva koji mogu oštetiti jetru. Lijekovi koji su najčešći uzročnici DILI-ja u terapijskim dozama su antimikrobni lijekovi, zatim lijekovi s učinkom na neurološki sustav, statini te analgetici.

Osnovni mehanizmi nastanka DILI-ja su intrinzično oštećenje, čija je važna karakteristika da je ovisno o dozi, i idiosinkratsko oštećenje, koje nije ovisno o dozi, a podležeći patofiziološki mehanizam može biti alergijski (imunološki) ili metabolički.

Najčešći način klasifikacije DILI-ja predložio je CIOMS, a temelji se na obrascu povišenja jetrenih enzima, prema kojem se razlikuju hepatocelularni, kolestatski i miješani tip oštećenja.

Predisponirajući čimbenici za razvoj DILI-ja su: dob, spol, doza, genetski čimbenici, prethodna reakcija na lijekove te istovremeno uzimanje drugih lijekova.

Klinička slika je varijabilna, s najvećim udjelom asimptomatskih pacijenata s prolaznim povišenje transaminaza, preko ikterusa koji može biti praćen nespecifičnim simptomima: mučninom, osjećajem nelagode ili bolom u gornjem desnom kvadrantu abdomena, tamnim urinom i pruritusom, pa sve do simptoma i znakova akutnog zatajenja jetre.

Dijagnoza se postavlja isključivanjem drugih mogućih bolesti jetre koje imaju slične kliničke, laboratorijske ili patohistološke karakteristike te dovođenjem u vremensku korelaciju uzimanje lijeka i pojavu znakova i simptoma DILI-ja. Terapijske mogućnosti su ograničene i uglavnom se svode na suportivnu terapiju. Ključne riječi: DILI (*engl.* Drug-Induced Liver Injury), oštećenje jetre uzrokovano lijekovima, hepatotoksičnost, izravno oštećenje, idiosinkratsko oštećenje, hepatocelularni, kolestatski i miješani tip oštećenja, suportivna terapija

SUMMARY

Drug-Induced Liver Injury

Lea Lukša

Drug-induced liver injury is a disease that includes variety of clinical features, from asymptomatic elevation in levels of liver enzymes to acute or chronic liver failure, when liver transplantation represents the only permanent cure.

Severe cases of DILI are relatively uncommon, although potentially fatal adverse drug effects.

DILI is one of the two leading indications for drug removal from pharmaceutical market.

Over 1000 chemical compounds, have been implicated in the development of DILI. The most common drugs that act as hepatotoxins are anti-infective, neurological, pain-modifying drugs and statins.

There are two basic mechanisms of liver injury: liver can be affected directly, in a dose-dependent manner, or idiosyncratically, independent of the dose and with immunological or metabolic underlying pathophysiological mechanism.

Based on CIOMS classification, the type of injury can be categorized into hepatocellular, cholestatic or mixed, by the respective enzyme pattern of injury.

Factors that influence the risk of DILI include: age, gender, genetic factors, dose of the drug, history of other drug reactions and concomitant exposure to other agents.

Clinical manifestations are diverse, so acute presentation of DILI include mild asymptomatic liver test abnormalities, cholestasis with pruritus or severe disease with acute liver failure. Symptomatic patients may report malaise, nausea, vomiting, pruritus, low-grade fever, right upper quadrant pain, jaundice, acholic stools and dark urine.

DILI is a diagnosis of exclusion of other diseases that can cause similar clinical features and it must be based on a comprehensive clinical assessment and an established temporal association between the illness and administration of a causative drug.

Management of DILI usually consists of drug withdrawal and supportive care.

Key words: DILI (Drug-Induced Liver Injury), direct mechanism, idiosyncratic mechanism, hepatocellular, cholestatic or mixed injury, drug withdrawal, supportive care

1 UVOD

Ljudi svakodnevno unose u organizam brojne lijekove - bilo sintetičke, bilo prirodne. Isti ti lijekovi djeluju na organizam cijelom lepezom različitih mehanizama, ostvarujući učinke na brojnim stanicama, tkivima, organima i organskim sustavima.

Jedan od organa koji je izložen djelovanju većine lijekova, posebice nakon peroralnog unosa, jest jetra, zbog osobitosti portalnog krvotoka, koji izravno u nju odvodi sve tvari apsorbirane iz probavnog trakta.

Široki spektar djelovanja lijekova na jetru, od blagog i prolaznog povišenja jetrenih enzima pa sve do akutnog zatajenja jetre, koje zahtijeva liječenje hitnom transplantacijom i ima visoke stope smrtnosti, možemo objediniti pod nazivom „lijekovima uzrokovano oštećenje jetre“ (*engl.* Drug-Induced Liver Injury – DILI).

Smatra se kako je većina takvih reakcija blaga i ne uzrokuje kliničke simptome te stoga često ostaje neprepoznata. Problem prepoznavanja štetnog učinka lijeka na funkciju jetre javlja se ponajviše zbog sličnosti koje učinak lijeka ima s cijelim nizom poznatih bolesti hepatobilijarnog sustava (1). DILI može imati morfološke karakteristike i akutne i kronične jetrene bolesti, a klinički i histopatološki ga se ne može razlikovati od drugih uzroka oštećenja jetre, primjerice virusnog hepatitisa (2).

Učestalost različitih tipova lijekovima uzrokovano oštećenja jetre nije zanemariva, varirajući od otprilike 1:10.000 do otprilike 1:100.000, za većinu lijekova (1).

Prema mehanizmu nastanka oštećenja, DILI možemo podijeliti na ona koja nastaju zbog intrinzične (direktne, izravne) hepatotoksičnosti i ona koja su posljedica idiosinkratskih reakcija, koje se dalje mogu podijeliti na alergijske i nealergijske reakcije. Osnovna razlika tih dvaju mehanizama jest u tome što su intrinzična oštećenja ovisna o dozi i predvidiva, dok idiosinkratska ne ovise o primijenjenoj dozi lijeka te se samim time često javljaju nepredvidljivo (2).

Brojni čimbenici utječu na rizik razvoja DILI-ja: dob, spol, primijenjena doza lijeka, genetski čimbenici, postojanje otprije poznate reakcije na lijekove, konkomitantna primjena više lijekova, ekscesivno konzumiranje alkohola, nutritivni status, otprije postojeće bolesti jetre i neke druge bolesti, primjerice diabetes mellitus, HIV-infekcija/AIDS, zatajenje bubrega i transplantacija organa [(1), (3), (4)].

Klinička slika DILI-ja varira od asimptomatskih abnormalnosti jetrenih enzima, bez kroničnih posljedica, do akutnog i kroničnog hepatitisa (2), razvoja ciroze i karcinoma jetre (1).

Prema CIOMS-ovoj (*engl.* Council for International Organizations of Medical Science) klasifikaciji, tri su oblika DILI-ja: hepatocelularno, kolestatsko i miješano oštećenje.

DILI mogu uzrokovati mnogi lijekovi, biljke i biljni pripravci te dodaci prehrani (4). Od lijekova, najznačajniji su antimikrobni, zatim lijekovi s učinkom na neurološki sustav, lijekovi za smanjivanje koncentracije kolesterola u krvi te analgetici, a prisutna je velika varijabilnost simptoma, vremenskog tijeka bolesti i tipa oštećenja. Zbog svega toga, posljedice DILI-ja su, kako s medicinskog tako i s ekonomskog stajališta, velike. Nakon kardiovaskularne, hepatotoksičnosti je drugi po redu od najčešćih uzroka povlačenja lijeka s tržišta. Poznati su primjeri NSAID-a bromfenaka i troglitazona, prototipa tiazolidindiona, koji su povučeni s tržišta nakon što su uzrokovali nekoliko slučajeva fatalnog akutnog zatajenja jetre (1). Posebno težak problem predstavlja činjenica da se reakcije koje znatno oštećuju jetru, uzrokujući akutno zatajenje, zbog toga što se javljuju rijetko, često otkriju tek u fazi farmakovigilance. Stoga se provode mnoga istraživanja usmjerena pronalasku novih dijagnostičkih i prognostičkih biomarkera, koji bi služili ponajprije za selekciju osjetljivih pacijenata i individualizaciju njihove terapije te bi se time bitno poboljšala sigurnost pacijenata. Neke od obećavajućih metoda su farmakogenetička testiranja, nove generacije testiranja baziranih na sekvencioniranju gena, proteomička i metabolomička analiza te otkrivanje markera povezanih s određenim tipom oštećenja. Potencijalni indikatori DILI-ja koji se istražuju su neke microRNA, keratin-18 (K18), high-mobility group box protein I (HMGB-I) i neki drugi biomakeri (3).

Terapija DILI-ja obično se temelji na ukidanju inkriminiranog lijeka iz terapije i primjeni specifičnog antidota, ako postoji (npr. N-acetilcistein u slučajevima hepatotoksičnog djelovanja paracetamola).

2 EPIDEMIOLOGIJA I UČESTALOST DILI-JA

Oštećenje jetre uzrokovano lijekovima je problem koji je u kliničkoj medicini poznat već desetljećima. Više od 1000 lijekova i biljnih proizvoda su utvrđeni uzročnici DILI-ja. Godišnja incidencija DILI-ja ugrubo se procjenjuje na 10 – 15 na 10.000 - 100.000 ljudi koji uzimaju prepisane lijekove (5). Dvije prospektivne studije provede na općoj populaciji u Francuskoj i Španjolskoj procijenile incidenciju DILI-ja na 7–14/100.000 ljudi, a

retrospektivno istraživanje iz Velike Britanije je stopu incidencije procijenilo na 2-3/100.000 ljudi u godinu dana. Prava incidencija DILI-ja još je uvijek nepoznata, prvenstveno zbog velikog broja neprijavljenih slučajeva (2).

DILI je uzrok 30% akutnih hepatitisa i najčešći je razlog akutnog zatajenja jetre u SAD-u. Može mu se pripisati 50% svih novih slučajeva ikterusa (5). Vodeći je razlog urgentnih transplantacija jetre. Među hospitaliziranim pacijentima s ikterusom, u 2-10% slučajeva uzrok je DILI. Na njega otpada oko 10% svih neželjenih reakcija na lijek u SAD-u. Medicinski i ekonomski veoma važno, najčešći je razlog povlačenja lijekova s tržišta (6).

DILI je, ipak rijedak incident. Poseban problem predstavlja činjenica da se često otkrije tek nakon odobrenja lijeka i njegovog dolaska na tržište, s obzirom na to da se današnji lijekovi testiraju na relativno malom uzorku, manjem od 3.000 ljudi, pa se slučajevi DILI-ja s incidencijom manjom od 1/10.000 mogu propustiti. Smatra se kako će na svakih 10 slučajeva povišenja aminotferaza (>10 puta od gornje normalne vrijednosti) u kliničkim ispitivanjima, nakon puštanja lijeka na tržište doći do jednog slučaja teškog oštećenja jetre (6).

3 HISTOLOŠKA GRADA JETRE

Histološku arhitektoniku jetre možemo promatrati iz različitih perspektiva: anatomske, zatim ovisno o funkciji sekrecije žuči ili ovisno o toku krvi i metaboličkoj funkciji. Osnovna građevna jedinica jetre je jetreni režnjić (lobul). Kako je već navedeno, razlikuju se tri načina podjele jetre na lobule (Slika 1):

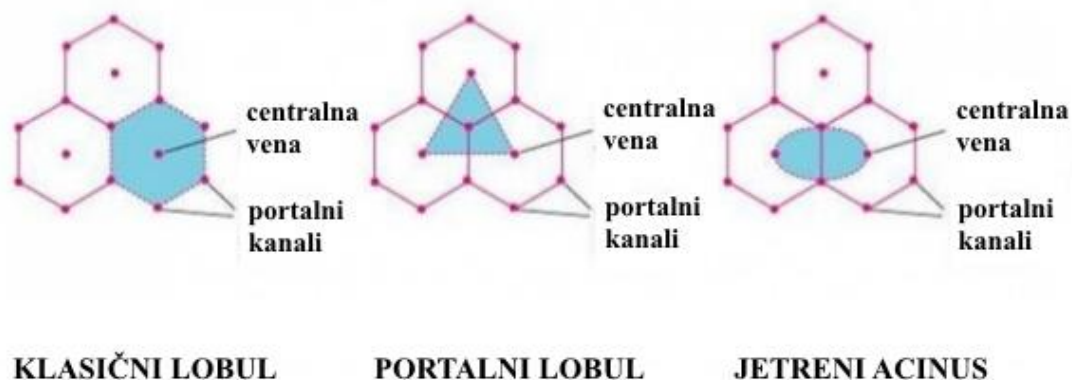
1. **klasični lobul** – heksagonalnog je oblika, u središtu se nalazi centrolobularna venula (terminalna jetrena venula). Kuteve čini 3-6 portalnih prostora, u kojima se nalaze venula (ogranak portalne vene), arteriola (ogranak jetrene arterije), žučni kanalić i limfne žile. Hepatociti su u režnjiću zrakasto raspoređeni te se između njih nalaze jetrene sinusiode, u kojima se miješaju arterijska krv i krv iz vene portae. Krv se skuplja u središnjoj (centrolobularnoj) veni. Žuč se od središta režnjića odvodi Heringovim kanalima prema žučnim kanalima u portalnim prostorima (7).
2. **portalni lobul** – čini ga zamišljeni jednakokrani trokut, čije kuteve čine tri susjedne terminalne jetrene venule. U centru portalnog lobula nalazi se portalna trijada. Ovakvo opisivanje histološke građe jetre u skladu je s njezinom funkcijom izlučivanja žuči, s

obzirom na to da žuč iz svih hepatocita iz zamišljenog trokuta (portalnog lobula) otječe u isti portalni prostor (8).

3. **jetreni acinus** – definira se kao romboidno područje čija duža dijagonala povezuje dvije susjedne terminalne jetrene venule, a kraća dva portalna prostora. Ovakav opis histološke građe jetre koristimo kada nam je primarno važan tok krvi unutar jetre. Područja, tj. hepatociti najbliži portalnoj trijadi prvi primaju krv, a oni najbliži terminalnoj venuli primaju krv zadnji. Prema tome, acinus je podijeljen na tri zone:

- zona 1 – okružuje portalnu trijadu. Prima najviše oksigenirane krvi, ali i najizloženija je toksinima.
- zona 2 – između zona 1 i 2. Prema tome, prima manje kisika od zone 1, ali više od zone 2 i izložena je djelovanju toksičnih metabolita.
- zona 3 – okružuje terminalnu jetrenu venulu. Prima najmanje kisika te je najmanje izložena djelovanju toksina (1).

KONCEPT "JETRENIH REŽNJIĆA"



Slika 1. Koncept jetrenih lobula (režnjića) (9)

4 ULOGA JETRE U METABOLIZMU LIJEKOVA

Iako većina tkiva ljudskog organizma ima određenu sposobnost metaboliziranja (biotransformacije) lijekova, najveći i najvažniji dio tih procesa odvija se u jetri. Ostala tkiva

koja imaju značajnu ulogu u biotransformaciji lijekova su probavni sustav, pluća, koža, bubrezi i mozak. Neki lijekovi, poput midazolama, podliježu značajnom intestinalnom metabolizmu, i do 50%, dok se drugi nakon peroralne primjene nepromijenjeni apsorbiraju iz tankog crijeva i portalnim krvotokom dolaze u jetru, gdje podliježu opsežnom metabolizmu, što se naziva učinkom prvog prolaska. Primjeri takvih lijekova su: izoprotenerol, pentazocin, meperidin i morfij (10).

Jetra pohranjuje, koncentrira, metabolizira i izlučuje većinu lijekova i toksina koje unesemo u tijelo. Neki od tih spojeva su izravno hepatotoksični, no u većini slučajeva njihovi metaboliti uzrokuju oštećenje jetre (5).

S obzirom na to da je većina lijekova lipofilna, oni lako ulaze u stanice, no da bi bili izlučeni iz tijela, moraju proći reakcije biotransformacije kojima se prevode u hidofilniji oblik, kako bi se mogli izlučiti putem urina ili žuči. U hepatocitima, ponajviše u njihovim endoplazmatskim retikulima, nalazi se niz inducibilnih metaboličkih puteva (1) koji kroz tri faze mijenjaju lijekove iz lipofilnog u hidofilniji oblik. Svaki lijek ima jedan ili više specifičnih metaboličkih puteva biotransformacije, u koji je uključen jedan enzim ili više njih (5). Ti su metabolički putevi zadušeni i za metaboliziranje i izlučivanje i nekih endogenih tvari, npr. žučnih kiselina i bilirubina. Općenito se spomenute reakcije i enzimi koji ih kataliziraju mogu podijeliti u tri faze:

1. **faza I:** promjena supstrata (nepromijenjeni lijek, u obliku u kojem je unesen u organizam) u polarnije, hidofilnije molekule, procesima oksidacije, redukcije ili hidrolize (5).

Od tih su reakcija najzastupljenije reakcije oksidacije, katalizirane tzv. oksidazama miješane funkcije (CYP). One su skupina membranskih mikrosomalnih enzima, po strukturi hemoproteini, koji su članovi citokrom P450 superobitelji. U ljudskom genomu nađeno je otprilike 60 gena koji kodiraju za CYP proteine. Ti proteini podijeljeni su u obitelji (npr. CYP2) i podobitelji (npr. CYP2E1). Većina ih je smještena na citoplazmatskoj strani glatkog endoplazmatskog retikuluma (mikrosomalni tip) ili mitohondrija (mitohondrijski tip). Mikrosomalni tip enzima katalizira reakcije I faze (5). Za hepatski metabolizam egzogenih tvari, lijekova i toksina, najvažniji su: CYP1, CYP2 i CYP3, manje CYP4. Ostale obitelji CYP enzima metaboliziraju endogene spojeve i nisu inducirane egzogeno unesenim tvarima.

Za metabolizam lijekova najvažniji enzim je CYP3A4, na kojeg otpada oko 60% svih jetrenih citokroma, a katalizira reakcije oksidacije više od 50% najčešće korištenih lijekova (5).

Najviše CYP enzima nalazi se u acinarnoj zoni 3, što je važno u nastanku oštećenja jetrenog tkiva pojedinim agensima koji su supstrati enzimima koji se nalaze u pojedinim zonama. Zona u kojoj se nalaze potrebni enzimi bit će najjače oštećena. Primjer za to je hepatotoksičnost uzrokovana paracetamolom, kojeg u toksični metabolit, N-acetilbenzoiminokinon (NAPQI), koji veoma lako ulazi u reakcije s nukleofilnim skupinama staničnih proteina, time oštećujući hepatocite (10), pretvara CYP2E1, koji se nalazi dominantno u zonama 1 i 2, stoga će one biti oštećene znatno više nego zona 3 (1).

U tipičnoj reakciji, po molekuli supstrata utroši se jedna molekula kisika. Jedan atom se pojavljuje u produktu reakcije, a drugi se veže u vodu (10). Tijekom tih procesa mogu nastati kemijski izrazito reaktivni intermedijarni spojevi, uključujući slobodne radikale, toksične elektrofilne spojeve (epoksidi, iminokinini) i ROS (*engl.* reactive oxygen species) (5). Produkti faze I mogu biti izlučeni u nastalom obliku ili biti usmjereni u fazu II.

CYP enzimi su inducibilni, što znači da njihova koncentracija, tj. aktivnost nije konstantna, već se mijenja u ovisnosti o izloženosti supstratima čije reakcije kataliziraju. Primjeri takvih tvari, induktora i inhibitora CYP3A4, prikazani su u Tablici 1.

Tvari koje mijenjaju aktivnost tih enzima mogu povećati toksičnost lijeka (smanjujući transformaciju u slabije toksične/netoksične metabolite ili povećavajući brzinu transformacije u toksične metabolite) ili smanjiti terapijski učinak (povećavajući brzinu konverzije lijeka, tj. pretvorbe iz aktivnog oblika u neaktivni ili slabije aktivni metabolit) (5).

Kao što je već navedeno, mnogi lijekovi imaju i alternativne puteve metaboličke pretvorbe. Kada su i osnovni i alternativni putevi zasićeni supstratom, dolazi do njegovog nakupljanja, što može rezultirati hepatotoksičnim učinkom. Smatra se da je to jedan od razloga toksičnosti paracetamola u visokim, supratherapijskim dozama.

Zaključno, valja još napomenuti kako se ekspresija CYP-ova ne mijenja samo pod utjecajem okolišnih čimbenika u smislu količine supstrata, već i pod utjecajem nutritivnog statusa i jetrenih bolesti, o čemu će biti riječi kasnije. Također, ekspresija pojedinih enzima se mijenja tijekom života, tako da je cijeli sustav biotransformacije nezreo u

novorođenčadi te se razvija kroz ranu dječju dob, a u starijoj životnoj dobi ekspresija i aktivnost enzima ponovno se smanjuju, iako samo za otprilike 10%.

2. **faza II:** u ovu fazu može ući izvorni lijek (rijetko) ili njegov metabolit nastao u fazi I [(10), (5)]. Reakcije ove faze su konjugacijske reakcije, u kojima se supstrat esterskim vezama (1) povezuje s izrazito polarnim ligandima, poput glukuronata, sulfata, acetata, glicina, glutationa ili metilne skupine. U pravilu, nakon takve kemijske reakcije, nastali metabolit (konjugat lijeka) je topljiv u vodi, netoksičan i metabolički slabije aktivan te spreman za ekskreciju (kao što je slučaj s npr. paracetamolom, furosemidom i endogenim tvarima, primjerice bilirubinom) (5). Postoje i iznimke pa tako glukuronidacija morfija vodi stvaranju potentnijeg metabolita, sulfatacija minoksidila je osnova za njegov antihipertenzivni učinak (5), dok vezanje glutationa na tetraciklinske antibiotike može rezultirati razvojem tetraciklinima inducirane masne jetre (1).

Enzimi katalizatori ovih reakcija nazivaju se transferazama i nalaze se u citoplazmi hepatocita. Najvažnije od njih su uridin 5'-difosfat (UDP)-glukuronozil transferaza (UGT1 i UGT2), sulfotransferaze (SULT), glutation S-transferaze (GST) i N-acetiltransferaze (NAT) [(10), (5)].

Tablica 1.: Inhibitori i induktori CYP3A4 (5)

| Inhibitori i induktori citokroma P450 (CYP3A4) | | | |
|---|---------------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| Jaki inhibitori | Umjereno jaki inhibitori | Snažni induktori | Umjereno jako induktori |
| Atazanavir | Amiodaron * | Karbamazepin | Beksaroten |
| Boceprevir | Aprepitant | Enzalutamid | Bosentan |
| Ceritinib | Cimetidin * | Fosfenitoin | Dabrafenib |
| Klaritromicin | Konivaptan | Lumacaftor | Deksametazon * |
| Kobicistat i | Krizotinib | Mitotan | Efavirenz |

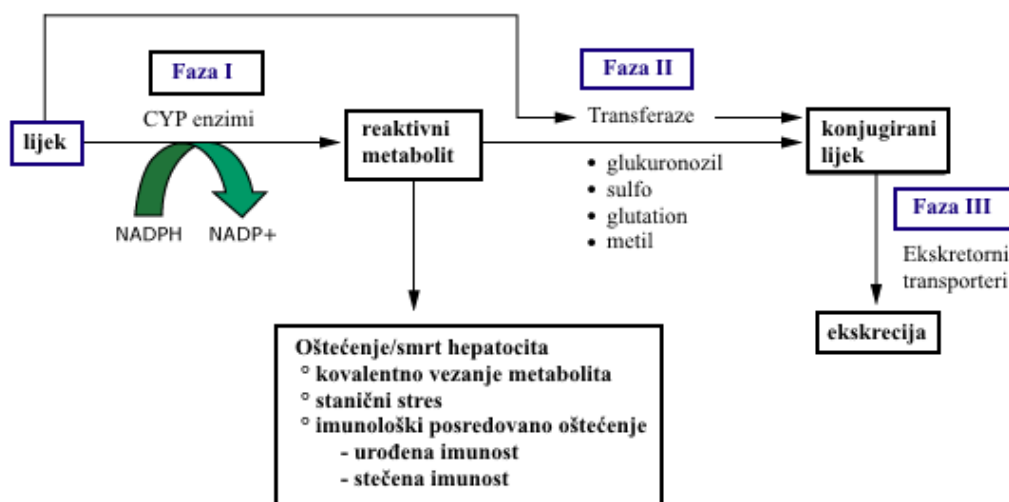
koformulacije koje ga sadrže

| | | | |
|---|-----------------|--------------|----------------|
| Darunavir | Ciklosporin * | Fenobarbital | Eslikarbazepin |
| Idelalisib | Diltiazem | Fenitoin | Etravirin |
| Indinavir | Dronedaron | Primidon | Modafinil |
| Itrakonazol | Eritromicin | Rifabutin | Nafcilin |
| Ketokonazol | Flukonazol | Rifampicin | Gospina trava |
| Lopinavir | Fosamprenavir | Rifapentin | |
| Nefazodon | Fosaprepitant * | | |
| Nelfinavir | Sok grejpa | | |
| Ombitasvir – Paritaprevir- Ritonavir + Dasabuvir | Imatinib | | |
| Posakonazol | Izavukonazol | | |
| Ritonavir i koformulacije koje ga sadrže | Mifepriston | | |
| Sakvinavir | Netupitant | | |
| Telaprevir | Nilotinib | | |
| Telitromicin | Tibolon | | |
| Vorikonazol | Verapamil | | |

*slab utjecaj na CYP3A4

Faze I i II prikazuje Slika 2.

Uloga jetre u metabolizmu lijekova



UpToDate®

Slika 2.: Uloga jetre u metabolizmu lijekova (5)

3. **faza III:** ovo je faza ekskrecije završnih metabolita iz hepatocita u žučne vodove ili u krv u sinusoidalnim kapilarama. Ekskreciju vrše transporteri koji su članovi ABC superobitelji transmembranskih proteina (*engl.* ATP-binding cassette): MDR1/ABCB1 (*engl.* multidrug resistance protein 1) - osobito aktivan na apikalnoj (kanalikularnoj) membrani hepatocita u izlučivanju antitumorskih lijekova u žuč; MDR3/ABCB4; MRP2/ABCC2 (*engl.* multidrug resistance-associated protein 2) - izlučuje metabolite endogenih tvari i ksenobiotika u žuč; MRP3 - izlučuje konjugate u sinusoidalnu cirkulaciju; BSEP (*engl.* bile salt export pump) [(1), (5)].

Promjena u ekspresiji i/ili aktivnosti tih enzima (kao posljedica kovalentnog vezanja, kompeticije među supstratima, oštećenja reaktivnim metabolitima, promjenama u sastavu lipidnih membrana u koje su ugrađeni) može uzrokovati hepatotoksičnost putem kolestaze i akumulacije lijekova.

Mnogobrojne promjene u aktivnosti tih enzima esencijalnih za biotransformaciju lijekova, nastale putem raznovrsnih mehanizama, mogu biti povezane s razvojem DILI-ja.

5 VAŽNOST LIJEKOVA KAO UZROČNIKA BOLESTI JETRE

DILI je potencijalno fatalan neželjeni učinak lijekova. Ako se uzme u obzir predoziranje paracetamolom, vodeći je uzrok akutnog zatajenja jetre i potrebe za urgentnom transplantacijom [(1), (3)] u SAD-u (4).

U pretkliničkim studijama, oko 50% potencijalnih lijekova u supraterepijskim dozama ostvaruje neželjene učinke na jetri te stoga budu isključeni iz daljnjih istraživanja (4).

5.1 SVOJSTVA LIJEKOVA UZROČNIKA DILI-JA

Svojstva lijekova koja doprinose njihovom svojstvu da oštećuju hepatocite su:

1. prelazak doze praga
2. fizikalno-kemijske karakteristike poput lipofilnosti – veća lipofilnost tvari, posebno u kombinaciji s višom dozom potrebnom za postizanje farmakološkog učinka, nosi povećani rizik za teški DILI
3. stvaranje reaktivnih metabolita – češće oštećuju jetru nego nepromijenjeni lijekovi, ali ne postoji jasna i jednostavna korelacija između potencijala lijeka za stvaranje reaktivnih metabolita i vjerojatnosti da će uzrokovati DILI
4. indukcija oksidacijskog stresa – lijekovi koji dovode stanicu u stanje velikog oksidacijskog stresa češće uzrokuju DILI, oštećenjem DNA, lipida, proteina
5. ugrožavanje funkcije mitohondrija – oštećenje metaboličkih puteva ili strukturnih dijelova mitohondrija može uzrokovati nekrozu stanice ili aktivaciju apoptoze
6. inhibicija hepatocitnih transportnih proteina – što dovodi do akumulacije štetnih supstrata tih enzima, primjerice u slučaju BSEP-a do nakupljanja žučnih kiselina, koje mogu povećati oksidativni stres i/ili potaknuti apoptozu (4).

5.2 KOJI ČIMBENICI ORGANIZMA UTJEČU NA RIZIK RAZVOJA DILI-JA?

S rizikom razvoja DILI-ja povezani su čimbenici koji se odnose na:

1. farmakokinetiku – na koju utječu dob, spol, genetska varijabilnost
2. toksikološki odgovor – lijekovi oštećuju stanice raznim mehanizmima: kovalentnim vezanjem za stanične proteine, povećanjem oksidativnog stresa, oštećenjem organela

(mitohondrija, endoplazmatskog retikuluma) ili DNA, epigenetskim modifikacijama, inhibicijom ekskrecije žučnih kiselina itd. Čimbenici organizma uvjetuju različit odgovor na takva oštećenja i time mijenjaju opseg nastale štete (npr. genetski polimorfizmi koji uvjetuju različitu aktivnost određenih staničnih enzima, npr. GST-a, superoksid dismutaze i drugih enzima koji sudjeluju u odgovoru na oksidativni stres).

3. imunološki i upalni odgovor – različit je uslijed polimorfizama HLA gena, mijenja se pod utjecajem dobi i spolnih hormona (primjerice žene koje razvijaju DILI imaju veći rizik nego muškarci za razvoj akutnog zatajenja jetre), djelovanjem drugih lijekova i ostalih tvari (npr. alkohola) koje pacijent istovremeno uzima, različitom funkcijom crijeva (zdrava crijeva nasuprot onima zahvaćenim upalnom crijevnom bolešću, celijakijom – promijenjena je apsorpcija tvari iz probavnog sustava) i drugim bolestima.
4. neravnoteža između oštećenja tkiva i reparatornih procesa (4)

5.3 VAŽNOST INTERAKCIJA LIJEKOVA I ORGANIZMA

Svojstva lijekova i organizma su brojna te ulaze u interakcije na različitim razinama, mijenjajući, u različitim kombinacijama, podložnost DILI-ju, kliničku sliku i ishod. Primjerice, lijekovi koji oštećuju mitohondrije češće uzrokuju DILI u pedijatrijskoj populaciji, a oni koji uzrokuju kolestazu u starijoj populaciji. Tu vidimo razliku u interakcijama određenih lijekova i ljudskog organizma koji se mijenja s dobi. Slične se razlike vide s obzirom na spol (4).

6 KLASIFIKACIJA DILI-JA

Različiti načini podjele DILI-ja prikazani su u Tablici 2 (6).

Tablica 2: Klasifikacija DILI-ja (6)

| NAČIN KLASIFIKACIJE | PRIMJERI OŠTEĆENJA |
|-------------------------|--------------------|
| Kliničko-laboratorijski | Hepatocelularno |
| | Kolestatsko |
| | Miješano |

| Prema mehanizmu hepatotoksičnosti | Izravno |
|--|---|
| | Idiosinkratsko - imunološki posredovano - metaboličko |
| Prema histološkom nalazu | Stanična nekroza ili apoptoza |
| | Kolestaza |
| | Steatoza |
| | Fibroza |
| | Fosfolipidoza |
| | Granulomatoza |
| | Sindrom sinusoidalne opstrukcije |

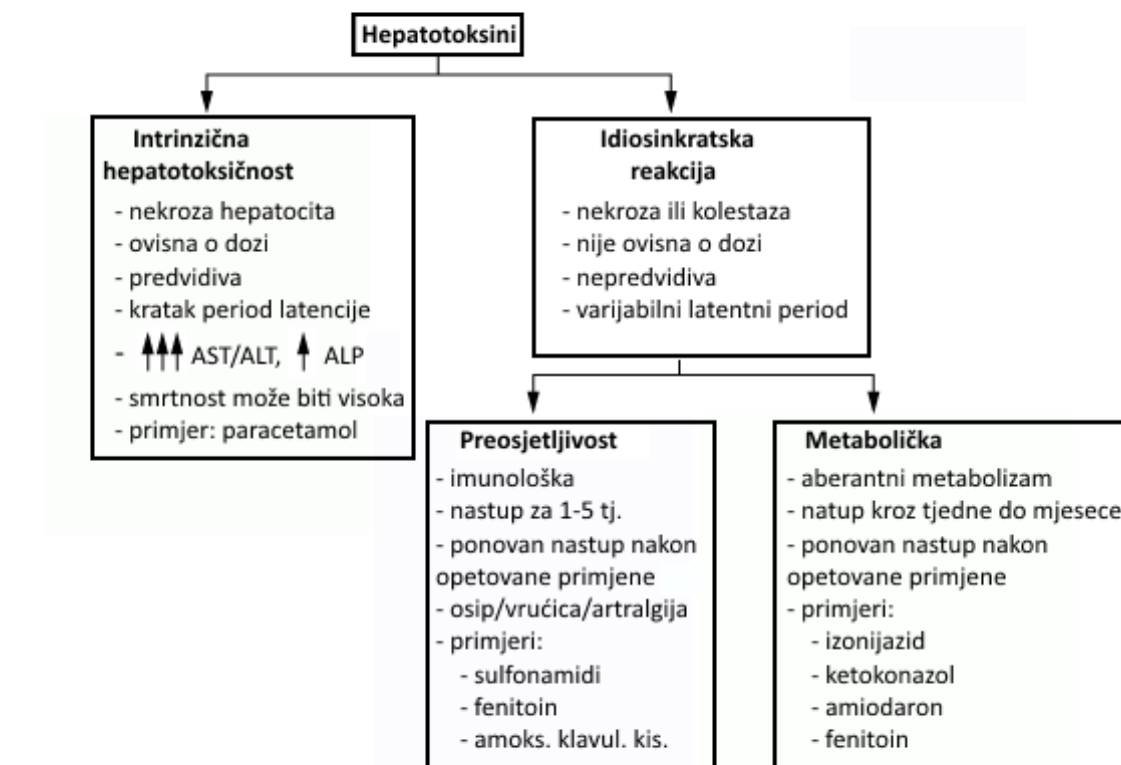
6.1 PREMA MEHANIZAMU NASTANKA I PATOGENEZI

Lijekovi mogu jetru oštetiti djelujući na dva osnovna načina:

1. izravno (direktno, intrinzično), tj. ovisno o dozi i stoga predvidljivo
2. neizravno (indirektno, idiosinkratski), tj. neovisno o dozi i nepredvidljivo

Navedeni mehanizmi prikazani su na Slici 3.

Mehanizmi nastanka DILI-ja



UpToDate®

Slika 3: Patofiziološki mehanizmi kojima lijekovi mogu uzrokovati oštećenje jetre (5)

U slučajevima izravnog, intrinzičnog oštećenja jetre (*engl.* dose-dependent) ključnu ulogu ima toksičnost lijeka, dok u slučajevima idiosinkrazije ključnu ulogu imaju čimbenici samog čovjekova organizma (4).

Većina toksičnih učinaka lijekova na jetru rezultira apoptozom ili nekrozom stanica, međutim neki lijekovi oštećuju prvenstveno hepatocite, neki žučne vodove, neki endotel krvnih žila, a neki uzrokuju miješana oštećenja (5).

6.1.1 OŠTEĆENJE OVISNO O DOZI

Takvo oštećenje može uzrokovati lijek u svom izvornom obliku ili njegov metabolit. Primjer lijeka koji može uzrokovati ovakav tip oštećenja je paracetamol (acetaminofen). Ovaj tip oštećenja povezan je s razvojem nekroze i minimalnom upalnom reakcijom (2).

Latentni period između izlaganja lijeku i nastanka njegovog hepatotoksičnog učinka je kratak (nekoliko sati do dana), a toksični učinak ima iste karakteristike kod različitih pacijenata te je

reproducibilan na životinjskim modelima (na sisavcima). Koncentracije aminotransferaza povećane su za 8-500 puta, dok je ALP-a manje povišen. U slučajevima teških oštećenja, smrtnost je velika. Osim jetre, oštećeni mogu biti i drugi organi, npr. bubrezi. Pojednostavljeno, mehanizam toksičnosti na razini stanice uključuje reakciju lijeka ili njegovog metabolita sa staničnim strukturama (DNA, proteini, lipidi...) te se pokreće niz reakcija koje rezultiraju smrću stanice. Osim takvog izravnog toksičnog učinka lijeka ili metabolita, uzrok oštećenja mogu biti i slobodni radikali koji nastaju prilikom biotransformacije lijeka.

Neki od intrinzično hepatotoksičnih lijekova u širokoj su uporabi zato što su toksični samo u jako visokim dozama (paracetamol) ili je odnos doza-toksični učinak dobro poznat (intravenski primijenjeni tetraciklini) (5).

6.1.2 OŠTEĆENJE NEOVISNO O DOZI

Ovakva vrsta djelovanja lijeka naziva se idiosinkratskom hepatotoksičnošću i daleko je češći uzrok DILI-ja od izravnog oštećenja, ako ne uzimamo u obzir predoziranje paracetamolom. Ovakva rijetka reakcija pojavljuje se u 0.01-1% osoba koje uzimaju lijek. Glavne karakteristike ovakvog tipa oštećenja su njegova nepredvidivost i česta pojava specifičnosti za vrstu pa se ne mogu reproducirati na laboratorijskim životinjama. Mnogobrojni lijekovi uzrokuju DILI ovim mehanizmom (abakavir, nitrofurantoin, fenitoin, amoksisilin klavulanska kiselina, dihidralazin, sulfonamidi, minociklin, halotan, dapson, diklofenak, karbamazepin, sulindak). Biopsija otkriva eozinofilnu ili granulomatoznu upalu jetrenog tkiva, s nekrotičnim hepatocitima i kolestazom (5).

Latentni period je varijabilan. Uglavnom iznosi mjesec dana do tri mjeseca. Katkada reakcija pokazuje djelomičnu ovisnost o dozi pa postoji doza praga: lijekovi koji se primjenjuju u dozama većim od 50 mg na dan češće će uzrokovati teški DILI, od lijekova koji se primjenjuju u dozama nižim od 10 mg/dan (5).

U ovom mehanizmu nastanka oštećenja jetre na tip ozlijede, tj. na patofiziološki mehanizam jako važan utjecaj ima odgovor pojedinačnog organizma na prisutnost lijeka. Češće je riječ o toksičnom djelovanju metabolita, nego izvornog lijeka (5).

Mehanizam oštećenja može biti alergijska reakcija (reakcija preosjetljivosti) u čijoj je podlozi imunološki patofiziološki mehanizam ili lijek može djelovati mijenjajući metaboličku aktivnost hepatocita (metabolički mehanizam oštećenja, nealergijski) (4). Idiosinkratski tip

oštećenja jetre uglavnom se povezuje s postojanjem upalne reakcije (3). Ovi mehanizmi oštećenja prikazani su na Slici 4 (4).

U nealergijskom tipu reakcije vjerojatno je riječ o genetski uvjetovanom aberantnom obliku metabolizma inkriminiranog lijeka. Lijek ili metabolit veže se na važne stanične elemente, lipide, proteine i DNA, ometajući njihovu funkciju posljedično uzrokujući smrt stanice. Pritom stanica (hepatocit) bude izložena velikom oksidativnom stresu, koji vodi do lipidne peroksidacije, koje rezultira nekrozom. Izravno mogu biti oštećeni i funkcija mitohondrija, stanična signalizacija, citoskelet i dr. Osim toga, svojim vezanjem na njih, lijekovi mogu mijenjati i aktivnost transportnih proteina, koji izbacuju metabolite iz hepatocita (5).

Trajanje izloženosti prije razvoja toksičnosti može varirati od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci, a reakcija se može razviti i nekoliko tjedana nakon prekida uzimanja lijeka. Ako se lijek počne ponovno uzimati, bolest će se opet razviti, kroz više dana do tjedana (5).

Patofiziološki mehanizam i kod ovog tipa oštećenja može uključivati aktivaciju imunološkog sustava, jer u reakciji metabolita i molekula u hepatocitu nastaju neoantigeni, koji mogu aktivirati imunološki sustav (5).

O alergijskom tipu DILI-ja imamo najmanje spoznaja. Uloga imunološkog sustava je još uvijek nedovoljno objašnjena. Pacijenti mogu imati klasične znakove preosjetljivosti: osip, vrućicu, artralgiiju i artritis, limfadenopatiju, eozinofiliju, a u teškim slučajevima mogu razviti i Stevens-Johnsonov sindrom. No, svi simptomi mogu biti blagi ili odsutni. Stanje može nalikovati infektivnoj mononukleozi, pa se čak u krvi mogu naći atipični limfociti. Latentni period između početka izloženosti i nastupa simptoma je uobičajeno između jednog i osam tjedana. Ako se lijek ponovno unese u organizam, javlja se promptna toksična reakcija već nakon jedne ili dvije doze. Za ovaj tip reakcije smatra se da je potaknut metabolitima lijeka, a posredovan djelovanjem imunološkog sustava. Vjerojatan slijed događaja uključuje modifikaciju staničnih proteina kovalentnim vezanjem aktivnog metabolita (haptinizacija). Tako se stvaraju kompleksii lijek-protein, koji djeluju kao neoantigeni. MHC II molekule prezentiraju ga stanicama imunološkog sustava, dolazi do aktivacije pomoćničkih T-limfocita, citotoksičnih T-limfocita, NKC-a i limfocita B. Citotoksični T-limfociti pokreću apoptozu stanica. Osim toga, neoantigeni potiču stvaranje autoantijela usmjerenih protiv CYP450, i to protiv onog enzima koji metabolizira inkriminirani lijek. Antitijela se mogu dokazati u serumu, međutim nije poznato sudjeluju li u imunološkom napadu na hepatocite (5).

Osim apoptoze, imunološki sustav uzrokuje i nekrozu jetrenih stanica, i to posredstvom mehanizama urođene imunosti (5).

Sama haptinizacija ipak nije dovoljan stimulans imunološkom sustavu. Teorija koja se naziva hipoteza opasnosti (*engl.* danger hypothesis) objašnjava kako, da bi došlo do pokretanja napada imunološkog sustava na stanice vlastite jetre, mora postojati sekundarni, kostimulacijski čimbenik, obično infekcija (HBV, HCV, HIV) ili upalna stanja. Ti čimbenici dodatno potiču imunološki sustav u osjetljivih pojedinaca (5).

Osim jetre, djelovanjem lijeka koji izaziva idiosinkratsku reakciju mogu biti zahvaćeni i drugi organi, poput kože i koštane srži. Otprilike 25-30% pacijenata koji razviju DILI ima simptome alergijske reakcije, poput osipa, vrućice i eozinofilije (2).

Točna patofiziologija idiosinkrazije još nije poznata te postoji nekoliko teorija kojima ju se pokušava objasniti. Raznolikost teorija, različitost zahvaćenih organa i mehanizama koji su uključeni u nastanak oštećenja, uz postojanje raznovrsnih rizičnih čimbenika, otežava prevenciju i predviđanje idiosinkratski posredovanog DILI-ja (2).

6.2 CIOMS-OVA KATEGORIZACIJA DILI-JA PREMA KLINIČKOJ PREZENTACIJI

U kliničkoj je praksi uobičajena primjena upravo ove kategorizacije DILI-ja. Ako je za potrebe postavljanja dijagnoze ili procjene stupnja oštećenja potrebna biopsija jetre, DILI dalje možemo klasificirati na temelju histopatoloških nalaza (6).

Prema smjernicama koje je izdao CIOMS (*engl.* Council for International Organizations of Medical Science), kod nastanka DILI-ja postoje tri oblika oštećenja hepatobilijarnog sustava: hepatocelularno, kolestatsko i miješano oštećenje. Tipovi oštećenja određuju se ovisno o promjenama koncentracija jetrenih enzima, kao što je prikazano u Tablici 3 (3). Kao osnovni parametar za razlikovanje tipova oštećenja koristi se R vrijednost:

$$R=(ALT/ULN:ALP/ULN)$$

1. **hepatocelularno (citotoksično) oštećenje** je ono kod kojeg postoji izolirani porast koncentracije alanin aminotransferaze (ALT-a) dva puta veći od gornje vrijednosti normale (2), tj. kada postoji disproporcionalno povišenje vrijednosti aminotransferaza u odnosu na alkalnu fosfatazu (ALP), vrijednost bilirubina u serumu može biti povišena, a testovi sintetske funkcije jetre mogu biti u granicama normale (6).

$R \geq 5$ (3)

2. **kolestatsko oštećenje** je ono kod kojeg dolazi do disproporcionalnog povišenja koncentracije ALP-a u odnosu na aminotransferaze, s većim porastom vrijednosti ALP-a, vrijednost bilirubina u serumu može biti povišena, a testovi sintetske funkcije jetre mogu biti u granicama normale (6).

$R \leq 2$ (3)

3. **miješano oštećenje** ima osobine oba prethodno navedena tipa oštećenja; karakterizirano je R vrijednošću 2-5.

$R = 2-5$ (3)

Tablica 3: obrazac povišenja jetrenih enzima kod različitih oblika DILI-ja i primjeri lijekova koji mogu uzrokovati takva oštećenja (3)

| TIP OŠTEĆENJA | Hepatocelularno | Miješano | Kolestatsko |
|---|---|--|--|
| R-vrijednost $[R = \frac{ALT/ULN_{ALT}}{ALP/ULN_{ALP}}]$ | Dominira oštećenje hepatocita ≥ 5 | Hepatocelularno i kolestatsko oštećenje >2 i <5 | Oštećeni žučni vodovi ili postoji utjecaj na odvodnju žuči ≤ 2 |

PRIMJERI LIJEKOVA

| | | | |
|-----------------------|---|--|---|
| Antimikrobni lijekovi | Ciprofloksacin, izonijazid, rifampicin, tetraciklini, ketokonazol | Amoksisilin/klavulanska kiselina, klindamicin, eritromicin, nitrofurantoin, sulfonamidi, kotrimoksazol | Amoksisilin/klavulanska kiselina, eritromicin |
| Analgetici | Paracetamol, aspirin, NSAID-i | | |
| Hormoni | | Anabolički steroidi | Anabolički steroidi, estrogen, oralni kontraceptivi |

| | | | |
|---|---|------------------------|--|
| Lijekovi s utjecajem na kardiovaskularni sustav i metabolizam | Lizinopril, losartan, statini, alopurinol | Enalapril, verapamil | Klopidogrel, irbesartan |
| Neurološki i psihijatrijski lijekovi | Valproična kiselina | Karbamazepin, fenitoin | Klorpromazin, triciklički antidepresivi |

ALT, alanin aminotferaza; ALP, alkalna fosfataza; R, omjer/ratio; ULN, gornja granica normale (*engl.* upper limit normal)

6.3 PREMA PATOHISTOLOŠKOM NALAZU

Patohistološki, mogu se naći znakovi akutnog i kroničnog hepatocelularnog oštećenja, akutne i kronične kolestaze, steatoze i steatohepatitisa, granulomatozne reakcije, znakovi opstrukcije otjecanja krvi kroz jetrene vene, sindrom sinusoidalne opstrukcije, fosfolipidoza i pelioza jetre. Nalazi se razlikuju ovisno o mehanizmu nastanka oštećenja (kolestatsko ili hepatocelularno oštećenje) i često ih je nemoguće razlikovati od promjena nastalih zbog drugih jetrenih bolesti (6).

Iako histološka obilježja nisu specifična za pojedini agens, tip oštećenja nas može usmjeriti prema određenom etiološkom čimbeniku i može pomoći u isključivanju drugih uzroka oštećenja jetre (npr. Wilsonove bolesti ili hemokromatoze) (6).

1. **akutno hepatocelularno oštećenje** – 90% slučajeva DILI-ja rezultira ovim tipom oštećenja jetre. Histološki, nalazimo apoptozu, nekrozu ili steatozu hepatocita te degenerativne promjene. Oštećenje može biti točkastog tipa, zahvaćajući pojedinačne hepatocite ili konfluentno, pri čemu dolazi do oštećenja skupina hepatocita. Također, oštećenje može biti zonalno ili nezonalno. Većina pacijenata se oporavlja bez razvoja značajnije fibroze (6).

Zonalna nekroza karakteristična je za pojedine tvari, javlja se predvidivo, ovisno o dozi te je riječ o mehanizmu intrinzične toksičnosti. Najčešća je centrolobularna nekroza, koja zahvaća zonu 3, dok su izolirana oštećenja zona 1 i 2 rijetka i uglavnom posljedica djelovanja otrova. Oštećene stanice mogu nakupljati trigliceride, a upalna reakcija je slaba

ili odsutna. Primjeri uključuju halotan, ukljikov tetraoksid, paracetamol (zona 3); žuti fosfor i berilij (zona 2); kokain i željezov sulfat (zona 1) (6).

Nezonalna nekroza nalikuje promjenama koje viđamo kod virusnih hepatitisisa. Oštećenje najčešće nastaje idiosinkratskim mehanizmom, a primjeri lijekova koju ju mogu uzrokovati su fenitoin, izonijazid, metildopa i diklofenak.

Postoji i treći, nesprecificirani tip oštećenja, koje uzrokuje primjerice acetilsalicilna kiselina. Takvo je oštećenje tipično revezibilno, no u rijetkim slučajevima može rezultirati zatajenjem jetre (6).

2. **kronično hepatocelularno oštećenje** – nastaje progresijom akutnog i javlja se u 5-10% pacijenata. Patohistološki nalaz sličan je kao u drugim kroničnim jetrenim bolestima (autoimunski i virusni hepatitis, alkoholna jetrena bolest). Lijekovi povezani s nastankom ovog tipa oštećenja su: amoksisilin klavulanat, bentazepam, atorvastatin, metotreksat, hipervitaminoza A te neki otrovi (vinil klorid) i droge (heroin), biljni preparati i dodaci prehrani (6).

Lijekovi koji mogu uzrokovati cirozu su: izonijazid, metotreksat, tikrinafen, amiodaron, enalapril i valproična kiselina (6).

Postoji nekoliko lijekova (klometacin, infliximab i drugi TNF- α inhibitori, metildopa, nitrofurantoin i minociklin) koji uzrokuju kliničku, histološku i serološku sliku autoimunskog hepatitisisa (6).

3. **akutno kolestatsko oštećenje** – postoji u dva oblika: 1) čista kolestaza, praćena je minimalnim ili odsutnim hepatocelularnim oštećenjem ili upalom. Zastoj žuči je najviše naglašen u zoni 3 i u kanalikulima. Ovaj se tip oštećenja nalazi često kod pacijenata koji uzimaju anaboličke steroide ili oralne kontraceptive. Ti ksenobiotici ometaju izlučivanje žuči djelujući na BSEP. Stupanj kolestaze je tipičan za svaki lijek; 2) kolestatski hepatitis, karakteriziran portalnom upalom, naglašenom kolestazom i hepatocelularnom ozlijedom. Može doći do proliferacije žučnih vodova. Inkriminirani lijekovi uključuju eritromicin, amoksisilin klavulansku kiselinu, neke biljne proizvode i ACE-inhibitore (6).
4. **kronično kolestatsko oštećenje** – prema histološkim obilježjima nalikuje bolestima koje uzrokuju kroničnu kolestazu, kao što su primarna bilijarna ciroza, bilijarna opstrukcija i primarni sklerozirajući kolangitis. Patohistološka obilježja uključuju gubitak žučnih vodova i nalaz prstena blijedih periportalnih hepatocita, što je posljedica nakupljanja žučnih kiselina u njima. Neki pacijenti razvijaju sindrom nestajanja žučnih vodova i

duktopeniju, što u rijetkim slučajevima može progredirati u cirozu i zatajenje jetre. Lijekovi povezani s ovakvim tipom oštećenja su amokscilin klavualnska kiselina, flukloksacilin, ACE-inhibitori i terbinafin (6).

5. **steatoza** – može biti mikrovezikularna i makrovezikularna. Kod DILI-ja je tipično riječ o akutnoj, mikrovezikularnoj steatozi, a dominira nakupljanje triglicerida do kojega dolazi uslijed djelovanja lijekova koji ometaju beta-oksidaciju lipida. Ako su vidljive i upalne promjene, riječ je o steatohepatitisu, koji može nastati uslijed izloženosti visokim dozama tetraciklina, valproične kiseline, acetilsalicilne kiseline (Reyev sindrom) i amiodarona (6).

S druge strane, kronična steatoza povezana s DILI-jem je obično makrovezikularna, a ovisno o distribuciji masti unutar hepatocita, razlikuju se dva oblika: steatoza s velikim kapljicama masti (jedna kapljica lipida zauzima barem pola citoplazme) i steatoza s malom do srednjom veličinom kapljica masti (vidljivo je više lipidnih vakuola). Nadalje, makrovezikularna steatoza također može biti neupalna i upalna (steatohepatitis). Kod steatohepatitisa, patohistološki nalaz će objedinjavati varijabilni stupanj steatoze, lobularnu upalu (dominiraju neutrofilni) i hepatocelularno oštećenje (balonirani hepatociti). Mogu se naći i acidofilna tjelešca, Mallory-jev hijalin i pericelularna fibroza. Takve promjene mogu uzrokovati amiodaron, tamoksifen, NSAID-i, metoprolol, metotreksat, glukokortikoidi i preparati za totalnu parentralnu prehranu (6). Neki od lijekova koji uzrokuju steatozu/steatohepatitis, primjerice stavudin i amiodaron, takav učinak postižu mijenjajući funkciju mitohondrija. Također, mitohondrije, tj. staničnu respiraciju oštećuje valproična kiselina, a β -oksidaciju acetilsalicilna kiselina i tamoksifen (4).

6. **granulomatozne promjene** - granulomi su obično smješteni periportalno i u portalnim prostorima. Ne nekrotiziraju i nisu povezani sa žučnim vodovima (6).
7. **opstrukcija jetrenih vena (Budd-Chiarijev sindrom)** – može nastati kao posljedica lijekom inducirane tromboze hepatskih vena ili donje šuplje vene. U parenhimu jetre vidjet će se centizonalna kongestija, nekroza hepatocita i krvarenje. Prisutni mogu biti i veliki regenerativni noduli te opstruktivna portalna venopatija (6).
8. **sindrom jetrene sinusoidalne opstrukcije** – klinički je sličan Budd-Chiarijevom sindromu ili hepatopatiji nastaloj uslijed kongestivnog zatajenja srca, međutim opstrukcija toka venske krvi nalazi se na razini manjih krvnih žila, venula i sinusoida, a ne na razini jetrenih vena i donje šuplje vene. Dolazi do oštećenja i nestajanja sinusoidalnog endotela te razvoja edematoznog zadebljanja subintimalne zone centralnih i sublobularnih venula, a

takvo suženje lumena rezultira povećanjem otpora protoku krvi, kongestijom, dilatacijom sinusoidalnih kapilara te portalnom hipertenzijom. U konačnici dolazi do nekroze hepatocita te, u nekim slučajevima, do razvoja fibroze (6).

9. **fosfolipidoza** – lezija karakterizirana gomilanjem fosfolipida u lizosomima (pjenasti hepatociti). Smatra se da je nakupljanje fosfolipida posljedica stvaranja njihovih kompleksa s inkriminiranim lijekom. Uobičajeno nastaje nakon dužeg perioda izloženosti lijeku. Ovaj tip lezije ima visoku incidenciju prelaska u cirozu (6).
10. **pelioza jetre** (*engl.* peliosis hepatis) – rijedak tip oštećenja jetre karakteriziran razvojem multiplih, malih, proširenih šupljina u jetrenom parenhimu, koje su ispunjene krvlju. Može nastati kao posljedica djelovanja androgena, oralnih kontraceptiva i kemoterapijskih lijekova (6).

6.4 PREMA VREMENU TRAJANJA

Akutni DILI – testovi jetrenih funkcija pokazuju abnormalne vrijednosti u trajanju kraćem od 3 mjeseca.

Kronični DILI – testovi jetrenih funkcija pokazuju abnormalne vrijednosti u trajanju dužem od 3 mjeseca (6).

7 KLINIČKA SLIKA

Simptomi i znakovi su nespecifični. Mogu sličiti brojnim drugim bolestima hepatobilijarnog sustava, od infektivnih i neinfektivnih hepatitisa do autoimunskih bolesti bilijarnog sustava, tromboze, malignih bolesti jetre i bilijarnog trakta, itd. Sama klinička slika vrlo je varijabilna, s vjerojatno najvećim udjelom asimptomatskih pacijenata koji imaju samo prolazno i najčešće previđeno povišenje transaminaza, preko ikterusa koji može ili ne mora biti praćen nespecifičnim simptomima poput mučnine, blage vrućice, osjećaja nelagode u gornjem desnom kvadrantu abdomena, akoličnom stolicom, pruritusom, tamnim urinom i omagalicama (3), pa sve to simptoma i znakova akutnog zatajanja jetre, praćenog visokim letalitetom.

Akutni DILI može se očitovati širokim spektrom kliničkih stanja: blagim asimptomatskim abnormalnostima funkcionalnih jetrenih testova, kolestazom s pruritusom, akutim stanjem praćenim ikterusom koje podsjeća na virusni hepatitis i akutnim zatajenjem jetre.

Kronični DILI očituje se karakteristikama ostalih kroničnih jetrenih bolesti, kao što su autoimunosti hepatitis, primarna bilijarna ciroza, primarni sklerozirajući kolangitis te alkoholna jetrena bolest (6). Iako rijetko, tijekom dugoročnog praćenja pacijenata uočena je mogućnost utjecaja preboljelog DILI-ja na razvoj ciroze jetre [(2), (6)].

Usprkos tome, DILI je često samoograničavajući proces bez kroničnih posljedica. Vrijeme pojave i trajanja DILI-ja u odnosu na vrijeme unosa inkriminirnog lijeka u organizam veoma je varijabilno (2).

Neki učinci (primjerice, povišenje transaminaza ili ALP-a uslijed hepatocelularnog ili oštećenja stanica bilijarnog sustava) mogu nastupiti unutar nekoliko sati ili dana, dok su za razvoj drugih učinaka potrebne godine (maligne bolesti, ciroza).

Također, vrijeme rezolucije oštećenja varira, ovisno o tipu ozlijede – hepatobilijarni se sustav obično brže oporavlja nakon hepatocelularnog, nego nakon kolestatskog oštećenja (2).

8 ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA RIZIK RAZVOJA DILI-JA

Kratki pregled čimbenika koji mogu utjecati na podložnost DILI-ju prikazan je u Tablici 4 (1).

Tablica 4: Čimbenici koji utječu na rizik razvoja oštećenja jetre uzrokovanog lijekovima (1)

| ČIMBENIK | PRIMJERI LIJEKOVA NA KOJE UTJEČE | UČINAK NA RAZVOJ DILI-ja |
|----------|--|--|
| Dob | Izonijazid, nitrofurantoin, halotan, troglitazon | Dob>60 god.: povećana učestalost i težina |
| | Valproična kiselina, salicilati | Učestalije u djece |
| Spol | Halotan, minociklin, nitrofurantoin | Učestalije u žena, posebno uz virusni hepatitis |
| | Amoksicilin klavulanska kiselina, azatioprin | Učestalije u muškaraca |
| Doza | Paracetamol, acetilsalicilna kiselina; neki biljni preparati | Koncentracije u krvi su proporcionalne riziku za |

| | | |
|-----------------------------------|--|--|
| | | razvoj hepatotoksičnosti |
| | Tetraciklini, takrin, oksipenicilini | Idiosinkratska reakcija, ali djelomično ovisna o dozi |
| | Metotreksat, vitamin A | Ukupna doza, frekvencija uzimanja lijeka i trajanje izloženosti povezani s rizikom za razvoj fibroze |
| Genetski čimbenici | Halotan, fenitoin, sulfonamidi | Višestruki slučajevi u obitelji |
| | Amoksicilin klavulanska kiselina | Izražena HLA-povezanost |
| | Valproična kiselina | Obiteljski slučajevi, povezano s deficitom mitohondrijskih enzima |
| Prethodne reakcije na lijekove | Izofluran, halotan, enfluran | Pojava križne preosjetljivosti je zabilježena za svaku od skupina lijekova, ali je rijetka |
| | Eritromicin | |
| | Diklofenak, ibuprofen, tiaprofenična kiselina | |
| | Sulfonamidi, COX-2 inhibitori | |
| Drugi lijekovi | Paracetamol | Izonijazid, zidovudin, fenitoin smanjuju prag za razvoj i povećavaju težinu hepatotoksičnosti |
| | Valproična kiselina | Drugi antiepileptici povećavaju rizik razvoja hepatotoksičnosti |
| | Antitumorski lijekovi | Vaskularna toksičnost |
| Ekscesivna konzumacija | Paracetamol | Manji prag za razvoj i lošiji |

| alkohola | | ishod |
|--------------------------|---|---|
| | Izonijazid, metotreksat | Povećan rizik za DILI i razvoj fibroze |
| Nutritivni status: | | |
| Pretilost | Halotan, troglitazon, tamoksifen, metotreksat | Povećan rizik za DILI i razvoj fibroze |
| Pothranjenost | Paracetamol | Povećan rizik za hepatotoksičnost |
| Podležeća jetrena bolest | Hikanton, pemolin | Povećan rizik za DILI |
| | Antituberkulotici, ibuprofen | Povećan rizik za DILI uz kronični hepatitis B ili C |
| Ostale bolesti i stanja: | | |
| Diabetes mellitus | Metotreksat | Povećan rizik razvoja fibroze |
| Infekcija HIV-om/AIDS | Sulfonamidi | Povećan rizik za razvoj hipersenzitivnosti |
| Zatajenje bubrega | Tetraciklini, metotreksat | Povećan rizik za DILI i razvoj fibroze |
| Transplantacija organa | Azatioprin, tiogvanin, busulfan | Povećan rizik za vaskularnu toksičnost |

Ako se radi o hepatotoksinima ovisnim o dozi, poput paracetamola i metotreksata te o onima koji uzrokuju idiosinkratske reakcije djelomično ovisne o dozi (bromfenak, tetraciklini, dantrolen, oksipenicilin, takrin), najvažniji čimbenici rizika za razvoj DILI-ja su primijenjena doza lijeka, koncentracija lijeka u krvi i trajanje izloženosti. S druge strane, ukoliko se radi o lijekovima koji oštećuju jetru idiosinkratskim mehanizmom, utoliko su za razvoj DILI-ja važna svojstva samog organizma. Najvažnija odrednica je

genetska predispozicija, ali na rizik utječu i drugi konstitucionalni čimbenici. Osim toga, ovdje je također važan utjecaj okolišnih čimbenika.

Genetski čimbenici – važni su za razvoj DILI-ja i intenzivno se istražuju. Krajnji cilj koji se nastoji postići je u potpunosti individualan pristup farmakoterapiji, dakle pronalazak gena odgovornih za različite tipove neželjenih reakcija na određene lijekove te testiranje pacijenata prije izlaganja lijeku, kako bismo im mogli, na temelju dobivenih farmakogenetičkih spoznaja, ne samo spriječiti DILI i druge neželjene reakcije na lijek, već optimizirati terapiju po pitanju vrste lijeka, doze, interakcija lijekova, vremena uzimanja terapije i dužine njezina trajanja, itd. Već danas je u nekim zemljama obvezno farmakogenetičko testiranje pacijenata koji bi trebali započeti terapiju abakavirom na postojanje HLA-B*570, da bi se prevenirale reakcije hipersenzitivnosti (3).

Pouzdana je utvrđena obiteljska predispozicija neželjenim reakcijama na manji broj lijekova, prvenstveno na fenitoin i valproičnu kiselinu. Neke nasljedne mitohondrijske bolesti također predstavljaju rizični čimbenik za hepatotoksičnost uzrokovanu valproatom (1).

Povezanost HLA haplotipova i DILI-ja nije jasna. Prevladava mišljenje kako ne postoje određeni HLA haplotipovi koji povećavaju ukupni rizik za DILI, međutim kako prisutnost određenih alelnih varijanti utječe na tip oštećenja koje nastaje (1). Ipak, utvrđene su neke povezanosti između određenih HLA haplotipova i razvoja DILI-ja nakon konzumacije pojedinih lijekova. Primjerice, u nosioca HLA-DR i HLA-DQ genotipa ustanovljena je povezanost DILI-ja s lumirakoksibom, selektivnim COX-2 inhibitorom, koji je povučen s tržišta zbog hepatotoksičnosti (3).

Najvažniji su polimorfizmi u genima koji kodiraju enzime koji sudjeluju u biotransformaciji lijekova. Smatralo se kako su polimorfizmi CYP-ova važan čimbenik podložnosti DILI-ju, te su provedene brojne studije kako bi se utvrdilo postoji li povezanost između određenih genetskih varijanti CYP enzima i razvoja DILI-ja, međutim, povezanost u većini slučajeva nije nađena. Od CYP gena, povezanost s DILI-jem je pouzdano nađena samo za CYP2D6, čiji gen ima alelne varijante koje kodiraju enzime s različitim stupnjem aktivnosti te su neke od njih povezane s razvojem hepatotoksičnosti nakon primjene nekih lijekova, primjerice antidepresiva i biljnih preparata (2).

Za razliku od toga, jasno je dokazana povezanost polimorfizama gena koji kodiraju enzime koji sudjeluju u reakcijama II i III faze biotransformacije lijekova i sklonosti razvoju DILI-ja.

Primjerice, UGT je enzim koji ima mnogo izoformi, a koje u ljudi kodira 19 različitih gena. Mutacija u genu koji kodira za izoformu UGT1A1, enzim koji sudjeluje u metabolizmu bilirubina, uzrokuje Gilbertov sindrom. Osobe s mutacijom u tom genu također imaju povećanu sklonost razvoju hepatotoksičnosti prilikom izloženosti lijekovima koji su supstrati tog enzima, kao npr. irinotekan, estradiol i buprenorfin, te lijekovima koji inhibiraju taj enzim, npr. indinavir i ketokonazol. Još je jedna polimorfna izoforma UGT-a, UGTB7, povezana s DILI-je, i to induciranim diklofenakom.

Predispoziciju za DILI predstavljaju i mutacije GST gena, GSTM1 i GSTT1 (2).

Mnoge su studije usmjerene na istraživanje SNP-ova (*engl.* Single Nucleotide Polymorphisms) unutar gena koji kodiraju za transportne proteine, koji provode tzv. reakcije faze III. Tako su mutacije gena za određene ABC transportere povezane s DILI-jem. U pacijenata s mutacijom u ABCB4 genu opisan je hepatocelularni DILI nakon izloženosti amoksicilin klavulanskoj kiselini i kolestatski nakon izloženosti risperidonu. Miješani tip DILI-ja je u jednom korejskom istraživanju povezan je s mutacijom ABCC2, a mutacija ABCB11 povezana je i s hepatocelularnim i s kolestatskim oštećenjem jetre (2).

Još je jedan transporter povezan s DILI-jem. To je SLC transporter, OATP1B1, čija je funkcija unos lijekova u hepatocyte. Ustanovljeno je da je prisutnost nekih SNP-ova u OATP1B1 genu povezana s razvojem hepatotoksičnosti nakon unosa troglitazona, metotreksata, rifampina, statina i bosentana (2). Genetske varijante u OCT1 genu utječu na unutarstanične koncentracija metformina (11).

Osim gena uključenih u metaboliziranje lijekova, moguće je da DILI-ju predisponiraju i alelne varijante gena uključenih u regulaciju obrane organizma od oksidativnog stresa. Tako mutacija gena za MnSOD (*engl.* Mangan-Superoksid Dismutase) povećava podložnost miješanom i kolestatskom DILI-ju, posebno kod primjene antituberkulotika (2).

Dob – DILI je učestaliji u odraslih, nego u djece, uz iznimku oštećenja jetre uzrokovanog valproatom i Reyevog sindroma, uzrokovanog salicilatima. U starijih od 40 godina povećana je hepatotoksičnost izonijazida, halotana, diklofenaka, etretinata, nitrofurantoina i troglitazona, a razlozi su povećana izloženost lijekovima, istovremena primjena više lijekova i promijenjena raspodjela lijekova u organizmu. Također, klinička slika je teža, nego u mlađih osoba, pa su češće reakcije na halotan i izonijazid s fatalnim posljedicama (2).

Spol – žene su sklonije razvoju lijekovima induciranog hepatitisa, primjerice prilikom izloženosti halotanu, nitrofurantoinu, sulfonamidima, flukloksacilinu, minociklinu i troglitazonu. Muškarci su skloniji razvoju kolestatskog oštećenja uslijed izloženosti kombinaciji amoksicilina i klavulanske kiseline. Jetrena bolest uzrokovana azatioprinom češća je u muških primatelja transplantiranog bubrega. (2).

Istovremena primjena više lijekova, njihove interakcije i metabolizam u jetri – općenito, rizik za razvoj idiosinkratskog DILI-ja se povećava s rastom doze, posebno ako je dnevna doza veća od 50 mg te posebno ako se lijek opsežno metabolizira u jetri. Ako je udio jetrenog metabolizma u farmakokinetici lijeka veći od 50%, rizik od DILI-ja je veći, nego ako je manji od 50% (2).

Pacijenti koji istovremeno uzimaju više lijekova imaju veći rizik za razvoj oštećenja jetre, od onih koji uzimaju samo jedan. Mehanizam u podlozi tog učinka uključuje promjenu aktivnosti CYP-ova i povećano stvaranje toksičnih metabolita nekog od lijekova ili npr. kompeticiju za transportere i posljedično povećanje koncentracije nekog od lijekova u krvi (1).

Prethodne reakcije na lijekove – općenito povećava rizik za DILI uzrokovano istim ili drugim lijekom, no stvarna incidencija križne preosjetljivosti je vrlo mala, a primjeri su haloalkanski anestetici, eritromicin, fenotijazin i triciklički antidepresivi; izonijazid i pirazinamid; sulfonamidi i drugi ksenobiotici koji sadrže sumpor i neki NSAID-i. Prethodno oštećenje jetre lijekom povećava rizik za razvoj teže kliničke slike tijekom iduće izloženosti (1).

Ekscesivna konzumacija alkohola – smanjuje dozu praga i povećava težinu kliničke slike prilikom DILI-ja uzrokovanog paracetamolom te povećava rizik i težinu izonijazidom uzrokovanog hepatitisa, hepatotoksičnost niacina i metotreksatom izazvane fibroze (1).

Nutritivni status – pretilost povećava rizik za razvoj halotanskog hepatitisa i za razvoj NASH-a i fibroze jetre kod izloženosti metotreksatu i tamoksifenu. Gladovanje povećava rizik oštećivanja jetre paracetamolom (1).

Podležeća jetrena bolest – mijenja funkciju jetre i ekspresiju nekih proteina važnih za metabolizam lijekova, te može utjecati na farmakokinetiku lijeka. To ne vrijedi općenito, tj. otprije postojeće jetrena bolest, poput ciroze ili kolestaze (1) ne povećava ukupni rizik za DILI te se većina lijekova može primjenjivati bez povećane opasnosti. Međutim, ako DILI ipak nastane, u takvih pacijenata posljedice su teže. Bolest za koju je dokazano da povećava rizik za DILI je NAFLD, koja uzrokuje disfunkciju mitohondrija (2). Iznimke su antitumorski lijekovi, npr. metotreksat, zatim niacin, pemolin i hikanton, čija je hepatotoksičnost povećana u slučaju postojanja oboljenja jetre (1).

Povezanost virusnih hepatitisisa i DILI-ja nije dovoljno dobro utvrđena i rezultati mnogih istraživanja su nejasni (3). Čini se da je povećan rizik za razvoj DILI-ja u pacijenata s HCV infekcijom koji uzimaju rifampicin, izonijazid i pirazinamid; HCV povećava rizik za oštećenje jetre paracetamolom. HIV pozitivni pacijenti koji su istovremeno inficirani HBV-om ili HCV-om imaju povećni rizik za razvoj DILI-ja ukoliko u sklopu HAART-a uzimaju inhibitore proteaze.

Druge bolesti i stanja – reumatoidni artritis povećava rizik za hepatotoksičnost uzrokovanu salicilatima, diabetes mellitus, pretilost i kronična bubrežna bolest predisponiraju fibrozi jetre uzrokovanj metotreksatom, a HIV/AIDS nosi povećani rizik za razvoj preosjetljivosti na sulfonamide. Transplantacija bubrega je čimbenik rizika za vaskularnu ozlijedu uzrokovanu azatioprinom, a bolesti bubrega predisponiraju razvoju masne jetre uslijed primjene tetraciklina. Sindrom sinusoidalne opstrukcije je češći nakon transplantacije koštane srži i u osoba s HCV infekcijom (1).

Uloga stečene imunost – smatra se da je uključena u mehanizam idiosikratskog DILI-ja jer se u bioptatima jetre pacijenata nalaze imunološke stanice, a sami pacijenti pokazuju simptome alergijske reakcije. Jedan od pretpostavljenih mehanizama pokretanja imunološke reakcije je vezanje lijeka ili njegovog metabolita na proteine jetre, čime formiraju neoantigen koji imunološki sustav prepoznaje kao stran organizmu i reagira na njega stvaranjem protutijela. Takav je mehanizam dokazan za oštećenje jetre koje uzrokuje diklofenak. Nadalje, u slučajevima DILI-ja uzrokovanog halotanom, dihidralazinom i antikonvulzivima, nađena su autoantijela protiv CYP450 enzima. Drugi mogući mehanizam je tzv. p-I koncept, prema

kojem sam lijek izravno aktivira T-stanice. Takav mehanizam je pretpostavljen za sulfametoksazol (2).

9 DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA

Brojni su mogući uzroci oštećenja jetre. Stoga diferencijalna dijagnoza uključuje cijeli spektar bolesti, a ovisi o obliku poremećaja jetrenih funkcijskih testova i histološkom nalazu, ako se napravi biopsija (6).

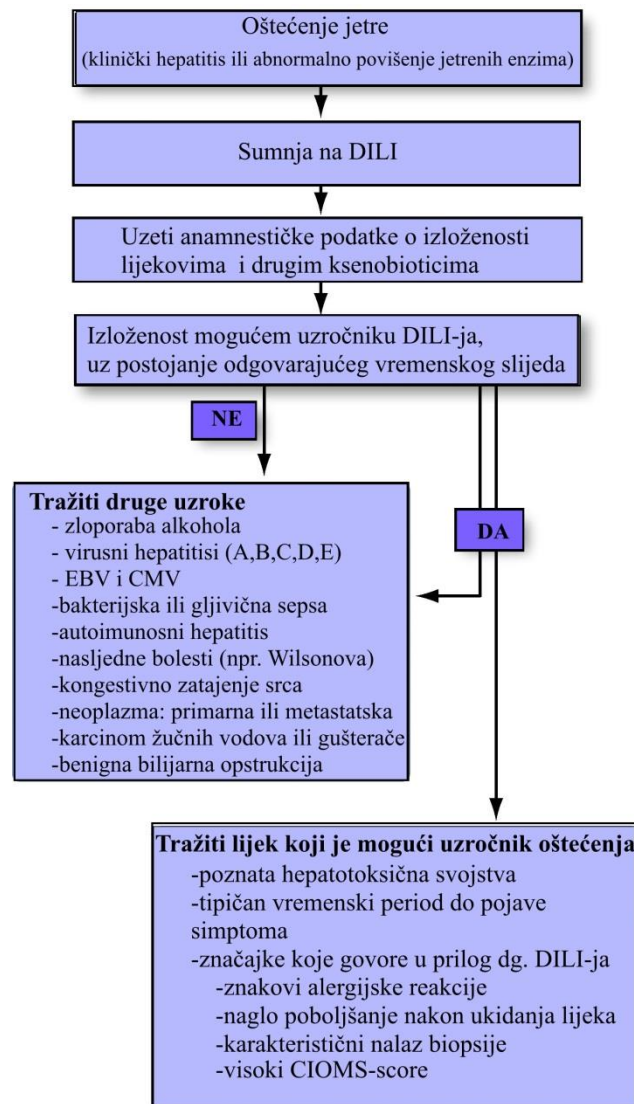
- **Hepatitis** – uzrokovati ga mogu virusne infekcije, alkoholna bolest jetre, nealkoholna masna jetra, autoimunosti hepatitis, Wilsonova bolest itd. (6).
- **Kolestaza** – uzroci mogu biti bilijarna opstrukcija, PBS, PSK, i intrahepatička kolestaza u trudnoći (6).
- **Steatoza** – može nastati uslijed bolesti poput nealkoholne masne jetre, nealkoholnog steatohepatitisa, alkoholne bolesti jetre i akutne masne jetre u trudnoći (6).
- **Granulomatozni hepatitis** – čest je nalaz na bioptatitma (do 15%). Najčešće se viđa uz infekcije, sarkoidozu i primarnu bilijarnu cirozu (6).
- **Pelioza jetre** – uzrokovana je infekcijama, hematološkim poremećajima, malignim bolestima i kao posljedica transplantacije organa (6).

10 KAKO POSTAVITI DIJAGNOZU?

Kao što je već napomenuto, prepoznavanje i postavljanje dijagnoze DILI-ja nerijetko je veliki izazov za liječnike.

Prvi korak u potvrđivanju postojanja uzročne povezanosti između primjene lijeka i razvoja oštećenja jetre u pacijenata s neobjašnjivim porastom koncentracije jetrenih enzima jest utvrđivanje vremenske povezanosti uzimanja lijeka i pojave znakova i simptoma DILI-ja te isključivanje drugih mogućih uzroka hepatocelularnog [virusni hepatitis (HAV, HBV, HCV, HEV, EBV, CMV), ishemijsko oštećenje jetre, autoimunosti hepatitis, Budd-Chiarijev sindrom, Wilsonova bolest] i kolestatskog oštećenja (uzroci intrahepatičke i ekstrahepatičke kolestaze: kolelitijaza, malignomi, primarna bilijarna ciroza, primarni sklerozirajući kolangitis) [(1), (2), (3)].

Algoritam postupaka u slučaju kliničke sumnje na DILI prikazuje Slika 5.



Slika 5: Dijagnostički pristup prilikom sumnje na slučaj oštećenja jetre uzrokovanog lijekom

(12)

Poseban problem predstavlja procjena uzročne povezanosti između konzumacije lijeka i pojave oštećenja jetre. Najpouzdaniji način utvrđivanja povezanosti jest ponovno izlaganje oboljele osobe inkriminiranom lijeku. Naravno, takav pristup je opasan i samim time neprihvatljiv te se ne koristi. Stoga je razvijeno više metoda kojima procjenjujemo vjerojatnost da je bolest jetre uzrokovana upravo toksičnim učinkom lijeka, od kojih još niti jedna nema dovoljnu specifičnost i osjetljivost, te se neprestano traže nove, preciznije metode. Primjeri metoda koje se danas koriste su RUCAM, Maria & Victorino scale te DDW-J (2).

RUCAM (*engl.* Roussel Uclaf Causality Assessment Method) score je najšire upotrebljavana metoda za procjenu uzročne povezanosti uzimanja lijeka i razvoja oštećenja jetre. Osjetljivost metode je 86%, specifičnost 89%, pozitivna prediktivna vrijednost iznosi 93%, a negativna 78%. Riječ je o semikvantitativnoj skali, koja boduje sedam domena: početak i kraj oštećenja nakon početka, tj. prestanka uzimanja lijeka; progresiju i razvoj reakcije; rizične čimbenike; uzimanje drugih lijekova; druge moguće uzroke oštećenja jetre; prethodno poznate informacije o lijeku; odgovor na ponovnu izloženost, ako postoji. Svako domeni se dodjeljuju bodovi, između -3 i 3, a ukupan zbroj može biti između -5 i 14. Zbroj veći od 8 ukazuje na veliku vjerojatnost postojanja uzročne povezanosti, 6-8 znači vjerojatnu povezanost, 3-5 moguću, 1-2 malo vjerojatnu, a zbroj manji od 0 isključuje mogućnost uzročne povezanosti lijeka i razvoja oštećenja jetre (2).

Maria & Victorino (M&V) score, naziva se još i Clinical Diagnostic Scale, razvijen je na temelju RUCAM-a i koristi neke njegove komponente, no pojednostavljen je. Rezultat bodovanja može biti jedna od pet razina povezanosti: 'sigurna', 'vjerojatna', 'moguća', 'malo vjerojatna' i 'isključena'. Ima ograničenja zbog kojih se ne koristi često, prvenstveno činjenicu da se uvjeti za 'sigurnu' razinu povezanosti mogu zadovoljiti samo ako se ponovno primjeni inkriminirani lijek (2).

DDW-J (*engl.* Digestive Disease Week-Japan) je metoda koja je također razvijena na temelju RUCAM-a, ali je točnija od dvije prethodno navedene. Uključuje neke nove, važne kriterije, poput in vitro testa stimulacije limfocita (*engl.* drug lymphocyte stimulation test, DLST) te se zbog potrebe za tom nerutinskom pretragom koristi ponajviše u Japanu (2).

Unatoč naporima uloženima u traženje novih metoda kojima bi se dijagnostika DILI-ja pojednostavila i učinila točnijom, temeljna metoda je još uvijek isključivanje drugih mogućih bolesti jetre.

10.1 JE LI BIOPSIJA VAŽNA?

Uloga biopsije u dijagnostici DILI-ja je sporna, s obzirom na to da pojedinačan lijek ne oštećuje jetru na sebi specifičan način (2), tj. ne ostavlja neku vrstu patohistološkog traga na temelju kojeg bismo ga mogli identificirati, već može oponašati svojstva bilo koje bolesti jetre druge etiologije (2). Neke se patohistološke karakteristike često nalaze u DILI-ju, primjerice obilna infiltracija eozinofilima i neutrofilima, granulomatozni hepatitis i perivenularna nekroza hepatocita, međutim ti nalazi i dalje nisu patognomonični za DILI. Centrolobularna

(perivenularna) nekroza bez prisutnosti upale u portalnim prostorima je relativno karakteristična za DILI, ali može se naći i u akutnim nastupima autoimunskog hepatitisa. Iz navedenih razloga, uloga biopsije u dijagnostici DILI-ja danas je bitno manja, nego u počecima proučavanja tog kliničkog entiteta. Nekada je bila važna barem za potrebe isključivanja nekih histološki više ili manje specifičnih bolesti, poput Wilsonove bolesti i hemokromatoze, ali danas i za njihovo isključivanje imamo naprednije, manje invazivne i općenito sigurnije i preciznije metode (2).

Postoji nekoliko situacija u kojima je biopsija potrebna, primjerice ukoliko sumnjamo u postojanje podležće jetrene bolesti ili autoimunosti hepatitisa, unatoč negativnim serološkim markerima. Još jedna indikacija jest slučaj u kojem sumnjamo da je DILI uzrokovao lijek za koji takva nuspojava još nije zabilježena (2).

Za neke lijekove se zna kakav tip oštećenja jetre uzrokuju pa u tim slučajevima biopsija može pomoći u potvrđivanju dijagnoze. Tako, npr. amiodaron i valproat uzrokuju steatohepatitis, a za oštećenje azatoprinom i 6-tiogvaninom je karakteristično nastajanje nodularne regenerativne hiperplazije. Međutim, ne postoji dovoljno podataka iz istraživanja i kliničke prakse koji bi govorili u prilog izvođenja rutinske biopsije jetre u slučajevima DILI-ja. Uloga biopsije je, stoga, još uvijek velikim dijelom nejasna te se preporuča učiniti ju kada postoji opravdanja sumnja da se radi o oštećenju druge etiologije, a ne o DILI-ju ili ukoliko izostane očekivano poboljšanje kliničkog stanja pacijenta (2).

10.2 NOVI BIOMARKERI

Uz klasične markere hepatobilijarnog oštećenja (AST, ALT, ALP, bilirubin...), u brojnim mehanističkim i pretkliničkim studijama, ali i u velikim kliničkim pokusima, otkrivaju se novi biomarkeri (3) koji će biti od velike pomoći u prevenciji, predviđanju, dijagnosticiranju, liječenju i praćenju učinka terapije u slučajevima DILI-ja. Cilj je dostići razinu individualnog pristupa pacijentima po pitanju propisivanja farmakoterapije te u onih koji su razvili DILI.

Neki od važnijih novih biomarkera koji se istražuju su serumski markeri oštećenja jetre (glutathion S-transferaza (GST) i sorbitol dehidrogenaza (SDH) i markeri disfunkcije hepatocitnih mitohondrija (glutamat dehidrogenaza) (2). Nadalje, nađene su cirkulirajuće serumske mikroRNA (miR-122 i miR-192), koje su potencijalno specifični markeri oštećenja jetrenog tkiva (3). Osim toga, identificirani su i mehanistički biomarkeri u plazmi, poput fragmenata K-18 (keratin-18) i HMGB-1 (*engl.* High-Mobility Group Box Protein 1), koji su

osjetljivi pokazatelji nekroze, no nisu specifični za jetru. Uz K-18 se mogu određivati i M-30, serumski protein koji selektivno prepoznaje neoepitope K-18 nastale djelovanjem kaspaza tijekom procesa apoptoze hepatocita te M-65, čija razina je u korelaciji s ukupnim odumiranjem hepatocita, bilo nekrotičkog ili apoptotičkog (2).

Kako za postavljanje dijagnoze tako i za procjenu prognoze pacijenta važnije su kombinacije i odnosi koncentracija različitih biomarkera, nego pojedinačne vrijednosti nekih od njih (3).

11 TERAPIJSKE OPCIJE

Osim u slučaju otrovanja paracetamolom, za koji postoji antidot za hepatičke učinke lijeka (N-acetilcistein), uzročna terapija DILI-ja ne postoji. Osnovni postupci mogu se sažeti u ukidanje inkriminiranog lijeka iz terapije, pozoran nadzor stanja pacijenta i suportivnu terapiju (3).

S obzirom na široki spektar kliničkih manifestacija DILI-ja, od kojih je puno blagih slučajeva, praćenih samo povišenjem serumskih transaminaza, a bez razvoja ikterusa, koagulopatije ili hepatične encefalopatije, smatra se kako ukidanje lijeka iz terapije nije uvijek nužno. U nekim slučajevima dolazi do spontane regresije oštećenja jetre, uz nastavak uzimanja lijeka. Stoga, odluku o prestanku terapije treba donijeti kritički, nakon razmatranja kliničkog stanja pacijenta i, u sklopu toga, važnosti uzimanja inkriminiranog lijeka za njegovo zdravlje. FDA je predložila smjernice za predviđanje teškog DILI-ja:

- povišenje serumске koncentracije ALT-a više od osam puta u odnosu na gornju granicu normale
- povišenje serumске koncentracije ALT-a više od pet puta u odnosu na gornju granicu normale, u trajanju dužem od 2 tjedna
- povišenje serumске koncentracije ALT-a više od tri puta u odnosu na gornju granicu normale, uz povišenje bilirubina više od dva puta u odnosu na gornju granicu normale te INR > 1.5

U slučaju da su ti kriteriji zadovoljeni preporuča se hitno ukidanje inkriminiranog lijeka iz terapije (2).

Od farmakoterapijskih metoda, u nekim je slučajevima dokazana korist primjene kortikosteroida (npr. DILI u kojem se javljaju znakovi preosjetljivosti, kao onaj uzrokovan

karbamazepinom te lijekovima induciran autoimunosni hepatitis, što može biti učinak nitrofurantiona i minociklina). U ostalim slučajevima teškog DILI-ja, praćenog zatajenjem jetre, primjena kortikosterioda se u nekim studijama pokazala čak i štetnom, pogoršavajući prognozu. S druge strane, jedna je studija pokazala da u pacijenata koji su hospitalizirani zbog DILI-ja primjena kombinacije ursodeoksikolične kiseline (UDCA) i kortikosteroida ubrzava oporavak i poboljšava prognozu, posebno u slučajevima kolestatskog oštećenja (3).

Izmjena plazme je iduća metoda koja se pokazala korisnom u terapiji teških DILI-ja. Primarna korist je uklanjanje toksina koji su se akumulirali u krvi uslijed zatajenja funkcije jetre i nadoknađivanje potrošenih čimbenika koagulacije, koje oštećena jetra ne može sintetizirati. Dakle, korist za pacijente s akutnim zatajenjem jetre je simptomatska: uklanjanje otpadnih produkata metabolizma (urea, amonijak) te poboljšavanje encefalopatije i koagulopatije. Korisno je uklanjanje upalnih citokina i time smanjivanje njihova učinka na imunološki sustav. S obzirom na to da izmjena plazme nosi rizik od prijenosa infekcija i razvoja alergijskih reakcija, traže se nove metode za uklanjanje egzogenih i endogenih toksina koji se nagomilavaju u organizmu u slučajevima zatajenja jetre, pa tako i DILI-ja. Neke od tih metoda su MARS (*engl.* molecular adsorbents recirculatory system) i PFSA (*engl.* fractionated plasma separation and adsorption), međutim u kliničkim se istraživanjima nisu pokazale korisnima u pacijenata s akutnim i kroničnim zatajenjem jetre (2).

Ako dođe do dekompenzacije zatajenja jetre ili razvoja fulminantnog akutnog zatajenja, jedina terapijska opcija je transplantacija jetre.

Pacijente koji razviju akutno zatajenje jetre kao posljedicu neželjenog djelovanja lijeka, treba smjestiti u transplantacijski centar i pružiti im suportivnu terapiju u jedinici za intenzivno liječenje.

12 PROGNOZA

Sveukupno gledajući, prognoza pacijenata koji razviju DILI je dobra i većina ih se u potpunosti oporavi.

Pacijenti s asimptomatskim DILI-jem i oni s blagim kliničkim manifestacijama u pravilu se oporavljaju u potpunosti. Takav ishod se očekuje i za većinu onih koji imaju simptomatski DILI. Uz suportivnu terapiju, većina pacijenata nema nikakvih kliničkih, laboratorijskih, radioloških ili histoloških posljedica bolesti. Prema nekim istraživanjima, 91% pacijenata koji

su razvili žuticu u potpunosti se oporavilo (2). Međutim, oporavak može trajati dugo. U slučajevima simptomatske kolestatske ozljede, nekoliko tjedana do mjeseci može proći, prije potpunog povlačenja ikterusa (6).

Nasuprot tome, oni u kojih je nastao težak DILI praćen akutnim zatajenjem jetre i konkomitantnom koagulopatijom i encefalopatijom, imali su lošiju prognozu. Žene češće od muškaraca razvijaju dekompenzirano zatajenje jetre. Prognoza je bolja u slučaju oštećenja uzrokovanog paracetamolom, a liječenog N-acetilcisteinom, u odnosu na oštećenja uzrokovana drugim lijekovima. Također, prognoza je nešto bolja za pacijente koji imaju eozinofiliju i eozionfilne infiltrate u jetri, u odnosu na one koji ih nemaju (2).

Općenito, prognoza je bolja u slučaju čistog kolestatskog oštećenja, nego u slučaju hepatocelularnog, iako su i u jednom i u drugom tipu zabilježeni smrtni slučajevi (6).

Lošiju prognozu imaju oni pacijenti čije serumske vrijednosti transaminaza i bilirubina podliježu pravilu tzv. Hy-evog zakona (*engl.* Hy's rule, prema Hymanu Zimmermanu (1)). Kod tih se pacijenata nalazi povišenje transaminaza (AST-a ili ALT-a - veće od 3 puta od gornje normalne vrijednosti ili ALP-a - veće od 1.5 puta od gornje normalne vrijednosti) istovremeno s povišenjem serumske koncentracije bilirubina za više od 3 puta u odnosu na gornju normalnu vrijednost. U tom se slučaju treba odmah prekinuti uzimanje lijeka (2). Smrtnost je viša u odnosu na ostale slučajeve DILI-ja, i iznosi oko 14% (6).

Jednom kada pacijent razvije koagulopatiju ili encefalopatiju, prognoza se znatno pogoršava te smrtnost raste na 60-80%, ukoliko se ne učini transplantacija jetre (2).

Pacijenti koji razviju akutnu steatozu (masnu degeneraciju) imaju lošiju prognozu u odnosu na one koji imaju kroničnu steatozu, a mortalitet je viši u odnosu na citotoksičnu ozljedu, unatoč blažim biokemijskim pokazateljima (6).

Kroničnu jetrenu bolest nakon DILI-ja razvija oko 6% pacijenata i češća je kod kolestatskog i miješanog, nego kod hepatocelularnog tipa ozljede (2).

13 ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici doc.dr.sc. Tajani Filipec – Kanižaj na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Također, zahvaljujem članovima povjerenstva prof.dr.sc. Slobodanki Ostojić i prof.dr.sc. Jasenki Markeljević.

Hvala kolegama i prijateljima koji su bili uz mene i učinili mi ovih 6 godina studija medicine prelijepim i nezaboravnim razdobljem života.

Najveće hvala roditeljima, obitelji i svom dečku na razumijevanju, podršci i pomoći tijekom studiranja.

14 LITERATURA

1. Sleisenger, Fordtran. Liver disease caused by drugs. U: Marvin H. Sleisenger, Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, urednici. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. 9th ed. Philadelphia , PA: Saunders/Elsevier; 2010.
2. Khoury T, Rmeileh AA, Yosha L, Benson AA, Daher S, Mizrahix M. Drug Induced Liver Injury: Review with a Focus on Genetic Factors, Tissue Diagnosis, and Treatment Options. *J Clin Transl Hepatol.* 15. lipanj 2015.; 2(2): 99–108.
3. Weiler S, Merz M, Kullak-Ublick GA. Drug-induced liver injury: the dawn of biomarkers? *F1000Prime Rep [Internet].* 03. ožujak 2015. [citirano 12. svibanj 2016.];7. Preuzeto od: <http://f1000.com/prime/reports/m/7/34>
4. Chen M, Suzuki A, Borlak J, Andrade RJ, Lucena MI. Drug-induced liver injury: Interactions between drug properties and host factors. *J Hepatol.* kolovoz 2015.;63(2):503–14.
5. Anne M Larson. Drugs and the liver: Metabolism and mechanisms of injury [Internet]. [citirano 14. svibanj 2016.]. Preuzeto od: <http://www.uptodate.com/contents/drugs-and-the-liver-metabolism-and-mechanisms-of-injury>
6. Anne M Larson. Drug-induced liver injury [Internet]. [citirano 14. svibanj 2016.]. Preuzeto od: <http://www.uptodate.com/contents/drug-induced-liver-injury>
7. Junqueira LC, Carneiro J. Organi pridruženi probavnoj cijevi. U: Osnove histologije. Školska knjiga, Zagreb, 2005.; 2005.
8. PathwayMedicine.org. Hepatic Histology [Internet]. Pathway Medicine. [citirano 18. svibanj 2016.]. Preuzeto od: <http://www.pathwaymedicine.org/hepatic-histology>
9. SlideShare S ne. Histology of normal liver [Internet]. SlideShare. Preuzeto od: [histology-of-normal-liver-17-638](http://www.slideshare.net/Sne/histology-of-normal-liver-17-638)
10. Correia MA. Biotransformacija lijekova. U: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, urednici. Temeljna i klinička farmakologija, jedanaesto izdanje. 11. izd (izvornika). Medicinska naklada, Zagreb, 2011.; 2011.
11. Schlessinger A, Khuri N, Sali A. Molecular modeling and ligand docking for Solute Carrier (SLC) transporters [Internet]. National Center for Biotechnology Information.

[citirano 18. svibanj 2016.]. Preuzeto od:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4056341/>

12. García-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug induced liver injury: Strengths and weaknesses. *J Hepatol.* rujan 2011.;55(3):683–91.

15 ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Lea Lukša

Datum rođenja: 23. ožujka 1991.

Mjesto rođenja: Zagreb, Republika Hrvatska

OBRAZOVANJE

2010.-2016. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

2006.-2010. Gimnazija Bjelovar

1998.-2006. III. osnovna škola Bjelovar

IZVANNASTAVNE AKTIVNOSTI

30.3.-2.4.2016. sudjelovala kao izlagačica ePostera na CROSS12 (12th Croatian Student Summit)

1.8.-10.8.2016. sudjelovala u organizaciji DSS-a (Dubrovnik Summer School), ljetne škole hitne medicine, u organizaciji EMSA-e Zagreb

2014.-2016. članica EMSA-e Zagreb (European Medical Students' Association)

2012./2013. demonstrator na katedri za Histologiju i Embiologiju

2009. položila Cambridge ESOL Level 1 Certificate in ESOL International (B2, FCE)

1998.-2010. pohađala tečaj engleskog jezika

2002.-2005. pohađala tečaj njemačkog jezika

2005.-2009. pohađala tečaj talijanskog jezika

POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE

Strani jezici: aktivno služenje engleskim jezikom