



ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

Јован Јовановић

**" КЛИНИЧКА И ГЕНЕТСКА АНАЛИЗА ХЕПАТОТОКСИЧНОСТИ
УЗРОКОВАНЕ АМЈОДАРОНОМ КОД ХОСПИТАЛИЗОВАНИХ
ПАЦИЈЕНАТА "**

-ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА-

Ментор:

Др Сци. Мед. Драган Миловановић, професор

Крагујевац, 2018

САДРЖАЈ:

САЖЕТАК.....	5
1.0. УВОД.....	6
1.1. АМЈОДАРОН.....	6
1.1.1. Фармакодинамика и фармакогенетика	6
1.1.2. Квалитативни и квантитативни састав	7
1.1.3. Електрофизиолошки ефекти	7
1.1.4. Терапијске индикације	8
1.1.5. Дозирање и начин примене	8
1.1.6. Контраиндикације за примену	10
1.1.7. Нежељена дејства	10
1.1.8. Интеракције са другим лековима	11
1.1.9.	Закључак
.....	11
1.2. DILI.....	12
1.2.1. Анатомија, хистологија и патолошка слика DILI-ја.....	12
1.2.2. Увод у проблем DILI-ја.....	14
1.2.3. Значај проблема DILI.....	15
1.2.4. Фактори ризика за DILI.....	17
1.2.5. Патогенеза DILI-ја.....	19
1.2.6. Клиничка слика DILI-ја.....	20
1.2.7. Скале за процену DILI-ја.....	21
1.2.8. Додатни тестови (нерутински) за дијагнозу DILI-ја.....	24
1.2.9. Инкриминисани лек и лечење DILI-ја.....	25
1.2.10. Превенција и рано препознавање DILI-ја.....	27
1.2.11.	
Закључак.....	28
1.3. АМЈОДАРОН И DILI.....	28
1.3.1. Увод.....	28
1.3.2. Биомаркери.....	29
1.3.3. Патогенеза DILI-ја узрокованог амјодароном.....	30
1.3.4. SOD2.....	31

1.3.5. Клиничка, патоанатомска и лабораторијска презентација DILI-ја узрокованог амјодароном.....	33
1.4. ДОПРИНОС СТУДИЈЕ.....	35
2.0. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	36
2.1. ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ.....	36
2.2. ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	37
3.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД.....	38
3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ.....	38
3.2. СТУДИЈСКА ПОПУЛАЦИЈА.....	38
3.2.1. Узорковање студијске популације.....	39
3.2.1.1. Ретроспективна опсервациона студија.....	39
3.2.1.2. Проспективна контролисана студија.....	39
3.2.2. Критеријуми за укључивање.....	40
3.2.2.1. Општи критеријуми за укључивање у истраживање.....	40
3.2.2.2. Критеријуми за укључивање у групу “случај” опсервационог дизајна.....	40
3.2.2.3 Критеријуми за укључивање у “експерименталну групу” проспективне студије.....	40
3.2.2.4. Критеријуми за укључивање у контролне групе.....	40
3.2.3. Критеријуми за неукључивање у студију.....	41
3.2.4. Критеријуми за искључивање из проспективне, контролне студије.....	41
3.3. ПЛАН СТУДИЈЕ.....	42
3.4. СТУДИЈСКЕ ПРОЦЕДУРЕ.....	42
3.4.1. Узорковање крви, одређивање биомаркера хепатотоксичног оштећења и генетски полиморфизам SOD2.....	42
3.4.2. Анализа каузалности хепатотоксичности лекова.....	43
3.4.3. Класификација и ниво употребе лекова.....	44
3.4.4. Допунска клиничка дијагностика.....	44
3.5. ВАРИЈАБЛЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	44
3.6. ЕТИЧКИ И ОРГАНИЗАЦИОНИ АСПЕКТИ СТУДИЈЕ.....	46
3.7. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА.....	47

3.7.1. Статистичка анализа.....	47
3.7.2. Прорачун величине студијског узорка.....	47
3.8. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА.....	48
4.0. РЕЗУЛТАТИ.....	49
4.1. РЕТРОСПЕКТИВНА СТУДИЈА СЛУЧАЈ-КОНТРОЛА.....	49
4.1.1. Демографске, социо-економске и клиничке карактеристике.....	50
4.1.2. Анализа фактора ризика за појаву хепатотоксичности.....	66
4.2. ПРОСПЕКТИВНА КОНТРОЛИСАНА СТУДИЈА.....	68
4.2.1. Демографске, социо-економске и клиничке карактеристике.....	69
4.2.2. Анализа SOD2 генотипова.....	97
4.2.3. Дијагностичке перформансе теста ОТС-а и жучних киселина.....	99
4.2.3.1. ROC ОТС и хепатоцелуларно оштећење.....	101
4.2.3.2. ROC укупне жучне киселине и холестатско/мешано оштећење.....	101
5.0. ДИСКУСИЈА.....	103
5.1. РЕТРОСПЕКТИВНА СТУДИЈА.....	103
5.2. ПРОСПЕКТИВНА СТУДИЈА.....	107
5.2.1. Генотип SOD2.....	107
5.2.2. ОТС и жучне киселине.....	110
6.0. ЗАКЉУЧАК.....	111
СКРАЋЕНИЦЕ.....	113
7.0. ЛИТЕРАТУРА.....	114

САЖЕТАК

Акутна хепатотоксичност је један од највећих проблема фармаковигиланце. Дијагноза овог нежељеног дејства би требало да се заснива на клиничким критеријумима али и на детекцији специфичних биомаркера хепатоцелуларног и/или холестатског оштећења. Неколико студија је доказало повезаност токсичних ефеката амјодарона и активности супероксид дизмутазе (SOD). Истраживање ће се спровести у два дела. Један ће бити проспективна контролисана студија, дизајнирана према кохорти болесника који имају хепатотоксичност и примају амјодарон и други, који ће обухватити ретроспективно прикупљање података и последичну анализу са два опсервациона дизајна, студије типа „случај-контрола“ (појава хепатотоксичности) и кохортне студије (изложеност фактору ризика-амјодарону). Истраживање ће бити спроведено у Клиници за кардиологију, према етичким принципима научно-истраживачког рада. Ретроспективну популацију ће чинити пацијенти који су лечени у клиници у протеклих десет година. Подаци ће бити прикупљени увидом у историје болести. За проспективну, контролисану студију користитиће се узорци крви болесника који се лече на клиници, одређиваће се биомаркери хепатотоксичног оштећења и генетски полиморфизам SOD2. Током проспективне, контролисане студије користитиће се детаљни подаци неинвазивне клиничке дијагностике која је од значаја за варијабле истраживања. Статистичка анализа прикупљених података ће обухватити прорачун величине узорка и статистичку обраду. Примарне независне варијабле су: присуство Val16Ala полиморфизма (rs4880) SOD2, у проспективној студији и узимање амјодарона, у ретроспективној кохорти. Примарна зависна варијабла је присуство хепатотоксичности. С обзиром да су подаци у доступној литератури за дату популацију оскудни и контроверзни, резултати ће представљати оригинални допринос у области расветљавања механизма и значаја хепатотоксичности удружене са употребом амјодарона код хоспитализованих болесника.

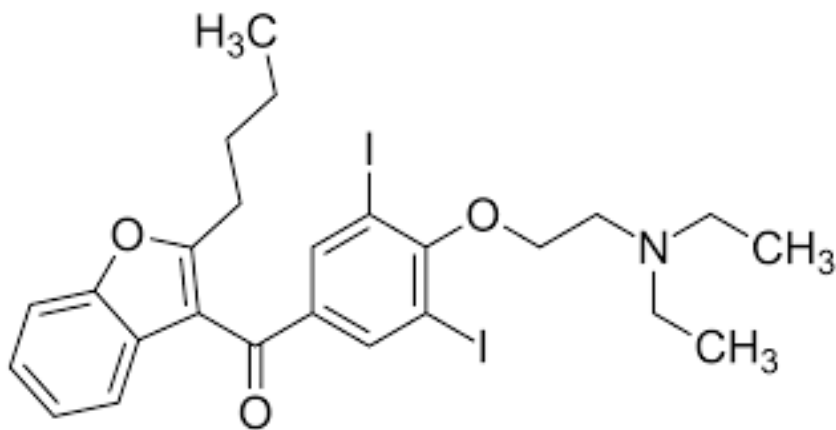
1.0. УВОД

1.1. АМЈОДАРОН

1.1.1. Фармакодиминомика и фармакокинетики

Амјодарон ($C_{25}H_{29}I_2NO_3$) је антиаритмик III класе (Слика 1). Лек је избора за лечење бројних атријалних и вентрикуларних аритмија¹. Има антиисхемијски и хемодинамски ефекат, смањује периферни отпор, успорава срчани рад и тиме смањује преузимање и уопште потребу миокарда за кисеоником. Одржава минутни волумен срца снижењем притиска у аорти и смањењем периферног отпора. Некомпетитивни је блокатор алфа и бета адренергичких рецептора, инхибира ефекат катехоламина и рад Na-K пумпе. То је дериват бензофурана који саджи јод. Метаболише се у јетри преко цитохрома P450 (CYP 3A4 и CYP 2C8 изоформе) до моно-н-десетиламјодарона (DEA), који такође има антиаритмијска својства, а излучује се путем жучи², тако да дозу амјодарона не треба редуковати код бубрежних болесника јер се он не елиминише путем бубрега и безбедно може да се примени и код пацијената на дијализи¹. Време полуелиминације значајно варира од особе до особе и износи од 35-110 дана. Након пероралне примене, ресорпција амјодарона је спора и непотпуна, максимална концентрација лека се постиже за 3–7 h, док је биорасположивост ниска, до 50%. Након парентералне примене дејство лека настаје акутно, док уколико се примени ударна доза пероралног амјодарона, дејство наступа након 10, а ако се не примени тек након 28-30 дана. На почетку тереapiје време полуелиминације је 2-10 дана, а потом 20-100 дана³.

Слика 1. Хемијска структура амјодарона



преузето са : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amiodarone_200.svg

1.1.2. Квалитативни и квантитативни састав

Једна таблета садржи 200 mg амјодарон-хидрохлорида. Пошто је амјодарон нестабилан у води, он се раствара са мешавином полисорбата 80 и бензил-алкохола⁴. Интравенска формулација амјодарона садржи амјодарон (50mg/ml), полисорбат 80 (100 mg/ml), бензил алкохол (20.2 mg/ml) и воду. РН раствора је 4.

1.1.3. Електрофизиолошки ефекти

Иако амјодарон спада у III класу антиаритмика, он поседује електрофизиолошке карактеристике све четири Vaughan-Williams класе. Слично антиаритмцима прве класе блокира натријумове канале у кардиомиоцитима и Хис-Пуркињевом систему доводећи до успоравања нулте фазе акционог потенцијала а не смањујући његову амплитуду. Као некомпетитивни антагониста амјодарон блокира алфа и бета адренергеичке рецепторе тако да, слично антиаритмцима друге класе смањује тонички утицај симпатикуса на миокард и артерије, а блокирањем калијумових канала и калијумових струја одговорних за реполаризацију продужава трајање ефективног рефрактарног периода као и трајање акционог потенцијала у свим деловима срца, што је одлика антиаритмика III класе. Попут антиаритмика IV класе, амјодарон блокира и Са-канале у SA и AV чвору и акцесорним путевима чиме се објашњава настанак брадикардије и успорење спровођења кроз AV чвор. Антисимпатичко дејство и блокада Са и К –канала су одговорни за негативни дромотропни ефекат на синусни чвор и за успорено спровођење и продужавање рефрактарности у AV чвору. Вазодилаторни ефекат амјодарона може да смањи срчано напрезање а самим тим и потребе миокарда

за кисеоником. Према томе електрокардиографски ефекти амјодарона су: синусна брадикардија, продужење PR интервала, продужење QT интервала. QT није продужен након акутне интравенске примене, већ само после хроничне пероралне примене амјодарона. Пацијентима са хипокалемијом или хипомагнезијемом треба да се претходно коригује електролитни статус, кад год је то могуће, пре него што се примени интравенски амјодарон, пошто ови поремећаји могу потенцирати степен продужења QT интервала и повећати потенцијал за torsade de points. Посебну пажњу треба обратити на равнотежу електролита и киселина код пацијената са тешком или продуженом дијарејом или код пацијената који примају истовремено диуретике. Амјодарон повећава праг за вентрикуларну фибрилацију, док код већине болесника акутна примена парентералне формулације успешно купира рефрактарну VT⁵.

1.1.4. Терапијске индикације

Амјодарон се примењује код тахиаритмије у склопу Wolff-Parkinson-White (WPW) синдрома, преткоморског фибрило-флатера, свих пароксизмалних тахикардија (нпр. PSVT), вентрикуларне фибрилације - када је примена других антиаритмика контраиндикована. Амјодарон не доводи до негативног инотропног ефекта и успешан је у лечењу аритмија које су резистентне на друге антиаритмике (нпр. антиаритмици I класе)⁶. У великој рандомизованој студији коју су спровели Роу и сарадници, показано је да је амјодарон ефикаснији у одржавању синусног ритма код пацијената са атријалном фибрилацијом него пропафен и соталол⁷. Амјодарон се препоручује у комбинацији са другим лековима као што су бета блокатори за лечење одрживих вентрикуларних тахиаритмија код пацијената који имају структурно оштећење срца, посебно дисфункцију леве коморе и који нису кандидати за ICD⁸. Slavik је запазио да код пацијената са већ постојећом дисфункцијом леве коморе амјодарон може да изазове негативно инотропно дејство⁹.

1.1.5. Дозирање и начин примене

Лечење амјодароном пероралним путем треба започети са 200 mg, три пута на дан, у току прве недеље а затим два пута на дан током следеће недеље. Након тога дозу треба смањити на 200 mg дневно или мање, кроз разне терапијске модалитете (5/2-5 дана пије, два дана пауза или на 2-3 дан). Иницијална доза ампулираног амјодарона је 1000mg током прва 24h терапије, примењено по следећем режиму: 150 mg током првих десет минута (15 mg/min), затим 360 mg током следећих 6h (1mg/min), а затим 540 mg

током наредних 18 h (0.5 mg/min). Након првих 24h наставља се примена интравенске дозе одржавања брзином од 0.5 mg/min. Брзина се може повећати како би се регулисала аритмија. Инфузија одржавања при брзини од 0.5 mg/min може да примењује до 3 недеље. Амјодарон има дуг полуживот и може да се примењује и орално и парентерално¹⁰. Често се примењује као интравенски болус при збрињавању животно угрожавајућих поремећаја ритма¹¹. Исто тако парентеална примена се препоручује код хоспитализованих пацијената са брзим поремећајима ритма који су кандидати за оралну терапију али из неког разлога нису у могућности да узимају терапију per os¹. После per os примене не испољава негативно инотропно дејство, осим код болесника са дисфункцијом леве коморе. После брзе и.в. инјекције, може да узрокује хипотензију, која може бити праћена рефлексном тахикардијом. После споре и.в. инфузије, узрокује депресију миокардне контрактилности, при чему се срчани минутни волумен повећава услед израженог смањења системске васкуларне резистенције и накнадног оптерећења леве коморе. Сматра се да је један од најбезбеднијих антиаритмика за примену код пацијената са срчаним попуштањем и ниском EF⁹. Такође је утврђено да интравенски примењен амјодарон смањује појаву АФ код пацијената након аортокоронарног by-pass-a¹². Орална примена амјодарона често узрокује тиреоидну дисфункцију, корнеалне микродепозите, хепатичну дисфункцију, пулмоналну фиброзу и асимптоматску лезију јетре (15-50% пацијената)^{1,7}. Клинички манифестан DILI узрокован амјодароном није уобичајен, али када се јави често узрокује смртни исход или цирозу јетре (око 1%)¹³. За разлику од оралног, најчешћи нус ефекти парентерално примењеног амјодарона су хипотензија, кожане промене на месту примене, црвенило, дијафореза, синусна брадикардија, различит степен AV блока, продужен QT интервал, а као проаритмогени ефекат може да се јави torsades de pointes и вентрикуларна фибрилација, као и акутни тромбофлебитис, епидидимитис, еректилна дисфункција и акутна хепатотоксичност која може да варира од благог асимптоматског пораста серумских ензима до фулминантне хепатичне инсуфицијенције. Пораст билирубина може да буде први знак токсичног ефекта амјодарона, а повећани нивои билирубина могу да се одржавају и након обуставе лека из терапије због дугог полуживота¹⁴⁻¹⁷. Хипотензија као најчешћи нежељени ефекат амјодарона се јавља код око 26% пацијената и то чешће код оних са EF \leq 30% и после операције CABG⁹. Сматра се да хепатотоксичност која прати парентералну примену амјодарона није узрокована самим амјодароном већ његовим растварачем полисорбатом 80 који изазива хипотензију и последичну хепатичку исхемију. Полисорбат 80 који је присутан у интравенској формулацији лека је повезан са Е-ферол синдромом који је описан код деце после интравенске примене витамина Е

и који има исту клиничку слику као и акутни DILI узрокован амјодароном¹⁰. Хепатичка исхемија која је узрокована применом амјодарона тј. полисорбата 80 али и срчаном слабошћу и варијацијама крвног притиска услед тахиаритмије, сматра се основом за настанак амјодароном узроковане хепатотоксичности¹⁸. Може проћи и више од шест месеци од почетка примене лека до појаве нежељених ефекта. Неки нежељени ефекти, посебно неуролошки и гастроинтестинални су дозно-зависни и јављају се у почетним фазама примене амјодарона¹.

1.1.6. Контраиндикације за примену

Контраиндикације за примену амјодарона су тиреороксигоза, цироза јетре или друге болести јетре, фиброза плућа или појава озбиљних нежељених ефеката при претходној примени лека¹. Амјодарон је контраиндикуван код познате преосетљивости на јод или амјодарон, или на било који од ексципијенаса (једна таблета од 200 mg садржи око 75 mg јода). Изузев у посебним околностима амјодарон је контраиндикуван у трудноћи (због његовог нежељеног дејства на тиреоидну жлезду фетуса). Излучује се у мајчином млеку у великој мери па није препоручљиво да се користи током лактације⁵.

1.1.7. Нежељена дејства

Амјодарон је лек који је врло ефикасан антиаритмик код низа суправентрикуларних и вентрикуларних тахиаритмија због чега има широку клиничку примену¹⁹. С друге стране, потенцијална нежељена дејства амјодарона често су клинички значајна и ремете, а у неким случајевима и онемогућавају терапију овим корисним и ефикасним леком. Амјодарон може да изазове поремећаје функције штитасте жлезде, замућење рожњаче, тамну пребојеност коже, опадање косе, фотосензибилизацију, тремор, ноћне море, периферну неуропатију, плућну фиброзу и оштећење јетре²⁰. Његова нежељена дејства се испољавају на многим органским системима и доводе до искључивања лека из терапије код 10-15% пацијената²¹. Најновија анализа указује да на свака четири болесника који се лече амјодароном један више је са додатним озбиљним нежељеним дејством попут брадикардије, хипотензије, муке или флебитиса, а на сваких 14 лечених један више је са додатним поремећајима

штитасте жлезде, хепатотоксичношћу, плућном токсичношћу или брадикардијом²². Амјодарон као липофилни молекул, као и његов активни метаболит ДЕА се акумулирају у масном ткиву, укључујући јетру¹. Обе компоненте су у високим концентрацијама директно токсичне за НЕР G2 ћелије и верује се да су одговорне за хепатотоксичност узроковану амјодароном¹¹. Утврђено је да пацијенти са срчаним попуштањем имају дужи полуживот активног метаболита амјодарона, што додатно ове пацијенте предиспонира за амјодаронску хепатотоксичност¹.

1.1.8. Интеракције са другим лековима

Због инхибиције СYP 2C9 изоформе цитохрома P450 амјодароном повећава се концентрација ОАК-а и фенитоина. Уколико се амјодарон даје са лековима који продужавају QT интервал, повећава се ризик за настанак torsades de pointes. Такође, при истовременој употерби, повећава концентарцију дигоксина и на тај начин потенцира симптоме и знаке који су у вези са високим нивоом дигоксина и поентираће се синергистички ефекат на срчану фреквенцу и атриовентрикуларно спровођење. Истовремена примена са диуретицима, системским кортико-препаратима тј. са лековима који доводе до хипокалијемije и/или хипомагнезијемije повећава ризик за настанак поремећаја срчаног ритма као што је torsades de pointes. Уколико се употербљава са циклоспорином, фентанилом, тј. са лековима који се метаболишу преко цитохрома P450 3A4, а зна се да амјодарон инхибира СYP 3A4, може доћи до пораста њихове концентрације у плазми, а самим тим и њихове токсичности.

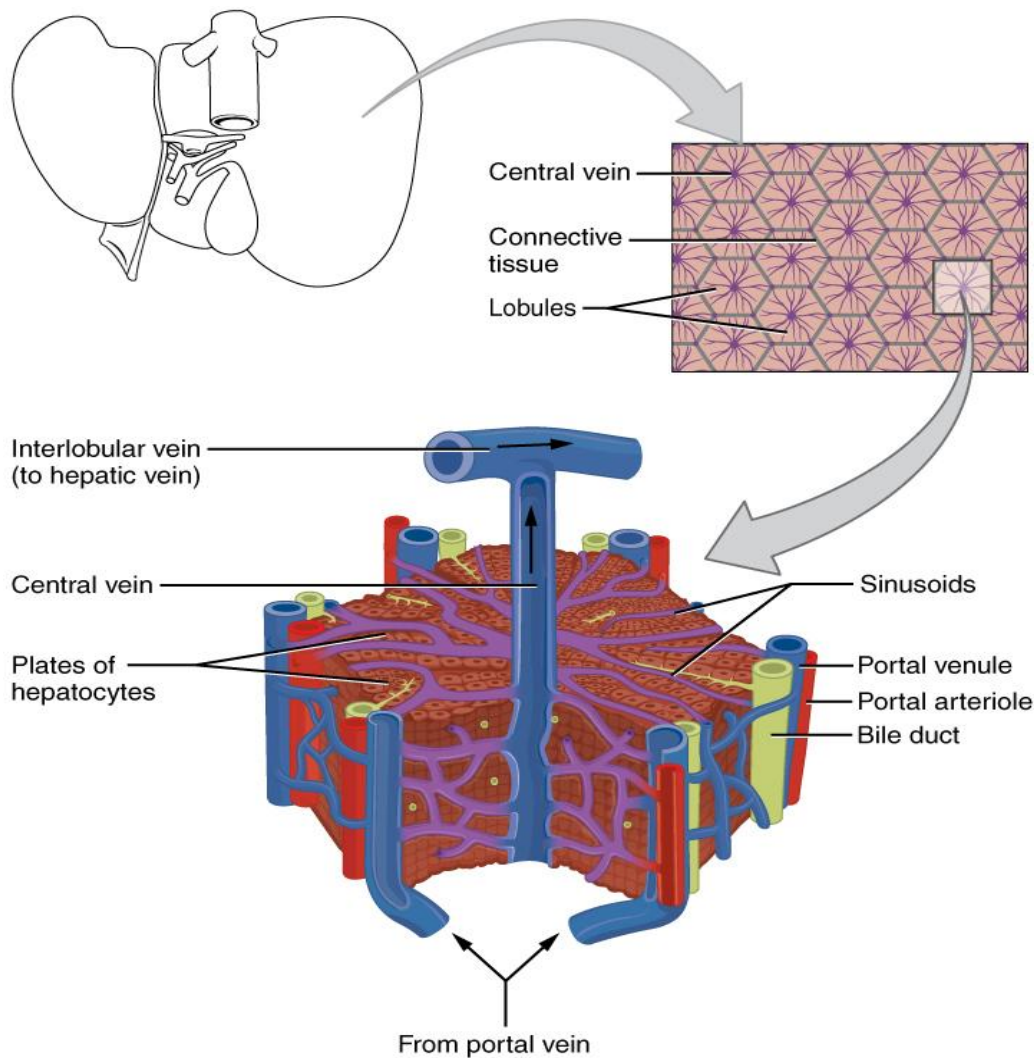
1.1.9. Закључак

Амјодарон је антиаритмик избора у случају животно угрожавајућих аритмија код болесника са акутном декомпензацијом хроничне срчане инсуфицијенције. Код хепатичне конгестије, примена амјодарона може да изазове акутно попуштање јетре, праћено скоком трансаминаза и не тако ретко и смртним исходом. Дијагноза оштећења јетре узрокованог амјодароном поставља се методом искључивања, тако да се истовремено разматрају и други узроци скока трансаминаза уз смањење дозе или искључење инкриминисаног лека.

1.2. DILI

1.2.1. Анатомија, хистологија и патолошка слика DILI-ја

Слика 2. Анатоомско-хистолошке карактеристике јетре



преузето са: <https://en.wikipedia.org/wiki/Liver>

Јетра је главни орган где се детоксикују лекови и разни токсини. Због ове улоге токсична оштећења јетре су доста честа. Јетра се налази између гастроинтестиналног тракта и периферних органа и трајно је изложена ингестираним страним супстанцама, чији метаболизам може створити токсична једињења који могу довести до оштећења јетре, или погоршати већ постојеће оштећење. Јетра је савршено прилагођена за метаболизам липофилних лекова захваљујући фенестрацијама на ендотелној површини синусоидних простора. Фенестрације омогућавају пасивну дифузију серумских протеина из синусоида у Disseov простор, а ту лекови везани за протеине плазме долазе у контакт с плазма мембраном хепатоцита. Затим протеини активним транспортом или пасивном дифузијом улазе у хепатоците где се метаболишу и затим излучују у Disseov простор, синусоиде и на крају у системску циркулацију (Слика 2.). Из организма лекови се излучују преко бубрега или преко жучи. Биотрансформација лекова којом они постају хидрофилни посредована је ензимским системом, који се налази на

ендоплазматском ретикулуму хепатоцита. У ензимски систем укључене су оксидазе, монооксигеназе, цитохром-редуктазе и цитохром P450. Биотрансформација се одвија у две фазе: фаза I подразумева припрему спојева за коњугацију чиме се осигурава формирање поларних веза, обухвата оксидативне, редуктивне и хидролитичке реакције посредоване цитохромом P450 и фаза II у којој се метаболити коњугују с глутатионом, глукуронатом, сулфатом и глицином и тако се повећава њихова растворљивост у води, а затим долази до екскреције. Осетљивост јетре на токсична оштећења зависи од узраста, пола, генетских фактора и придружених болести. Повећана осетљивост код старих особа настаје због смањеног проласка крви кроз јетру, смањене активности цитохрома P450 и смањеног бубрежног клиренса. Код хроничне злоупотребе алкохола и малнутриције, долази до смањене синтезе и деплеције глутатиона у хепатоцитима. Удружена хипоалбуминемија и хепатотоксичност аспирина, настаје због смањеног везивања аспирина за протеине плазме, тако да долази до повећане концентрације аспирина у ткивима. Код Gilbertovog синдрома повећана је осетљивост на ацетаминофен.

Морфолошке промене јетре узроковане леком могу бити: масна јетра, интрахепатична холестаза, некроза хепатоцита. Стеатоза се испољава у две морфолошке слике накупљања триглицерида: макровезикуларна и микровезикуларна. Макровезикуларна стеатоза карактерише се накупљањем триглицерида у облику велике светле вакуоле која испуњава и проширује читаву цитоплазму. Овај тип стеатозе узрокује етанол, тровање тетрачлор угљеником, отровне гљиве, кортикостероиди и метотрексат, амјодарон (употреба амјодарона може довести до промена које личе на алкохолни хепатитис). Код микровезикуларне стеатозе ситне капљице масти распршене су по читавој цитоплазми. Овакве промене налазимо код употребе антиепилептика валпроата, сулфонамида и тетрациклина. Такође, типичну микровезикуларну стеатозу налазимо и код Рејовог синдрома, који је описан код деце која су добијала салицилате. Интрахепатична холестаза се јавља код употребе лекова с непредвидивим утицајем. Ту спадају орални контрацептиви, анаболички стероиди који изазивају централобуларну холестазу са чепићима згуснуте жучи, без некрозе или запаљења. Зоналне хепатоцелуларне некрозе су конфлуирајуће централобуларне некрозе, јер у подручју око централних вена постоји већа активност ензима који разграђују лекове. Као пример за овакав вид оштећења наводе се парацетамол, тетрациклин, халотан. Масивну некрозу узрокује прекомерна доза халотана, ацетаминофена, метилдопе, изонијазида. Фенотиазин и хлорпромазин могу довести до некрозе и запаљења. Велики број лекова може довести до стварања гранулома: NSAID, фенилбутазон, сулфонамиди, кинидин,

карбамазепин, алопуринол. Јатрогени грануломи су углавном смештени у портним просторима. Грађени су од епителних ћелија, еозинофила и лимфоцита. У центру нема некрозе. Никада не долази до фиброзирања гранулома. Ако су грануломи праћени некрозом хепатоцита говоримо о грануломатозном хепатитису²³.

1.2.2. Увод у проблем DILI-ја

Јетра је централни метаболички орган који учествује у метаболизму лекова. Оштећења јетре узрокована инкриминисаним леком настају као последица предозирања леком (након дате индикације за узмање лека од стране ординаријуса или самоиницијативним узимањем) и/или индивидуалне реакције преосетљивости на исти²⁴⁻²⁸. Тачније речено, оштећење јетре настаје као последица директног хепатотоксичног оштећења преко хепатосензибилизације или удруженог дејства напред наведених механизма. Хепатитис узрокован леком је ретка појава, код 1-3% свих оболелих од хепатитиса, док је чак 30% свих фулминантних хепатитиса узроковано леком²⁵⁻²⁹. Лекови доводе до стимулације продукције цитокина, хемокина, уопштено медијатора инфламације³⁰. Проинфламаторни цитокини активирају одбрамбену реакцију јетрених ћелија, укључујући и апоптозу. Кисеонични радикали настали активацијом имунолошког одговора активирају ћелијске механизме одбране (инфилтрација неутрофилима, запаљенски одговор)³¹. Хепатотоксичност може да се јави услед употребе једног лека, комбинације лекова или понављаног узимања инкриминисаног лека. Може да буде акутна и хронична²⁶, а клинички ток може бити асимптоматски, праћен сврабом, макуло-папулозном оспом, грозницом, фебрилношћу, муком, повраћањем, губитком апетита, појавом иктеруса, тамно пребојеном мокраћом, ахоличном столицом, крварењем десни, болом испод десног ребарног лука, проливом, абдоминалним болом, spider невусима, асцитесом³². Оштећење јетре изазвано леком се у лабораторијским анализама презентује као скок проширеног хепатограма и еозинофила²⁵. Патохистолошка слика је разнолика а доминира некроза хепатоцита, холестаза, перипортни запаљенски ћелијски инфилтрат²⁶. Повреда јетре изазавана леком може да се заврши потпуном резолуцијом, преласком у хронични облик или чак акутном инсуфицијенцијом јетре са смтрним исходом²⁵. Дијагноза се поставља на основу позитивне анамнезе о употреби лека, клиничког налаза, лабораторије, патохистолошке верификације оштећења. Лечење подразумева обуставу или максимално смањење дозе инкриминисаног лека, супституциону и симптоматску терапију.

Циљ овог испитивања јесте брзо и правилно постављање дијагнозе DILI-ја, доказивање постојања узрочно-последичне везе између инкриминисаног лека и јетре, упознавање са клиничком презентацијом болести, што би свеобухватно помогло лекару клиничару у решавању диференцијално дијагностичких потешкоћа у третману ових болесника на Клиници за кардиологију.

1.2.3. Значај проблема DILI

Општа инциденца DILI-ја за највећи број лекова процењена је на 1-10/100.000 изложених особа. Најприсутнији је на интерном одељењу - Клиника за кардиологију и гастроентерохепатологију, где се на сваких 100 хоспитализованих пацијената верификује по један са неким обликом DILI-ја³³. Статистички подаци везани за DILI Светске здравствене организације указују да се број DILI случајева значајно повећао у односу на 1990-ту годину. Организација је регистровала приближно око 3 милиона DILI-ја од 1968 године³⁴. У студији Andrade и Lucene анализиран је 461 случај DILI-ја у Шпанији у периоду од 10 година. Доказали су да је амоксицилин са клавуланском киселином најчешћи узрочник DILI-ја, чак 59 случаја што је око 13 % од укупно оболелих. У истој студији је показано да су аторвастатин, бензодиазепин и каптоприл значајни хепатотоксини³⁵, док су Motola и сарадници доказали да су статини најчешћи узрочници DILI-ја у Италији од 1069 случајева које су верификовали са хепатотоксичном реакцијом на лек (4.5%)³⁶. Wai и сарадници су показали да су у Азији најчешћи узрочници DILI-ја дијететски суплементи и лековито биљке³⁷. Најчешћи изазивачи фаталног DILI-ја су: парацетамол, лекови против HIV-а, троглитазони, антиконвулзивни лекови (као што је валпроат), аналгетици, антибиотици, анксиолитици, статини, болест-модификујући лекови (метотрексат), имуносупресиви, антихипертензивни, онколошки лекови, NSAID, медицинско биље, „over the counter” суплементи³³⁻⁴⁰ (Слика 3).

Слика 3. Лекови и DILI



преузето са: <https://www.articleblotter.com/new-antibiotic-capable-of-killing-superbugs-discovered-inside-the-human-nose/>

Хепатотоксичност је нежељено дејство лека које има негативан утицај на морбидитет и морталитет као и негативан финансијски утицај на развој лека⁴¹. Велики број лекова са хепатотоксичним дејством је у промету: лекови које се прописују и издају на рецепт и “over the counter” препарати (традиционални биљни лекови) али и неки дијететски суплементи (витамински препарати, средства за мршављење). Све док се буду развијали и уводили у клиничку праксу нови лекови, оштећење јетре узроковано леком ће остати као проблем који има своју клиничку и регулаторну тежину⁴². DILI је главни разлог за престанак даљег развоја лека и повлачења са тржишта⁴³. Неки од примера за то су тровафлорксацин, нимесулид, телитромицин⁴³⁻⁵⁰. Повећана употреба суплемената и алтернативних лекова повећава број случајева хепатотоксичности што додатно збуњује и отежава постављање дијагнозе⁵¹. Оштећење јетре је релативно ретко, често са озбиљним последицама и има непредвидив ризик повезан са употребом великог броја лекова који припадају различитим терапијским групама и биљним производима који се користе било у терапијским дозама или приликом предозирања⁴³⁻⁵⁰. Водећи узрок акутне инсуфицијенције јетре у САД-у и Великој Британији у преко 50% случајева су парацетамол (39%), и други лекови (13%). Само 20% блесника са акутним застојем јетре преживи без трансплантације. Лекови су одговорни за 2-5% жутице која захтева

хоспитално лечење односно око 10% свих случајева акутног хепатитиса⁵². Изражено хепатотоксично дејство је најчешћи узрок повлачења лека из употребе (бромфенак, кетоконазол), појачаних мера опреза и знатног ограничавања употребе једног таквог лека у пракси. Праву преваленцу овог нежељеног догађаја тешко је утврдити због потешкоћа са правилним постављањем дијагнозе, недовољног пријављивања сумњи на нежељено дејство лека и неодговарајућег праћења особа са ризиком. Клинички значајни догађаји на основу извештаја су веома ретки 0,01-0,001%. Овако мала инциденца је последица касног откривања (хепатотоксичност се најчешће детектује у постмаркетиншкој фази јер је број укључених пацијената у већини клиничких истраживања мањи од 10.000)⁵³. Међутим, ипак се сматра да је стварна учесталост у пракси знатно већа. У Француској од 1997.г-2000.г број случајева медикаментног хепатитиса је 16 пута већи од броја спонтано пријављених случајева³⁹.

1.2.4. Фактори ризика за DILI

У факторе ризика убрајамо: дозни режим лека, генетски полиморфизам, старије животно доба, женски пол, потхрањеност/гладовање, гојазност, алкохолизам, конкомитантну употребу више лекова, анамнестички верификован хепатотоксични потенцијал лекова, удружене болести, трудноћа. У највећем броју случајева постојеће обољење јетре продужава опоравак а ређе доприноси хепатотоксичности коју изазива лек. Препознавање фактора ризика као што су старост, пол, трудноћа, унос алкохола може индиректно да укаже на дијагнозу DILI-ја, а неки скоринг системи укључују ове факторе⁵⁴. Узрочни агенси за DILI код деце и одраслих варирају а њихова различитост је заснована на индикацијама за увођење лека у терапију. Године старости могу да допринесу подложности за DILI код одређених лекова (нпр лекови који делују на CNS као и антибиотици су чести узрочници DILI-ја код деце)⁵⁵. Деца показују подложност за DILI узроковану валпроатом и они имају повећан ризик за развој Reу-овог феномена узрокованог ацетилсалицилном киселином. Иако пропилиуроацил може изазвати DILI у свим старосним групама деца су подложна озбиљнијој и фаталној хепатотоксичности^{56,57}. Не постоје докази који указују да су жене у већем ризику за DILI било које етиологије, али изгледа да су у повећаном ризику за хепатотоксичност узроковану одређеним лековима као што је миноциклин, метилдопа, диклофен, нитрофурантоин, невирапин. DILI је редак узрок хепатотоксичности код трудница што је вероватно због ређе употребе и прописивања лекова током трудноће. Не постоје докази који указују да трудноћа сама по себи повћава подложност за DILI узрокован било којим леком изузев

тетрациклином⁵⁵. Оштећење јетре изазвано лековима као што су метотрексат и антитуберкулозици може да буде испољено код дијабетичара. Поједине студије су показале да је шећерна болест независан фактор ризика који је уско повезан са тежином клиничке слике DILI-ја²⁹. Иако је конзумирање алкохола битан фактор за процену DILI-ја у оквиру RUCAM скале, не постоје докази који указују да је хронична употреба алкохола фактор ризика за DILI генерално, међутим показано је да је конзумирање алкохола у великим количинама фактор ризика за DILI узрокован парацетамолом, метотрексатом и изонијазидом⁵⁵. Антибиотици и антиепилептици су одговори за 60% DILI-ја док су антихипертензиви и антидијабетци ретки узрочници (2-4%)^{29,58-60}. У неким истраживањима старост, као независан фактор ризика, је приказана као најзначајнија детерминанта скока трансaminaза који је узрокован употребом антибиотика, због споре елиминације лека кроз дегенеративно измењене органе задужене за клиренс антибиотика⁶¹. Неки лекови као што је валпроат хепатотоксичност чешће испољавају у детињству⁶², а трансплантација јетре је чешћа код жена које употребљавају инкриминисани лек него него код мушкараца⁶³. Тако да године и женски пол могу да утичу на клинички ток DILI-ја. Како су имунолошка реакција на лек и измењен метаболизам лека могући патогенетски механизми DILI-ја, различит имунолошки статус и метаболизам лека због година или пола могу да доведу до разлика у испољавању DILI-ја. Међутим Shapiro и Lewis су показали да фактори као што су старост преко 55 година, женски пол, алкохол, нису били специфични за случајеве DILI-ја који су потврђени CIOMS/RUCAM скалом⁶⁴. Генетски фактори који утичу на фармакодинамику и фармакокинетику лека, полиморфизам цитохрома P-450, мутација у POLG гену, полиморфизам SOD2 и GPX и дефицијенција N-ацетилтрансферазе, доприносе DILI-ју⁶⁵⁻⁶⁸. Број случајева који имају скок трансaminaза и/или смртни исход изазван лековима се повећава на дозно зависан начин⁶⁹. Постојећа болест јетре или присуство вируса повећавају вероватноћу за DILI. Тако су пацијенти који су пили антитуберкулотике а већ имали хепатитис Б, добили нагли скок трансaminaза, док су HIV пацијенти на антиретровирусној терапији добили акутни хепатитис који је прогедирао у акутну инсуфицијенцију јетре^{70,71}. Неалкохолна масна јетра је само по себи ризик фактор за DILI, а присутан оксидативни стрес додатно утиче на тешку форму DILI –ја⁷².

1.2.5 Патогенеза DILI-ја

Оштећења јетре могу настати због токсичног дејства штетног агенса, због стварања активних токсичних метаболита током биотрансформације у јетри или због имунског типа оштећења - када неки лек или његов метаболит постане хаптен, који ћелијске протеине претвара у неоантигене. Постоје два типа оштећења јетре: очекивано (узроковано интритичним хепатотоксичним спојевима) и неочекивано, или идиосинкразијско оштећење које настаје због идиосинкразијских хепатотоксина. Код предвидивог оштећења налазимо некрозу ћелија јетре, оштећење наступа кратко време након уношења штетног агенса у организам, степен оштећења зависи од количине агенса који је унет у организам. У такве агенсе спадају фосфор, органски растварачи-тетрахлор угљеник и лек ацетаминофен. Већина ових оштећења настаје деловањем метаболита наведених агенаса након I фазе биотрансформације. Реактивни метаболити су електрофилни радикали, слободни радикали и реактивни кисеоник. Реактивни метаболити се ковалентним везама везују за молекуле протеина, липида, нуклеинских киселина и доводе до поремећаја њихове функције. Такве ћелијске промене доводе до оштећења због инактивације кључних ензима или формирањем комплекса протеин-лек који може да доведе до имунски посредованог оштећења јетре. Ковалентна веза је најважнији механизам оштећења. Глутатион као главни интраћелијски антиоксиданс, који штити ћелију од токсичног утицаја ковалентног везивања, важан је у коњугацији метаболита ацетаминофена. Деpleција глутатиона због тога може потенцирати или повећати оштећење јетре. Непредвидива оштећења јетре лековима настају код малог броја изложених особа, па се сматра да се ради о идиосинкразијској реакцији, због склоности тих особа да покрену хиперсензитивну имунску реакцију на лек. Хиперсензитивна реакција се јавља након једне до пет недеља од узимања лека и јавља се након поновног узимања лека. Хиперсензитивна реакција је праћена повишеном телесном температуром, еозинофилијом, лимфоцитозом и запаљенском реакцијом јетре. Лекови који индукују имунски одговор (диклофен, сулфонамиди) стварају хаптен коњугате који изазивају хуморални и/или ћелијски одговор усмерен против јетре.

Да резимирамо, сагледавање клиничко-патолошких особина индивидуалаца са добро дефинисаним DILI-јем може да нам обезбеди кључ за одеђивање потенцијалног механизма DILI-ја као што се показало у случају фиалуридином изазване хепатотоксичности⁷³. Из фармаколошких особина лекова проистиче да механизам оштећења, који је већ горе наведен, може да буде метаболитички или имунолошки⁷⁴⁻⁷⁶. Честа и корисна карактеристика DILI-ја јесте подела на унутрашњи и идиосинкратски тип. Ова карактеризација се односи на лекове који су у стању да изазову лезију јетре

код људи или у анималним моделима када се дају у довољно великој дози. Парацетамол је можда најпознатији и највише коришћен лек који изазива унутрашњи DILI. Идиосинкратски DILI је ређи и јавља се само код подложних особа, мање је дозно зависан и даје различитију презентацију него инстринсик⁷⁷. Дакле, два су механизма хепатотоксичног дејства лека: дозно-зависна предвидива реакција (предозирање парацетамолом или аспирином, дужа употреба амјодарона и метотрексата) и идиосинкразија. Први механизам је ређи, краћа је латенца, боља прогноза. Други механизам је чешћи, реакција је непредвидива, веома су ретка али озбиљна оштећења, није повезан са дозом, дужа је латенца и непознат узрок. Идиосинкразија може бити имунолошки посредована (алергија): независна од дозе (антиепилептици), метаболичка-може бити повезана са дозом (изонијазид) или не може да се диференцира механизам (преклапају се) - метилдопа, халотан.

1.2.6. Клиничка слика DILI-ја

Клиничка слика DILI-ја је различита и иде од асимптоматског, пролазног, благог пораста ензима јетре до фулминантног попуштања јетре у око 13-30% случајева који је често праћен смртним исходом^{78,79}. Клиничка слика оштећења је веома разнолика, од неспецифичних симптома и знакова до екстрахепатичних појава као што је DRESS синдром. Најчешћи симптоми и знаци имунолошке реакције на лек су општа слабост, губитак апетита, грозница, оспа, артралгија и еозинофилија, спленомегалија, али они могу бити присутни и код пацијената који не узимају лек и није правило да се увек јављају у оштећењу јетре изазваном леком. Многи нефармаколошки узроци доводе до скока трансаминаза, тако да је потребно диференцирати вирусне узрочнике (хепатитис А, С и Е, ЕВ вирус, цитомегаловирус), билијарне болести као што су билијарна калкулоза, алкохол, неалкохолна масна јетра, аутоимуне болести јетре, херeditарне болести као што су: хемокроматоза, алфа 1 антитрипсин дефицијенција и Wilsonova болест од фармаколошки узроковане повреде јетре. Добро узета анамнеза која указује на лек, искључење других узрочника, професионалних болести, генетске анализе (као што је полиморфизам SOD2, хистолошка испитивања јетре и имунолошка мерења антитела у аутоимуним болестима јетре могу бити корисна у диференцијалној дијагнози DILI-ја^{54,80}. Постоје клиничке скале доступне за дијагнозу DILI-ја. Али често пацијент узима више лекова који имају хепатотоксични потенцијал, или има већ постојећу болест јетре или системску болест која захвата јетру, тако да је издвајања једног лека као узрочника DILI-ја понекад тешко коришћењем скоринг система тј.

скалама за дијагнозу DILI-ја. Пораст трансминаза сам по себи често није довољан већ је потребна опсежнија анализа функције јетре (билирубин, албумин време крварења...)

1.2.7. Скале за процену DILI-ја

Према CIOMS/RUCAM скору DILI је подељен у три типа: хепатоцелуларни, холестатски и мешовити^{81,82}. Хепатоцелуларни тип се дефинише порастом ALT-а преко 3 пута од вредности која представља горњу границу референтног опсега или $R > 5$, где је R однос серумске активности ALT и серумске активности ALP, док се холестатски тип дефинише као $ALP > 2 \text{ ULN}$ или $R \leq 2$, а мешовити као $ALT > 3 \text{ ULN}$ и $2 < R < 5$ ^{81,83,84}. Хепатоцелуларни тип оштећења је најозбиљнији и најчешће је акутни док је холестатски и мешовити DILI чешће облик хроничног оштећења⁸⁵. Скок билирубина у хепатоцелуларном оштећењу указује на озбиљну лезију са честим смртним исходом од 0.7 до 1.3 на 100.000 пацијената који примају суспектан лек⁷⁸.

Брза и тачна дијагноза DILI-ја је важна у свакодневној пракси. Међутим, постављање дијагнозе DILI-ја није лако и углавном се базира на индиректним доказима. Најчешће, догађаји који сугеришу на суспектан DILI (DILI не може бити искључен ако нису сви присутни) су⁸⁶: увођење новог лека у претходна 3 месеца, присуство оспе или еозинофилије, холестаза са нормалном визуализацијом хепатобилијарног система и акутни и хронични хепатитис без аутоантитела и хипергамаглобулинемије. Како не постоји златни стандард за дијагнозу, основно је да се искључе други могући узроци оштећења јетре. Предлагани су бројни скоринг системи, али је процена и даље индивидуална. Да би се поставила дијагноза DILI-ја направљени су специфични скоринг системи који се називају клиничке скале за процену DILI-ја. Прва уведена скала за процену DILI-ја била је Нарањо скала. Њена предност је била у томе што је једноставна па самим тим и најчешће применљивана за брзу евалуацију DILI-ја. Али због њене ниске сензитивности и негативне предиктивне вредности, истраживачи је нису сматрали најмеродоавнијом дијагностичком скалом^{87,88}. Нова скала CIOMS/RUCAM се користи да диференцира тип оштећења јетре на хепатоцелуларни, холестатски или мешовити^{54,81}. Ова скала је одређена скором који узима у обзир 7 критеријума, укључујући привремену повезаност, клинички ток (одговор након искључивања лека из употребе), факторе ризика, придружене лекове, искључивање других узрока оштећења који нису везани за лекове, вероватноћу појаве оштећења на основу назнаке на паковању лека (нежељена дејства) и rechallenge (да ли се реакција поново јавља ако се лек поново укључи у терапију). Широко се користи као

стандардизована скала са високом поузданошћу, репродуцибилношћу и специфичношћу. Maria и Victorino (M&V) су приказали скалу која се зове Клиничка Дијагностичка Скала (CDS) која је поједностављена CIOMS/RUCAM скала и узима у обзир само 5 критеријума⁸⁹. Она је имала своје недостатке као што су често лажно негативна процена холестатског оштећења, DILI са дугом латенцом, и неслагања у случајевима брзопрогресивних хепатитиса и фокусирана је на имуноалергијске реакције, као што су екстрахепатичне манифестације^{90,91,92}. У Јапану је 2004. год. предложена скала које је настала из CIOMS/RUCAM, а која укључује тест лимфоцитне стимулације узроковане леком (DLST) као дијагностички фактор. Утврђено је да ова скала има већу сензитивност него CIOMS/RUCAM (93.8% у односу на 77.8%, редом) приликом анализирања 127 јапанских пацијената. Међутим, пецизност ове скале мора да се процени и на пацијентима који нису Јапанци како би се верификовала њена универзална корисност⁹³. Од свих скала највише коришћена је CIOMS/RUCAM.

У случају оригиналних критеријума, дијагноза DILI-ја се постављана на основу следећих критеријума: појава хепатичног оштећења која је директно повезана са применом лека, искључивање других узрока хепатитиса, опоравак тестова функције јетре након искључења лека из употребе и биопсија јетре. Мада је CIOMS/RUCAM скала најчешће коришћена и тренутно представља стандардну методу за дијагнозу DILI-ја, треба нагласити да многи лекари и даље постављају дијагнозу DILI-ја на основу сопствене процене. Дакле, дијагноза DILI-ја се примарно поставља ексјувантибус, а првенствено се заснива на детаљној анамнези, лабораторијским анализама, визуализационим дијагностичким методама и биопсији јетре^{51,94}. Дијагностички алгоритми доступни клиничарима заснивају се на клиничким скоринг системима, али њима недостаје конкретност и доказана тачност⁸⁹. Инциденца DILI-ја у општој популацији није тачно позната али се претпоставља да се јавља у 10-15 случајева на 100.000 пацијената годишње^{39,95}. Овако ниска инциденца DILI-ја је у вези са недостатком објективног дијагностичког маркера, који би представљао златни стандард, што отежава проучавање патогенезе овог поремећаја као и процену вероватноће узрочности лека, а самим тим и идентификација хепатотоксичности представља велики клинички и регулаторни изазов⁵³. DILI се генерално јавља између 5 и 90 дана од почетка примене лека⁵¹ и има значајан удео у развоју акутног застоја јетре⁹⁶. Хепатотоксичност узрокована леком је постала водећи узрок развоја акутног застоја јетре у САД, где се јавља око 2000 случајева акутног застоја јетре годишње, од чега је у око 50% случајева лек узрочник, тако да је рана дијагностика хепатотоксичности и правовремено упућивање пацијената у трансплатационе центре од

кључног значаја^{48,50}. Дуго година уназад DILI је био посебан изазов за кардиологе, гастроентерохепатологе, фармакологе, лекаре опште праксе, фармацевтске куће и државне агенције за лекове⁴⁶. У циљу бољег разумевања овог ретког али важног нежељеног догађаја, мултицентричне истраживачке мреже (DILIN) су почеле да стварају стандардизоване приступе за дијагнозу, евалуацију и пријављивање пацијената са суспектном лезијом јетре^{97,98}. Крајњи циљ ових напора је да се побољша безбедност пацијената смањивањем изложености високо ризичних индивидуалаца потенцијално хепатотоксичним лековима и омогућавање безбедне примене ових агенаса код великог броја нискоризичних индивидуалаца кроз персонализовану примену лека према пацијенту⁹⁷. Бројне методе су предлагане за процену вероватноће лека као фактора ризика за DILI. Неке су биле општег карактера (Нарањо, Крамеров алгоритам) док су друге специфичне за јетру (Магиа и Викторино клиничка дијагностичка скала, CIOMS/RUCAM)^{49,93}. Нарањо скала је предложена као једноставна, неспецифична скала од 10 питања за процену нежељених реакција на лекове које се јављају током клиничког испитивања⁸⁷. Упркос њеној једноставности и широкој примени не само у клиничким истраживањима него и у клиничкој пракси, Нарањо скала има ограничену примену у процени узрочности хепатотоксичности због ниске сензитивности, ниске негативне предиктивне вредности и ограничене способности да се издвоје могући од вероватних категорија вероватноће⁸⁸. CIOMS/RUCAM скала је развијена као специфична за јетру, која класификује оштећење јетре као хепатоцелуларно, холестатско и мешовито, на основу бодовања које укључује 7 критеријума узрочности⁸¹. Ова скала се добро показала у процени оштећења јетре изазваног лековима и тренутно је златни стандард за процену узрочности хепатотоксичности^{88,91}. Њена апсолутна поузданост још увек није доказана^{97,99,100}. У DILIN студији у којој је скала била коришћена од стране три хепатолога уз два мерења у размаку већем од 5 месеци поузданост ретестирања је била ниска¹⁰¹. Квалитети који су неопходни за добар метод процене узрочности су репродуцибилност и валидност. Валидност значи да добијени резултати тачно рефлектују феномен који се испитије док је репродуцибилност значајна за упоређивање резултата, тако да различити корисници дођу до истих закључака, упркос разликама у времену и простору истраживања⁵¹.

1.2.8. Додатни тестови (нерутински) за дијагнозу DILI-ја

Предложени су и додатни тестови за потврђивање дијагнозе DILI-ја и идентификацију јединственог узрочног лека. Као што је горе поменуто пацијенти често узимају неколико лекова од којих је у највећем броју случајева само један одговоран за оштећење јетре. Међутим, чак и када клиничка скала за DILI чврсто указује на дати лек као узрочник оштећења јетре, идентификација једног узрочног лека не може бити утврђена коришћењем ових скала. Најпоузданији тест за потврду да је претпостављени лек сигурно изазивач DILI -ја у односу на друге факторе код посматраног пацијента је *rechallenge* са потенцијалним, узрочним леком^{54,81}. Међутим то није етички препоручљиво и контраиндиковано је код датог пацијента. Утврђивање секундарног имуног одговора који је посредован Б и Т ћелијама, а који се карактерише краћим периодом латенције и озбиљном реакцијом која се јавља након поновљене примене суспектног лека је јак показатељ да се ради о имунолошкој патогенези DILI-ја. Парау и сарадници су показали да приликом поновног излагања леку код 88 пацијената са хепатотоксичношћу која је узрокована различитим лековима, позитиван *rechallenge* је забележен у већини случајева, а 12 пацијената је развило озбиљно хепатоцелуларно оштећење са жутицом приликом поновне примене¹⁰². Тест лимфоцитне трансформације омогућава *in vitro* симулацију ефекта поновне примене суспектног лека у лимфоцитима узетим од пацијената са DILI-јем¹⁰³. Лимфоцити који су узети из хепаринизоване периферне крви пацијената се инкубирају са неколико различитих разређења са сумњивим узрочним леком¹⁰⁴. Лимфоцитни пролиферативни одговор је процењен мониторингом концентрације Н-тимидина. LTT се широко користи у Јапану и инкорпорисан је у дијагностичке критеријуме у Јапану (DDV.J скала). Овај тест се интерпретира као позитиван ако лимфоцитна пролиферација, која настаје као одговор на суспектни лек може да се детектује есејима, у поређењу са контролном културом, без лека¹⁰⁵. Међутим, ограничена сензитивност (око 50%) и специфичност теста, недостатак поновљивог и објективног читавања лимфоцитне пролиферације, као и могућност неспецифичних реакција су ограничили коришћење теста. Лимфоцитни одговор на суспектни узрочни лек не мора нужно да буде повезан са оштећењем јетре. Без обзира на то, у току су додатне студије од стране DILIN и других студијских група широм света о новим есејима лимфоцитне пролиферације, који потенцијално могу да се користе као дијагностички и прогностички тестови за реакције лекова. Још један тест у

коме се користи периферна крв паијената је тест леукоцитне миграције (LMT) за који је потврђено да је кориснији него DLST¹⁰⁶. Овај тест укључује процену хемотаксе гранулоцита из једне коморе у другу комору која садржи моноклеарне ћелије користећи хемотактични фактор који продукују моноклеарне ћелије после инкубације са раствором суспектног узрочног лека. Даље, Murata и сарадници су приказали тест продукције цитокина као метод за анализу имунолошке патогенезе DILI-ја, који је такође показао високу сензитивност у дијагностиковању¹⁰⁷. У овој анализи HEP2G ћелије, које одлажу активност метаболичких ензима као што је CYP450 се прво инкубирају са дилуентима суспектног лека, и ова мешавина и култура медијума HEP2G ћелија се онда инкубира са лимфоцитима периферне крви изоловане од пацијената. Интрацитоплазматски цитокински профили лимфоцита, као што је интерферон гама, TNF алфа, интерлеукин 2 се на крају одређују коришћењем flowcytometry-је. Иако су ови тестови корисни за дијагнозу или идентификацију појединачног узрочног лека, нису једноставни за извођење и често нису изводљиви у рутинским испитивањима. Због често лажно-позитивних резултата наведених тестова за испитивање хепатотоксичности, појединачни узрочни лек не може да се са сигурношћу одреди, често пацијенти због лажно позитивног резултата теста морају доживотно да избегавају неколико лекова, најчешће нехепатотоксичних, и тиме непотребно ограничавају своје тераписке могућности за лечење других, озбиљних болести. Тако да на резултете ових тестова треба гледати са посебном обзирношћу.

1.2.9. Инкриминисани лек и лечење DILI-ја

DILI је комплексан клинички проблем са широким спектром манифестација које иду од асимптоматских благих биохемијских абнормалности до озбиљног хепатитиса са жутицом. При појави DILI-ја, очекивано би било искључити сумњиви лек из терапије или редуковати његову дозу, али ако је тај лек круцијалан у лечењу неког клиничког ентитета наставља се његова примена у пуној дози уз максималне мере предострожности. С друге стране, неки пацијенти са DILI-јем чак показују опоравак оштећења јетре без искључивања суспектног лека. Тако да пажљиво треба проценити да ли суспектни лек треба да буде обустављен из терапије, узимањем у обзир и важност тог лека у лечењу. У случају тешке форме DILI-ја који се презентује као акутни застој јетре са врло вероватним смртним исходом, практично једина тераписка могућност је трансплатациона хирургија¹⁰⁸. Не постоје јасни критеријуми за искључивање суспектног узрочног лека. Неки тераписки водичи предлажу да петоструко повећање

вредности ALT-а изнад референтног опсега и одсуство симптома дозвољавају наставак примене суспектог лека уз повећан опрез, док 8 пута већа вредност ALT-а указује да суспектни лек треба искључити из терапије^{109,110}, или ако уз скок ALT-а, постоји скок билирубина, значајан пад албумина, или поремећај тестова хемостазе⁸⁶. По Zimmermann-у, смртни исход је врло вероватан код пацијента који поред високог скока ALT-а има и клинички манифестну жутицу. Ну's (Хјуово) правило праћења DILI-ја каже да пораст ензима јетре (ALT или AST >3xULN или ALP > 1.5xULN) у комбинацији са порастом билирубина (>3x ULN) у било ком тренутку након увођења новог лека може да укаже на озбиљну повреду јетре и да суспектни лек треба да буде обустављен¹¹¹. Како се показало да је хепатоцелуларно оштећење јетре уз жутицу понекад фатално чак и ако је суспектни лек искључен из употребе, а да у неким случајевима када је испуњено Хјуово правило не долази увек до смртог исхода услед DILI-ја, и да велики број лекова може да изазове асимптоматски пораст ензима јетре без озбиљног оштећења јетре, благи пораст трансминаза не захтева увек повлачење узрочног лека из употребе. FDA је предложила да ALT > 8x ULN, ALT > 5 x ULN током 2 недеље, ALT > 3 x ULN у комбинацији са порастом серумског билирубина > 2 x ULN, пораст PT-INR >2x или постојање симптома оштећења јетре би требало да буду коришћени као предиктори озбиљне хепатотоксичности уз препоруку да се инкриминисани лек искључи из употребе^{34,35,40,78}. Хепатоцелуларно оштећење са жутицом треба лечити у интензивној нези Клинике за кардиологију и гастроентерохепатологију јер је врло често у питању озбиљно оштећење јетре са фаталним исходом, док се код холестатских DILI случајева често не обуставља лек, изузев ако се јаве симптоми везани за оштећење јетре, као што је жутица, пораст серумских билирубина (преко 3 x ULN) или продужен PT-INR (преко 1.5x ULN). Није било извешатаја о постојању терапије која би довела до побољшања, изузев примене Н-ацетилцистеина код хепатотоксичности узроковане ацетаминофеном. Кортикостероидна терапија може да се користи код DILI случајева са очигледном хиперсензитивношћу, али не постоје докази о њеној користи¹⁰⁸. Лечење DILI-ја укључује брзо искључивање суспектног лека из терапије. Позитивни dechallenge подразумева 50% смањење серумског ALT-а у оквиру 8 дана од повлачења лека из терапије у хепатоцелуларном типу оштећења, CIOMS/RUCAM критеријуми^{54,82}. С друге стране, за смањење билијарних ензима после искључивања инкриминисаног лека код холестатског типа оштећења је обично потребан дужи временски период. Међутим, временски период након обуставе лека није увек од помоћи у раној дијагностици и

лечењу DILI-ја јер неки пацијенти захтевају промптну евалуацију и лечење DILI-ја при његовој првој појави.

1.2.10. Превенција и рано препознавање DILI-ја

Многи лекови могу да узрокују асимптоматску хепатотоксичност, скок вредности проширеног хепатограма без појаве било ког симптома који би указао на поремећај функције јетре. Иницијално пре укључивања новог лека, треба урадити проширени хепатограм, ехо абдомена и друге дијагностичке методе које би сугерисале постојање поремећаја функције јетре. Код пацијената са идиопатским абнормалностима тестова функције јетре прво би требало узети детаљне податке о узимању неког лека како у хоспиталним тако и у прехоспиталним условима, дозирању, начину примене, ранијем коришћењу препарата, ту спадају и разни суплементи и биљни препарати, употреби придружених лекова, конзумирању алкохола и постојању хроничних болести јетре. Чак позитивна породична анамнеза о појави нежељених реакција на лек може бити корисна у постављању дијагнозе DILI-ја⁶⁵⁻⁶⁸. При физикалном прегледу пацијенту треба проверити телесну температуру, присуство осипа или жутице. Посебно жутица треба пажљиво да се процени јер је то знак озбиљног оштећења јетре који указује на то да хитно треба обуставити примену суспектног лека. Трбало би обавити тестове функције јетре, укључујући серумске трансминазе, ALP, GGT, билирубин укупни и директни, амлазе, као и хематолошке тестове који подразумевају број еозинофила и тестове коагулације. Класификација типа оштећења јетре би требало да се процени што раније јер су клинички ток, могућа етиологија и узрочни лекови другачији за различите типове оштећења. Серолошким тестовима, или ако је потребно imaging методама би требало искључити друге узрочнике, као што су вирусне инфекције, аутоимуне болести јетре, билијарне болести. DILI случајеви са озбиљним хепатитисом који показују пораст серумског билирубина на преко 3x ULN могу да доведу до инсуфицијенције јетре и требало би да се пажљиво третирају уз упућивање хепатологу након искључивања свих суспектних лекова. Мада случајна, поновна примена узрочног лека може да допринесе постављању дијагнозе DILI-ја, она може да доведе до озбиљног оштећења јетре и може чак да буде фатална, тако да се то не препоручује. Штавише, могућност за настанак DILI-ја треба да буде процењена коришћењем дијагностичких скоринг система, као што су CIOMS/RUCAM критеријуми. Међутим још увек не

постоји сет дијагностичких критеријума који би представљао златни стандард. Иницијални третман обично подразумева обустављање даље примене лека. Ако узрочни лек не може да се обустави јер пацијент прима већи број лекова или је постојећа болест озбиљна, са лечењем може да се настави уз посебну предострожност. Додатни тестови, као што су DLST, LMT, или тест продукције цитокина могу бити од користи приликом идентификације узрочног лека.

1.2.11. Закључак

DILI је јако комплексан проблем за клиничаре на Клиници за кардиологију због своје разнолике клиничке презентације и озбиљних последица по пацијента. Иако је оштећење јетре често благо и не захтева лечење ових пацијената, DILI може да доведе до озбиљног хепатитиса са смртним исходом. Тако да, адекватно иницијано лечење које подразумева и иницијално, промптно искључење лека или максимално смањење дозе, након добијања тачне дијагнозе је важно за лекаре. Иако је забележено да је инциденца DILI-ја у порасту тешко је одредити прецизну учесталост због недостатка глобалног система за праћење и недостатка златног стандарда за дијагнозу. Успостављање глобалног система за праћење нежељених ефеката лекова и успостављање златног стандарда за дијагнозу DILI-ја требали би да буду један од приоритета кардиолога, фармаколога, гастроентерохепатолога и других истраживача који се баве фармаковигиланцом. То би редуковало DILI и довело до практичних препорука и закључака у вези будућег третмана DILI-ја.

1.3. АМЈОДАРОН И DILI

1.3.1. Увод

Акутна хепатотоксичност је у данашње време један од највећих проблема фармаковигиланце и водећи узрок прекида терапије леком из безбедоносних разлога. Познато је да у клиничкој пракси амјодарон може да проузрокује нежељене ефекте на јетру, који се у неким случајевима испољавају и као права хепатотоксична реакција¹¹². Хепатички поремећаји изазвани амјодароном су најчешће асимптоматски и детектују се кроз повећање јетрених ензима и других биохемијских параметара крви. Повећање нивоа ензима јетре је најчешће хронично, умерено и реверзибилно, па мали број пацијената захтева прекид терапије амјодароном. Међутим, код неких болесника ови

поремећаји су праћени и значајним клиничким симптомима и појавом озбиљних обољења као што су хепатитис, цироза или холестаза^{113,114}. У најтежој форми, описани су фатални исходи због хепатотоксичности изазване амјодароном¹¹⁵. У целини узев, клиничка испољавања хепатотоксичности амјодарона су варијабилна и то по учесталости, клиничким ентитетима, временском обрасцу јављања, патоанатомским карактеристикама и крајњим исходима као и одговору организма на укидање или наставак примене овог лека. Последишно, многи аспекти хепатотоксичности амјодарона нису довољно познати, посебно молекуларни механизам и интеракције са другим хепатотоксичним чиниоцима односно факторима који ово нежељено дејство могу да предиспонирају.

Имајући у виду епидемиолошке карактеристике, постоји интерес за детаљнијим увидом у опште и специфичне параметре морбидитета и морталитета амјодароном индуковане лезије јетре. Наиме, процена преваленце оштећења јетре је врло широка, у распону од 2.2-50%, што је сазнање које је, само по себи а без увида у друге придружене факторе, од малог значаја за лекаре практичаре. С друге стране, познавање инциденце у специфичним субпопулацијама болесника, као што су хоспитализовани болесници, је од посебног интереса, а о томе, за сада нема довољно валидних података. Други, мање познати чиниоци или разлике у методолошком приступу, могу бити од пресудног значаја за детекцију овог нежељеног дејства амјодарона. Примера ради, у једној студији критеријум за идентификовање хепатотоксичности амјодарона су били крупни клинички догађаји (појава искључивања амјодарона или смањења његове дозе) тако да су друге релевантне околности нпр. непрепознати или асимптоматски случајеви, биле изван домашаја те студије. Дакле, дијагноза овог нежељеног дејства би требала да се заснива не само на клиничким критеријумима већ и на детекцији специфичних биомаркера хепатоцелуларног и/или холестатског оштећења пре него што се учини епидемиолошка анализа која ће дати поуздане податке.

1.3.2. Биомаркери

ОТС је ензим који катализује реакцију стварања цитрулина из л-орнитина и карбамоил фосфата у јетри и танком цреву. Ген за ОТС је лоциран на кратком краку Х хромозома (Хр11.4)¹¹⁶. Код сисара готово у потпуности се налази у митохондријама хепатоцита и део је циклуса урее. Његова активност се повећава како у акутној тако и хроничној болести јетре. Висока концентрација ензима ОТС у ткиву јетре у односу на

друга ткива указује на то да је ензим специфичан за јетру а минимални степен оштећења хепатоцита врло брзо ствара детектабилно повећање ензима у крви.

Жучне киселине су хидроксилирани стероиди који се стварају у јетри од холестерола и регулишу енергетску хомеостазу, активирају нуклеарне рецепторе и сигналне путеве у ћелији и контролишу ћелијску пролиферацију и инфламаторне процесе у јетри и гастроинтестиналном тракту. Жучне киселине су највћа органска једињења синтетисана из холестерола важна за апсорпцију липида из ГИТ-а¹¹⁷. Последице, промене у метаболизму жучних киселина могу бити биохемијски параметар оштећења јетре^{118,119}.

Улога предиспонирајућих чинилаца за настанак амјодароном индуковане хепатотоксичности је такође недовољно јасна. Зна се да је ово нежељено дејство, већином дозно-зависно тако да су примена већих доза, продужена терапија и укупна кумулативна доза препознати додатни фактори ризика. Познате су и разлике између фармацеутских облика лека. Хепатотоксичност након интравенске примене амјодарона најчешће се одвија по обрасцу различитом од оног након оралне формулације, јер чешће има акутни, нагли почетак, тежи клинички ток и неповољнији исход¹²⁰. Код оралне формулације лека почетак је постепен, патогенетски процес дуготрајан и асимптоматски, симптоми и знаци се јављају касно, и завршава се најчешће микронодуларном цирозом јетре узрокованом ниским дневним дозама оралног амјодарона у дужем периоду¹³. С друге стране, улога других важних клиничких фактора попут старости, пола, нутритивног статуса, придружених кардиолошких и других болести, тежине основног обољења и коморбидитета, лекова и других сличних чинилаца у развоју амјодароном индуковане хепатотоксичности, као и њихове међусобне интеракције, је скоро непозната. То је један од разлога да је тачна магнитуда ризика од оштећења јетре амјодароном скоро потпуно непозната што захтева даље студије циљаног дизајна укључујући и фармакоепидемиолошке методе¹⁸.

1.3.3. Патогенеза DILI-ја узрокованог амјодароном

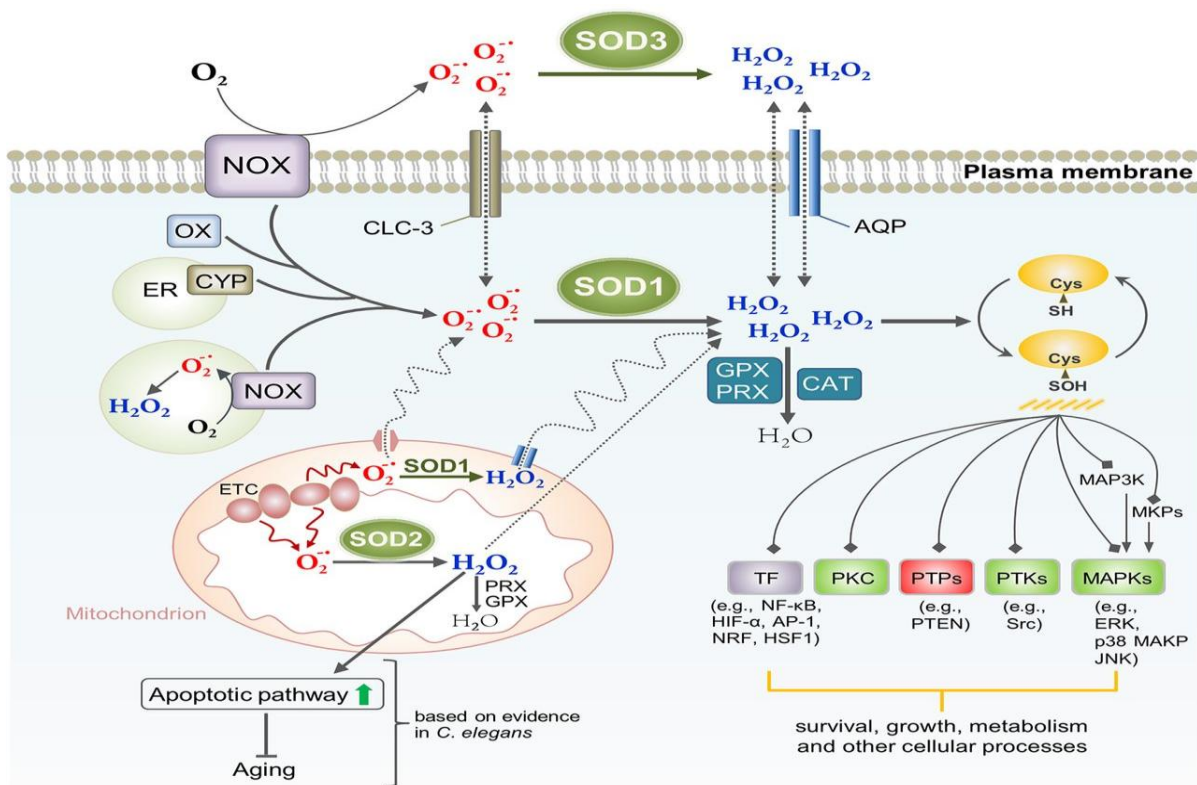
Поједини аспекти патогенезе, а посебно молекуларних механизма, у развоју хепатотоксичности амјодарона су непознати. Амјодарон се акумулира у ткивима и ћелијама, оштећујући фосфолипидне мембране, лизозиме и митохондрије. Идиосинкразија, хиперсензитивност, токсичност на ексципијенс (код интравенске формулације) и исхемија због пропратне кардиоваскуларне депресије су неки од претпостављених, али значајем и ближим сигналним путевима, недовољно

расветљених механизма токсичности. Познато је да амјодарон може да блокира фосфолипазу А, ензим важан за метабилизам фосфолипидних мембрана, али је утицај на друге сигналне молекуле слабо познат. Зна се да амјодарон повећава синтезу водоник пероксида (H_2O_2) што доводи до стања оксидативног стреса као што је нпр. липидна пероксидација¹²¹. Дакле, утицај на ензиме који синтетишу прооксидативне или антиоксидативне ендogene супстанце су један од могућих и још увек недовољно расветљених механизма.

1.3.4. SOD 2

Неколико студија је доказало повезаност токсичних ефеката амјодарона и активности супероксид дизмутазе (SOD), важног ензима одбране од оксидативног стреса, као нпр. код индукције плућне фиброзе¹²² или оштећења појединих ћелијских линија¹²³. С друге стране, амјодарон није мењао активност SOD у еритроцитима узорака крви у студији серије малог броја болесника¹²⁴. Разлике у опсервираним ефектима амјодарона могле би добрим делом да потичу од различите ткивне и/или целуларне дистрибуције појединачних форми овог ензима у ткивима. Наиме, супероксид дизмутаза се јавља у три форме, које су детерминисане са три различита гена: солубилна (SOD1), митохондријална (SOD2) и екстрацелуларна (SOD3) (Слика 4).

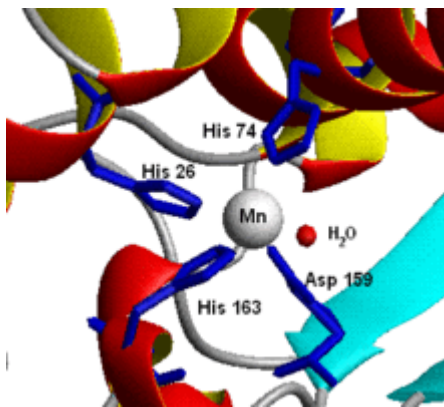
Слика 4. Солубилна, митохондријална и екстрацелуларна SOD



слика преузета из рада: Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. J Cell Biol 2018;217(6):1915-1928. doi: 10.1083/jcb.201708007.

Селективно дејство амјодарона на поједине изоформе није довољно испитано те се за сада не може искључити. Имајући у виду чињенице о ткивној и субцелуларној локализацији амјодарона, претпоставка да се токсични целуларни ефекти амјодарона остварују примарно или већим делом путем митохондријалне форме, SOD2, чини се врло вероватном (Слика 5).

Слика 5. Активно место хумане Mn супероксид дисмутазе (SOD2)



преузето са: https://en.wikipedia.org/wiki/Superoxide_dismutase

Додатни фактори би такође могли утицати на дејство амјодарона на SOD, а један од њих је и генетски полиморфизам. Генетске варијанте постоје код сва три SOD ензима, а у појединим случајевима показано је да оне имају значајне токсиколошке аспекте. Тако је нпр. у једној студији откривено да су варијације SOD1 биле значајно повезане са ризиком од појаве хепатотоксичности антитуберкулотика¹²⁵. Слично, генетска мутација SOD2 која на позицији 16 пептидног ланца узрокује замену валина и аланина, је значајно чешће удружена са појавом хепатотоксичности узроковане лековима⁶⁸. С друге стране, варијанта SOD3 ензима није утицала на фармаколошке особине три цитостатска лекова већ генетске мутације NAD(P)H дехидрогеназе, хинон 1 ензима¹²⁶. Према подацима из доступне литературе, утицај генетског полиморфизма SOD ензима на могућу токсичност амјодарона, укључујући и оштећење јетре, до сада није испитиван. Наиме, у поменутој студији у којој је указана веза SOD2 полиморфизма и хепатотоксичности лекова само код 12% болесника узрок оштећења јетре су били кардиоваскуларни лекови, а ни код једног сам амјодарон⁶⁸.

Сходно наведеном, испитивање утицаја генетског полиморфизма SOD2, самостално и удружено са другим потенцијалним факторима ризика који се могу установити у клиничким условима на појаву хепатотоксичности удружене са употребом амјодарона је теоријски утемељено. Додатно, резултати таквог истраживања, подупрети епидемиолошким подацима, би имали практични значај на пољу превенције нежељених дејстава лекова у клиничкој пракси.

1.3.5. Клиничка, патоанатомска и лабораторијска презентација DILI-ја узрокованог амјодароном

Неуобичајна форма DILI-ја је микровезикуларна масна јетра која може да настане услед примене амјодарона¹²⁷⁻¹²⁹. Ова форма DILI-ја се карактерише накупљањем микровезикуларне масти у хепатоцитима и смањењем броја митохондрија. Ово оштећење може последично да прогедира до макровезикуларне масне јетре са фокалном некрозом, фиброзом, холестазом и пролифеацијом жучних путева¹²⁷. Клинички, пацијенти са леком изазваном митохондријалном токсичношћу могу имати повраћање, губитак тежине и умор. Лабораторијски тестови често показују присуство хипергликемије, хиперамонијемije, лактатне ацидозе, али само благи пораст серумског ALT-а^{128,129}.

Као што је истакнуто од стране Mattar и сарадника, највећи број случајева оштећења јетре узрокованог амјодароном је ограничен на симптоматски скок трансминаза који се повлачи или спонтано или након редукције дозе. Они су испитивали употребу амјодарона у популацији од 409 пацијената за које се претпостављало да могу да буду у већем ризику за токсичност због већ постојећих поремећаја јетре услед метаболичког синдрома, повећане употребе статина и у великом броју случајева срчане инсуфицијенције. Насупрот очекивањима није било случајева клиничког хепатитиса, цирозе или смртог исхода узрокованих терапијском применом амјодарона у посматраној популацији током просечног периода посматрања од три године¹³⁰. Слично, већ постојећа дисфункција јетре није имала предиктивни значај у скоку трансминаза у популацији од 720 кинеских пацијената. Kim и сарадници су показали не само да је велики део њихове популације пацијената који узима амјодарон имао абнормалност ALT-а у основи већ и да инциденца значајне дисфункције јетре није била статистички значајно различита код пацијената са или без почетног повећања ALT-а¹³¹. Хистолошке промене у јетри које се јављају код пацијената који конзумирају алкохол су веома сличне онима код пацијената који примају амјодарон^{132,133}. Као и алкохол

амјодарон у различитом степену може да изазове микростеатозу, апоптозу и некрозу хепатоцита. За амјодарон се може показати да има дозно зависни ефекат на јетру при чему постоје разлике у сензитивности на оштећење у оквиру популације¹²⁴. Када се користи у малим дозама, амјодарон слично алкохолу изазива токсичност само при необичним околностима, иако се кумулативна доза најчешће наводи као индикатор повећаног ризика за хепатотоксичност. Mattar и сарадници су користећи своју и претходне студије правилно закључили да кумулативна доза нема велики утицај на преваленцу хепатотоксичности узроковане амјодароном^{124,130,134}. Због полуживота од 55 дана амјодарону је потребно 6-8 месеци да постигне равнотежно стање тј. да количина лека која се унесе у организам буде једнака количини која се елиминише¹³⁵, што је временски оквир на основу ког се базира већина студија која проучава везу између кумулативне дозе и токсичности. Временски период током ког кумулативна доза показује неку повезаност са утицајем на јетру може да се продужи и на преко осам месеци у зависности од индивидуалних карактеристика пацијента, фармакокинетице, промене телесне тежине, интеракције међу лековима или чак аутоинхибиције метаболизма. Међутим кумулативна доза само сумира брзину дозирања и време примене лека док се прави ризик изложености оштећењу најбоље процењује праћењем значајних промена које настају током постојања равнотежног стања концентрације лека. Лекари ово примењују као уобичајну процедуру за антиепилептике и дигоксин али због претерано великог временског опсега који је узрокован фармакокинетиком амјодарона велики део лекара одбија праћење амјодарона као безбедоносну меру. У извештајима који сумирају све публикације у којима се помиње хепатотоксичност процена скока трансаминаза узрокованог амјодароном варира између 4-50% пацијената. Међутим у новијим извештајима се долази до закључка да је проценат много већи од 4%¹¹². Хепатотоксичност која прати оралну примену амјодарона се јавља у 1-3% пацијената док је она која се јавља током интравенске примене амјодарона ретка али може бити повезана са драматичним скоком трансаминаза¹³⁶. Презентација акутне хепатотоксичности варира од благо асимптоматског скока серумских трансаминаза до фулминантне инсуфицијенције јетре. Акутна хепатотоксичност која прати интравенску примену амјодарона је ретка и јавља се годишње у око 1% случајева који примају интравенски амјодарон и може да доведе до фаталног исхода. Huang и аутори су приказали своје искуство са 802 пацијента који су примали интравенски амјодарон код којих се хепатотоксичност јавила у 12.6 % (101 од 802 пацијента) од којих су многи случајеви хепатотоксичности били благи¹³⁷. Код њих се озбиљан скок трансаминаза јавио у 1,1% (n=9), што је 8.9% од свих са скоком трансаминаза¹³⁷. Често исхемија

јетре која је узрокована хемодинамском нестабилношћу до које доводи најчешће аритмија абсољута или срчана инсуфицијенција код кардиолошких пацијената може да потпомогне настанку хепатотоксичности узроковане амјодароном^{2,112}. Gluck и аутори су показали сличности у хистолошкој слици кардијалне јетре и хепатотоксичности узроковане амјодароном¹⁸. Доступна литература тврди да амјодарон може безбедно да се примењује оралним путем чак и код пацијената који су развили хепатитис услед претходне интравенске примене амјодарона^{137,138}.

1.4. ДОПРИНОС СТУДИЈЕ

Очекује се да ће ова студија омогућити детаљнију анализу повезаности нових и до сада недовољно испитаних фактора ризика као и утицај комбинације ових прогностичких фактора на појаву хепатотоксичности код пацијената који су истовремено и лечени амјодароном. Очекивани резултати студије показале да су неки од до сада непознатих фактора ризика повезани са настанком хепатотоксичности код особа које истовремено узимају амјодарон. Такође, биће могуће идентификовати и евентуалне протективне чиниоце и предиспонирајуће факторе ризика на основу вредности укрштеног односа шансе. Од посебног интереса је сагледавање утицаја полиморфизма гена за SOD2 ензим који учествује у оксидативној одбрани, као и других клиничких фактора који су до сада недовољно испитивани. Ова сазнања ће створити теоријску основу за даље практичне кораке у циљу елиминисања фактора ризика, редукације инциденције болести, смањења морбидитета и морталитета а самим тим и трошкова лечења који представљају значајно оптерећење за здравствени систем. С обзиром да су подаци у доступној литератури за дату популацију болесника оскудни и често контроверзни, очекује се да ће резултати студије представљати оригинални допринос у области расветљавања механизма и значаја хепатотоксичности удружене са употребом амјодарона код хоспитализованих болесника.

2.0. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1. ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ

Примарни циљеви ове студије су следећи:

1. одређивање значајности и магнитуде утицаја амјодарона на појаву новонастале хепатотоксичност код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници, без претходне лезије јетре, а који примају амјодарон;
2. одређивање прогностичког значаја додатних, до сада недовољно испитаних фактора ризика за настанак хепатотоксичности код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници, без претходне лезије јетре, а који примају амјодарон;
3. анализа утицаја генетског полиморфизма супероксид дизмутазе 2 (SOD2) на појаву хепатотоксичности код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници, без претходне лезије јетре а који примају амјодарон.

Додатни циљ истраживања је био и одређивање општих и специфичних епидемиолошких параметара морбидитета у вези са хепатотоксичношћу изазване амјодароном. Међутим, због недостајања многих података, увидом у историје болести, није било могуће прикупити поуздане информације у укупном броју DILI-ја и укупном броју изложених, те тај циљ није било објективно могуће достићи.

2.2. ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

1. кардиолошки пацијенти представљају популацију пацијената коју одликују многе карактеристике које су у суштини фактори ризика за лезију јетре, посебно лекови, поједине социо-демографске карактеристике и коморбидитети код лечених болесника, при чему је утицај амјодарона значајан, доминантан у односу на друге лекове и независтан од других чинилаца;

2. присуство срчане слабости тешког степена представља значајнији предиспонирајући фактор за појаву хепатотоксичности него присуство других хепатотоксичних ризика код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници, без претходне лезије јетре, а који примају амјодарон;

3. генетска мутација SOD2 која на позицији 16 пептидног ланца узрокује замену валина и аланина, је значајно чешће удружена са појавом хепатотоксичности код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници, без претходне лезије јетре, а који примају амјодарон.

Једна од хипотеза у иницијалном плану студије је била да је преваленца асимптоматских и клинички манифестних облика лезије јетре код болесника са кардиоваскуларним болестима лечених у болници без претходне хепатичне лезије и који примају амјодарон виша од 30% што ову субпопулацију болесника сврстава у високоризичну категорију за појаву хепатотоксичности. Имајући у виду наведено у циљевима студије, таква хипотеза није могла да буде и доказана због присуства недовољно поузданих или одсутних података у анализираним историјама болести због чега није било могуће прикупити поуздане информације о укупном броју DILI-ја и укупном броју изложених.

3.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Истраживање је спроведено у два дела од којих је један обухватио ретроспективно прикупљање података и последичну анализу са једним опсервационим дизајном, студија типа „случај-контрола“ (појава хепатотоксичности), и други који је био проспективна контролисана студија, дизајнирана према кохорти болесника који имају хепатотоксичност и примају амјодарон^{18,139}. Истраживање је спроведено у Клиници за кардиологију Клиничког центра „Крагујевац“ у Крагујевцу, према етичким принципима научно-истраживачког рада а по одобрењу надлежног Етичког одбора.

У иницијалном плану студије планирано је било да студија има два опсервациона дизајна, студије типа „случај-контрола“ (појава хепатотоксичности) и кохортне студије (изложеност фактору ризика-амјодарону). Због разлога наведених у циљевима и хипотезама студије, а посебно због недостајућих и недовољно поузданих података за одређени број испитаника о дози, начину примене, DDD амјодарона, тачном датуму увођења и искључивања амјодарона у хоспиталним условима у доступној медицинској документацији, објективно није било могуће сврстати кохортни део студије а да се добију валидни резултати.

3.2. СТУДИЈСКА ПОПУЛАЦИЈА

Студијска популација је обухватила особе са кардиоваскуларним болестима лечене у Клиници за кардиологију Клиничког центра „Крагујевац“ у Крагујевцу. На основу исхода тј. дијагнозе хепатотоксичности, као и примене амјодарона, болесници су били распоређивани у групе сходно студијском дизајну и то група „случај“ (ретроспективна студија „случај-контрола“), експериментална група (проспективна контролна студија), и одговарајуће контролне групе.

Иницијални план студије је предвиђао и распоређивање испитаника у групу „ризик“ (ретроспективна кохортна студија) и њој припадајућу контролну групу, али због разлога напред наведених тај део студије објективно није могло да буде спроведен.

3.2.1. Узорковање студијске популације

3.2.1.1 Ретроспективна опсервациона студија

Укупну доступну популацију су чинили болесници лечени од кардиоваскуларних обољења у поменутој установи, у периоду од 10 година, 2014.г.-2005.г. Из доступне популације болесника, сукцесивно, ретроактивно, почев од најскоријег временског интервала су укључивани сви случајеви клинички манифестне хепатотоксичности, који задовољавају укључујуће а немају искључујуће критеријуме. За сваки одабрани случај, одабрана су три контролна испитаника тако што су, почев од дана када је код датог болесника у групи случаја идентификована хепатотоксичност, одабране особе истог пола, унутар сличне старосне категорије (до две године млађи или старији) сукцесивно, ретроспективно, а према укључујућим и искључујућим случајевима за контролну групу. Одабир болесника се вршио на описани начин до броја прорачунатог за укупни студијски узорак. Целокупна популација таквих болесника је чинила ретроспективну кохорту, унутар које је формирана студија са дизајном „случај контрола“.

3.2.1.2. Проспективна контролисана студија

Укупна доступна популација су били болесници који су се актуелно, у тренутку извођења студије, лечили у хоспиталном одељењу Клинике за кардиологију Клиничког центра „Крагујевац“, у Крагујевцу, а који у тренутку хоспитализације нису имали симптоме и знакове акутне или хроничне лезије јетре. Током хоспитализације идентификовани су болесници са појавом хепатотоксичности који су примали амјодарон („експериментална група“) и њима су били придружени болесници који нису примали амјодарон и који нису имали хепатотоксичност („прва контролна група“) као и болесници који су примали амјодарон и који нису имали хепатотоксичност („друга контролна група“). За сваки одабрани случај су одабрана по два контролна испитаника тако што су биле одабране особе истог пола, унутар сличне старосне категорије (до две године млађи или старији) до броја предвиђеним прорачуном студијског узорка.

Друга контролна група је укључена с обзиром да једном контролном групом нису могли да буду обухваћени сви пацијенти који су под ризиком за настанак амјодароном индуковане хепатотоксичности, као и да се свеобухватније сагледа утицај генотипа SOD2 на испољавање хепатотоксичне реакције.

3.2.2. Критеријуми за укључивање

Критеријуми за укључивање су били општи, за студије оба дизајна („случај контрола , и проспективни контролни “) као и специфични за студијски дизајн.

3.2.2.1. Општи критеријуми за укључивање у истраживање

- о болесник мушког или женског пола, старости од 18 до 75 година;
- о болесник лечен у Клиници за кардиологију Клиничког центра „Крагујевац“ у Крагујевцу

3.2.2.2. Критеријуми за укључивање у групу „случај“ опсервационог дизајна

- о припадност одабраној, ретроспективној кохорти;
- о болесник са клинички значајном хепатотоксичношћу током боравка у болници а која је идентификована као било које од следећег: пораст ензима јетре за више од три пута од горње границе референтних вредности, тотални билирубин виши од два пута од горње границе референтних вредности и/или клинички манифестни симптоми акутног оштећења јетре (бол испод десног ребарног лука, мука, гађење, повраћање, иктерус, хеморагични синдром, болови у абдомену, хепатомегалија).

3.2.2.3. Критеријуми за укључивање у „експерименталну групу“ проспективне студије

- о болесник са клинички значајном хепатотоксичношћу током боравка у болници а која је идентификована као било које од следећег: пораст ензима јетре за више од три пута од горње границе референтних вредности, тотални билирубин виши од два пута од горње границе референтних вредности и/или клинички манифестни симптоми акутног оштећења јетре (бол испод десног ребарног лука, мука, гађење, повраћање, иктерус, хеморагични синдром, болови у абдомену, хепатомегалија);
- о болесник који прима амјодарон.

3.2.2.4. Критеријуми за укључивање у контролне групе

Критеријуми за укључивање у контролне групе, укупно три (две за проспективну контролну и једна за ретроспективну кохорту), следили су опште и специфичне критеријуме за дати дизајн са претходно описаним разликама у односу на групу „случаја“ (одсуство хепатотоксичности) и „експерименталну“ групу (одсуство примене амјодарона и хепатотоксичности - прва група и примена амјодарона и одсуство хепатотоксичности - друга контролна група).

3.2.3. Критеријуми за неукључивање у студију

- о болесници оба пола, млађи од 18 и старији од 75 година;
- о болесници са дијагностикованим оштећењем јетре, акутног или хроничног карактера, стање после вирусног хепатитиса Б, Ц, цироза јетре, Вилсонова болест, порфирија, алфа-1 антитрипсин дефицијенција, примарна билијарна цироза, примарни склерозирајући холангитис, наркоманија на пријему;
- о болесници са билијарном калкулозом, холециститисом, панкреатитисом;
- о болесници са траумом абдомена;
- о етилизам, алкохолни индекс $AST/ALT > 2$, на пријему;
- о болесници са високим вредностима AST, ALT, GGT, ALP, билирубин укупни, билирубин директни, ниске вредности тромбоцита, на пријему.

3.2.4. Критеријуми за искључивање из проспективне, контролне студије

У узорцима крви болесника су накнадно одређиване концентрације додатних биомаркера хепатотоксичног оштећења, који се не одређују у условима рутинске клиничке праксе, али су неопходни у претклиничким и клиничким истраживањима која се тичу појава оштећења јетре лековима (DILI-Drug-Induced Liver Injury) (препоруке Европске агенције за лекове, www.ema.europa.eu). Сходно томе, из студије су били накнадно искључени болесници код којих је установљено следеће:

- о одсуство потврде хепатоцелуларног и/или хепатобилијарног оштећења потврдним анализама биомаркера, за болеснике у „експерименталној“ групи;
- о присуство хепатоцелуларног и/или хепатобилијарног оштећења установљено потврдним анализама биомаркера, за болеснике у контролним групама.

3.3. ПЛАН СТУДИЈЕ

Студија је спроведена у Клиници за кардиологију Клиничког центра „Крагујевац“ у Крагујевцу. У ретроспективној студији, студијску популацију су чинили пацијенти који су лечени у клиници у протеклих десет година а подаци су прикупљани увидом у историје болести пацијената. Кључни догађај у овој студији је била појава нове, акутне лезије јетре, тако да су такви болесници били сврстани у групу „случај“ а њима су били придружени болесници без те лезије, у групи контрола. Даљи клинички исходи осим фаталног исхода (након појаве хепатотоксичности) нису били предмет овог истраживања тако да су болесници у проспективној студији били праћени до узорковања крви и прикупљања свих потребних података, а у ретроспективној кохорти закључно са датумом појаве акутне лезије јетре. У проспективну студију су били укључивани болесници код којих се током хоспитализације појавила акутна лезија јетре, као и у ретроспективној студији, који су примали амјодарон и њима су били придружени болесници без такве лезије који не примају амјодарон а који су чинили прву контролну групу, као и болесници без такве лезије јетре који примају амјодарон а који су чинили другу контролну групу.

3.4. СТУДИЈСКЕ ПРОЦЕДУРЕ

3.4.1. Узорковање крви, одређивање биомаркера хепатотоксичног оштећења и генетски полимиорфизам SOD2

Узорци крви болесника су се користили ради одређивања биомаркера хепатотоксичног оштећења и генетског полимиорфизма SOD2, а само за проспективну, контролисану студију. Током болничког лечења, а симултано са узорковањем за рутинске хематолошке и биохемијске анализе, према ординацији и клиничкој процени надлежног кардиолога, крв је узоркована у додатне две епрувете, у запремини од по 10 ml. Једна епрувета је центрифугирана а издвојени серум се чувао замрзнут, на -20°C, до одређивања орнитин карбамоилтрансферазе (ОТС), маркера хепатоцелуларног оштећења и укупних жучних киселина (Total Bile Acids - TBA), маркера холестазног (хепатобилијарног) оштећења. ОТС је био одређиван ензимским имуносорбентим тестом („Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay“-ELISA) методом а TBA спектрофотометријском методом на стандардном биохемијском анализатору. Методолошки приступ за одређивање ОТС и TBA је заснован на претходно

публикованим студијама где су коришћене дате методе у циљу детекције хепатичког оштећења у клиничким условима^{140,141}. Концентрација орнитил-карбамоил трансферазе (Ornithine Carbamoyl Transferase) у серуму одређивана је сендвич ELISA методом (ElabScience), према протоколу произвођача. Крв је узоркована у прокоагулационе епрувете и остављана пола сата на собној температури. Након тога крв је центрифугирана на 3000 g у трајању од 15 минута и издвајан је серум који је чуван на -20°C до извођења есеја. Због очекиваних виших вредности, серуми су дилуирани у односу 1:5 са дилуентом обезбеђеним у киту, а резултат који је прочитан на 450 nm, је множен овим корективним фактором. Концентрација укупних жучних киселина–ТВА (Total Bile Acid) одређена је спектрофотометријски према протоколу. Крв је узоркована у прокоагулационе епрувете и остављена пола сата на собној температури. Након тога крв је центрифугирана на 3000 g у трајању од 15 минута и издвојен серум који је чуван на -20°C до извођења есеја. Акоришћени реагенси су tio-NAD 0.9 gr/l, NADH 6 gr/l и 3 α -HSD 12 500U/L. У присуству tio-NAD, ензим 3 α -HSD претвара жучне киселине у 3-кето стероиде и tio-NADH. Реакција је реверзибилна и може да се одвија и у супротном смеру. У присуству вишка NADH ензимски циклус се ефикасно дешава и брзина формирања tio-NADH је одређена мерењем специфичне промене апсорбанце на 405nm². Минимална запремина узорка је 0.5ml а обртно време један дан. Други узорак крви је коришћен за екстракцију ДНК и потоњу анализу генетског полиморфизма SOD2 ради утврђивања присуства Val16Ala варијанте (rs4880) сходно претходно описаним методама такође коришћеним у клиничким студијама^{65,142}.

3.4.2. Анализа каузалности хепатотоксичности лекова

Могућа узрочност лека са акутним оштећењем јетре је била процењена за сваког болесника коришћењем Нарањо скорa, општег упитника за одређивање каузалности нежељених дејстава лекова као и CIOMS/RUCAM скале, упитника који је специфично дизајниран за процену каузалитета хепатотоксичности лекова, биљних принципа и других ксенобиотика. Оба ова упитника су већ коришћена у бројним клиничким студијама и валидирана су као признати метод процене каузалитета нежељених реакција на лекове^{51,87}.

3.4.3. Класификација и ниво употребе лекова

Лекови су били класификовани према АТС класификацији Светске здравствене организације (http://www.whooc.no/atc_ddd_index). Изложеност болесника лековима за које је процењено да постоји значајна вероватноћа каузалитета са оштећењем јетре је била изражена у дефинисаним дневним дозама на 1000 болесничких дана.

3.4.4. Допунска клиничка дијагностика

Током проспективне, контролисане студије користили су се детаљни подаци допунске, клиничке дијагностике која је од значаја за варијабле истраживања, а која је спровођена сходно клиничкој процени надлежног кардиолога. Подаци рутинских биохемијских анализа, ултразвучних и других прегледа су коришћени ради ближе класификације кардиолошких поремећаја од значаја за удруженост са хепатотоксичношћу, посебно присуства и стадијума срчане инсуфицијенце (ЕКГ налаз, ејекциона фракција, рго-BNP, вредности тропонина и миокардијалних ензима, налази коронарографије и друго), као и ултразвучна валидација хепатотоксичности (хепатобилијарна сонографија, доплер крвних судова јетре и друго), како је прикладно за датог болесника. Основни циљ допунске дијагностике је поуздана идентификација присуства хепатотоксичности одн. њене одсутности (зависно од студијске подгрупе). С тим у вези, све поменуте методе нису морале бити коришћене код сваког појединачног болесника (посебно за податке ретроспективне кохорте). Категоризација болесника према присуству одн. одсуству хепатотоксичности је била обављана на основу консензуса клиничке процене најмање два истраживача студије и ординирајућег кардиолога, од којих је бар један специјалиста гастроентерохепатологије.

3.5. ВАРИЈАБЛЕ ИСТРАЖИВАЊА

Варијабле истраживања су класификоване у две групе: зависне и независне. У групи зависних и независних варијабли, одређена је по једна примарна варијабла и више секундарних варијабли. Дефинисане су, такође, и збуњујуће варијабле за које се зна да могу да модификују утицај амјодарона на примарни исход попут његове дозе или друга придружена кардиолошка и друга обољења^{124,130}.

Примарна зависна варијабла било је присуство хепатотоксичности.

Секундарне зависне варијабле су биле следеће:

- о вредности хепатичких параметара, изражене као континуирана нумеричка варијабла, у одговарајућим јединицама;
- о морфолошке лезије јетре, изражене као бинарна, категоријална варијабла;
- о клинички преглед: хепатомегалија, бол у пределу јетре;
- о ултразвучни налаз који указује на акутну лезију јетре;
- о налаз визуализационе дијагностике (СТ, MSCT, MRI) који указује на акутну лезију јетре;
- о налаз ERCP који указује на акутну лезију јетре;
- о вредности других биохемијских параметара крви: протеини, глукоза, уреја, креатинин, триглицериди, холестерол, електролити и друго.

Примарне независне варијабле биле су:

- о присуство Val16Ala полиморфизма (rs4880) SOD2, у проспективној, контролисаној студији;
- о узимање амјодарона.

Секундарне независне варијабле биле су следеће:

- о кумулативна доза амјодарона, до индексног дана;
- о начин примене амјодарона;
- о дефинисана дневна доза амјодарона на 100 болесничких дана;
- о време узимања лека, у односу на оброк;
- о болест миокарда:
- о степен срчане инсуфицијенције изражено као ејекциона фракција;
- о срчана фреквенца;
- о тип коронарне болести;
- о врста аритмије;
- о артеријска хипертензија;
- о болест перикарада;
- о старост пацијента;
- о пол;
- о респираторна инсуфицијенција;
- о гојазност;
- о нефротски синдром;
- о хипотермија;

- о ниво образовања и социјални статус;
- о занимање и радно место;
- о дијететске навике болесника
- о поремећај ацидобазне равнотеже;
- о пушење и напаци са кофеином;
- о брзина перисталтике црева;
- о хронична бубрежна инсуфицијенца;
- о дијететски суплементи, биљни препарати и други лекови у слободној продаји (“over the counter“)

Збуњујуће варијабле биле су следеће:

- лекови за које се зна да имају изражен хепатотоксични потенцијал (нпр. хиполипемиси, парацетамол, дантролен, сулфонамиди, валпроат, карбамазепин, нестероидни антиинфламаторни лекови, хлорпромазин, амоксицилин плус клавуланска киселина, сулфасалазин, флуклоксацилин, бетахистин, азатиоприн, хлорфенирамин, макролидни антибиотици, тетрациклини, метоклопрамид, антиепилептици и диклофенак¹⁴³).
- о присуство обољења или стања за које се зна да је удружено са значајном хепатотоксичношћу (цироза јетре, портна хипертензија, масна дегенерација, карцином јетрених ћелија, конгениталне аномалије, цистицеркоза, апсцес);
- о дијагностичко-терапијске процедуре за које се зна да могу узроковати лезију јетре (ендоскопска ретроградна холангиопанкреатографија; аспирациона биопсија јетре);
- о унос алкохола и психоактивних супстанци;
- о тровање, узимање печурки које изазивају некрозу хепатоцита (нпр. зелена пупавка);
- о изложеност хепатотоксинима радне средине;

3.6. ЕТИЧКИ И ОРГАНИЗАЦИОНИ АСПЕКТИ СТУДИЈЕ

Студија је спроведена као академско и непрофитно истраживање, према принципима Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације. Пре спровођења студије протокол истраживања и друга потребна документа су била достављена ради мишљења, одобрења, надлежном етичком одбору, Етичком одбору Клиничког центра „Крагујевац“. Истраживачи у студији су били квалификовани медицински експерти, са

искуством у области: клиничке фармакологије, интерне медицине са усмерењем за кардиологију и за гастроентерохепатологију, истраживачи доктори медицине. Финансијски аспекти истраживања су били усклађени са стандардима уобичајеним за домаћа академска истраживања и сходно некомерцијалној природи студије, усмерени на обезбеђивање материјалних трошкова.

3.7. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

3.7.1. Статистичка анализа

Статистичка анализа је обухватала прорачун величине узорка и статистичку обраду прикупљених података.

3.7.2. Прорачун величине студијског узорка

Прорачун студијског узорка је учињен за проспективну и ретроспективну студију посебно, коришћењем одговарајућег рачунарског програма, уз алфа грешку од 0.05, снагу студије 0.8, дихотомно обележје посматрања (χ^2 -тест)¹⁴⁴. Очекивана разлика у примарним варијаблама је одређена на основу ранијих студија и прелиминарне анализе.

Прорачун студијског узорка у ретроспективној кохорти је заснован на подацима прелиминарног увида у учесталост хепатоксичности, по дизајну пресека, на одељењу кардиологије КЦ Крагујевац. Од прегледаних болесника око трећина је имала симптоме и/или знакове лезије јетре а међу њима 42.5% је примало амјодарон. Код осталих болесника, без лезије јетре, учесталост примене амјодарона је била нижа за око 10% (32.5%) тако да је улазни количник шансе био 1.49 а однос 1:3 броја испитаника у две групе. Резултат прорачуна је одредио 280 испитаника у експерименталној групи и 840 у контролној, што чини укупни студијски узорак од 1120 болесника. План студије је предвиђао спровођење међуанализе и критеријум за даље укључивање нових болесника у случају достизања статистичке значајности утицаја амјодарона као фактора независно удруженог са појавом хепатотоксичности (DILI). Имајући у виду да је током спровођења студије тај циљ и достигнут, укупан број испитаника је био 560 болесника. Прорачун студијског узорка у проспективној, контролисаној студији је заснован на подацима о учесталости нормалног алела SOD2 и његове варијанте (rs4880) у 11 досадашњих студија (www.pharmgkb.org). Имајући у виду значајно варирање

учесталости фреквенце варијанте алела у појединим студијама, за прорачун је узета разлика његове учесталости између два перцентила интерквartilног ранга (13%-P25, 47%-P75), за однос броја болесника 1:1:1 у три групе. На овај начин, добијен је број испитаника од најмање 27 у свакој од група, тако да је укупан узорак утврђен на најмање 81 болесника док је укључивањем додатних испитаника коначан број болесника је био 87.

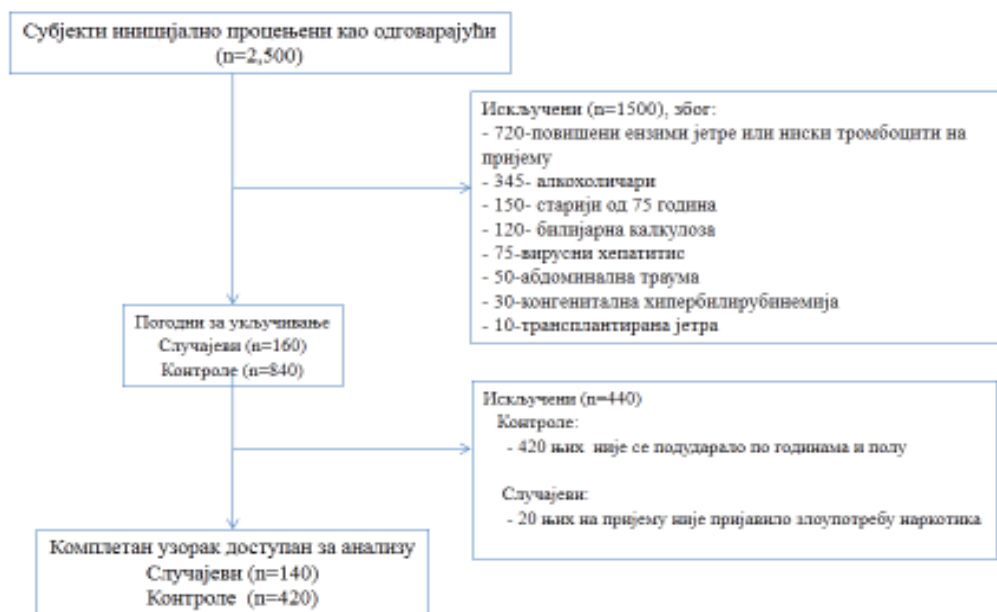
3.8. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

За континуалне варијабле биле су одређене мере централне тенденције и варијабилитета, док су за категоријске варијабле биле одређене учесталости по категоријама. У зависности од тога да ли континуалне варијабле прате нормалну расподелу или не била је испитана значајност разлике у вредностима варијабли помоћу Student T или Man-Whitney U теста. За тестирање значајности разлике у процентуалној заступљености категорија коришћен је χ^2 или Fisher-ов тест. Значај потенцијалних фактора ризика по групама и њихов утицај на исход је прво поређен „сировим“ унакрним односом шансе („crude odds ratio“-ом) уз 95% интервал поверења. Унакрсни однос шансе је затим био прилагођен за дејство више фактора коришћењем бинарне логистичке регресије чиме је одређено који фактор ризика утиче на настанак исхода независно од осталих фактора. За све статистичке прорачуне предвиђена је анализа током спровођења (“interim analysis”) и на крају студије након прикупљања и валидације свих потребних података. Статистичка анализа била је спроведена коришћењем одговарајућег рачунарског програма а граница значајности разлика у свим статистичким анализама је установљена на мање или једнако 5% (0.05). Однос сензитивности и специфичности приказан је ROC кривом.

4.0. РЕЗУЛТАТИ

4.1. РЕТРОСПЕКТИВНА СТУДИЈАСЛУЧАЈ-КОНТРОЛА

Студија је обухватила 2500 историја болести пацијената који су, током четворогодишњег периода трајања студије лечени у Клиници за кардиологију, Клинички Центар Крагујевац, Крагујевац, Србија. Након примарне процене подобности, искључили смо укупно 1500 историја болести због постојања елиминишућих фактора. Крајњи узорак је, након искључивања неподударних пацијената контролне групе и прецизније идентификације елиминишућих критеријума, укључио 140 историја болести које су чиниле групу случај и 420 историја болести које су чиниле групу контрола (Слика 6).



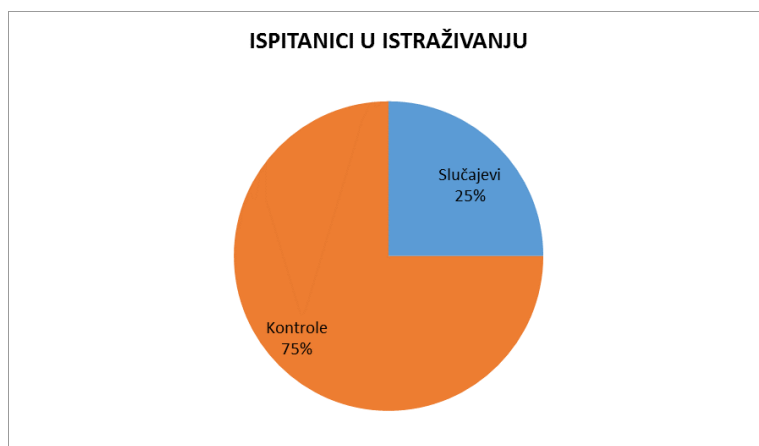
Од укупног броја испитаника, 140 (25,0%) је било случајева а 420 (75,0%) су биле контроле (Табела 1; Слика 7).

Табела 1. Структура испитаника у истраживању

Испитаници	n	%
Случајеви	140	25,0

Контроле	420	75,0
Укупно	560	100,0

Слика 7. Структура испитаника у истраживању



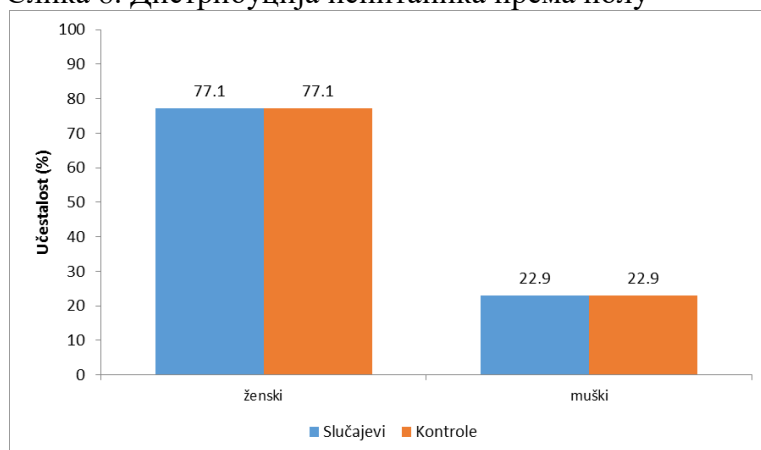
4.1.1. Демографске, социо-економске и клиничке карактеристике

Већина пацијената биле су жене (432 од укупног броја од 560, 77,1%). Код случајева мушког пола било је 77,1% а женског 22,9%, док је код контрола 77,1% било мушког и 22,9% женског пола (Табела 2; Слика 8).

Табела 2. Дистрибуција испитаника према полу

Пол	Случајеви		Контроле	
	n	%	N	%
женски	108	77,1	324	77,1
мушки	32	22,9	96	22,9
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 8. Дистрибуција испитаника према полу

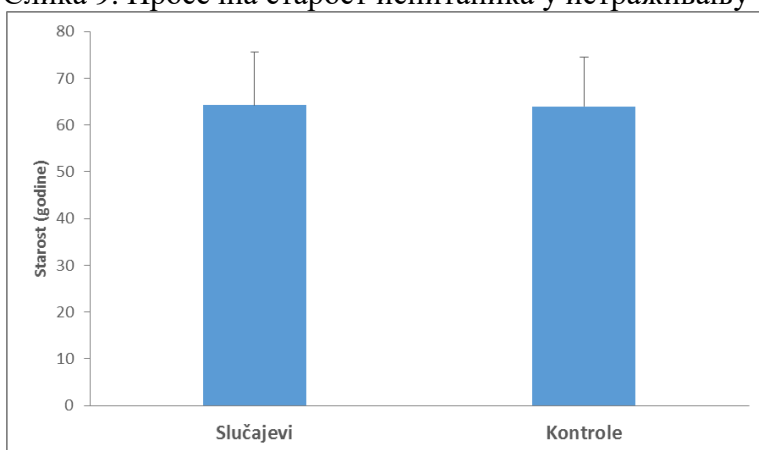


Просечна старост учесника у истраживању била је 64,1 година старости (уз стандардно одступање –SD, 10,7 година, од 24 до 85 година старости). Просечна старост случајева износила је $64,2 \pm 11,3$ година, док је просечна старост контрола износила $64,0 \pm 10,5$ година (Табела 3; Слика 9).

Табела 3. Просечна старост испитаника у истраживању

Старост (године)	n	\bar{x}	Sd	med	min	max
Случајеви	140	64,2	11,3	64,0	28,0	85,0
Контроле	420	64,0	10,5	64,0	24,0	85,0

Слика 9. Просечна старост испитаника у истраживању

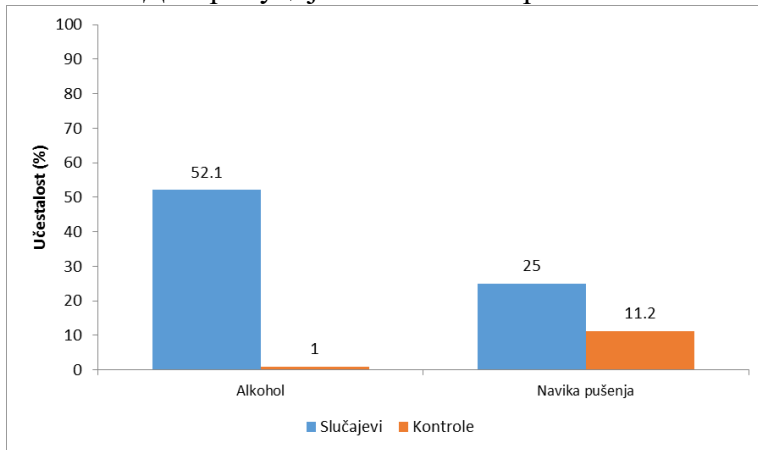


Само је мали број пацијената повремено конзумирао алкохол, док већина пацијената нису били пушачи. Конзумирање алкохола имало је 52,1% случајева и 1,0% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$). Навику пушења имало је 25,0% случајева и 11,2% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 4; Слика 10).

Табела 4. Дистрибуција испитаника према навикама

Варијабле	Случајеви		Контроле		p- вредност
	n	%	n	%	
Алкохол	73	52,1	4	1,0	
Навика пушења	35	25,0	47	11,2	

Слика 10. Дистрибуција испитаника према навикама

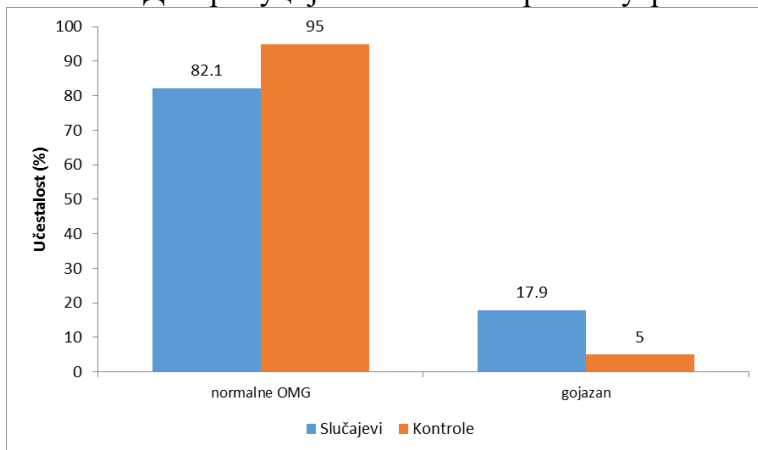


Гојазност није била у значајној мери заступљена у студијској популацији јер је само 46 (8.2%) пацијената, од читаве студијске групе било гојазно. Код случајева, нормалне ОМГ је било 82,1% а гојазних 17,9%, док је код контрола 95,0% било нормалне ОМГ и 5,0% гојазних, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 5; Слика 11).

Табела 5. Дистрибуција испитаника према нутритивном статусу

Нутритивни статус	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
нормалне ОМГ	115	82,1	399	95,0
гојазан	25	17,9	21	5,0
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 11. Дистрибуција испитаника према нутритивном статусу

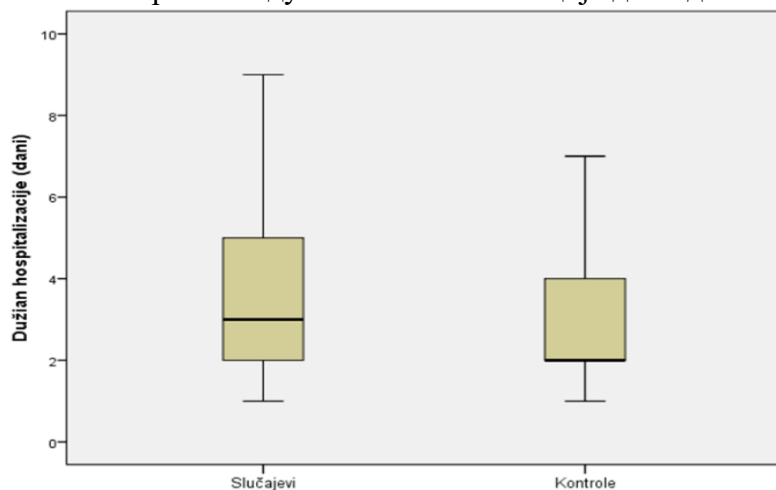


Медијана дана хоспитализације за целокупни студијски узорак је износила 4 дана (од 1 до 45) а средња вредност за све испитанике била је 6,0 (SD =5,6). У групи случај, медијана дана хоспитализације је износила 7 (опсег 2-30) а просечна вредност 7.7 (SD =5,0), док је у контролној групи медијана била 3 дана (опсег 1-45) а просечна вредност 5.4 (SD =5,7). Медијана дужине хоспитализације до индексног дана (тј. дана појаве хепатотоксичности) код случајева је износила 3,0 дана (опсег, 1,0-14,0), док код њима мечованих контрола је износила 2,0 дана (опсег, 1,0-44,0) (Табела 6; Слика 11).

Табела 6. Просечна дужина хоспитализације до индексног дана

Дужина хоспитализације (дани)	n	\bar{x}	Sd	med	min	max
Случајеви	140	3,9	2,8	3,0	1,0	14,0
Контроле	420	3,7	4,8	2,0	1,0	44,0

Слика 12. Просечна дужина хоспитализације до индексног дана



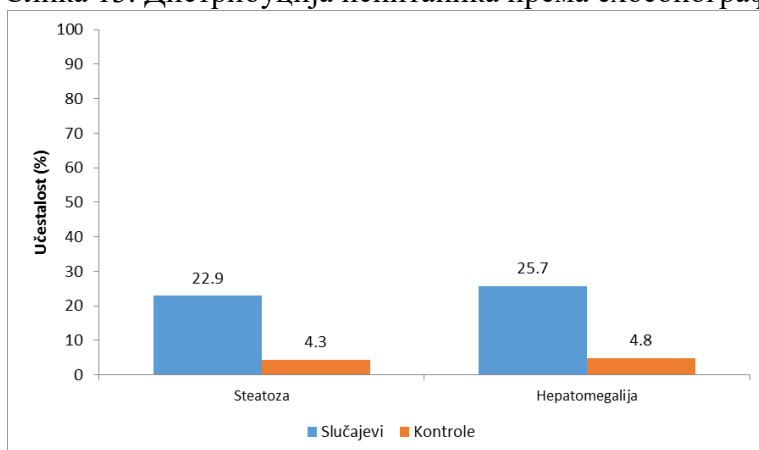
Морфолошка лезија јетре, ултразвучно верификована као масна јетра или хепатомегалија је уочена код 116 (20.7%) пацијената у укупној студијској популацији, док је у групи случај 28 (20.0%) пацијената имало клинички симптоматску хепатотоксичност. Стеатозу је имало 22,9% случајева и 4,3% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$). Хепатомегалију је имало је 25,7% случајева и 4,8% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 7; Слика 13).

Табела 7. Дистрибуција испитаника према ехосонографском налазу абдомена

Варијабле	Случајеви		Контроле		p-вредност
	n	%	n	%	

Стеатоза	32	22,9	18	4,3	<0,001
Хепатомегалија	36	25,7	20	4,8	<0,001

Слика 13. Дистрибуција испитаника према ехосонографском налазу абдомена



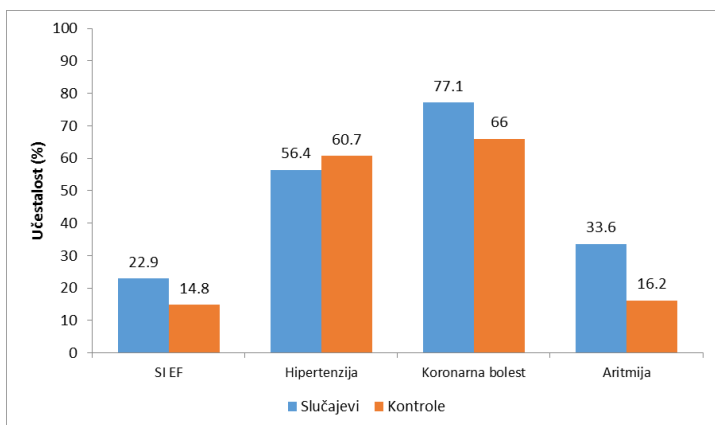
Пацијенти су били хоспитализовани због кардиоваскуларних болести, међу којима је најчешћа била коронарна болест, затим хипертензија, аритмије и срчана слабост. Хипертензију је имало 56,4% случајева и 60,7% контрола, што није статистички значајна разлика ($p = 0,371$). Коронарну болест је имало 77,1% случајева и 66,0% контрола, што је статистички значајна разлика ($p = 0,013$). Аритмије је имало 33,6% случајева и 16,2% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 8; Слика 14).

Табела 8. Дистрибуција испитаника према структури КВВ

КВВ	Случајеви		Контроле		p-вредност
	n	%	n	%	
SI	32	22,9	62	14,8	0,026
Хипертензија	79	56,4	255	60,7	0,371
Коронарна болест	108	77,1	277	66,0	0,013
Аритмија	47	33,6	68	16,2	<0,001

КВВ-кардиоваскуларне болести; SI –срчана инсуфицијенција

Слика 14. Дистрибуција испитаника према структури кардиоваскуларних болести



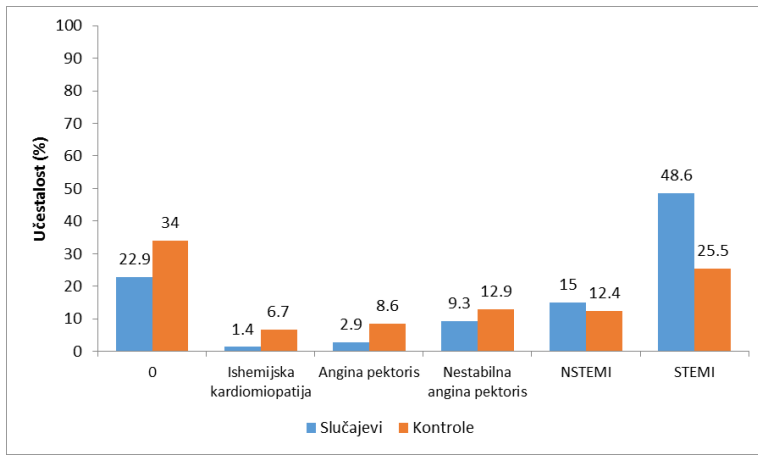
Од свих коронарних болести најчешћи је био инфаркт миокарда са ST елевацијом (STEMI), затим инфаркт миокарда без ST елевације (NSTEMI), нестабилна ангина, стабилна ангина и исхемијска кардиомиопатија. И случајеви и контроле су најчешће имали STEMI (48,6% према 25,5%) (Табела 9; Слика 15).

Табела 9. Дистрибуција испитаника према типу коронарне болести

Тип коронарне болести	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
0	32	22,9	143	34,0
Исхемијска кардиомиопатија	2	1,4	28	6,7
Ангина пекторис	4	2,9	36	8,6
Нестабилна ангина пекторис	13	9,3	54	12,9
NSTEMI	21	15,0	52	12,4
STEMI	68	48,6	107	25,5
Укупно	140	100,0	420	100,0

NSTEMI-инфаркт миокарда без ST елевације;STEMI-инфаркт миокарда са ST елевацијом

Слика 15. Дистрибуција испитаника према типу коронарне болести

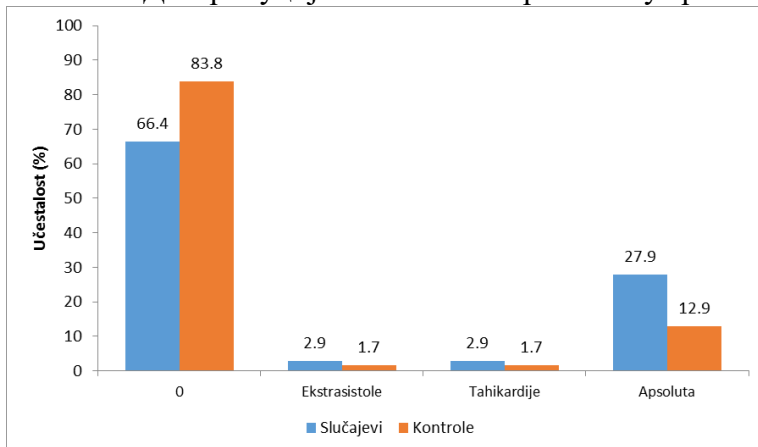


Међу пацијентима који су имали аритмију, најчешћи разлог за започињање медикаментозне терапије је била атријална фибрилација, затим тахикардија и екстрасистоле. И случајеви и контроле су најчешће имали апсолуту (27,9% према 12,9%) (Табела 10; Слика 16).

Табела 10. Дистрибуција испитаника према типу аритмија

Тип аритмије	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
0	93	66,4	352	83,8
Екстрасистоле	4	2,9	7	1,7
Тахикардије	4	2,9	7	1,7
Апсолута	39	27,9	54	12,9
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 16. Дистрибуција испитаника према типу аритмија



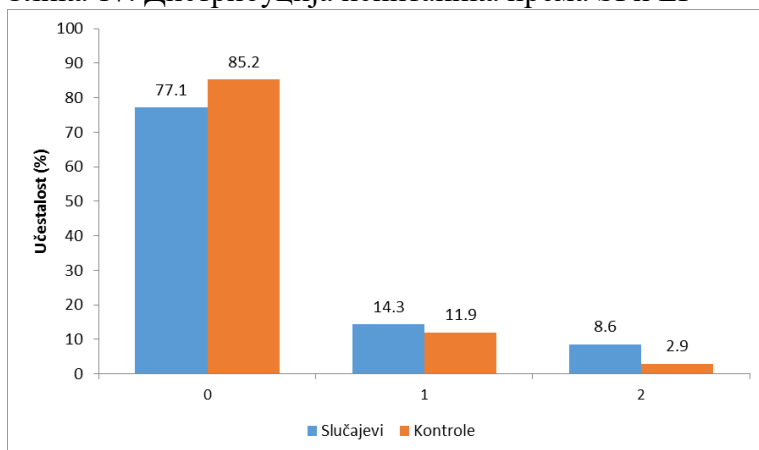
Што се тиче пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, око три четвртине њих је имало ејекциону фракцију (EF) већу од 45%, а остали су имали срчано попуштање са EF мањом од 45%. SI са очуваном или без очуване EF је имало 22,9% случајева и 14,8% контрола, што је статистички значајна разлика ($p = 0,026$). И случајеви и контроле су најчешће имали очувану EF и нису имали SI (77,1% према 85,2%) (Табела 11; Слика 17).

Табела 11. Дистрибуција испитаника према SI и EF

SI EF	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
0	108	77,1	358	85,2
1	20	14,3	50	11,9
2	12	8,6	12	2,9
Укупно	140	100,0	420	100,0

0-немаSI, очувана EF; 1-има SI, EF >45%; 2-има SI, EF ≤45%.

Слика 17. Дистрибуција испитаника према SI и EF

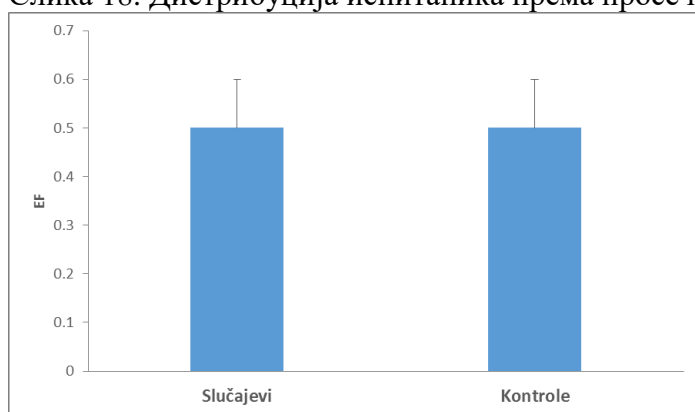


Не постоји статистички значајна разлика у просечној EF између испитиваних група ($p = 0,151$) (Табела 12; Слика 18).

Табела 12. Дистрибуција испитаника према просечној EF

EF	n	\bar{x}	sd	med	min	max
Случајеви	89	0,5	0,1	0,5	0,3	0,8
Контроле	115	0,5	0,1	0,5	0,3	0,9

Слика 18. Дистрибуција испитаника према просечној ЕФ

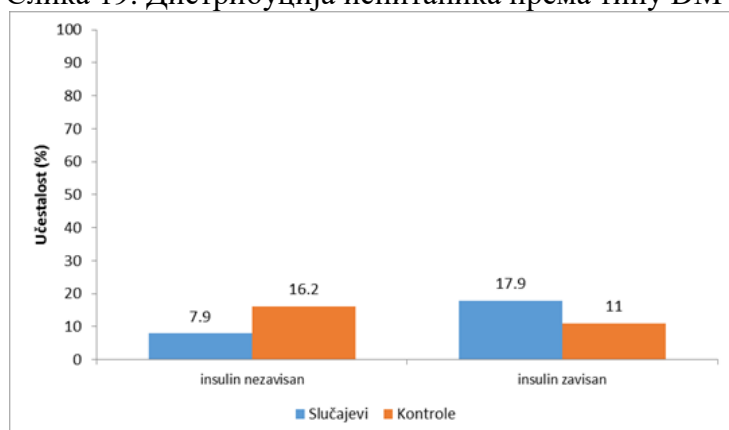


Најчешћи некардиоваскуларни коморбидитет је био дијабетес мелитус. Инсулин независни DM имало је 7,9% случајева и 16,2% контрола, што је статистички значајна разлика ($p = 0,014$). Инсулин зависни DM имало је 17,9% случајева и 11,0% контрола, што је статистички значајна разлика ($p = 0,033$) (Табела 13; Слика 19).

Табела 13. Дистрибуција испитаника према типу DM

Варијабле	Случајеви		Контроле		p- вредност
	n	%	n	%	
инсулин независан	11	7,9	68	16,2	0,014
инсулин зависан	25	17,9	46	11,0	0,033

Слика 19. Дистрибуција испитаника према типу DM



Средња вредности CCI (Charlson Comorbidity Index (CCI)) скопа читаве студијске групе била је 3.8 (SD1.7, од 1 до 10), а процењено CCI-10-огодишње преживљавање је износило 54.4% (SD=33.5). Карактеристике пацијената и лабораторијске вредности за читаву студијску групу, као и за одговарајуће подгрупе дате су у табелама 14. и 15.

Табела 14. Демографске и клиничке карактеристике студијских пацијената

Варијабле	Група случај (n=140)	Група контрола (n=420)	p [*]	Статистички тест
Пол (мушки)	32 (22.9)	96 (22.9)	1.000	НИ
Старост (године)	64.2±11.3	64.0±10.5	0.914	T
Гојазност	25 (17.9)	21 (5.0)	<0.001	НИ
Масна јетра	32 (22.9)	18 (4.3)	<0.001	НИ
Хепатомегалија	36 (25.7)	20 (4.8)	<0.001	НИ
Срчана инсуфицијенција SI EF	32 (22.9)	62 (14.8)	0.026	НИ
0	108 (77.1)	358 (85.2)	0,010	НИ
1	20 (14.3)	50 (11.9)		
2	12 (8.6)	12 (2.9)		
Хипертензија	79 (56.4)	255 (60.7)	0.371	НИ
Коронарна болест	108 (77.1)	277 (66.0)	0.013	НИ
STEMI	68 (48.6)	107 (25.5)	<0.001	НИ
NSTEMI	21 (15.0)	52 (12.4)	0.425	НИ
Нестабилна ангиина	13 (9.3)	54 (12.9)	0.260	НИ
Стабилна ангина	4 (2.9)	36 (8.6)	0.023	НИ
Аритмије	47 (33.6)	68 (16.2)	<0.001	НИ
Атријална фибрилација	39 (27.9)	54 (12.9)	<0.001	НИ
тахикардија	4 (2.9)	7 (1.7)	0.480	F
екстрасистола	4 (2.9)	7 (1.7)	0.480	F
Дијабетес мелитус тип 1	11 (7.9)	68 (16.2)	0.014	НИ

Дијабетес мелитус тип 2	25 (17.9)	46 (11.00)	0.033	HI
Конзумирање алкохола†	73 (52.1)	4 (1.0)	<0.001	HI
Пушење	35 (25.0)	47 (11.2)	0.001	HI
CCI скор (поени)	5 (1-10)	3 (1-7)	<0.001	MW
CCI десетогодишње преживљавање (процент)	21 (0-96)	77 (0-96)	<0.001	MW
Време до индексног дана ‡	3 (1-14)	2 (1-44)	<0.001	MW
Укупни дани хоспитализације (дани)	7 (2-30)	3 (1-45)	<0.001	MW

Број представља средњу вредност \pm стандардна девијација (континуиране варијабле), медијана (опсег) и број (процент) пацијената (учесталост), по редоследу; *- вероватноћа разлике између вредности групе случај и групе контрола; †-повремено, незадовољавајући критеријуми за елиминацију (види методу); CCI - Charlson Comorbidity Index ‡-(види методу, индексни дан-дан када је у току хоспитализације настала нова лезија јетре); EF - ејекциона фракција; STEMI -инфаркт миокарда са ST елевацијом; NSTEMI-миокардни инфаркт без ST елевације; HI- χ (хи) квадрат тест, T- Studentov T-тест, F - Fisherov егзактни тест, MW-Mann-Whitney U тест.

Табела 15. Лабораторијски параметри пацијената студијских група (случај-хепатотоксичност, контрола-без хепатотоксичности)

Варијабле	Сви пацијенти (n=560)	Група случај (n=140)	Група контрола (n=420)	p*	Стат. тест
Аланин трансаминаза (U/L)	95±226(24, 6-2760) (559)	305±382 (221,150- 2760) (140)	25±15(20,6-125) (420)	<0.001	MW
Аспарат трансаминаза (U/L)	98±463(23,9-8811) (560)	303±895(129, 16- 811) (140)	29±34(20, 9-372) (420)	<0.001	MW
Гама- глутамилтрансф ераза (U/L)	38±64(22,5-858) (312)	45±41(29, 7-224) (131)	33±76(20, 5-858) (181)	<0.001	MW
Укупни билирубин (μmol/l)	15±10(12.3,3-83) (560)	24±15 (20, 5.7-83) (140)	12±5(11,3-35.5) (420)	<0.001	MW
Алкална фосфатаза (U/l)	71±85(56.5,3.24- 1185) (306)	91±126(62, 31-1185) (128)	57±21(55,3-227) (178)	<0.001	MW
Лактат деhidрогеназа (U/L)	452±233(419,13- 1723) (294)	464±280(449, 55- 1723) (123)	442±192(407,13- 1228) (171)	0.728	MW
Креатин фосфокиназа (U/L)	505±1027(118,8.2- 8030) (386)	885±1384(289.5, 25- 8030) (136)	299±686(103,8- 5680) (250)	<0.001	MW
Креатин фосфокиназа MB (U/L)	84±310(16.3,3.4- -3869) (381)	161±497(31, 4-3869) (135)	42±94(14.35,3-908) (246)	<0.001	MW
Амилаза (U/l)	70±56(60,4-603) (218)	63±44(56, 4-404) (104)	75±65(64, 16-603) (114)	0.036	MW
Тропонин (ng/mL)	16.1±60.9(0.95, 0.002-797) (234)	24.2±84.7(2.49, 0- 797) (102)	9.8±31.1(0.3,0-242) (132)	<0.001	MW
Протеини (g/L)	66±8 (361)	67±7 (129)	65±8 (232)	0.006	T
Албумини (g/L)	40±6 (376)	39±6 (132)	40±6 (244)	0.526	T
Фибриноген (g/L)	4.2±7.3(3.76,0.54- 127) (294)	3.8±1.4(3.66, 0.5-11) (116)	4.6±9.3(3.85, 1.48- 127) (178)	0.352	MW
Интернационалн и нормализовани однос (INR)	1.3±0.7(1.083,0.9-6) (326)	1.4±0.7(1.1, 0.9-4.9) (117)	1.3±0.7(1.08,0.9-6) (209)	0.344	MW
Ц-реактивни протеин (mg/L)	22±36 (7, 0.2-256) (367)	31±40(12.15, 196) (130)	1.3-17±32(5.5,0.2-256) (237)	<0.001	MW
Глукоза (mmol/L)	6.4±2.5 (465)	6.7±2.6 (138)	6.2±2.4 (327)	0.067	T
Холестерол (mmol/L)	4.9±1.2 (425)	5.0±1.3 (133)	4.8±1.1 (292)	0.037	T
Триглицериди (mmol/L)	1.8±1.0 (1.4, 0.5-7.4) (419)	1.8±1.0(1.52, 0.66-6) (131)	1.7±1.0(1.3, 0.5- 7.4) (288)	0.092	MW
Уреа (mmol/L)	7.7±8.3(6.1, 1.9-145) (415)	7.5±3.8(7, 2.4-24.5) (139)	7.8±9.6 (6, 1.9-145) (276)	0.073	MW
Креатинин (μmol/L)	100±45 (417)	100±36 (139)	99±49(278)	0.880	T
Леукоцити (x10 ⁹ /L)	8.6±2.5 (409)	9.4±2.4 (136)	8.3±2.5 (273)	<0.001	T
Тромбоцити (x10 ⁹ /L)	219±64 (408)	213±61 (135)	222±64 (273)	0.122	T

Бројеви представљају средњу вредност±стандардна девијација(број пацијената); и медијана (опсер); *-вероватноћа разлике између вредности групе случај и групе контрола; MW- Mann-Whitney U test; T-Studentov T-тест.

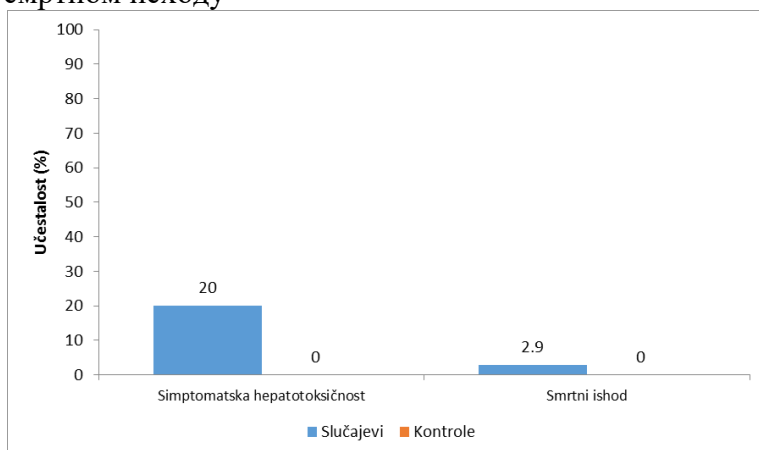
Укупан број смртних случајева у студијској популацији је био 4 (0.7%), узимајући у обзир чињеницу да у групи контрола није било смртних исхода.

Смртних исхода је било 4 (2,9%) од свих случајева. Симптоматска хепатотоксичност се јавила код 28 (20%) случајева (Табела 16; Слика 20).

Табела 16. Дистрибуција испитаника према симптоматској хепатотоксичности и смртном исходу

Варијабле	Случајеви		Контроле		p-вредност
	n	%	n	%	
Симптоматска хепатотоксичност	28	20,0	0	0,0	<0,001
Смртни исход	4	2,9	0	0,0	0,004

Слика 20. Дистрибуција испитаника према симптоматској хепатотоксичности и смртном исходу



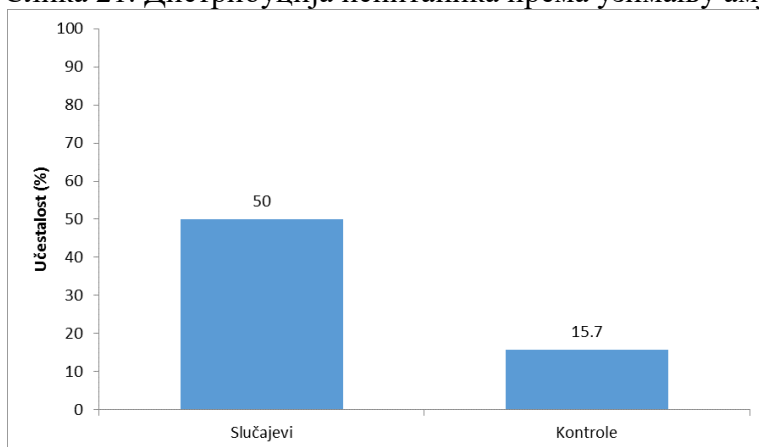
Амјодарон је имао највећу стопу прописивања, а медијана дефинисане дневне дозе амјодарона је била 112,5 на 100 хоспиталних дана болесника (опсег 3.6-800). Код испитаника из главне, експерименталне групе, та вредност је износила 193,8 DDD на 100 дана хоспитализације (у распону од 8,3 до 412,5), а код испитаника из контролне групе 75,0 DDD на 100 дана хоспитализације (у распону од 3,6 до 800,0) ($p < 0,001$). Испитаницима из главне, експерименталне групе амјодарон је примењиван парентерално код 44 пацијента (31,4%), орално код 5 пацијената (3,6%) и на оба начина код 21 пацијента (15,0%), док су ти резултати у контролној групи износили 11 (2,6%), 45 (10,7%) и 10 (2,4%), понаособ ($p < 0,001$).

Амјодарон је примало 50,0% случајева и 15,7% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 17, Слика 21).

Табела 17. Дистрибуција испитаника према узимању амјодарона

Амјодарон	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
не	70	50,0	354	84,3
да	70	50,0	66	15,7
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 21. Дистрибуција испитаника према узимању амјодарона

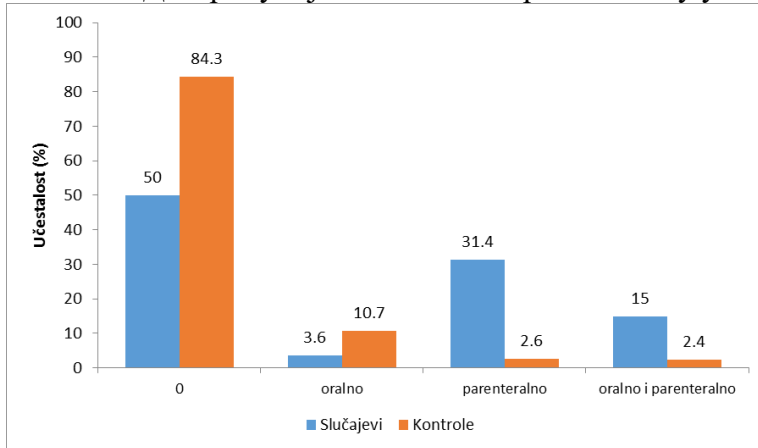


Најчешћи начин примене амјодарона у групи случај био је парентерални док је у групи контрола најзустапљенија била орална администрација (Табела 18; Слика 22).

Табела 18. Дистрибуција испитаника према начину узимања амјодарона

Амјодарон начин примене	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
0	70	50,0	354	84,3
орално	5	3,6	45	10,7
парентерално	44	31,4	11	2,6
орално и парентерално	21	15,0	10	2,4
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 22. Дистрибуција испитаника према начину узимања амјодарона

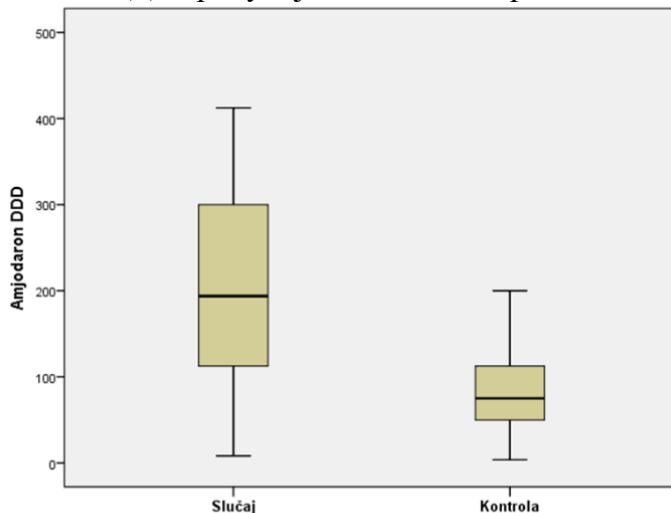


Медијана DDD амјодарона код случајева износила је 193,8 (опсег, 8,3 - 412,5), док је код контрола износила 75,0 (опсег, 3,6 - 800,0), што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 19; Слика 23).

Табела 19. Дистрибуција испитаника према DDD амјодарона

Амјодарон DDD	N	\bar{x}	sd	med	min	max
Случајеви	70	200,9	102,6	193,8	8,3	412,5
Контроле	66	97,6	113,5	75,0	3,6	800,0

Слика 23. Дистрибуција испитаника према DDD амјодарона



Испитаници су у највећем броју случајева били лечени ацетилсалицилном киселином (аспирином), али и АСЕ инхибиторима, селективним бета блокаторима, клопидогрелом, аторвастатином, инхибиторима протонске пумпе, органским нитратима, еноксапарин содијумом, триметазидином, диуретицима, амјодароном,

бензодиазепаном, дихидропиридином, антагонистима H₂ рецептора метформином, ксантином, спиронолактоном и сулфонилуреом. Остали лекови су били прописани код мање од 5% укупног броја студијских пацијената, те су због ниске учесталости употребе искључени из даље анализе. Приказ најчешће коришћених лекова у обе студијске групе дат је у табели 20.

Табела 20. Најчешће коришћени лекови у студијским групама (случај-хепатотоксичност, контрола-без хепатотоксичности)

Варијабле	Група случај (n=140)	Група контрола(n=420)	p*	Стат. тест
H ₂ рецепторски антагонисти	32 (22.9)	40 (9.5)	<0.001	HI
Инхибитори протонске пумпе	96 (68.6)	174 (41.4)	<0.001	HI
Метформин	8 (5.7)	62 (14.8)	0.005	HI
Сулфонилуреа	7 (5.0)	33 (7.9)	0.256	HI
Еноксапарин	89 (63.6)	104 (24.8)	<0.001	HI
Клопидогрел	105 (75.0)	225 (53.6)	<0.001	HI
Ацетилсалицилна киселина	124 (88.6)	326 (77.6)	0.005	HI
Амјодарон	70 (50)	66 (15.7)	<0.001	HI
Органски нитрати	75 (53.6)	192 (45.7)	0.107	HI
Триметазидин	54 (38.6)	120 (28.6)	0.027	HI
Диуретици хенлеове петље	62 (44.3)	108 (25.7)	<0.001	HI
Спиринолактон	16 (11.4)	44 (10.5)	0.752	HI
Бета блокатори	93 (66.4)	256 (61.0)	0.247	HI
Дихидропиридини	16 (11.4)	75 (17.9)	0.074	HI
АСЕ инхибитори	97 (69.3)	253 (60.2)	0.055	HI
Аторвастатин	105 (75.0)	222 (52.9)	<0.001	HI
Бензодиазепини	31 (22.1)	87 (20.7)	0.720	HI
Ксантини	25 (17.9)	42 (10.0)	0.013	HI

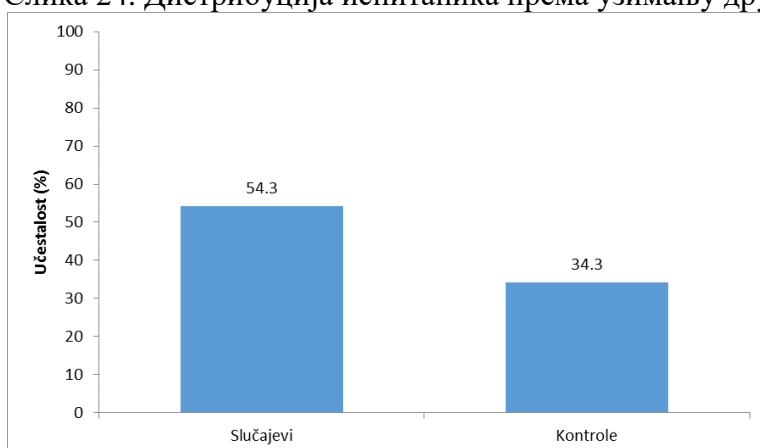
Број представља број (проценат) пацијената(фреквенца); *- вероватноћа разлике између вредности групе случај и групе контрола; HI- χ (хи) квадрат тест.

Други хепатотоксични лек примало је 54,3% случајева и 34,3% контрола, што је статистички значајна разлика ($p < 0,001$) (Табела 21; Слика 24).

Табела 21. Дистрибуција испитаника према узимању другог хепатотоксичног лека

Други хепатотоксични лек	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
не	64	45,7	276	65,7
Да	76	54,3	144	34,3
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 24. Дистрибуција испитаника према узимању другог хепатотоксичног лека

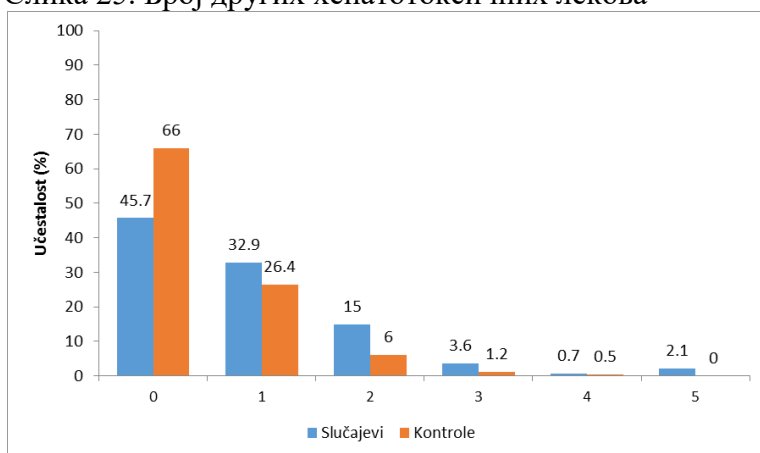


И случајеви и контроле су најчешће били без других хепатотоксичних лекова (45,7% према 66,0%) (Табела 22; Слика 25).

Табела 22. Број узимања других хепатотоксичних лекова у испитиваним групама

Број других хепатотоксичних лекова	Случајеви		Контроле	
	n	%	n	%
0	64	45,7	277	66,0
1	46	32,9	111	26,4
2	21	15,0	25	6,0
3	5	3,6	5	1,2
4	1	0,7	2	0,5
5	3	2,1	0	0,0
Укупно	140	100,0	420	100,0

Слика 25. Број других хепатотоксичних лекова



4.1.2 Анализа фактора ризика за појаву хепатотоксичности

Првобитна анализа фактора ризика који су повезани са оштећењем јетре је извршена постављањем хипотезе која је тестирали различитости проучаваних варијабли између група случај и контрола (Табеле 14, 15, 20). У групи случај, 114 пацијената (81.4%) је имало хепатоцелуларни тип оштећења, 9 пацијената (6.4%) холестатски тип, а 17 (12.2%) мешовити тип оштећења јетре. Постојале су статистички значајне разлике у погледу бројних демографских и клиничких карактеристика, лабораторијских параметара и лекова којима су третирани испитаници из две групе. Фактори попут конзумирања алкохола пре хоспитализације, тренутна гојазност, тип аритмије и дијабетес мелитус типа 2, холестерол и леукоцитоза, као и третирање амјодароном и еноксапарином могу се у великој мери довести у везу са оштећењима јетре у оквиру ризичних група пацијената (Табела 14, 15, 20).

У мултиваријабилном бинарном логистичком моделу регресије, од девет претпостављених фактора ризика за развој хепатотоксичности, које смо издвојили на основу статистичке значајности, постојећег знања и клиничке праксе, шест фактора (конзумирање алкохола, амјодарон, еноксапарин, гојазност, аторвастатин, ССИ резултат) били су независни предиктори оштећења јетре (Табела 23). Цео модел (са свим претпостављеним факторима) био је статистички значајан ($p < 0,001$). Цео модел (са свим претпостављеним предикторима) показао је статистички значајан резултат ($p < 0,001$) при Cox & Snell R Square $p = 0,457$ и Hosmer-Lemeshow тесту $p = 0,279$. Није примећена значајна мултиколинеарност између предиктора. Модел је био стабилан и након што је уведена интеракција амјодарона и ССИ резултата, која није била значајна ($p = 0,251$). Алкална фосфатаза, креатин фосфокиназа, креатин фосфокиназа МБ, укупни серумски протеини, Ц-реактивни протетин, холестерол, бела крвна зрнца су били такође статистички значајно повезани са оштећењем јетре, коришћењем униваријантне логистичке регресије, али магнитуда њихових колничника шансе је била ниска, а њихов интервал поверења је на доњој граници додиривао један, тако да су они искључени из модела (Табела 23).

Табела 23. Фактори који су значајно повезани са лезијом јетре утврђени, након униваријантне и мултиваријантне бинарне логистичке регресије

Варијабле	Униваријантна логистичка регресија	Мултиваријантна логистичка регресија
Гојазност	4.13 (2.23-7.65), <0.001	2.78 (1.15-6.71), 0.023
Коронарна болест	1.74 (1.12-2.71), 0.014	n.a.
Аритмија	2.62 (1.69-4.05), <0.001	n.a.
Срчана инисуфицијенција (EF<45%)	1.71 (1.06-2.76), 0.028	n.a.
Дијабетес мелитус тип 1	0.44 (0.23-0.86), 0.016	n.a.
Дијабетес мелитус тип 2	1.77 (1.04-3.00), 0.035	n.a.
CCI укупан скор	1.80 (1.58-2.07), <0.001	1.89 (1.53-2.34), <0.001
Повремено узимање алкохола	113.31 (40.09-320.27), <0.001	96.47 (28.95-321.43), <0.001
Пушење	2.64 (1.62-4.31), <0.001	1.92 (0.84-4.38), 0.121
H ₂ рецептор антагониста	2.82 (1.69-4.70), <0.001	n.a.
Иинхибитори протонске пумпе	3.08 (2.06-4.63), <0.001	n.a.
Метформин	0.35 (0.16-0.75), 0.007	0.14 (0.04-0.51), 0.003
Еноксапарин	5.30 (3.52-7.98), <0.001	3.29 (1.79-6.05), <0.001
Клопиодогрел	2.60 (1.70-3.99), <0.001	n.a.
Ацетилсалицилна киселина	2.24 (1.26-3.95), 0.006	n.a.
Амјодарон	5.36 (3.51-8.19), <0.001	3.70 (1.82-7.53), <0.001
Триметазидин	1.57 (1.05-2.34), 0.027	n.a.
Диуретик хенлеове петље	2.30 (1.54-3.42), <0.001	1.04 (0.53-2.03), 0.916
Аторвастатин	2.68 (1.74-4.10), <0.001	2.67 (1.33-5.38), 0.006
Ксантин	1.96 (1.14-3.35), 0.014	n.a.
Број других хепатотоксичних лекова	1.77 (1.41-2.21) <0.001	n.a.

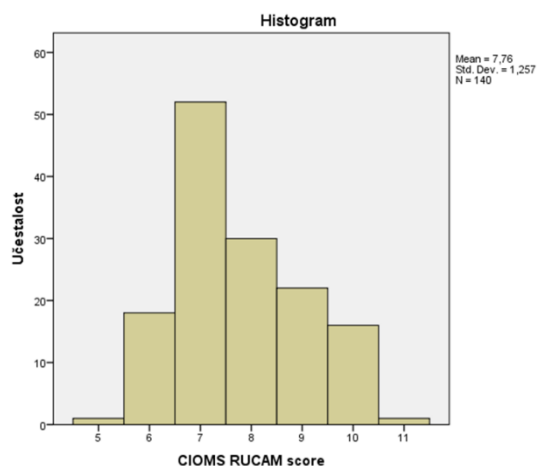
Бројеви представљају количник шансе (OR), 95% интервал поверења (CI) и вероватноћу (p),редом; n.a. – није примењиво (варијабле нису укључене у мултиваријабилни модел)

Анализом је добијено да су лекови са могућим хепатотоксичним дејством најчешћи узрочници оштећења јетре, у односу на све друге факторе ризика присутне код хоспитализованих пацијената. Процена узрочности лека за оштећење јетре у групи случај коришћењем CIOMS/RUCAM скоринг система је додатно потврдила налазе. Просечна вредност CIOMS/RUCAM скорa код случајева износи 7,8±1,3. Најнижа вредност износи 5,0 а највиша 11,0 (Табела 24; Слика 26).

Табела 24. Процена CIOMS RUCAM скорa за групу случај

CIOMS RUCAM скор	n	\bar{x}	Sd	med	min	max
Случајеви	140	7,8	1,3	7,0	5,0	11,0

Слика 26. Процена CIOMS RUCAM скорa за групу случај



Од 140 случајева, код 39 (27.8%) пацијената узрочност лека је процењена као врло вероватна (CIOMS/RUCAM score ≥ 9), код 100 (71.4%) пацијената као вероватна (скор од 6-8), а код једног (0.7%) пацијента као могућа (скор 3-5).

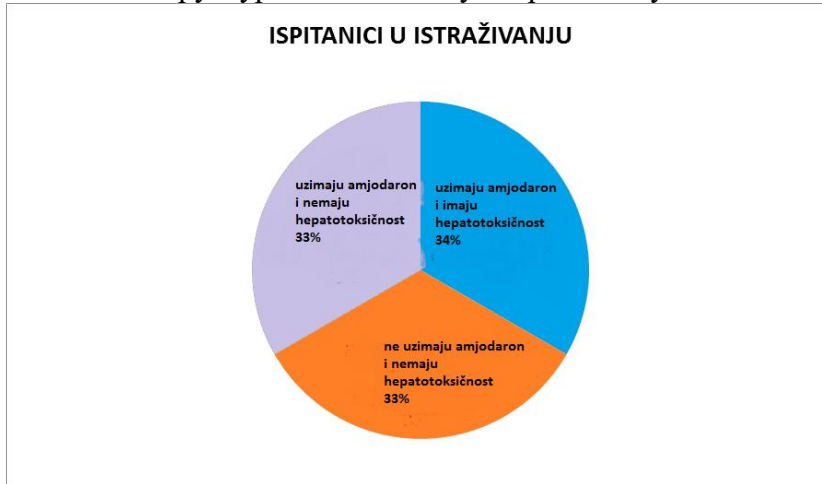
4.2. ПРОСПЕКТИВНА КОНТРОЛИСАНА СТУДИЈА

Од укупног броја испитаника, 29 (33,3%) је узимало амјодарон и имало хепатотоксичност (у даљем тексту А+Х+), 29 (33,3%) није узимало амјодарон и није имало хепатотоксичност (у даљем тексту А-Х-), а 29 (33,3%) је узимало амјодарон и није имало хепатотоксичност (у даљем тексту А+Х-) (Табела 25; Слика 27).

Табела 25. Структура испитаника у истраживању

Испитаници	N	%
Узимају амјодарон и имају хепатотоксичност	29	33,3
Не узимају амјодарон и немају хепатотоксичност	29	33,3
Узимају амјодарон и немају хепатотоксичност	29	33,3

Слика 27. Структура испитаника у истраживању



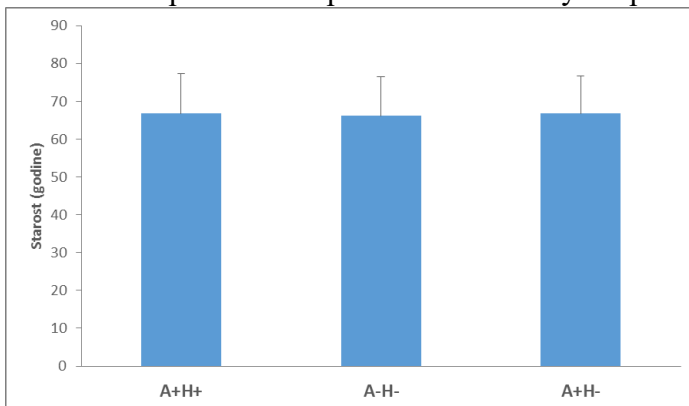
4.2.1 Демографске, социо-економске и клиничке карактеристике

Просечна старост испитаника са A^+X^+ износила је $66,8 \pm 10,4$ година, у групи A^-X^- износила је $66,1 \pm 10,3$ година, док је просечна старост испитаника са A^+X^- била $66,8 \pm 9,8$ година. Не постоји статистички значајна разлика у просечној старости између испитиваних група ($F=0,040$; $p=0,961$) (Табела 26; Слика 28).

Табела 26. Просечна старост испитаника у истраживању

Старост (године)	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	66,8	10,4	71,0	35,0	75,0	0,961
A^-X^-	66,1	10,3	71,0	37,0	75,0	
A^+X^-	66,8	9,8	70,0	37,0	75,0	

Слика 28. Просечна старост испитаника у истраживању

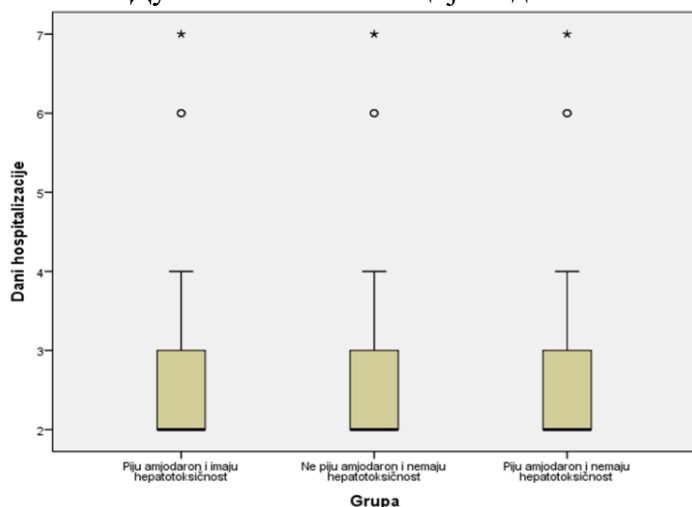


Медијана дужине хоспитализације код испитаника са A^+X^+ , A^-X^- и A^+X^- износила је 2 дана (опсег, 2-7) (Табела 27; Слика 29).

Табела 27. Дужина хоспитализације код испитаника у истраживању

Дужина хоспитализације	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	3,0	1,6	2,0	2,0	7,0	1,000
A ⁻ X ⁻	3,0	1,6	2,0	2,0	7,0	
A ⁺ X ⁻	3,0	1,6	2,0	2,0	7,0	

Слика 29. Дужина хоспитализације код испитаника у истраживању

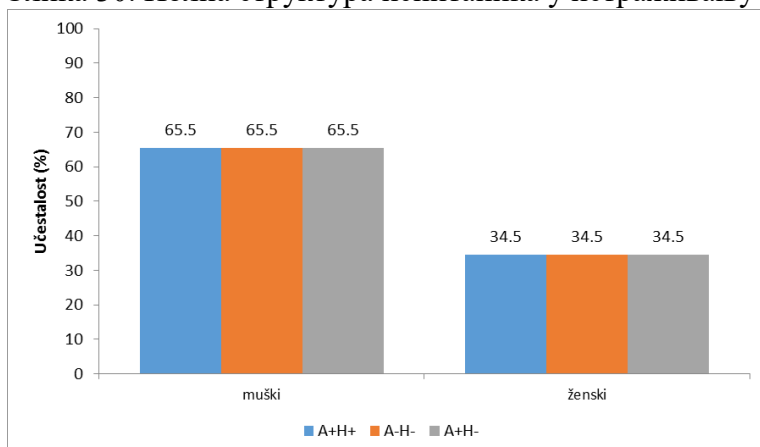


Пошто су пацијенти мечовани по полу није постојала статистички значајна разлика у учесталости пола између испитиваних група (χ (хи)-квадрат=0,000; p=1,000) (Табела 28; Слика 30).

Табела 28. Полна структура испитаника у истраживању

Полна структура	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
мушки	19	65,5	19	65,5	19	65,5	1,000
женски	10	34,5	10	34,5	10	34,5	
укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 30. Полна структура испитаника у истраживању

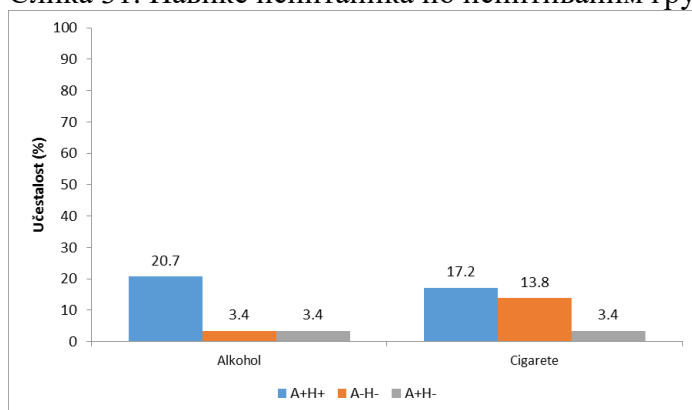


Алкохол је конзумирало 20,7% испитаника са A^+X^+ , 3,4% са A^-X^- и 3,4% са A^+X^- , што је статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=0,045$). Навику пушења имало је 17,2% испитаника са A^+X^+ , 13,8% са A^-X^- и 3,4% са A^+X^- , што није била статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=0,326$) (Табела 29; Слика 31).

Табела 29. Навике испитаника по испитиваним групама

Навике	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p-вредност
	n	%	n	%	N	%	
алкохол	6	20,7	1	3,4	1	3,4	0,045
цигарете	5	17,2	4	13,8	1	3,4	0,326

Слика 31. Навике испитаника по испитиваним групама

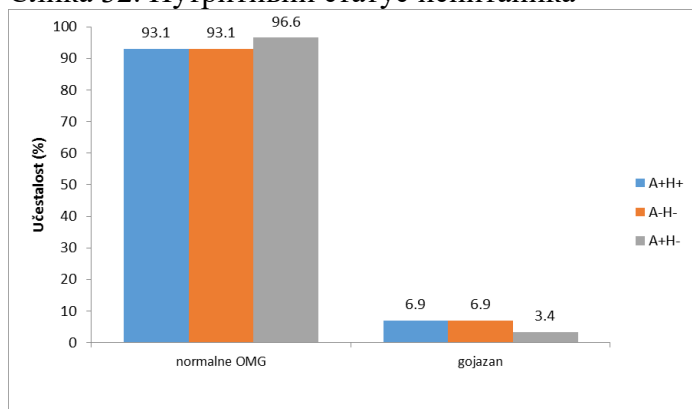


Није постојала статистички значајна разлика у учесталости категорија нутритивног статуса између испитиваних група (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=1,000$) (Табела 30; Слика 32).

Табела 30. Нутритивни статус испитаника по испитиваним групама

нутритивни статус	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p-вредност
	n	%	n	%	N	%	
нормална ОМГ	27	93,1	27	93,1	28	96,6	
гојазан	2	6,9	2	6,9	1	3,4	1,000
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 32. Нутритивни статус испитаника

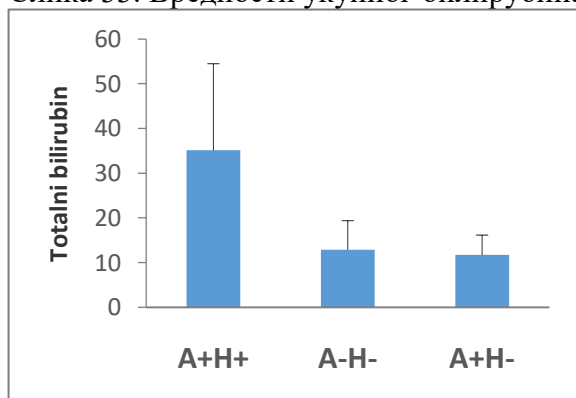


Постојала је статистички значајна разлика у просечним вредностима тоталног билирубина између испитиваних група ($F=34,375$; $p<0,001$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p<0,001$) и A^+X^- ($p<0,001$), док није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^-X^- и A^+X^- ($p=0,924$) (Табела 31; Слика 33).

Табела 31. Вредности укупног билирубина испитаника по испитиваним групама

Укупни билирубин	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	35,1	19,4	36,0	6,5	73,5	
A^-X^-	12,9	6,5	12,0	5,0	34,0	<0,001
A^+X^-	11,7	4,5	11,0	4,0	22,0	

Слика 33. Вредности укупног билирубина испитаника по испитиваним групама



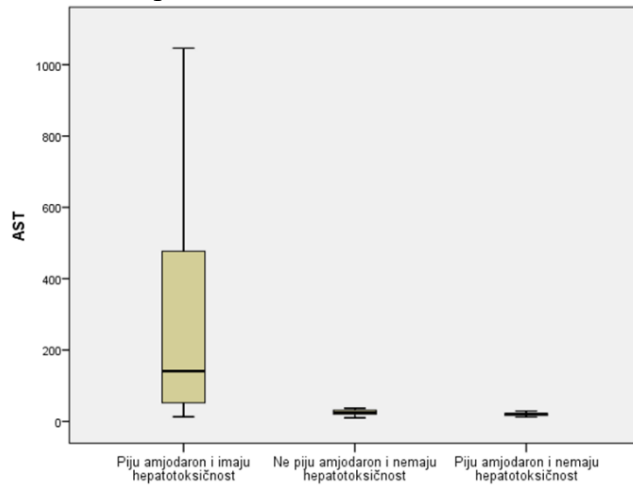
Постојала је статистички значајна разлика у медијанама AST-а између испитиваних група (hi -квадрат= $34,677$; $p<0,001$). Статистички значајна разлика је постојала између

испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p < 0,001$) и A^+X^- ($p < 0,001$), а није постојала између испитаника са A^-X^- и A^+X^- ($p = 0,029$) (Табела 32; Слика 34).

Табела 32. Вредности AST-а испитаника по испитиваним групама

AST	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	359,7	627,5	141,0	13,0	3238,0	
A^-X^-	36,9	37,5	25,0	10,0	200,0	<0,001
A^+X^-	21,6	6,6	20,0	12,0	40,0	

Слика 34. Вредности AST испитаника по испитиваним групама

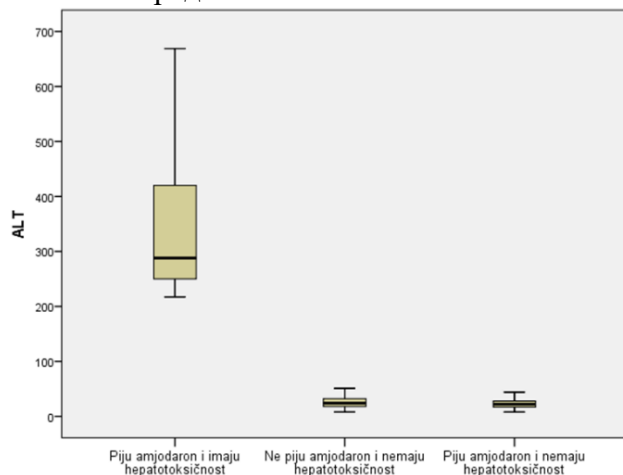


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама ALT-а између испитиваних група (hi -квадрат=58,007; $p < 0,001$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p < 0,001$) и A^+X^- ($p < 0,001$), док није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^-X^- и A^+X^- ($p = 0,234$) (Табела 33; Слика 35).

Табела 33. Вредности ALT-а испитаника по испитиваним групама

ALT	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	607,8	1047,6	288,0	217,0	5748,0	
A^-X^-	29,3	17,8	24,0	8,0	85,0	<0,001
A^+X^-	23,5	11,6	22,0	8,0	59,0	

Слика 35. Вредности ALT испитаника по испитиваним групама

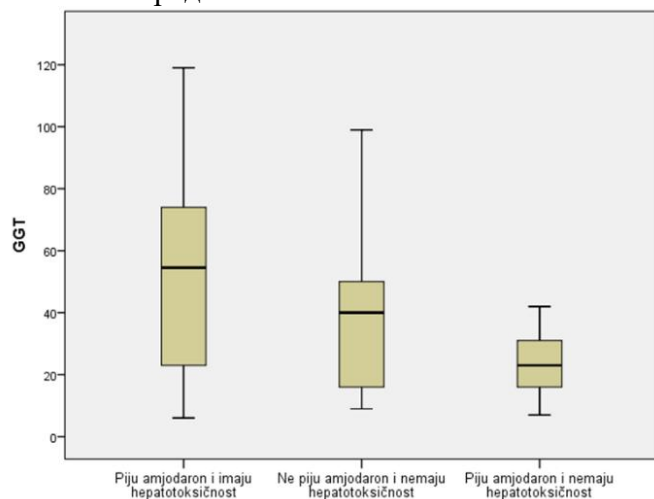


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама GGT-а између испитиваних група (hi-квадрат=58,007; $p < 0,001$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A^+H^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p < 0,001$) и A^+X^- ($p < 0,001$), док није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^-X^- и A^+X^- ($p = 0,234$) (Табела 34; Слика 36).

Табела 34. Вредности GGT-а испитаника по испитиваним групама

GGT	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+H^+	60,0	52,7	54,5	6,0	271,0	0,033
A^-H^-	51,2	41,7	40,0	9,0	148,0	
A^+H^-	31,2	29,9	23,0	7,0	143,0	

Слика 36. Вредности GGT-а испитаника по испитиваним групама



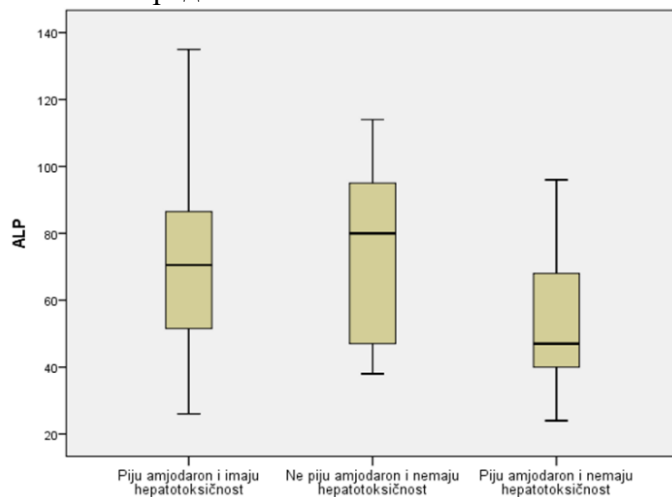
Постојала је статистички значајна разлика у медијанама ALP-а између испитиваних група (hi-квадрат=58,007; $p < 0,001$). Статистички значајна разлика постојала је између

испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p < 0,001$) и A^+X^- ($p < 0,001$), док није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^-X^- и A^+X^- ($p = 0,234$) (Табела 35; Слика 37).

Табела 35. Вредности ALP-а испитаника по испитиваним групама

ALP	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	75,9	33,4	70,5	26,0	174,0	0,009
A^-X^-	89,0	67,1	80,0	38,0	306,0	
A^+X^-	52,2	19,0	47,0	24,0	96,0	

Слика 37. Вредности ALP-а испитаника по испитиваним групама

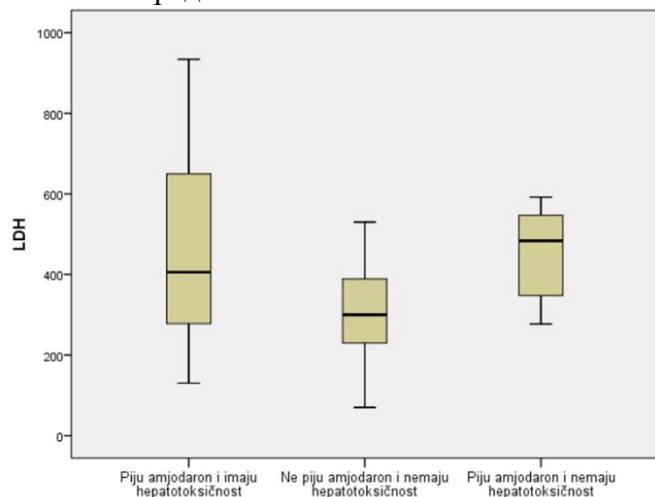


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама LDH-а између испитиваних група (hi -квадрат=9,291; $p = 0,010$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p = 0,021$), као и између A^-X^- и A^+X^- ($p = 0,004$). Није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^+X^- ($p = 0,566$) (Табела 36; Слика 38).

Табела 36. Вредности LDH-а испитаника по испитиваним групама

LDH	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	470,6	256,8	405,5	130,0	1241,0	0,010
A^-X^-	320,0	138,8	300,0	70,0	667,0	
A^+X^-	472,9	156,0	483,5	277,0	910,0	

Слика 38. Вредности LDH-а испитаника по испитиваним групама

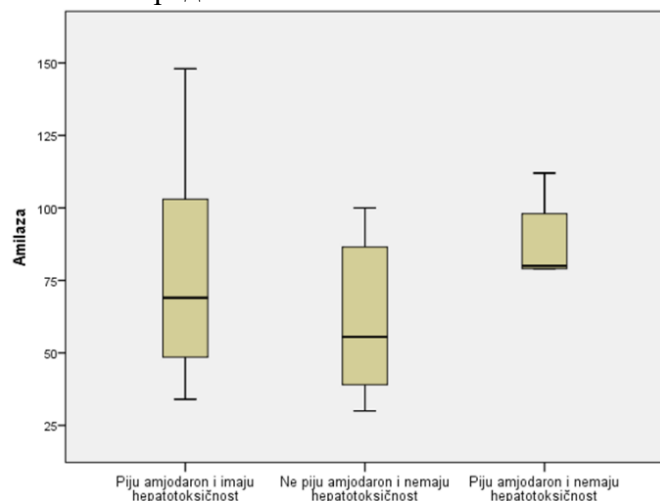


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама амилазе између испитиваних група ($\chi^2=2,843$; $p=0,241$) (Табела;37; Слика 39).

Табела 37. Вредности амилазе испитаника по испитиваним групама

амилаза	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	97,0	93,4	69,0	34,0	414,0	0,241
A ⁻ X ⁻	74,2	60,2	55,5	30,0	300,0	
A ⁺ X ⁻	95,0	51,0	80,0	33,0	198,0	

Слика 39. Вредности амилазе испитаника по испитиваним групама



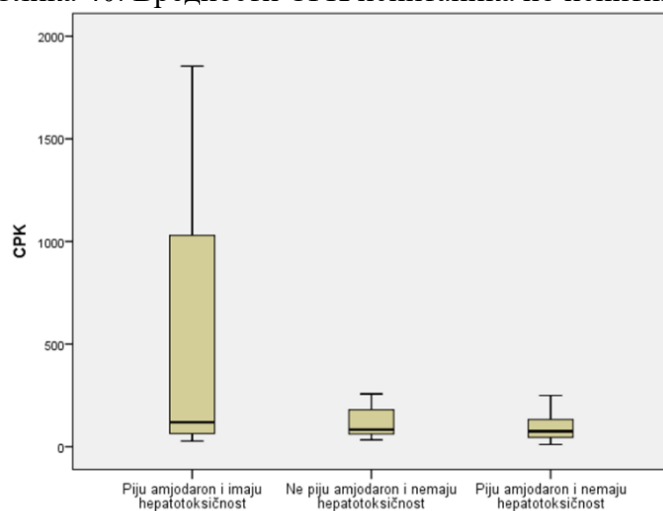
Постојала је статистички значајна разлика у медијанама СРК између испитиваних група ($\chi^2=7,863$; $p=0,020$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A⁺X⁺ у односу на испитанике са A⁺X⁻ ($p=0,008$). Није постојала

статистички значајна разлика испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p=0,144$), као и између A^-X^- и A^+X^- ($p=0,096$) (Табела 38;Слика 40).

Табела 38. Вредности СРК испитаника по испитиваним групама

СРК	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	574,5	687,5	119,0	27,0	2590,0	
A^-X^-	222,5	313,9	83,0	33,0	1414,0	0,020
A^+X^-	92,2	67,8	75,0	11,0	250,0	

Слика 40. Вредности СРК испитаника по испитиваним групама

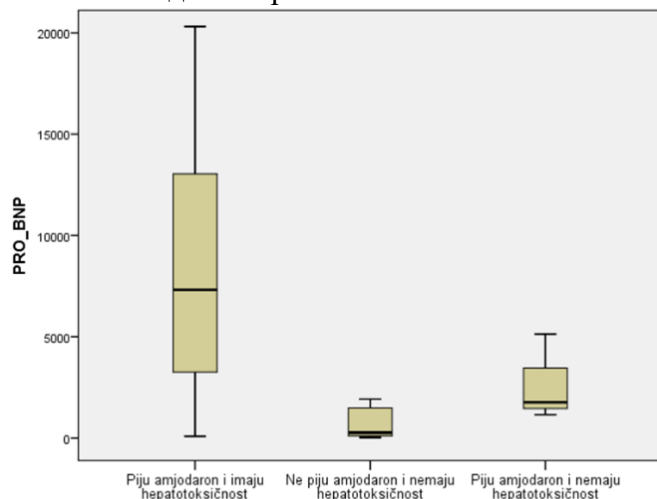


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама проBNP-а између испитиваних група (hi-квadrat=11,313; $p=0,003$). Постојала је статистички значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p=0,001$). Није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^+X^- ($p=0,214$), као ни и између A^-X^- и A^+X^- ($p=0,138$) (Табела 39;Слика 41).

Табела 39. Вредности проBNP-а испитаника по испитиваним групама

PRO BNP	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	8332,3	6488,2	7316,0	85,0	20316,0	
A^-X^-	1361,9	2323,3	264,0	26,0	7674,0	0,003
A^+X^-	2685,7	2142,7	1764,0	1158,0	5135,0	

Слика 41. Вредности проBNP-а испитаника по испитиваним групама

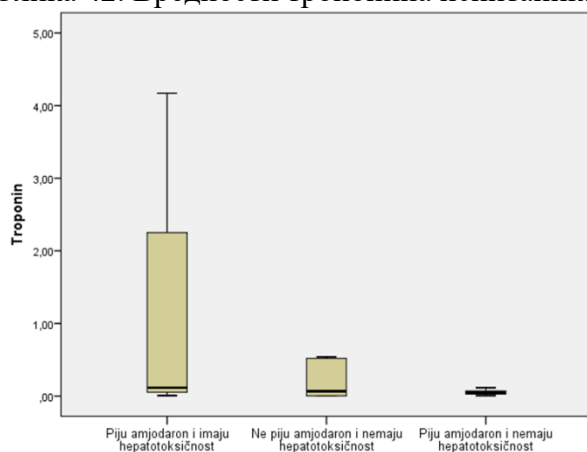


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама тропонина између испитиваних група ($\chi^2=4,687$; $p=0,096$) (Табела 40 ;Слика 42).

Табела 40. Вредности тропонина испитаника по испитиваним групама

тропонин	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	1,2	1,8	0,1	0,0	6,1	0,096
A ⁻ X ⁻	1,5	3,7	0,1	0,0	14,7	
A ⁺ X ⁻	0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	

Слика 42. Вредности тропонина испитаника по испитиваним групама

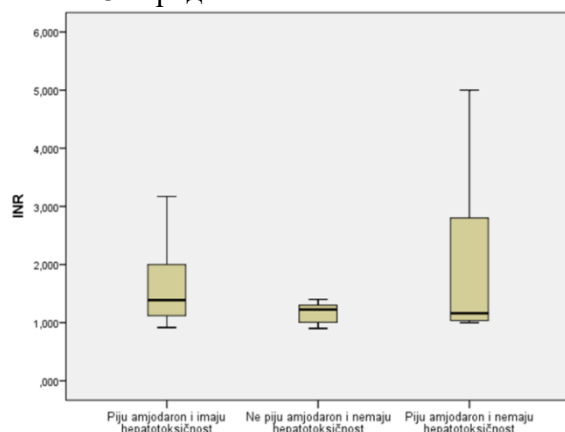


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама INR-а између испитиваних група ($\chi^2=3,511$; $p=0,173$) (Табела 41;Слика 43).

Табела 41. Вредности INR-а испитаника по испитиваним групама

INR	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ H ⁺	1,7	0,8	1,4	0,9	3,2	0,060
A ⁻ H ⁻	1,3	0,3	1,2	0,9	2,1	
A ⁺ H ⁻	2,0	1,6	1,2	1,0	6,0	

Слика 43. Вредности INR-а испитаника по испитиваним групама

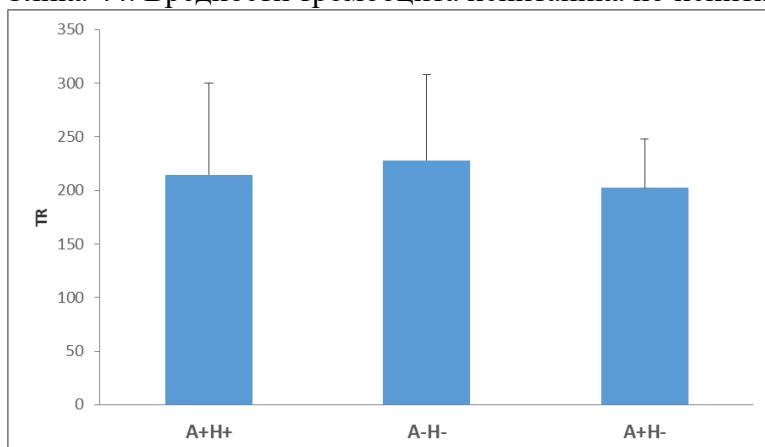


Није постојала статистички значајна разлика у просечним вредностима тромбоцита између испитиваних група ($F=0,735$; $p=0,483$) (Табела 42; Слика 44).

Табела 42. Вредности тромбоцита испитаника по испитиваним групама

Tr	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	214,6	85,7	201,0	93,0	472,0	0,483
A ⁻ X ⁻	228,0	79,9	210,5	132,0	395,0	
A ⁺ X ⁻	202,4	45,7	199,0	135,0	306,0	

Слика 44. Вредности тромбоцита испитаника по испитиваним групама



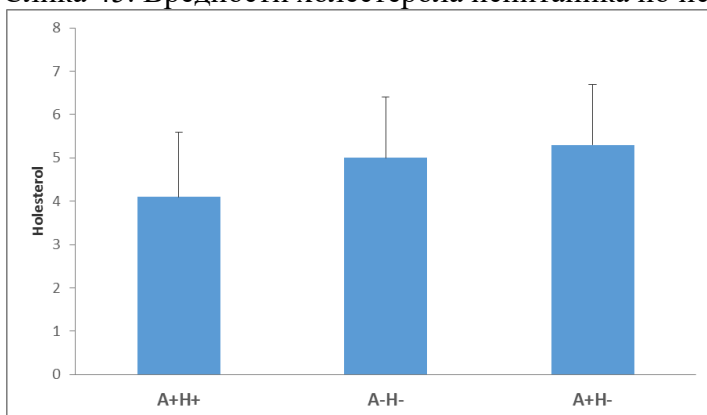
Постојала је статистички значајна разлика у просечним вредностима холестерола између испитиваних група ($F=4,786$; $p=0,011$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A⁺X⁺ и A⁺X⁻ ($p=0,013$), док није постојала статистички

значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p=0,068$) и A^-X^- у односу на A^+X^- ($p=0,750$) (Табела 43; Слика 45).

Табела 43. Вредности холестерола испитаника по испитиваним групама

холестерол	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	4,1	1,5	4,1	1,5	7,8	0,011
A^-X^-	5,0	1,4	5,0	3,0	8,7	
A^+X^-	5,3	1,4	5,0	3,1	9,4	

Слика 45. Вредности холестерола испитаника по испитиваним групама

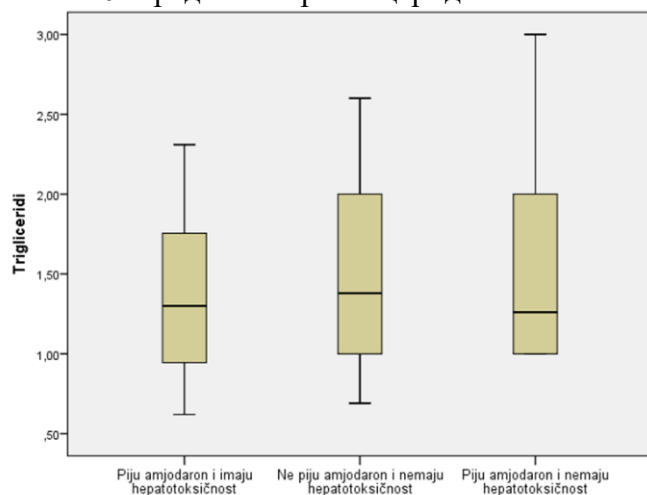


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама триглицерида између испитиваних група (hi -квадрат=0,936; $p=0,626$) (Табела 44; Слика 46).

Табела 44. Вредности триглицерида испитаника по испитиваним групама

триглицериди	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	1,5	0,9	1,3	0,6	4,3	0,011
A^-X^-	1,8	1,6	1,4	0,7	8,0	
A^+X^-	2,1	1,7	1,3	1,0	7,4	

Слика 46. Вредности триглицерида испитаника по испитиваним групама

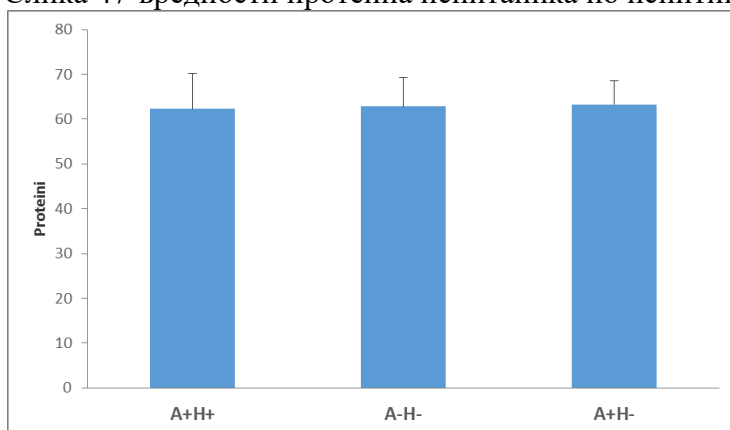


Није постојала статистички значајна разлика у просечним вредностима протеина између испитиваних група ($F=0,101$; $p=0,904$) (Табела 45; Слика 47).

Табела 45. Вредности протеина испитаника по испитиваним групама

протеини	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	62,3	7,8	62,0	40,0	77,0	0,904
A ⁻ X ⁻	62,8	6,5	62,0	50,0	74,0	
A ⁺ X ⁻	63,3	5,2	65,0	50,0	70,0	

Слика 47-вредности протеина испитаника по испитиваним групама

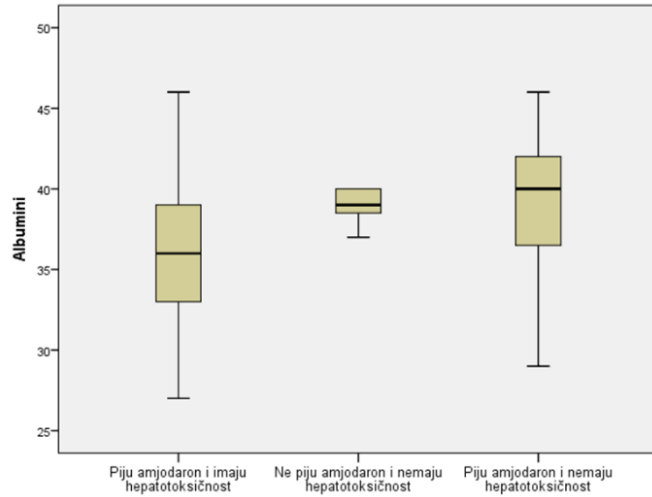


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама албумина између испитиваних група (hi -квадрат=9,337; $p=0,009$). Постојала је статистички значајна разлика између испитаника са A⁺X⁺ у односу на испитанике са A⁻X⁻ ($p=0,013$) и A⁺X⁺ у односу на A⁺X⁻ ($p=0,010$). Није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A⁻X⁻ у односу на испитанике са A⁺X⁻ ($p=0,452$) (Табела 46; Слика 48).

Табела 46. Вредности албумина испитаника по испитиваним групама

албумини	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	35,8	4,6	36,0	27,0	46,0	0,009
A ⁻ X ⁻	38,8	4,8	39,0	25,0	49,0	
A ⁺ X ⁻	39,3	4,8	40,0	29,0	46,0	

Слика 48. Вредности албумина испитаника по испитиваним групама

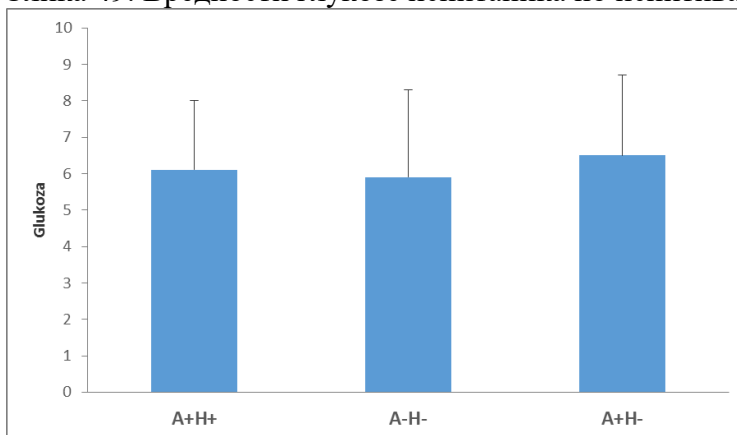


Није постојала статистички значајна разлика у просечним вредностима глукозе између испитиваних група ($F=0,455$; $p=0,636$) (Табела 47; Слика 49).

Табела 47. Вредности глукозе испитаника по испитиваним групама

глукоза	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	6,1	1,9	5,9	2,3	11,4	0,636
A ⁻ X ⁻	5,9	2,4	5,8	2,0	13,0	
A ⁺ X ⁻	6,5	2,2	5,8	4,0	13,0	

Слика 49. Вредности глукозе испитаника по испитиваним групама

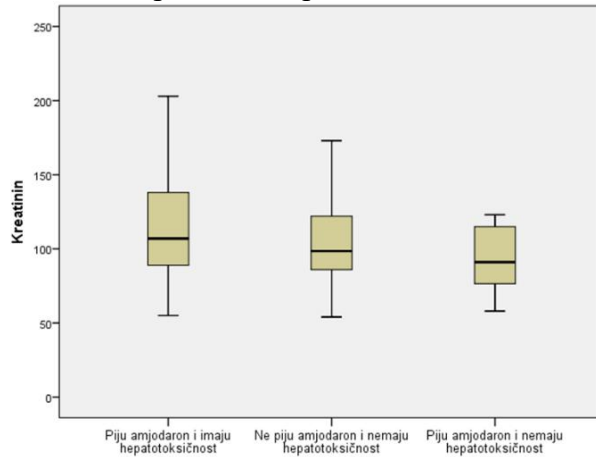


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама креатинина између испитиваних група (hi -квadrat=2,679; $p=0,262$)(Табела 48; Слика 50).

Табела 48. Вредности креатинин испитаника по испитиваним групама

креатинин	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	117,7	43,7	107,0	55,0	213,0	
A ⁻ X ⁻	105,9	38,0	98,5	29,0	227,0	0,009
A ⁺ X ⁻	101,9	41,6	91,0	58,0	220,0	

Слика 50. Вредности креатинина испитаника по испитиваним групама

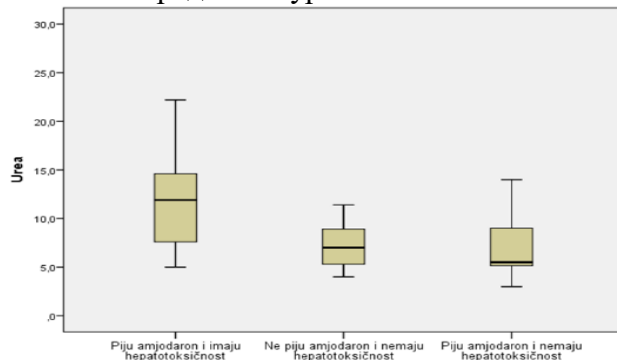


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама уреје између испитиваних група (hi-квадрат=13,595; p=0,001). Постојала је статистички значајна разлика између испитаника са A⁺X⁺ у односу на испитанике са A⁻X⁻ (p=0,008) и A⁺X⁺ у односу на A⁺X⁻ (p=0,001). Није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A⁻X⁻ у односу на испитанике са A⁺X⁻ (p=0,367) (Табела 49; Слика 51).

Табела 49. Вредности уреје испитаника по испитиваним групама

уреа	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	11,9	5,6	11,9	5,0	27,1	
A ⁻ X ⁻	11,8	17,9	7,0	4,0	95,0	0,001
A ⁺ X ⁻	7,1	3,0	5,5	3,0	14,0	

Слика 51. Вредности уреје испитаника по испитиваним групама

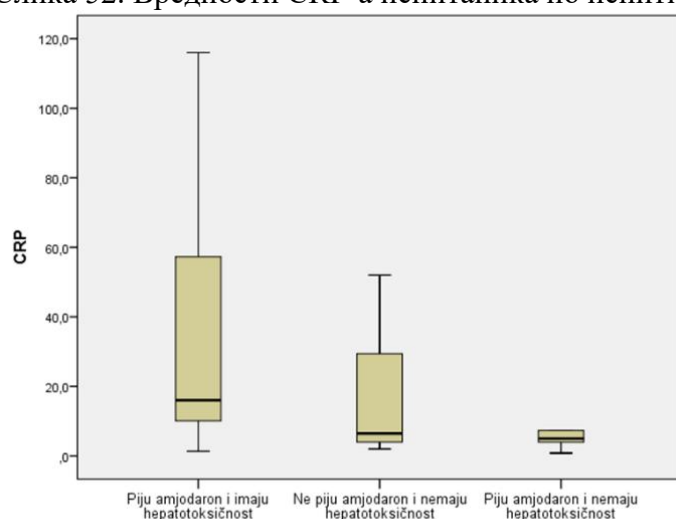


Постојала је статистички значајна разлика у медијанама CRP-а између испитиваних група (hi-квадрат=7,577; $p=0,023$). Статистички значајна разлика постојала је између испитаника са A^+X^+ и A^+X^- ($p=0,008$), док није постојала статистички значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p=0,066$) и A^-X^- у односу на A^+X^- ($p=0,392$)(Табела 50;Слика 52).

Табела 50. Вредности CRP-а испитаника по испитиваним групама

CRP	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	36,9	42,9	16,0	1,3	176,0	0,023
A^-X^-	17,7	20,2	6,5	2,0	83,0	
A^+X^-	16,8	27,8	5,0	0,8	107,0	

Слика 52. Вредности CRP-а испитаника по испитиваним групама

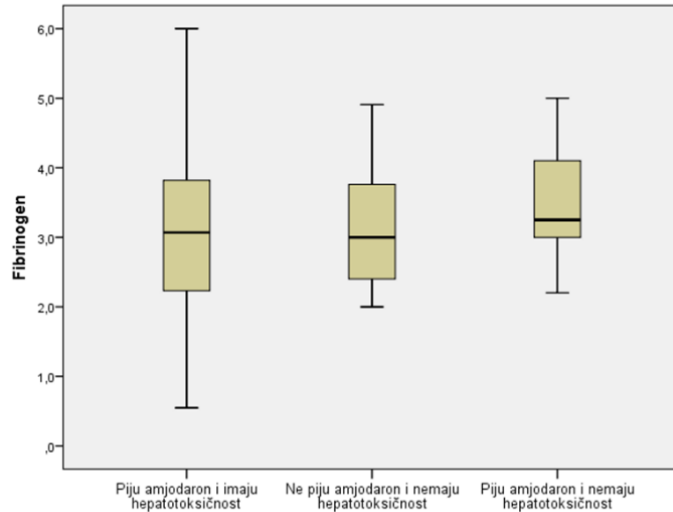


Није постојала статистички значајна разлика у медијанама фибриногена између испитиваних група (hi-квадрат=4,032; $p=0,133$) (Табела 51;Слика 53).

Табела 51. Вредности фибриногена испитаника по испитиваним групама

фибриногена	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	3,2	1,6	3,1	0,5	7,7	0,122
A^-X^-	3,4	1,5	3,0	2,0	7,8	
A^+X^-	3,8	1,3	3,3	2,2	8,0	

Слика 53. Вредности фибриногена испитаника по испитиваним групама

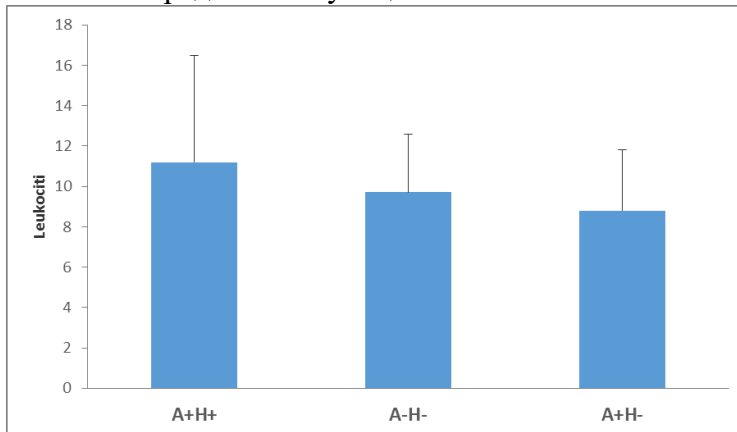


Није постојала статистички значајна разлика у просечним вредностима леукоцита између испитиваних група ($F=2,150$; $p=0,124$) (Табела 52:Слика 54).

Табела 52. Вредности леукоцита испитаника по испитиваним групама

леукоцити	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	11,2	5,3	10,6	5,0	28,2	0,124
A ⁻ X ⁻	9,7	2,9	9,6	4,1	15,0	
A ⁺ X ⁻	8,8	3,0	8,7	4,5	14,2	

Слика 54. Вредности леукоцита испитаника по испитиваним групама

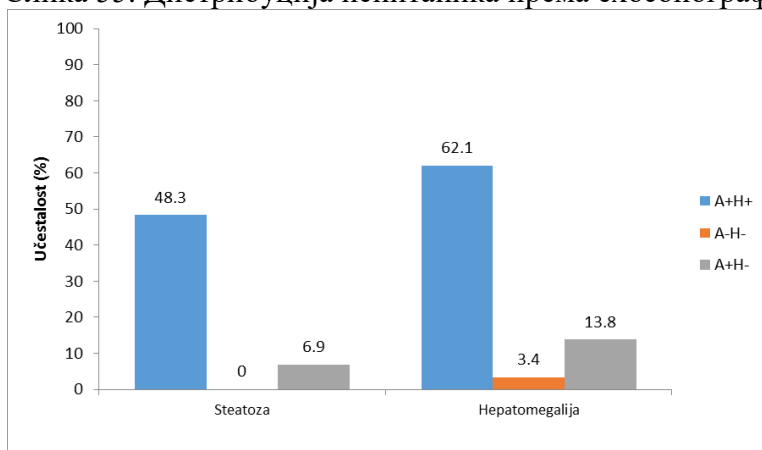


Стеатозу је имало 48,3% испитаника са A⁺X⁺, ниједан 0,0% са A⁻X⁻ и 6,9% A⁺X⁻, што је статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=26,345; $p<0,001$). Хепатомегалију имало је 62,1% испитаника са A⁺X⁺, 3,4% са A⁻X⁻ и 13,8% A⁺X⁻, што је статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=29,197; $p<0,001$) (Табела 53 ; Слика 55).

Табела 53. Дистрибуција испитаника према ехосонографском налазу абдомена

Варијабле	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
Стеатоза	14	48,3	0	0,0	2	6,9	<0,001
Хепатомегалија	18	62,1	1	3,4	4	13,8	<0,001

Слика 55. Дистрибуција испитаника према ехосонографском налазу абдомена



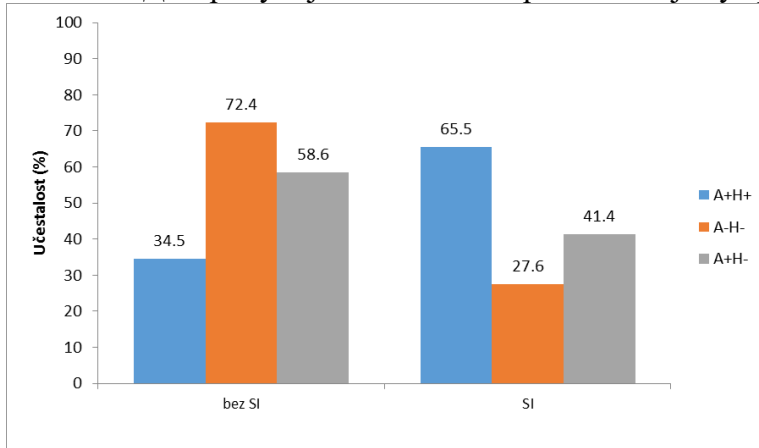
SI је имало 65,5% испитаника са A⁺X⁺, 27,6% са A⁻X⁻ и 41,4% A⁺X⁻, што је статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=8,644; p=0,013) (Табела 54; Слика 56).

Табела 54. Дистрибуција испитаника према постојању срчане инсуфицијенције

SI	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
не	10	34,5	21	72,4	17	58,6	
да	19	65,5	8	27,6	12	41,4	0,013
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

SI-срчана инсуфицијенција

Слика 56. Дистрибуција испитаника према постојању срчане инсуфицијенције

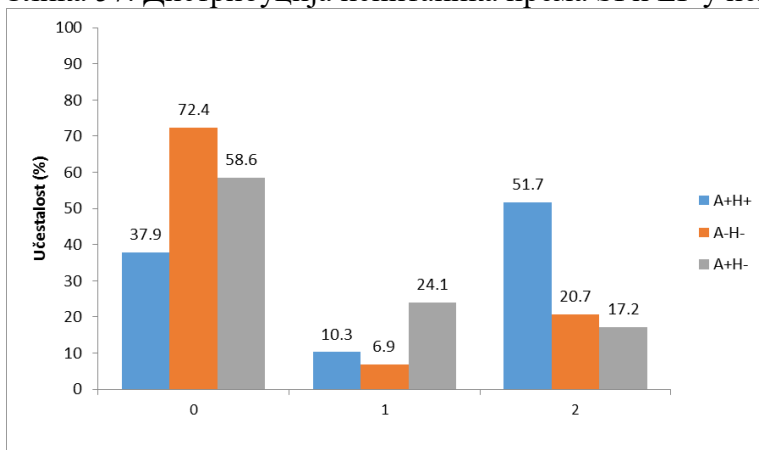


Испитаници са A^+X^+ најчешће су имали SI са $EF \leq 45\%$ (51,7%), док су испитаници са A^-X^- и A^+X^- најчешће били без SI (72,4% према 58,6%, респективно), што је статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=0,012$) (Табела 55; Слика 57).

Табела 55. Дистрибуција испитаника према SI и EF у испитиваним групама

SI EF	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
0	11	37,9	21	72,4	17	58,6	0,012
1	3	10,3	2	6,9	7	24,1	
2	15	51,7	6	20,7	5	17,2	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 57. Дистрибуција испитаника према SI и EF у испитиваним групама

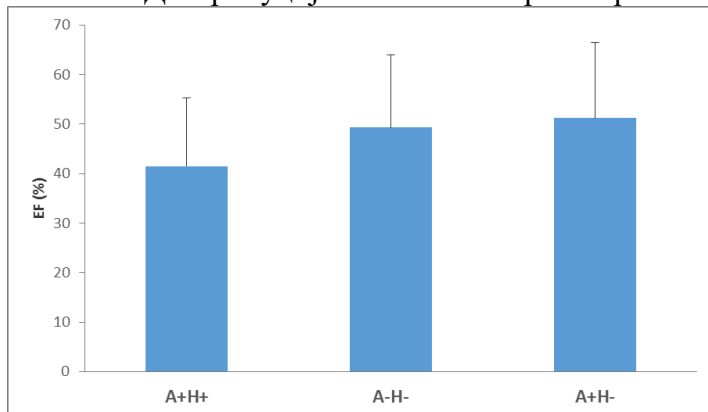


Није постоји статистички значајна разлика у просечним вредностима EF између испитиваних група ($F=2,649$; $p=0,080$) (Табела 56 ; Слика58).

Табела 56. Дистрибуција испитаника према просечној ЕФ

ЕФ	\bar{x}	sd	med	min	max	р-вредност
A ⁺ X ⁺	41,5	13,8	40,0	24,0	77,0	0,080
A ⁻ X ⁻	49,3	14,6	52,0	20,0	70,0	
A ⁺ X ⁻	51,2	15,2	45,0	27,0	77,0	

Слика 58. Дистрибуција испитаника према просечној ЕФ



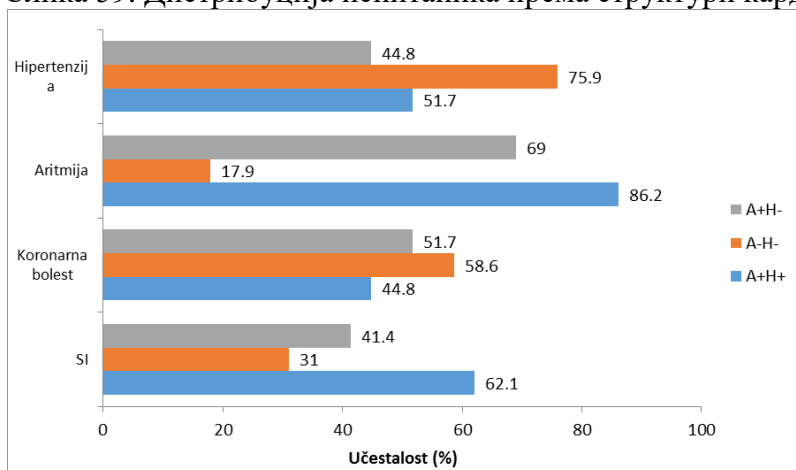
SI је имало 62,1% испитаника са A⁺X⁺, 31,0% са A⁻X⁻ и 41,4% са A⁺X⁻, што није статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=5,856; p=0,054). Коронарну болест је имало 44,8% испитаника са A⁺X⁺, 58,6% са A⁻X⁻ и 51,7% са A⁺X⁻, што није статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=1,105; p=0,576). Аритмије је имало 86,2% испитаника са A⁺X⁺, 17,9% са A⁻X⁻ и 69,0% A⁺X⁻, што је статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=29,452; p<0,001). Хипертензију је имало 51,7% испитаника са A⁺X⁺, 75,9% са A⁻X⁻ и 44,8% са A⁺X⁻, што је статистички значајна разлика (hi-квадрат тест=6,302; p=0,043) (Табела 57; Слика 59).

Табела 57. Дистрибуција испитаника према структури кардиоваскуларних болести

Обољења	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		р-вредност
	n	%	n	%	n	%	
SI	18	62,1	9	31,0	12	41,4	0,054
Хипертензија	13	44,8	17	58,6	15	51,7	0,576
Коронарна болест	25	86,2	5	17,9	20	69,0	<0,001
Аритмија	15	51,7	22	75,9	13	44,8	0,043

SI-срчана инсуфицијенција

Слика 59. Дистрибуција испитаника према структури кардиоваскуларних болести

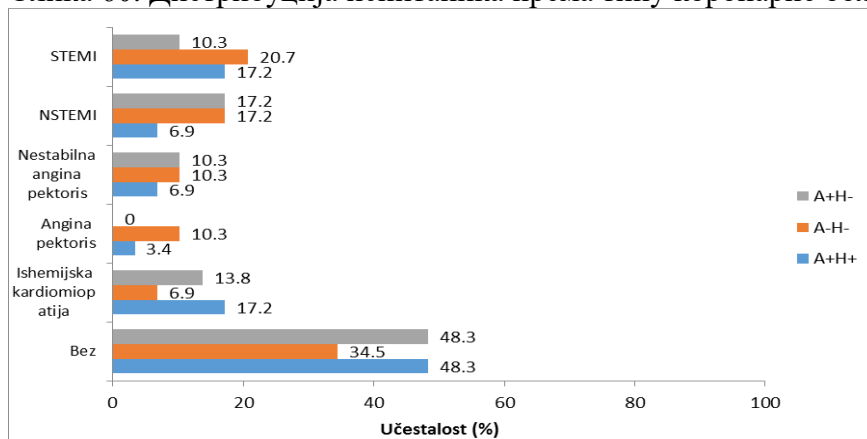


Све групе испитаника су најчешће биле без коронарних болести. Не постоји статистички значајна разлика у учесталости типа коронарне болести између испитиваних група (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=0,640$)(Табела 58;Слика 60).

Табела 58. Дистрибуција испитаника према типу коронарне болести

Тип коронарне болести	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
Без	14	48,3	10	34,5	14	48,3	0,640
Ишемијска кардиомиопатија	5	17,2	2	6,9	4	13,8	
Ангина пекторис	1	3,4	3	10,3	0	0,0	
Нестабилна ангина пекторис	2	6,9	3	10,3	3	10,3	
NSTEMI	2	6,9	5	17,2	5	17,2	
STEMI	5	17,2	6	20,7	3	10,3	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 60. Дистрибуција испитаника према типу коронарне болести

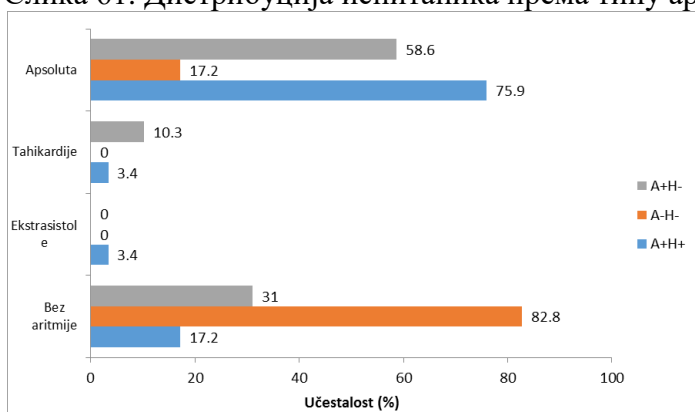


Испитаници са A^+X^+ и A^+X^- најчешће су имали апсолуту (75,9% према 58,6%, респективно), док су испитаници са A^-X^- најчешће били без аритмије (82,8%), што је статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p < 0,001$) (Табела 59; Слика 61).

Табела 59. Дистрибуција испитаника према типу аритмија

АРИТМИЈА	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p- вредност
	n	%	n	%	n	%	
Без аритмије	5	17,2	24	82,8	9	31,0	<0,001
Екстрасистоле	1	3,4	0	0,0	0	0,0	
Тахикардије	1	3,4	0	0,0	3	10,3	
Апсолута	22	75,9	5	17,2	17	58,6	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 61. Дистрибуција испитаника према типу аритмија

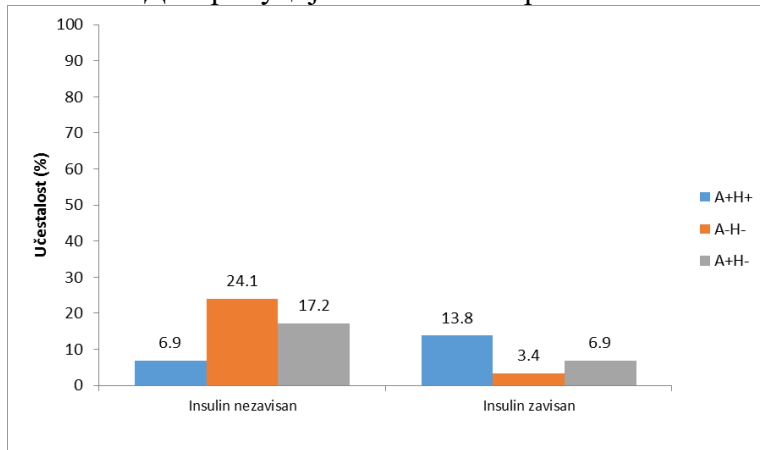


Инсулин независан DM имало је 13,8% испитаника са A^+X^+ , 3,4% са A^-X^- и 6,9% са A^+X^- , што није статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p = 0,236$). Инсулин зависан DM имало је 13,8% испитаника са A^+X^+ , 3,4% са A^-X^- и 6,9% са A^+X^- , што није статистички значајна разлика (Fisherov тест тачне вероватноће; $p = 0,492$) (Табела 60; Слика 62).

Табела 60. Дистрибуција испитаника према DM

DM	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p- вредност
	n	%	n	%	n	%	
Инсулин независан	2	6,9	7	24,1	5	17,2	0,236
Инсулин зависан	4	13,8	1	3,4	2	6,9	0,492

Слика 62. Дистрибуција испитаника према DM



Табела 61. Најчешће коришћени лекови у студијским групама (изузев амјодарона)

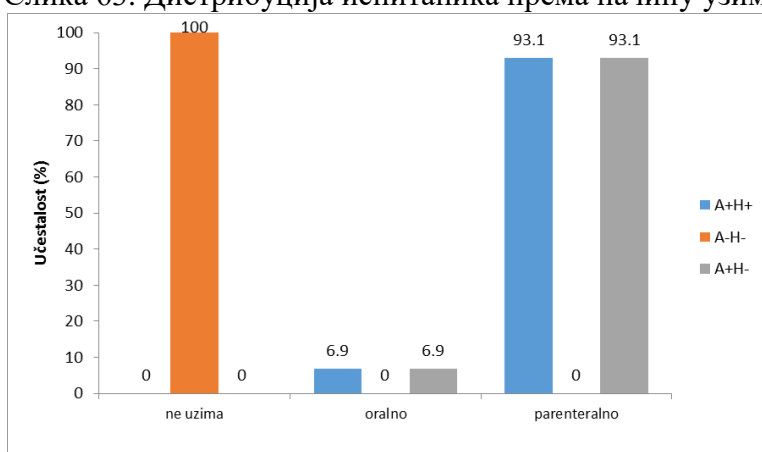
Лекови	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-vrednost
	n	%	n	%	n	%	
Блокатори H ₂ ресептора	8	27,6	3	10,3	6	20,7	0,249
Инхибитори протонске пумпе	21	72,4	21	72,4	11	37,9	0,008
метформин	1	3,4	4	13,8	5	17,2	0,326
Деривати сулфонамида	0	0,0	0	0,0	0	0,0	NA
Еноксапарин-Na	16	55,2	11	37,9	13	44,8	0,415
Ацетилсалицилна киселина	17	58,6	21	72,4	17	58,6	0,453
Клопидогрел	14	48,3	15	51,7	7	24,1	0,067
Органски нитрати	12	41,4	13	44,8	12	41,4	0,954
Триметазидин	8	27,6	7	24,1	7	24,1	0,941
Диуретици хенлеове петље	22	75,9	11	37,9	13	44,8	0,009
Спиринолактон	7	24,1	3	10,3	5	17,2	0,380
Селективни бета блокатори	20	69,0	13	44,8	17	58,6	0,176
Дихидропиридици	4	13,8	3	10,3	2	6,9	0,905
АСЕинхибитори	14	48,3	19	65,5	16	55,2	0,412
Аторвастатин	12	41,4	19	65,5	12	41,4	0,105
Бензодиазепини	2	6,9	5	17,2	7	24,1	0,236
Ксантини	12	41,4	4	13,8	7	24,1	0,055
Други хепатотоксични лек	24	82,8	17	58,6	12	41,4	0,005

Дистрибуција начина примене амјодарона приказана је у табели 62 (Слика 63).

Табели 62. Дистрибуција испитаника према начину узимања амјодарона

АРИТМИЈА	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
не узима	0	0,0	29	100,0	0	0,0	NA
орално	2	6,9	0	0,0	2	6,9	
парентерално	27	93,1	0	0,0	27	93,1	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 63. Дистрибуција испитаника према начину узимања амјодарона

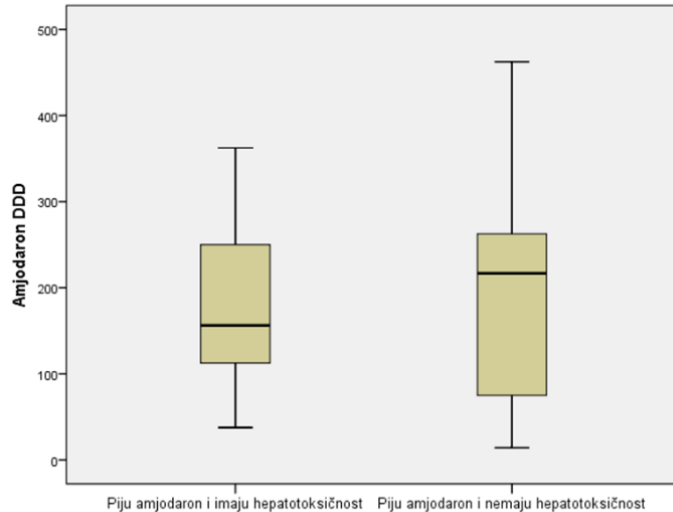


Не постоји статистички значајна разлика у медијанама DDD амјодарона између испитиваних група (U=415,0; p=0,932) (Табела 63;Слика 64)

Табели 63. Дистрибуција испитаника према DDD амјодарона

Amjodaron DDD	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	195,5	130,8	156,3	37,5	625,0	0,932
A ⁺ X ⁻	212,9	171,8	216,7	14,1	687,5	

Слика 64. Дистрибуција испитаника према DDD амјодарона

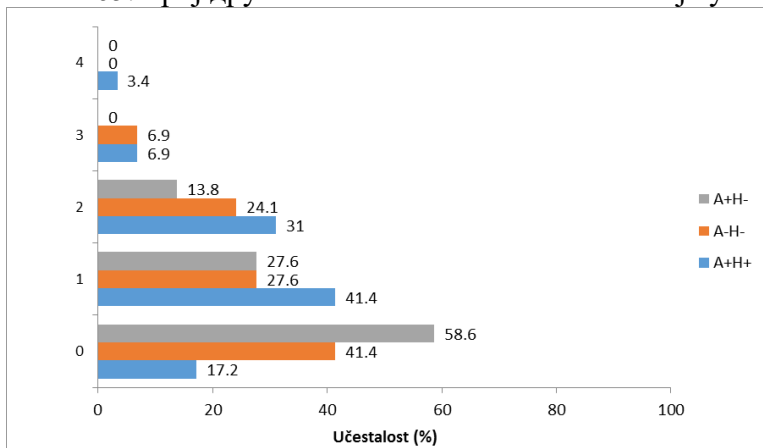


Постоји статистички значајна разлика у броју других хепатотоксичних лекова (χ^2 -квадрат=10,963; $p=0,004$). Статистички значајна разлика постоји између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^+X^- ($p=0,001$), док не постоји статистички значајна разлика између испитаника са A^+X^+ у односу на испитанике са A^-X^- ($p=0,111$), као ни између A^-X^- и A^+X^- ($p=0,103$) (Табела 64 ; Слика 65).

Табела 64. Број других хепатотоксичних лекова које узимају испитаници по групама

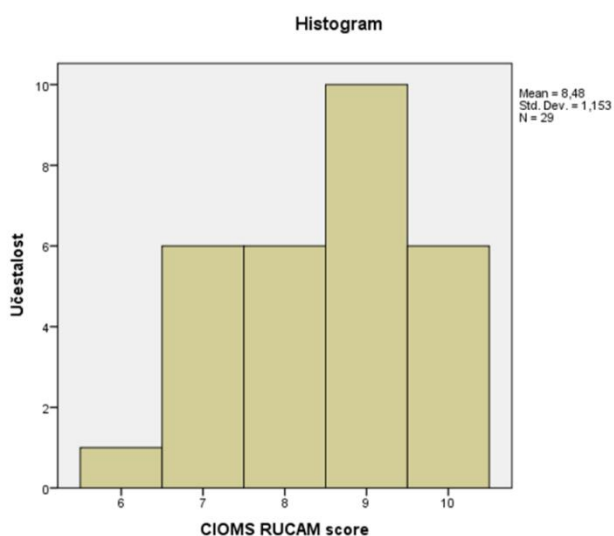
Број других хепатотоксичних лекова	A^+X^+		A^-X^-		A^+X^-		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
0	5	17,2	12	41,4	17	58,6	0,004
1	12	41,4	8	27,6	8	27,6	
2	9	31,0	7	24,1	4	13,8	
3	2	6,9	2	6,9	0	0,0	
4	1	3,4	0	0,0	0	0,0	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 65. Број других хепатотоксичних леква које узимају испитаници по групама



Код испитаника A⁺X⁺ просечна вредност CIOMS RUCAM scorea износи 8,48±1,2. Најнижа вредност износи 6 а максимална 10 (Слика 66).

Слика 66. Процена CIOMS RUCAM scorea за групу случај

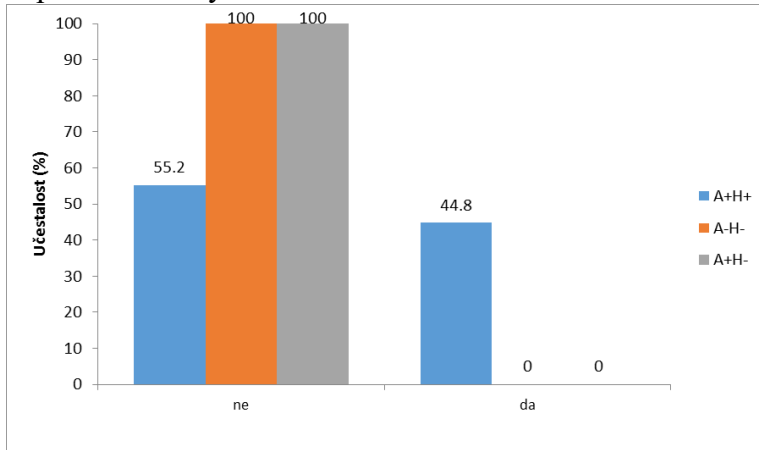


Постоји статистички значајна разлика у учесталости симптоматске хепатотоксичности између испитиваних група (Fisherov тест тачне вероватноће; p<0,001) (Табела 65; Слика 67).

Табела 65. Дистрибуција испитаника према симптоматској хепатотоксичности и смртном исходу

Симптоматска хепатотоксичност	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
не	16	55,2	29	100,0	29	100,0	
да	13	44,8	0	0,0	0	0,0	<0,001
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 67. Дистрибуција испитаника према симптоматској хепатотоксичности и смртном исходу

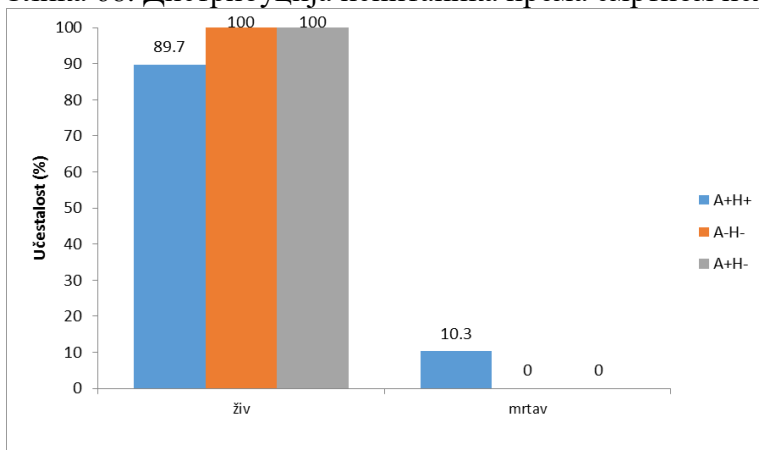


Не постоји статистички значајна разлика у учесталости исхода између испитиваних група (Fisherov тест тачне вероватноће; $p=0,103$) (Табела 66; Слика 68).

Табела 66. Дистрибуција испитаника према смртном исходу

Морталитет	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
жив	26	89,7	29	100,0	29	100,0	
мртав	3	10,3	0	0,0	0	0,0	0,103
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

Слика 68. Дистрибуција испитаника према смртном исходу

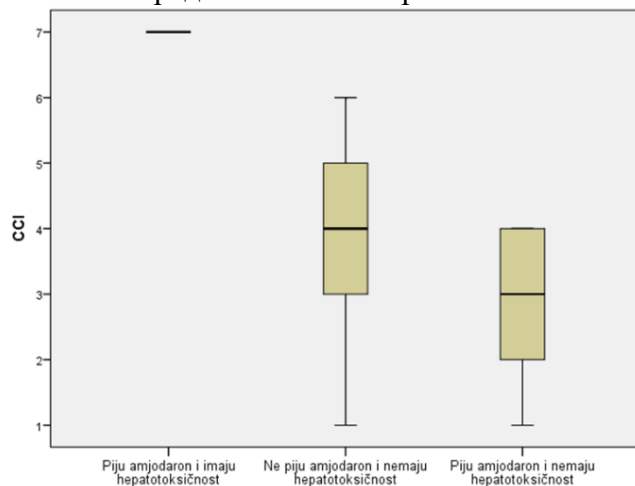


Постоји статистички значајна разлика у медијанама ССИ скора између испитиваних група ($\chi^2=59,840$; $p<0,001$). Статистички значајна разлика постоји између испитаника са A⁺X⁺ у односу на испитанике са A⁻X⁻ ($p<0,001$) и A⁺X⁻ ($p<0,001$), као и између испитаника са A⁻X⁻ и A⁺X⁻ ($p=0,077$) (Табела 67; Слика 69).

Табела 67. Вредности ССИ сора испитаника по испитиваним групама

CCI	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ H ⁺	6,8	0,6	7,0	5,0	7,0	
A ⁻ H ⁻	3,6	1,3	4,0	1,0	6,0	<0,001
A ⁺ H ⁻	3,0	1,1	3,0	1,0	4,0	

Слика 69. Вредности ССИ сора испитаника по испитиваним групама

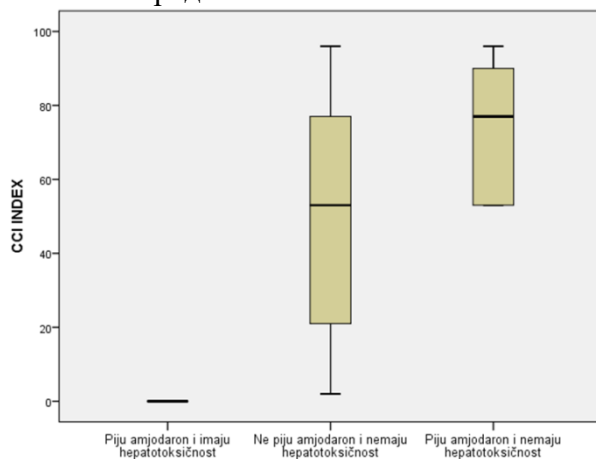


Постоји статистички значајна разлика у медијанама ССИ индекса између испитиваних група (hi -квадрат=59,824; $p < 0,001$). Статистички значајна разлика постоји између испитаника са A⁺X⁺ у односу на испитанике са A⁻X⁻ ($p < 0,001$) и A⁺X⁻ ($p < 0,001$), као и између испитаника са A⁻X⁻ и A⁺X⁻ ($p = 0,068$) (Табела 68; Слика 69).

Табела 68. Вредности ССИ испитаника по испитаним групама

CCI INDEX	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	1,7	5,4	0,0	0,0	21,0	
A ⁻ X ⁻	57,5	27,9	53,0	2,0	96,0	<0,001
A ⁺ X ⁻	71,4	17,7	77,0	53,0	96,0	

Слика 70. Вредности ССИ испитаника по испитаним групама



4.2.2 Анализа SOD2 генотипова

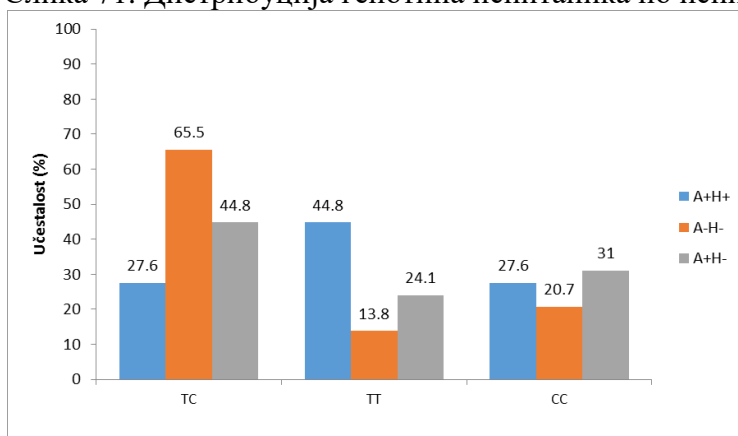
Постоји статистички значајна разлика у учесталости генотипа између испитиваних група (χ^2 -квадрат=10,409; $p=0,034$) (Табела 69; Слика 71)

Табела 69. Дистрибуција генотипа испитаника по испитиваним групама

Генотип	A ⁺ X ⁺		A ⁻ X ⁻		A ⁺ X ⁻		p-вредност
	n	%	n	%	n	%	
ТС	8	27,6	19	65,5	13	44,8	0,034
ТТ	13	44,8	4	13,8	7	24,1	
СС	8	27,6	6	20,7	9	31,0	
Укупно	29	100,0	29	100,0	29	100,0	

СС је хомозигот мутиран; ТТ је хомозигот нормалан; СТ хетерозигот, носилац мутације.

Слика 71. Дистрибуција генотипа испитаника по испитиваним групама

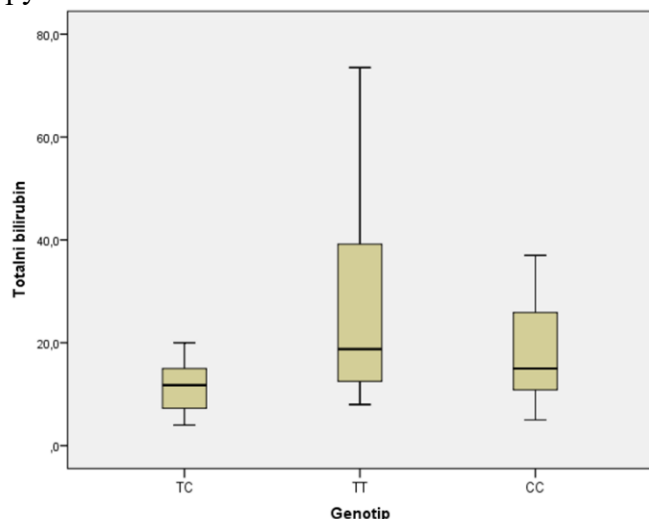


Постоји статистички значајна разлика у медијанама укупног билирубина између испитиваних група (χ^2 -квадрат=10,635; $p=0,005$). Статистички значајна разлика постоји између ТС и ТТ ($p=0,001$), док не постоји између ТС и СС ($p=0,102$), као ни између ТТ и СС ($p=0,154$) (Табела 70; Слика 72).

Табела 70. Вредности укупног билирубина испитаника у различити, испитиваним групама

генотип	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
ТС	15,3	13,0	11,8	4,0	68,0	0,005
ТТ	28,3	20,5	18,8	8,0	73,5	
СС	19,3	12,8	15,0	5,0	56,0	

Слика 72. Вредности укупног билирубина испитаника у различити, испитиваним групама

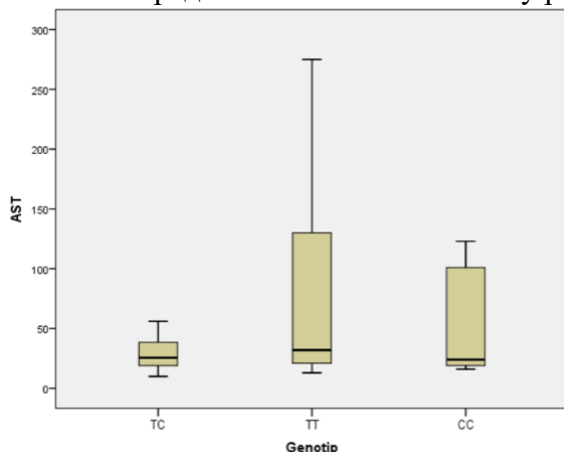


Не постоји статистички значајна разлика у медијанама AST између испитиваних група (hi-квадрат=2,592; $p=0,274$) (Табела 71; Слика 73).

Табела 71. Вредности AST испитаника у различитим, испитиваним групама

Генотип	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
TC	15,3	13,0	11,8	4,0	68,0	0,274
TT	28,3	20,5	18,8	8,0	73,5	
CC	19,3	12,8	15,0	5,0	56,0	

Слика 73. Вредности AST испитаника у различитим, испитиваним групама

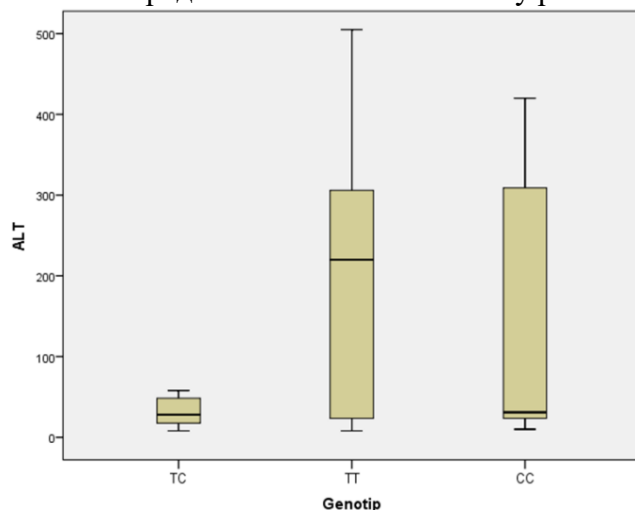


Постоји статистички значајна разлика у медијанама ALT између испитиваних група (hi-квадрат=6,698; $p=0,035$). Статистички значајна разлика постоји између TC и TT ($p=0,020$), док не постоји између TC и CC ($p=0,057$), као ни између TT и CC ($p=0,733$) (Табела 72; Слика 74).

Табела 72. Вредности ALT испитаника у различитим, испитиваним групама

Генотип	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
TC	81,9	131,5	28,0	8,0	669,0	
TT	437,0	1158,0	220,0	8,0	5748,0	0,035
CC	234,4	419,1	31,0	10,0	1753,0	

Слика 74. Вредности ALT испитаника у различитим, испитиваним групама



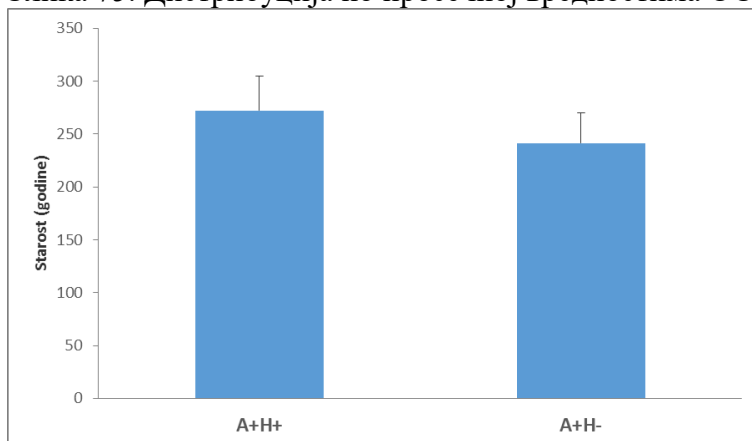
4.2.3 Дијагностичке перформансе теста ОТС-а и жучних киселина

Постоји статистички значајна разлика у просечној вредностима ОТС-а између испитиваних група ($t=3,800$; $p<0,001$) (Табела 73; Слика 75).

Табела 73. Дистрибуција по просечној вредностима ОТС-а у испитиваним групама

ОТС	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A ⁺ X ⁺	272,2	32,7	272,9	182,5	312,5	<0,001
A ⁺ X ⁻	241,4	28,8	242,7	193,0	300,5	

Слика 75. Дистрибуција по просечној вредностима ОСТ-а у испитиваним групама

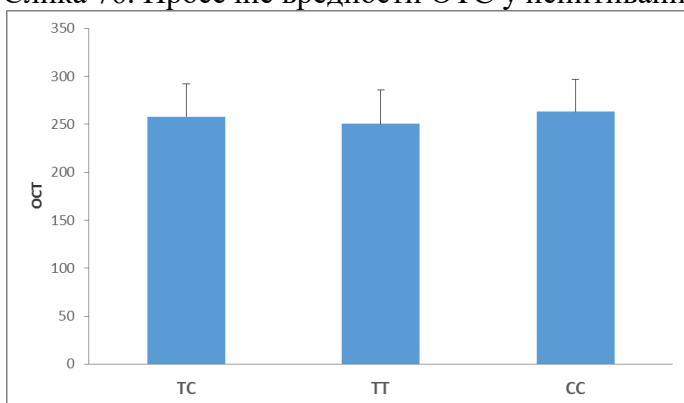


Не постоји статистички значајна разлика у просечној вредности ОТС-а између испитиваних група ($F=0,623$; $p=0,540$) (Табела 74; Слика 76).

Табела 74. Просечне вредности ОТС у испитиваним групама

ОТС	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
ТС	257,8	34,6	259,1	199,4	312,5	0,540
ТТ	250,5	35,1	250,2	182,5	305,4	
СС	263,0	33,6	269,7	193,0	309,6	

Слика 76. Просечне вредности ОТС у испитиваним групама

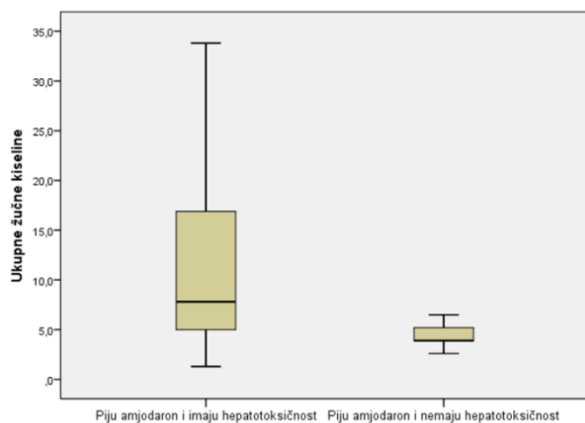


Постоји статистички значајна разлика у медијанама укупних жучних киселина између A^+X^+ и A^+X^- ($p=0,004$). (Табела 75; Слика 77).

Табела 75. Просечна вредност жучних киселина по испитиваним групама

Укупне жучне киселине	\bar{x}	sd	med	min	max	p-вредност
A^+X^+	11,9	10,2	7,8	1,3	41,6	0,004
A^+X^-	5,7	4,2	3,9	2,6	20,8	

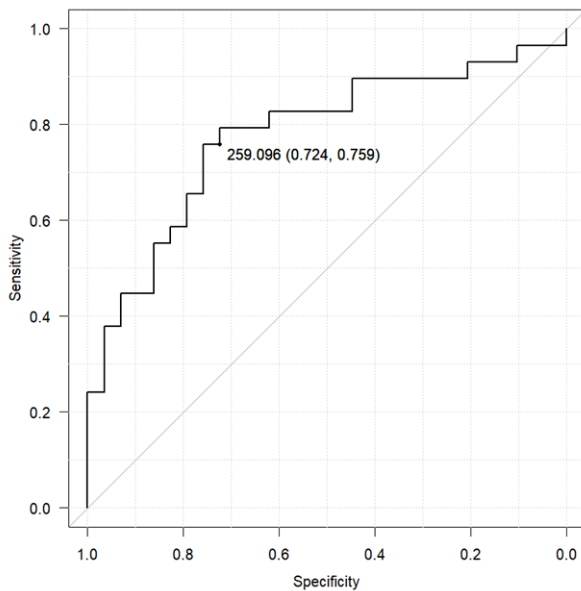
Слика 77. Просечна вредност жучних киселина по испитиваним групама



4.2.3.1. ROC ОТС и хепатотоцелуларно оштећење

Оптимална вредност прага ОТС за детекцију хепатотоцелуларног оштећења износи 259,1. Површина испод криве ОТС износи 0,78 (95% ЦИ 0,65 – 0,90). За задату вредност прага од 259,1 оцене тачности ОТС у детекцији хепатотоцелуларног оштећења износе: $S_n = 76\%$ и $S_p = 72\%$. Оптимална cut off вредност износи 259,1 и израчуната је на основу критеријума да је збир сензитивности и специфичности максималан. (Слика 78).

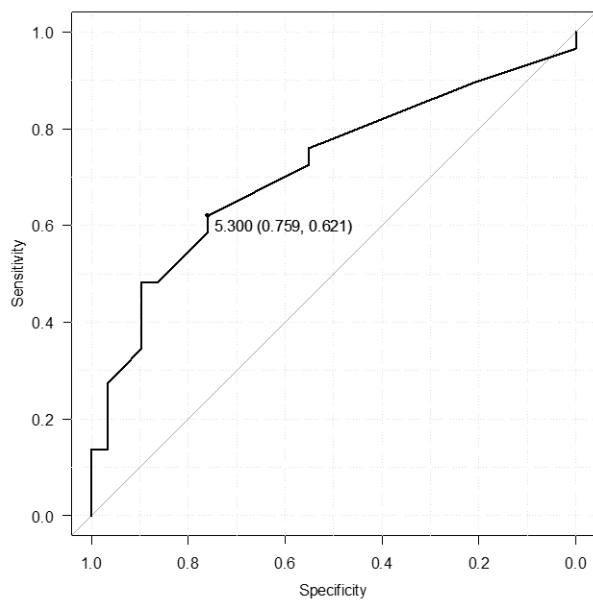
Слика 78. ROC ОТС и хепатотоцелуларно оштећење



4.2.3.2. ROC укупне жучне киселине и холестатско/мешано оштећење

Оптимална вредност прага укупних жучних киселина код испитаника који пију амјодарон за детекцију холестатског/мешаног оштећења износи 5,3. Површина испод криве укупних жучних киселина износи 0,72 (95% ЦИ 0,58 – 0,85). За задату вредност прага од 5,3 оцене тачности укупних жучних киселина у детекцији хепатотоцелуларног оштећења износе: $S_n = 62\%$ и $S_p = 76\%$, Оптимална cut off вредност износи 5,3, и израчуната је на основу критеријума да је збир сензитивности и специфичности максималан (Слика 79).

Слика 79. ROC укупне жучне киселине і холестатско/мешано оштећење



5.0. ДИСКУСИЈА

5.1. РЕТРОСПЕКТИВНА СТУДИЈА

Кардиолошки пацијенти представљају популацију која је врло склона развоју оштећења јетре, јер они имају бројне карактеристике које су, у основи, фактори ризика за лезију јетре. Јетра добија око 25% минутног волумена срца тако да било која кардиоваскуларна болест која значајно смањује артеријску перфузију и срчано преоптерећење може да узрокује пратећу хипоксију ткива јетре и знаке конгестивне хепатопатије. Ови фактори ризика могу да буду, на пример, било који узрок попуштања десног срца, укључујући констриктивни перикардитис, трикуспидну регургитацију, митралну стенозу, кардиомиопатију и *cor pulmonale*¹⁴⁵. Додатно, лекари често прописују бројне лекове пацијентима који пате од кардиоваскуларних болести, посебно у хоспиталним условима, а неки од тих лекова имају мању или већу способност да доведу до оштећења јетре. Исто тако, честа примена дијагностичких и терапијских васкуларних процедура (кардиохирургија, перкутана коронарна интервенција) и медицинских уређаја (интра-аортна балон пумпа, пејсмејкери, радиофреквентна аблација) које прати често прописивање лекова за које се зна да могу да имају нежељене ефекте на јетру (антилипимици, антикоагуланси, аналгетици) повећава ризик за клинички значајно оштећење јетре. Препознавање специфичних фактора ризика за DILI код кардиолошких болесника је важан клинички задатак. Тако да фактори везани за пацијента могу бити подељени на две групе: генетске (полиморфизам или мутације гена који кодирају ензиме преко којих се лек метаболише или транспортне протеине) и не-генетске (старост, пол, придружене соматске болести, трудноћа, алкохол, пушење, гојазност)¹⁴⁶. Уопштено, DILI је у новије време препознат као један од главних проблема фармаковигиланце. Његова инциденца у развијеним земљама на годишњем нивоу је значајна и представља главни разлог за повлачење лека са тржишта, као и престанка терапије из безбедоносних разлога, што за последицу има значајне економске губитке¹⁴⁷. Кардиолошки лекови као што су амјодарон, хидралазин, метилдопа, статини (аторвастатин, симвастатин), кинидин, тиклопидин, као и неки лекови који се често примењују код хоспитализованих кардиолошких пацијената са придруженим коморбидитетима као што су антибиотици (амоксицилин са клавуланском киселином, нитрофурантоин, сулфаметоксазол и триметоприм, сулфонамиди), лекови против гихта (алопуринол) и нестероидни антиинфламаторни лекови (диклофен, ибупрофен, нимесулид) су сврстани у групу лекова који најчешће

доведе до оштећења јетре¹⁴⁸. Други лекови који се често прописују овим пацијентима су понекад повезани са оштећењем јетре. На пример, од свих нежељених дејстава која се јављају услед примене еноксапарина, на оштећење јетре отпада око 4%¹⁴⁹. Резултати нашег истраживања показали су да су повремени унос алкохола, гојазност, придружени значајни коморбидитети и прописивање амјодарона, еноксапарина и аторвастатина независни предиктори оштећења јетре код хоспитализованих кардиолошких пацијената. Поред тога, утврдили смо у којој мери најчешће прописивани лекови утичу на развој хепатотоксичности код пацијената на кардиолошком одељењу, међу којима највећи ризик има амјодарон. Такође смо утврдили значајну повезаност употребе лекова и оштећења јетре, што је на оваквој студијској поулацији до сада мало проучавано у релевантним студијама.

Конзумирање алкохола пре хоспитализације представљало је најзначајнији независни фактор ризика за хепатотоксичност код испитаника, упркос чињеници да је клинички манифестна алкохолна болест била елиминишући критеријум. Значи, испитани пацијенти били су особе које су конзумирале алкохол врло ретко, нередовно или у малим количинама, али који, у тренутку када су укључени у ово истраживање, нису имали ни симптоматско ни асимптоматско оштећење јетре. Јединствене карактеристике хоспитализованих кардиолошких пацијената (нпр. хипотензија, хепатична исхемија, конгестија јетре, хепатоксични кардиоваскуларни лекови) највероватније додатно потенцирају добро познате механизме оштећења јетре алкохолом, чак иако је конзумиран у занемарљиво малим количинама пре хоспитализације¹⁵⁰⁻¹⁵².

Велики број пацијената који су учествовали у нашем истраживању имали су и гојазност и ултразвучно верификовану масну јетру, што је указивало на постојање неалкохолне масне болести јетре, која није проузрокована конзумирањем алкохола. На располагању нисмо имали податке о патохистолошком налазу ткива јетре наше студијске популације, а документација у историји болести најчешће не садржи податке неопходне за процену висцерлног (централног) типа гојазности (нпр. обим струка) који је најчешће удружен са оштећењем јетре¹⁵³. Међутим, бројне претходно објављене студије су показале јаку повезаност неалкохолне масне јетре узроковане гојазношћу и коронарне болести срца, касније се испоставило, честог обољења наше испитиване популације¹⁵⁴⁻¹⁵⁷.

Пацијенти са великим бројем коморбидитета, што је процењено ССИ скором, су имали значајно већи ризик за оштећење јетре, независно од других фактора. Неколико кардиоваскуларних болести било је повезано са пацијентима из групе случај у униваријантној логистичкој регресији; међутим, одлучили смо да укључимо варијабле

два главна кардиолошка обољења (коронарна болест, срчано попуштање) као и друга стања која су повезана са атеросклерозом и метаболичким дисбалансом (периферна васкуларна болест, кардиоваскуларни акцидент, транзиторни исхемијски атак, хемиплегија, дијабетес) у сложен систем процене како бисмо елиминисали збуњујуће факторе (индикацијска пристрасност) и повећали перформансе модела за детекцију DILI-ја (Табела 76).

Табела 76. Модел мултиваријантне логистичке регресија са хепатотоксичношћу као зависном варијаблом

Независна варијабла	В	р	OR	95% интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
Алкохол	4,569	<0,001	96,47	28,95	321,43
Пушење	0,653	0,121	1,92	0,84	4,38
Нутритивни статус	1,024	0,023	2,78	1,15	6,71
CCI	0,639	<0,001	1,89	1,53	2,34
Амјодарон	1,309	<0,001	3,70	1,82	7,53
Метформин	-2,000	0,003	0,14	0,04	0,51
Еноксипарин.На	1,192	<0,001	3,29	1,79	6,05
Диуретици Хенлеове петље	0,036	0,916	1,04	0,53	2,03
Аторвастатин	0,982	0,006	2,67	1,33	5,38

На пример, конгестивна срчана инсуфицијанеција је чест узрок акутног застоја јетре код хоспитализованих пацијентата¹⁵⁸. Претходне студије су потврдиле да већи CCI скор повећава ризик за смртни исход, али повезаност са акутним токсичним оштећењем јетре је мало испитивана, бар код пацијента на кардиолошком одељењу¹⁵⁹. Тако да наши резултати представљају новину у овој области, и треба спроводити даља истраживања у циљу њихове потврде и валидације.

Наше истраживање је показало да су три лека, амјодарон, еноксапарин и аторвастатин показали чврсту повезаност са новонасталим, акутним оштећењем јетре. Фармаколошки профили лекова као и прикупљено свеобухватно знање о улози лекова уопште, потврђују ове резултате за различите типове оштећења јетре¹⁶⁰. Велики број фактора, евидентних код хоспитализованих испитаника са узнатредовалим кардиоваскуларним обољењем и/или оних са ургентним кардиолошким стањем,

међусобно се преплићу, што прејудицира хепатотоксичност узроковану лековима. На пример, нестабилна ангина пекторис доводи до погоршања већ постојеће аритмије или до настанка нових поремећаја у раду срца, што захтева интензивирање медикаментозне терапије тј. повећано дозирање лекова. Заиста, прописивање амјодарона је узроковало прописивање других бројних лекова са хепатотоксичним дејством.

Наше истраживање ни на који начин не настоји да дискриминише дејство две формулације амјодарона, али неки резултати до којих смо дошли као и подаци из референтне литературе (нпр. кратак период хоспитализације пре појаве оштећења јетре, веће дневне дозе лека, значајне разлике у начину примене лека између две групе испитаника, познате чињенице везане за могућу хепатотоксичност медикамента при парентералној примени (нпр. полисорбат 80), чешћи хепатоцелуларни тип оштећења) индиректно указују на то да је парентерално дозирање представљало примарни фактор ризика^{10,161}.

Наше истраживање је показало да су еноксапарин и аторвастатин такође имали позитивну и значајну повезаност са хепатотоксичношћу у нашој студији, до чега смо дошли поређењем са применом ових лекова у контролног групи. Еноксапарин може довести до повећања нивоа трансаминаза јетре и, у неким случајевима, може довести до токсичног хепатитиса због привремене некрозе хепатоцита, што се дешава обично једну недељу након почетка третмана по дозно-зависном режиму^{149,162-164}. Аторвастатин је имао добро познат хепатотоксични потенцијал, који се испољавао различитим спектром клиничких манифестација, од асимптоматског повећања ензима јетре до леком узрокованог хепатитиса који се јављао у различитим периодима од почетка примене лека¹⁴⁸. Прописивање нижих доза (мањих од 40 mg дневно), одложено деловање и редукција бројних других ризичних фактора могу да смање магнитуду повезаности употребе аторвастатина и лезије јетре у поређењу са друга два лека.

Основна ограничења наше студије највећим делом проистичу из опсервационог дизајна, студије типа случај-контрола. Осим тога, многи важни подаци, неопходни за прецизније одређивање типа и временског опсега лезије јетре недостају у медицинској документацији (нпр. патолошка анализа ткива јетре, високо-специфични биомаркери). Без обзира на чињеницу што наша студија обухвата податке везане за стотине пацијената, изгледа да је тај узорак био довољан за откривање само главних детерминанти акутног хепатичког оштећења. У оквиру анализе, уочили смо велики број повезаности између потенцијалних фактора ризика, али највећи број њих није био укључен у крајњи модел логистичке регресије због претпостављених статистичких ограничења и/или клиничких разлога (нпр. збуњивање, колинаерност). На пример, чини

се да су гојазност и срчана декомпензација, који захтевају интензивирање медикаментозне терапије, пре прикривали повезаност фактора као што су пушење и употреба диуретика (готово искључиво фуросемида) него што су били изазвани њиховим директним хепатотоксичним дејством¹⁶⁵.

Резултат до кога смо дошли, да метформин има независно и протективно дејство, указује на то да је било оправдано искључити из коначне верзије модела логистичке регресије већину фактора чије је директно дејство на ткиво јетре нејасно. Постоје и ректи прикази случајева хепатотоксичности узроковане метформином код људи, али је инциденца оваквих случајева врло ниска, посебно ако се узме у обзир широка примена овог лека^{166,167}. У ствари, може се рећи да прави утицај метформина на оштећења јетре није познат а сва досадашња испитивања, како на анималним моделима тако и на људима у клиничком условима, показала су да он има хепатопротективно дејство¹⁶⁸⁻¹⁷¹. Изгледа да је укључивање лека који има директно супротно дејство у односу на остале факторе ризика нешто што би у клиничкој пракси имало реалистичан приступ. Узимајући у обзир већ наведене чињенице, као и вредности параметара модела, сматрамо да су резултати до којих смо дошли прецизни и клинички значајни.

Главни фактори који су повезани са акутним оштећењем јетре код пацијената хоспитализованих на кардиолошком одељењу у институцијама терцијарне здравствене заштите су конституционалне карактеристике и навике пацијента (повремени унос алкохола, гојазност, ССІ скор) и лекови (амјодарон, еноксапарин, аторвастатин) за које се зна да имају хепатотоксични потенцијал. Врста и тежина примарног кардиоваскуларног обољења или постојање коморбидитета повећава ризик за оштећење јетре, углавном удружено са осталим факторима ризика са којима су заједнички деловали. Даља истарживања која се фокусирају на индивидуалне факторе су оправдана како би се што боље дефинисао њихов утицај на различите субпопулације кардиолошких пацијената.

5.2. ПРОСПЕКТИВНА СТУДИЈА

5.2.1. Генотип SOD2

Ова студија је показала значајну повезаност између SOD2 Val16Ala генотипа и амјодароном индуковане хепатотоксичности у популацији српских пацијената. Генотип који је добијен као предиспонирајући за хепатотоксичност био је ТТ (Val/Val).

У овој студији смо истраживали функционални полиморфизам SOD2 гена који доводи до повећаног стварања H_2O_2 , да бисмо утврдили потенцијалну повезаност између повећаног стварања ROS и настанка DILI-ја узрокованог амјодароном. Продукција слободних кисеоничних радикала у повећаним количинама би могла да буде главни разлог за лезију јетре узроковану леком. SOD2 представља главни стуб антиоксидативне одбране у митохондријама јетре. Ово је потврђено и чињеницом да SOD2 knockout мишеви нису могли да преживе дуго након рођења¹⁷². С друге стране, хетерозиготни SOD2 дефицијентни мишеви су били способни да преживе, али су били знатно склонији оштећењу јетре ксенобиотицима због повећаног оксидативног стреса у митохондријама¹⁷³. Показано је да SOD2 има најзначајнију улогу у одржавању мембранског потенцијала митохондрија јетре¹⁷⁴. Дефицит SOD2 ће довести до накупљања слободних радикала са последичним оштећењем мембране митохондрија и сукцесивном апоптозом ћелије¹⁷⁵.

Функционални полиморфизам rs4880 у SOD2 гену је одређен инкорпорацијом аминокиселине валин у кодон 16 за Т алел, односно инкорпорацијом аланина за С алел. SOD2 протеин који садржи аланин се слободно транспортује у митохондријални матрикс, док се форма која садржи валин налази у унутрашњем слоју митохондријалне мембране. Експериментална истраживања Suttona и сарадника су показала да носиоци Т алела производе ниже концентрације SOD2 протеина у митохондријама¹⁷⁶. Многе студије указују на улогу Т алела у целуларном оштећењу у условима повећаног оксидативног стреса¹⁷⁷. С друге стране, Sutton и сарадници су спровели студију у којој су мерили нивое овог ензима у хуманој популацији и пронашли су да носиоци СТ или ТТ генотипа имају 33% већу ензимску активност у поређењу са индивидуалцима са СС генотипом¹⁷⁸. Ова контроверза у наведеној литератури би могла бити објашњена етничким и алиментарним разликама, пошто се зна да храна богата антиоксидансима може да анулира штетне ефекте слободних радикала¹⁷⁹.

По нашем сазнању, ово је прва студија која има за циљ да истражи повезаност генетског полиморфизма SOD2 и DILI код српских пацијената лечених амјодароном. Наше истраживање је показало да је оштећење јетре узроковано леком статистички значајно веће код особа које су носиоци ТТ алела. Пронашли смо да носиоци SOD2 Val/Val (Т/Т) генотипа имају повећан ризик за развој хепатотоксичности узорковане амјодароном, тј. за развој сва три подтипа: како за развој хепатоцелуларног тако и за развој холестатског и/или мешаног DILI-ја узрокованог амјодароном. Ово може бити случај због смањеног нивоа функционалног SOD2 ензима, услед његовог заробљавања у унутрашњи слој митохондријалне мембране. Такође смо утврдили да ли постоји и

каква је веза између вредности укупног билирубина, AST, ALT и ОТС-а у различитим групама генотипа. Пошто постоји статистички значајна разлика у медијанама укупног билирубина испитиваних група (класичан маркер холестатског оштећења јетре (hi -квадрат=10,635; $p=0,005$)) и у медијанама ALT-а (класичан маркер хеаптоцелуларног оштећења (hi -квадрат=6,698; $p=0,035$)) а највеће средње вредности поменутих маркера и медијана су забележене код испитаника са Wild type Val/Val(T/T) генотипом за SOD2, из чега проистиче још једна потврда да је Wild type Val/Val(T/T) генотипом за SOD2 фактор ризика а да су варијантни алели протективни фактор за нашу испитивану популацију.

Овај резултат није у сагласности са претходном студијом Huanga и сарадника, који су пронашли да су генотипови SOD2 Ala/Ala и Ala/Val повећали ризик за развој DILI-а у тајванској популацији⁶⁵.

У приказу Lucene и сарадника⁶⁸ показано је да је хепатотоксичност већа код носилаца С алела међу пацијентима леченим кардиоваскуларним агенсима, али то истраживање није укључило амјодарон као инкриминишући лек, тако да се наши резултати могу повезати са применом лека. Један од разлога за добијање другачијег резултата лежи у чињеници да су наши пацијенти били искључиво кардиолошки, са свим својим карактеристикама које прате ову популацију пацијената, лечени на Клиници за кардиологију и да су примали палету лекова у којој доминирају специфични кардиолошки лекови, међу којима водећу улогу има амјодарон и то пре свега парентерална формулација овог лека. Сви DILI случајеви у нашој кохорти били су амјодаром–индуковани, док у претходним истраживањима таквих пацијената готово и да није било. Те из наведеног проистиче да генетска подложност за развој DILI-ја може бити повезана са групом лекова која се примењује и са њиховим карактеристикама које су укључене у развој повреде јетре, тј. са амјодароном који доминира у овој популацији пацијената. Познато је да се амјодарон акумулира у ћелијама и да се његова токсичност повећава са продуженом употребом¹⁸⁰. Могуће је да неки од његових метаболита оштећују митохондрије, чинећи их тако подложнијим за оштећење. Још једно могуће објашњење за већу инциденцу DILI-ја је повећана продукција проинфламаторних цитокина код носилаца ТТ алела¹⁸¹. Проинфламаторни медијатори могу да доведу до оштећења јетре услед апаптозе.

Разлог за добијање оваквог резултата може да буде и величина нашег узорка која је прорачуната на основу пилот студије пресека спроведене на Клиници за кардиологију и на основу података о учесталости нормалног алела SOD2 и његове варијанте (rs4880) у 11 досадашњих студија (www.pharmgkb.org). Могући узрок може да буде и генотип за

SOD2 наше студијске популације, популације пацијената која се лечи и гравитира ка референтној терцијарној здравственој установи централне и западне Србије.

У закључку, пацијенти који су развили оштећење јетре узроковано амјодароном су имали већу учесталост T алела SOD2 полиморфизма. Требало би спроводити додатне студије на великом броју пацијената како би се показало да ли полиморфизам SOD2 може да буде предиктивни фактор за DILI узрокован амјодароном код Срба.

5.2.2. ОТС и жучне киселине

До сада ни у једном раду се није испитивао DILI узрокован амјодароном који је верификован ОТС-ом и укупним жучним киселинама. Упоредили смо групу случај A^+X^+ и њој мечовану контролу A^+X^- . Такође смо упоредили однос између ОТС-а и ALT-а (као раног и најсензитивнијег класичног лабораторијског маркера лезије јетре) са резултатима претходних студија. Истовремено смо испитивали ОТС и укупне жучне киселине и на основу њихових вредности диференцирали смо тип оштећења у групи случај уз помоћ ROC криве сензитивности и специфичности. У нашем истраживању је добијена оптимална cut off вредност за ОТС (маркер хепатоцелуларног оштећења) 259,1 и израчуната је на основу критеријума да је збир сензитивности и специфичности максималан, а оптимална cut off вредност за жучне киселине (маркер холестатског оштећења) 5,3, израчуната по истом принципу. Сви случајеви који су имали вредност ОТС-а 259,1 или већу имали су хепатоцелуларну компоненту оштећења јетре, док су они који су имали вредност за укупне жучне киселине 5,3 и више имали су холестатски и/или мешани тип оштећења (ако је та вредност била удружена са вредношћу оптималне cut off вредности ОТС (259,1) и више). У нашем истраживању у групи случај било је 9 случајева са хепатоцелуларним оштећењем, 7 са холестатским и 13 са мешовитим.

Из резултата проистиче да постоји статистички значајна разлика у просечним вредностима ОТС ($t=3,800$; $p<0,001$) и медијанама укупних жучних киселина ($p=0,004$) између A^+X^+ и A^+X^- . У нашем истраживању је снижен однос ОТС/ALT у односу на претходна истраживања где се одржава висок однос између поменутих маркера. Разлог за то је тај што је у нашој студији испитивана акутна лезија јетре, код које је вредност ОТС-а висока само у тренутку оштећења и убрзо затим пада тј. приближава се референтној вредности због кратког полуживота ОТС-а, док се скок ALT касније бележи али се повећане вредности знатно дуже одржавају од ОТС-а. Претходни аутори су забележили висок однос између ОТС-а и ALT-а јер су испитивали однос у

хроничним болестима јетре, где постоји дуготрајно, континуирано оштећење хепатоцита, па је ОТС хронично повишен а самим тим и поменути однос. У нашој студији пацијентима је узоркована крв не кад се оштећење десило већ када је лабораторијски верификовано троструким порастом АЛТ-а у односу на његову референтну вредност. Мањи скок ОТС-а у нашем истраживању у односу на друге студије у које су укључивани пацијенти са хроничним болестима јетре може да нам укаже на диференцијално-дијагностичко разликовање акутних од хроничних болести јетре при верификованом скоку АЛТ-а^{140,182}.

ОТС је маркер који је осетљивији за рано препознавање оштећења јетре од трансминаза, јер брзина појаве у циркулацији не зависи само од отпуштања маркера из хепатоцита већ зависи од клиренса тј. самих карактеристика маркера који условљавају клиренс пре него од његове локализације (раније се сматрало да су трансминазе осетљивије јер се налазе у цитосоли па се пре ослобађају из ћелија). Такође, ОТС је маркер који је специфичнији за оштећење јетре него серумске трансминазе јер њихове вредности могу да буду повећане и код болести срца и код болести мишића, док ексклузивна локализација ОТС-а у јетри чини овај ензим јединственим маркером за оштећење јетре.

6.0. ЗАКЉУЧАК:

Сходно постављеним циљевима студије, а на основу добијених резултата истраживања, изведени су следећи закључци:

1. Кардиолошки пацијенти хоспитализовани на Клиници за кардиологију представљају популацију пацијената коју одликују многе карактеристике које су у суштини фактори ризика за лезију јетре, посебно лекови, поједине социо-демографске карактеристике и коморбидитети код лечених болесника, при чему је утицај амјодарона значајан, доминантан у односу на друге лекове и независтан од других чинилаца.
2. Конзумирање алкохола нередовно или у малим количинама пре хоспитализације представљало је најзначајнији независни фактор ризика за хепатотоксичност код испитаника лечених на кардиолошком одељењу КЦ Крагујевац.
3. Статистички значајно већи број пацијената су били пушачи у групи случај у односу на њима мечоване контроле, што указује да је пушење препознато као статистички значајан фактор ризика за лезију јетре.
4. Велики број пацијената који су учествовали у нашем истраживању имали су и гојазност и ултразвучно верификовану масну јетру, што је указивало на постојање

неалкохолне масне болести јетре, која није проузрокована конзумирањем алкохола већ је чврсто повезана са прекомерном телесном тежином.

5. Врста и тежина примарног кардиоваскуларног обољења као што је коронарна болест, аритмија апсолута или постојање коморбидитета, повећава ризик за оштећење јетре, углавном удружено са осталим присутним факторима ризика на Клиници за кардиологију.

6. Пацијенти са великим бројем коморбидитета, што је процењено ССИ скором, су имали значајно већи ризик за оштећење јетре, независно од других фактора ризика.

7. Наше истраживање је показало да су три лека, амјодарон, еноксапарин и аторвастатин показали чврсту повезаност са новонасталим, акутним оштећењем јетре.

8 Резултати нашег истраживања показују да је примена парентералне формулације амјодарона представљала примарни ризик за лезију јетре.

9. Метформин је у нашем истраживању показао независно и протективно дејство на јетру.

10. Процена узрочности лека за оштећење јетре у групи случај коришћењем СИОМС/РУСАМ скоринг система је додатно потврдила налазе.

11. У популацији пацијената лечених на кардиолошком одељењу КЦ Крагујевац, Србија забележена хепатотоксичност удружена са употребом амјодарона много је чешће повезана са Wild type Val/Val (T/T) SOD2 немутираним генотипом, док је варијантни алел Ala/Ala (CC) и/или Ala/Val (TC) SOD2 препознат као протективни чинилац за DILI узрокован амјодароном

12. На основу ROC криве сензитивности и специфичности, конструисане на основу вредности ОТС-а и жучних киселина испитаника могуће је диференцирати тип оштећења јетре (хепатоцелуларно, холестатско, мешовито оштећење)

СКРАЋЕНИЦЕ

SOD2- superoxide dismutase 2
DEA- desethylamiodarone
SA – sinoatrial
AV – atrioventricular
VT- ventricular tachycardia
WPW-Wolff-Parkinson-White
PSVT- paroxysmal supraventricular tachycardia
ICD- implantable cardiac defibrillator
EF- ejection fraction
AF-atrial fibrillation
DILI- drug -induced liver injury
CABG- Coronary Artery Bypass Grafting
OAK-oral anticoagulants
NSAIL-non steroidal anti inflammatory
HIV – human imunodeficiency virus
САД – Сједињене америчке државе
CNS – Cental nervous system
RUCAM - Roussel Uclaf Causality Assessment Method
CIOMS/RUCAM score- Council for International Organizations of Medical Scientists/ Roussel Uclaf Causality Assessment Method score
GPX- glutathione peroxidase
DRESS – drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms
EB – Epstein Barr
ALT – alanine aminotransferase
ALP – alkaline phosphatase
ULN – upper limit of normal
M&V – Maria & Vitorino
CDS – clinical dignostic scale
DLST-dlst drug lymphocyte stimulation test
DILIN – drug induced liver injury network
LTT – lymphocyte transformation test
LMT - leukocyte migration test
TNF – tumor necrosis factor
FDA - food and drug association
PT – prothrombin time
INR – international normalized ratio
GGT – gamma-glutamyl transferase
OTC- ornithine carbamoyl transferase
GIT – gastrointestinal tract
NAD(P) – nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)
DDD - defined daily dose
AST – aspartate aminotransferase
TBA- total bile acids
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
ДНК – дезоксирибонуклеинска киселина
ATC – anatomical therapeutic chemical classification system
ЕКГ – електрокардиографија
proBNP – pro Brain natriuremic peptide
СТ – computerised tomography
MSCT – multi-slice computed tomography
MRI – magnetic resonance imaging
ERCP – endoscopic retrogade cholangiopancreatography
КЦ – клинички центар
ROC – Receiver operating chaacteristic
SD – standard deviation
ОМГ – остеомикуларна грађа
STEMI- st elevation myocardial infarction
NSTEMI- non st elevation myocardial infarction
SI – срчана инсуфицијенција
DM – diabetes mellitus
CCI- charlson comorbidity index
ACE – angiotensin converting enzyme
LDH – lactate dehydrogenase
CPK – creatine phosphokinase
CRP – C reactive proteine

7.0. ЛИТЕРАТУРА:

1. Goldschlager N, Epstein AE, Naccarelli GV, Olshansky B, Singh B, Collard HR, et al. A practical guide for clinicians who treat patients with amiodarone. *Heart Rhythm* 2007; 4(9):1250–1259.
2. Nasser M, Larsen TR, Waanbah B, Sidiqi I, McCullough PA. Hyperacute drug-induced hepatitis with intravenous amiodarone: case report and review of the literature. *Drug Healthc Patient Saf* 2013; 5:191-98.
3. Unić-Stojanović D, Babić S, Jović M, Radak Đ. Terapija postoperativne atrijalne fibrilacije. *Medicinska istraživanja* 2012; 46(2):16–24.
4. Rhodes A, Eastwood JB, Smith SA. Early acute hepatitis with parenteral amiodarone: a toxic effect of the vehicle? *Gut* 1993; 34(4):565–566.
5. Kažić T, Ostojić M. *Klinička kardiovaskularna farmakologija*. 5 izdanje. Beograd: Integra; 2009.
6. American Heart Association. 2005 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Part 7.3: Management of Symptomatic Bradycardia and Tachycardia. *Circulation* 2005;112:IV-67–IV-77. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.166558
7. Roy D, Talajic M, Dorian P, Connolly S, Eisenberg MJ, Green M, et al. Amiodarone to prevent recurrence of atrial fibrillation. Canadian Trial of Atrial Fibrillation Investigators. *N Engl J Med* 2000; 342(13): 913-920.
8. Goldschlager N, Epstein AE, Naccarelli G, Olshansky B, Singh B. Practical guidelines for clinicians who treat patients with amiodarone. Practice Guidelines Subcommittee, North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Arch Intern Med* 2000; 160(12):1741–1748.
9. Slavik RS. Intravenous amiodarone for acute pharmacological conversion of atrial fibrillation in the emergency department. *CJEM* 2002; 4(6):414-20.
10. Lahbabi M, Aqodad N, Ibrahim A, Lahlou M, Aqodad H. Acute hepatitis secondary to parenteral amiodarone does not preclude subsequent oral therapy. *World J Hepatol* 2012; 4(6):196-98.
11. Souney PF, Cooper WD, Cushing DJ. PM101: intravenous amiodarone formulation changes can improve medication safety. *Expert Opin Drug Saf* 2010; 9(2):319–333.

12. Guarnieri T, Nolan S, Gottlieb SO, Dudek A, Lowry DR. Intravenous amiodarone for the prevention of atrial fibrillation after open heart surgery: the Amiodarone Reduction in Coronary Heart (ARCH) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999;34(2): 343-347.
13. Puli SR, Fraley MA, Puli V, Kuperman AB, Alpert MA. Hepatic cirrhosis caused by low-dose oral amiodarone therapy. *Am J Med Sci* 2005; 330(5):257-61.
14. Aravanis C. Acute thrombophlebitis due to IV use of amiodarone. *Chest* 1982; 82(4): 515–516.
15. Scheiman MM, Levine JH, Cannom DS, Friehling T, Kopelman HA, Chilson DA, et al. Dose-ranging study of intravenous amiodarone in patients with life-threatening ventricular tachyarrhythmias. The intravenous amiodarone multicenter investigators group. *Circulation* 1995; 92(11): 3264-72.
16. Levine JH, Massumi A, Scheinman MM, Winkle RA, Platia EV, Chilson DA, et al. Intravenous amiodarone for recurrent sustained hypotensive ventricular tachyarrhythmias. Intravenous Amiodarone Multicenter Trial Group. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27(1): 67-75.
17. Chang CC, Petrelli M, Tomashefski Jr JF, McCullough AJ. Severe intrahepatic cholestasis caused by amiodarone toxicity after withdrawal of the drug: a case report and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123(3):251-56.
18. Gluck N, Fried M, Porat R. Acute amiodarone liver toxicity likely due to ischemic hepatitis. *Isr Med Assoc J* 2011; 13(12):748–752.
19. Van Herendael H, Dorian P. Amiodarone for the treatment and prevention of ventricular fibrillation and ventricular tachycardia. *Vasc Health Risk Manag* 2010; 6: 465-72.
20. Vorperian VR, Havighurst TC, Miller S, January CT. Adverse effects of low dose amiodarone: a meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology* 1997; 30(3): 791-798.
21. Hashmi A, Keswani NR, Kim S, Graham DY. Hepatic dysfunction in patients receiving intravenous amiodarone. *Southern medical journal* 2016; 109(2):83.
22. Santangeli P, Di Biase L, Burkhardt JD, Bai R, Mohanty P, Pump A, Natale A. Examining the safety of amiodarone. *Expert Opin Drug Saf* 2012; 11(2): 191-214.
23. Vučelić B. *Gastroenterologija i hepatologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2002.
24. Kukavica D. Antituberculous -induced liver dysfunction. *Pneumon* 2004; 41: 59-63.
25. González Galilea A, García Sánchez MV, la Mata García M, Miño Fugarolas G. Early-onset acute toxic hepatitis induced by intravenous amiodarone administration. *Gastroenterol Hepatol* 2002; 25(6): 392-4.

26. Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, Vega JL, García-Cortés M, Casado M, et al. Cholestatic hepatitis related to use of irbesartan: a case report and a literature review of angiotensin II antagonist-associated hepatotoxicity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14(8): 887-90.
27. Braun JS, Geiger R, Wehner H, Schaffer S, Berger M. Hepatitis caused by antidepressive therapy with maprotiline and pipramol. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31(4): 152-5.
28. Lucena MI, Carvajal A, Andrade RJ, Velasco A. Antidepressant-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Saf* 2003; 2(3): 249-62.
29. Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky H L, Watkins PB, Davern T, Serrano J, et al. Causes, clinical features, and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. *Gastroenterology* 2008 ; 135(6): 1924–34.
30. Pollmacher T, Haack M, Schuld A, Kraus T, Hinze-Selch D. Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J Psychiatr Res* 2000;34(6):369-82.
31. Hoek J, Pastorino J. Ethanol, oxidative stress and cytokine-induced liver cell injury. *Alcohol* 2002; 27(1): 63-8.
32. DeSanty KP, Amabile CM. Antidepressant-induced liver injury. *Ann Pharmacother* 2007; 41(7):1201-11.
33. Meier Y, Cavallaro M, Roos M, Pauli-Magnus C, Folkers G, Meier PJ, Fattinger K. Incidence of drug-induced liver injury in medical inpatients. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61(2): 135-43.
34. Björnsson E, Olsson R. Suspected drug-induced liver fatalities reported to the WHO database. *Dig Liver Dis* 2006; 38(1): 33-8.
35. Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, Pelaez G, Pachkoria K, García-Ruiz E, et al. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005; 129(2): 512-521.
36. Motola D, Vargiu A, Leone R, Cocci A, Salvo F, Ros B, et al. Hepatic adverse drug reactions: a case/non-case study in Italy. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; 63(1): 73-79.
37. Wai CT, Tan BH, Chan CL, Sutedja DS, Lee YM, Khor C, Lim SG. Drug-induced liver injury at an Asian center: a prospective study. *Liver Int* 2007; 27(4): 465-474
38. Vuppalanchi R, Liangpunsakul S, Chalasani N. Etiology of new-onset jaundice: how often is it caused by idiosyncratic drug-induced liver injury in the United States?. *Am J Gastroenterol* 2007; 102(3): 558-562.

- 39.Sgro C, Clinard F, Ouazir K, Chanay H, Allard C, Guilleminet C, et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology* 2002; 36(2): 451–455.
- 40.De Valle MB, Av Klinteberg V, Alem N, Olsson R, Björnsson E. Drug-induced liver injury in a Swedish University hospital out-patient hepatology clinic. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24(8): 1187-1195.
- 41.Regev A. Drug-induced liver injury and drug development: industry perspective. *Semin Liver Dis* 2014;34(2): 227-39.
- 42.Bjornsson E. Review article: drug-induced liver injury in clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32(1): 3-13.
- 43.Lee WM, Senior JR. Recognizing drug-induced liver injury: current problems, possible solutions. *Toxicol Pathol* 2005;33(1): 155-64.
- 44.Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2003;349(5): 474-85.
- 45.Chang CY, Schiano TD. Review article: drug hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(10): 1135–1151.
- 46.Andrade RJ, Robles M, Fernández-Castañer A, López-Ortega S, López-Vega MC, Lucena MI. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists. *World J Gastroenterol* 2007;13(3): 329-40.
- 47.Lucena MI, Garcia-Cortes M, Cueto R, Lopez-Duran J, Andrade RJ. Assessment of drug-induced liver injury in clinical practice. *Fundam Clin Pharmacol* 2008; 22(2):141-58.
- 48.Teschke R, Schwarzenboeck A, Hennermann KH. Causality assessment in hepatotoxicity by drugs and dietary supplements. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 66 (6): 758–766.
- 49.Andrade RJ, Robles M, Ortiz N, Lucena MI. Rechallenge in hepatotoxicity: proof of concept or therapeutic accident?. *Rev Esp Enferm Dig* 2008;100(5): 255-8.
- 50.Hussaini SH, Farrington EA. Idiosyncratic drug-induced liver injury: an overview. *Expert Opin Drug Saf* 2007; 6(6): 673–84.
- 51.Teschke R, Wolff A, Frenzel C, Schwarzenboeck A, Schulze J, Eickhoff A. Drug and herb induced liver injury: Council for International Organizations of Medical Sciences scale for causality assessment. *World J Hepatol* 2014; 6(1): 17-32.
- 52.Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiødt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med* 2002; 137(12): 947–54.

53. Miljkovic MM, Dobric S, Dragojevic-Simic V. Consistency between causality assessments obtained with two scales and their agreement with clinical judgments in hepatotoxicity. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2011; 20(3): 272-285.
54. Danan G. Causality assessment of drug-induced liver injury. Hepatology Working Group. *J Hepatol* 1988; 7(1): 132-136.
55. Tujios S, Fontana RJ. Mechanisms of drug-induced liver injury: from bedside to bench. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;8(4):202-11.
56. Rivkees SA. 63 Years and 715 days to the “boxed warning”: unmasking of the propylthiouracil problem. *Int J Pediatr Endocrinol* 2010; 2010.pii: 658267
57. Koch L. Therapy: propylthiouracil use associated with severe hepatotoxicity in children. *Nat Rev Endocrinol* 2010; 6(8): 416.
58. Strader DB, Navarro VJ, Seeff LB. Hepatotoxicity of herbal preparation. In: Boyer TD, Mann M, Sanyal AJ (eds). *Zakim & Boyer's Hepatology*, 6th edn. Philadelphia, PA: W.B. Saunders; 2012. p. 462 – 75.
59. Lewis JH. Drug-induced liver injury throughout the drug development life cycle: where we have been, where are we now, and where we are headed. Perspectives of a clinical hepatologist. *Pharm Med* 2013; 27(3): 165 – 91.
60. Kaplowitz N, De Leve LD. *Drug-Induced Liver Disease*. 3rd edn. Waltham MA: Academic press; 2013.
61. Lucena MI, Andrade RJ, Fernández MC, Pachkoria K, Pelaez G, Durán JA, et al. Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: a prospective series from Spain. *Hepatology* 2006; 44(4): 850-856.
62. Maddrey WC. Drug-induced hepatotoxicity: 2005. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39(4 Suppl 2): S83-S89.
63. Russo MW, Galanko JA, Shrestha R, Fried MW, Watkins P. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States. *Liver Transpl* 2004; 10(8): 1018-1023.
64. Shapiro MA, Lewis JH. Causality assessment of drug-induced hepatotoxicity: promises and pitfalls. *Clin Liver Dis* 2007; 11(3): 477-505.
65. Huang YS, Su WJ, Huang YH, Chen CY, Chang FY, Lin HC, Lee SD. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2007; 47(1): 128-134.

66. Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, Chang FY, Lee SD. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2003; 37(4): 924-930.
67. Stewart JD, Horvath R, Baruffini E, Ferrero I, Bulst S, Watkins PB, et al. Polymerase γ gene POLG determines the risk of sodium valproate-induced liver toxicity. *Hepatology* 2010; 52(5): 1791–1796.
68. Lucena MI, García-Martín E, Andrade RJ, Martínez C, Stephens C, Ruiz JD, et al. Mitochondrial superoxide dismutase and glutathione peroxidase in idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology* 2010; 52(1): 303–312.
69. Lammert C, Einarsson S, Saha C, Niklasson A, Bjornsson E, Chalasani N. Relationship between daily dose of oral medications and idiosyncratic drug-induced liver injury: search for signals. *Hepatology* 2008; 47(6): 2003-2009.
70. Lee BH, Koh WJ, Choi MS, Suh GY, Chung MP, Kim H, Kwon OJ. Inactive hepatitis B surface antigen carrier state and hepatotoxicity during antituberculosis chemotherapy. *Chest* 2005; 127(4): 1304-1311.
71. Núñez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J Hepatol* 2006; 44(1 Suppl): S132-S139.
72. Tarantino G, Conca P, Basile V, Gentile A, Capone D, Polichetti G, Leo E. A prospective study of acute drug-induced liver injury in patients suffering from non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2007; 37(6): 410-415.
73. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, et al. Acetaminophen -induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology* 2005; 42(6): 1364–1372.
74. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ* 2005; 172 (3): 367–379.
75. Navarro VJ, Senior JR. Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2006; 354 (7): 731–739.
76. Holt MP, Ju C. Mechanisms of drug-induced liver injury. *AAPS J* 2006; 8(1): E48–E54.
77. Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, Navarro VJ, Lee WM, Fontana RJ, et al. ACG Clinical Guideline: the diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Am J Gastroenterol* 2014;109(7):950-66.
78. Norris W, Paredes AH, Lewis JH. Drug-induced liver injury in 2007. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24(3): 287-297.

79. Carey EJ, Vargas HE, Douglas DD, Balan V, Byrne TJ, Harrison ME, Rakela J. Inpatient admissions for drug-induced liver injury: results from a single center. *Dig Dis Sci* 2008; 53(7): 1977-1982.
80. Norris S. Drug- and toxin-induced liver disease. In: Bacon BR, O'Grady JG, Kinkhabwala M, Schilsky ML. *Comprehensive clinical hepatology*. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 2006: 497–516.
81. Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs: I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993;46(11): 1323-30.
82. Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990; 11(2): 272-276.
83. Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, et al. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89(6): 806-815.
84. Benichou C, Danan G. A new method for drug causality assessment: RUCAM. In: Benichou C, ed. *Adverse drug reactions. A practical guide to diagnosis and management*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd 1994; 277–287.
85. Andrade RJ, Lucena MI, Kaplowitz N, García-Muñoz B, Borraz Y, Pachkoria K, et al. Outcome of acute idiosyncratic drug-induced liver injury: Long-term follow-up in a hepatotoxicity registry. *Hepatology* 2006; 44(6): 1581-1588.
86. Chitturi S, Farrell GC. Drug-induced liver disease. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC. *Schiff's diseases of the liver*. 9th ed. Tokyo: Lippincott Williams & Wilkins, 2003: 1059–1127.
87. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30(2): 239-45.
88. García-Cortés M, Lucena MI, Pachkoria K, Borraz Y, Hidalgo R, Andrade RJ, et al. Evaluation of Naranjo adverse drug reactions probability scale in causality assessment of drug-induced liver injury. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27(9): 780-9.
89. Maria VA, Victorino RM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatology* 1997; 26(3): 664 – 9.
90. Aithal GP, Rawlins MD, Day CP. Clinical diagnostic scale: a useful tool in the evaluation of suspected hepatotoxic adverse drug reactions. *J Hepatol* 2000; 33(6): 949-952.

91. Lucena MI, Camargo R, Andrade RJ, Perez-Sanchez CJ, Sanchez de la Cuesta F. Comparison of two clinical scales for causality assessment in hepatotoxicity. *Hepatology* 2001; 33(1):123–130.
92. Kaplowitz N. Causality assessment versus guilt-by association in drug hepatotoxicity. *Hepatology* 2001; 33(1): 308-310.
93. Watanabe M, Shibuya A. Validity study of a new diagnostic scale for drug-induced liver injury in Japan – comparison with two previous scales. *Hepatol Res* 2004;30(3):148-154.
94. Arimone Y, Miremont-Salamé G, Haramburu F, Molimard M, Moore N, Fourrier-Réglat A, Bégaud B. Inter-expert agreement of seven criteria in causality assessment of adverse drug reactions. *Br J Clin Pharmacol* 2007; 64(4): 482-288.
95. Miljkovic MM, Dobric S, Dragojevic-Simic V. Accuracy and reproducibility of two scales in causality assessment of unexpected hepatotoxicity. *J Clin Pharm Ther* 2012; 37(2): 196-203.
96. Galan MV, Potts JA, Silverman AL, Gordon SC. The burden of acute nonfulminant drug-induced hepatitis in a United States tertiary referral center. *J Clin Gastroenterol* 2005;39(1): 64–67.
97. Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Björnsson E, Day CP, Serrano J, Hoofnagle JH. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug - induced liver injury: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 2010; 52(2): 730–742.
98. Agarwal VK, McHutchison JG, Hoofnagle JH; Drug-Induced Liver Injury Network. Important elements for the diagnosis of drug-induced liver injury. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8(5): 463–470.
99. Lewis JH, Larrey D, Olsson R, Lee WM, Frison L, Keisu M. Utility of the Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM) to analyze the hepatic findings in a clinical trial program: evaluation of the direct thrombin inhibitor ximelagatran. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008; 46(7): 327-39.
100. Rockey DC, Seeff LB, Rochon J, Freston J, Chalasani N, Bonacini M, et al. Causality assessment in drug-induced liver injury using a structured expert opinion process: comparison to the Roussel-Uclaf causality assessment method. *Hepatology* 2010; 5(6): 2117–2126.
101. Rochon J, Protiva P, Seeff L, Fontana RJ, Liangpunsakul S, Watkins PB, et al. Reliability of the Roussel Uclaf Causality Assessment Method for assessing causality in drug-induced liver injury. *Hepatology* 2008; 48(4): 1175–1183.
102. Papay JI, Clines D, Rafi R, Yuen N, Britt SD, Walsh JS, Hunt CM. Drug-induced liver injury following positive drug rechallenge. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009; 54(1): 84–90.

103. Pichler WJ, Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2004; 59(8): 809–820.
104. Takikawa H, Takamori Y, Kumagi T, Onji M, Watanabe M, Shibuya A, et al. Assessment of 287 Japanese cases of drug induced liver injury by the diagnostic scale of the International Consensus Meeting. *Hepato Res* 2003; 27(3): 192-195.
105. Merk HF. Diagnosis of drug hypersensitivity: lymphocyte transformation test and cytokines. *Toxicology* 2005; 209(2): 217–220.
106. Usui K, Oda Y, Kubota R, Negishi K, Uno K, Tsunematsu S, et al. Clinical application of the leukocyte migration test and new diagnostic criteria for identifying causative agents in patients with drug-induced liver injury. *Hepatogastroenterology* 2007; 54(78): 1752-1757.
107. Murata H, Shimizu Y, Okada K, Higuchi K, Watanabe A. Detection and analysis of intracytoplasmic cytokines in peripheral blood mononuclear cells in patients with drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2003; 38(5): 573-582.
108. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995; 333(17): 1118-1127.
109. Kaplowitz N, De Leve LD. Drug-induced liver disease, 1sted. New York: Informa Healthcare, 2003: 227-242 109.
110. Zimmerman HJ. Hepatotoxicity: The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 428-433
111. Vuppalanchi R, Teal E, Chalasani N. Patients with elevated baseline liver enzymes do not have higher frequency of hepatotoxicity from lovastatin than those with normal baseline liver enzymes. *Am J Med Sci* 2005; 329(2): 62-65
112. Babatin M, Lee SS, Pollak PT. Amiodarone hepatotoxicity. *Curr Vasc Pharmacol* 2008; 6(3): 228-236.
113. Rao U, Agarwal A. Amiodarone-induced acute hepatotoxicity. *Eur J Clin Pharmacol* 2012; 68: 449-50.
114. Ben Chaabane N, Hellara O, Safer L, Melki W, Bdioui F, Zakhama A, Saffar H. Cirrhosis with increased density of the liver: amiodarone-induced hepatotoxicity. *Tunis Med* 2012; 90: 487-8.
115. Chan AL, Hsieh HJ, Hsieh YA, Lin SJ. Fatal amiodarone-induced hepatotoxicity: a case report and literature review. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008; 46: 96-101.
116. Krijt J, Sokolová J, Ješina P, Dvořáková L, Řeboun M, Brennerová K, et al. Activity of the liver enzyme ornithine carbamoyltransferase (OTC) in blood: LC-MS/MS assay for

- non-invasive diagnosis of ornithine carbamoyltransferase deficiency. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55(8): 1168-1177.
117. Pellicoro A, Faber KN. Review article: The function and regulation of proteins involved in bile salt biosynthesis and transport. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26 Suppl 2:149-60.
118. Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, Ren S, Gil G, Dent P. Bile acids as regulatory molecules. *J Lipid Res* 2009;50(8):1509-20.
119. Trauner M, Claudel T, Fickert P, Moustafa T, Wagner M. Bile acids as regulators of hepatic lipid and glucose metabolism. *Dig Dis* 2010;28(1):220-4.
120. *Cataldi A, Gonella D, Robutti N, Siri M, Buonocore S, Odetti P.* Hepatotoxicity after intravenous amiodarone. *Aging Clin Exp Res* 2008; 20(6): 593-6.
121. Serviddio G, Bellanti F, Giudetti AM, Gnoni GV, Capitanio N, Tamborra R, et al. Mitochondrial oxidativestress and respiratory chain dysfunction account for liver toxicity during amiodarone but not dronedarone administration. *Free Radic Biol Med* 2011;51(12): 2234-42.
122. Zaeemzadeh N, Hemmati A, Arzi A, Jalali M, Rashidi I. Protective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Amiodarone-Induced Pulmonary Fibrosis in Rat. *Iran J Pharm Res* 2011;10(2):321-8.
123. Trivier JM, Pommery N, Lhermitte M. Antioxidant defence capacity modulation of two human cell lines by amiodarone and desethylamiodarone. *Toxicol In Vitro* 1997;11(3):209-16.
124. Pollak PT, Shafer SL. Use of population modeling to define rational monitoring of amiodarone hepatic effects. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75(4): 342-351.
125. *Kim SH, Kim SH, Lee JH, Lee BH, Yoon HJ, Shin DH,* et al. Superoxide dismutase gene (SOD1, SOD2, and SOD3) polymorphisms and antituberculosis drug-induced hepatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2015; 7(1): 88-91.
126. Geng R, Chen Z, Zhao X, Qiu L, Liu X, Liu R, et al. Oxidative stress-related genetic polymorphisms are associated with the prognosis of metastatic gastric cancer patients treated with epirubicin, oxaliplatin and 5-fluorouracil combination chemotherapy. *PLoS One* 2014;9(12):e116027.
127. Bissell DM, Gores GJ, Laskin DL, Hoofnagle JH. Drug-induced liver injury: mechanisms and test systems. *Hepatology* 2001; 33(4): 1009–1013.
128. Bryant AE 3rd, Dreifuss FE. Valproic acid hepatic fatalities. III. U.S. experience since 1986. *Neurology* 1996; 46(2): 465–469.

129. 143. McKenzie R, Fried MW, Sallie R, Conjeevaram H, Di Bisceglie AM, Park Y, et al. Hepatic failure and lactic acidosis due to fialuridine (FIAU), an investigational nucleoside analogue for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1995; 333(17): 1099–1105.
130. Mattar W, Juliar B, Gradus-Pizlo I, Kwo PY. Amiodarone hepatotoxicity in the context of the metabolic syndrome and right-sided heart failure. *J Gastrointestin Liver Dis* 2009; 18(4): 419-423.
131. Kum LC, Chan WW, Hui HH, Wong GW, Ho SS, Sanderson JE, et al. Prevalence of amiodarone-related hepatotoxicity in 720 Chinese patients with or without baseline liver dysfunction. *Clin Cardiol* 2006; 29(7): 295-299.
132. Simon JB, Manley PN, Brien JF, Armstrong PW. Amiodarone hepatotoxicity simulating alcoholic liver disease. *N Engl J Med* 1984; 311(3): 167-172.
133. Lewis JH, Mullick F, Ishak KG, Ranard RC, Ragsdale B, Perse RM, et al. Histopathologic analysis of suspected amiodarone hepatotoxicity. *Hum Pathol* 1990; 21(1): 59-67.
134. Lewis JH, Ranard RC, Caruso A, Jackson LK, Mullick F, Ishak KG, et al. Amiodarone hepatotoxicity: prevalence and clinicopathologic correlations among 104 patients. *Hepatology* 1989; 9(5): 679-685.
135. Pollak PT, Bouillon T, Shafer SL. Population pharmacokinetics of long-term oral amiodarone therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67(6): 642-652.
136. Rätz Bravo AE, Drewe J, Schlienger RG, Krähenbühl S, Pargger H, Ummenhofer W. Hepatotoxicity during rapid intravenous loading with amiodarone: description of three cases and review of the literature. *Crit Care Med*. 2005; 33(1):128–134.
137. Huang X, Yang Y, Zhu J, Gao X, Wang G, Tan H, et al. Clinical applications and acute hepatotoxicity of intravenous amiodarone. *J Int Med Res* 2009; 37(6):1928–1936.
138. Pye M, Northcote RJ, Cobbe SM. Acute hepatitis after parenteral amiodarone administration. *Br Heart J* 1988; 59(6):690–691.
139. Douros A, Bronder E, Andersohn F, Klimpel A, Thomae M, Sarganas G, Kreutz R, Garbe E. Drug-induced liver injury: results from the hospital-based Berlin Case-Control Surveillance Study. *Br J Clin Pharmacol* 2015;79(6):988-99. doi: 10.1111/bcp.12565.
140. Tokushige K, Hashimoto E, Noto H, Yatsuji S, Tobarai M, Torii N, et al. Clinical significance of serum ornithine carbamoyltransferase in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2009;39(9):939–43. doi: 10.1111/j.1872-034X.2009.00530.x.
141. Lalisang TJ. Serum bile acid: an alternative liver function marker in the obstructive jaundice patient. *Acta Med Indones* 2012; 44(3): 233-8.

142. Pachkoria K, Lucena MI, Ruiz-Cabello F, Crespo E, Cabello MR, Andrade RJ, et al. Genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 are not related to drug-induced idiosyncratic liver injury (DILI). *Br J Pharmacol* 2007; 150: 808-815.
143. de Abajo FJ, Montero D, Madurga M, García Rodríguez LA. Acute and clinically relevant drug-induced liver injury: a population based case-control study. *Br J Clin Pharmacol* 2004;58(1):71-80.
144. Dupont WD, Plummer WD Jr. Power and sample size calculations. A review and computer program. *Control Clin Trials* 1990;11(2):116-28.
145. Moller S, Bernardi M. Interactions of the heart and the liver. *Eur Heart J* 2013; 34(36): 2804-11.
146. Yu YC, Mao YM, Chen CW, Chen JJ, Chen J, Cong WM, et al. CSH guidelines for the diagnosis and treatment of drug-induced liver injury. *Hepatol Int* 2017; 11(3): 221-41.
147. Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, End P, Benesic A, Gerbes AL, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut* 2017; 66(6): 1154-64.
148. Björnsson ES. Hepatotoxicity by drugs: the most common implicated agents. *Int J Mol Sci* 2016; 17(2): 224.
149. Hahn KJ, Morales SJ, Lewis JH. Enoxaparin-induced liver injury: case report and review of the literature and FDA Adverse Event Reporting System (FAERS). *Drug Saf Case Rep* 2015; 2(1): 17.
150. Massey LV, Juliane IB, Ritzenthaler RJ, Arteel EG. Potential role of the gut/liver/lung axis in alcohol-induced tissue pathology. *Biomolecules* 2015; 5(4): 2477-503.
151. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2012; 57(2): 399-420.
152. Bertholet N, Winter MR, Cheng DM, Samet JH, Saitz R. How accurate are blood (or breath) tests for identifying self-reported heavy drinking among people with alcohol dependence?. *Alcohol Alcoholism* 2014; 49(4): 423-9.
153. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 11 Suppl 1: 74-80.
154. Massart, J, Begriche K, Moreau C, Fromenty B. Role of nonalcoholic fatty liver disease as risk factor for drug-induced hepatotoxicity. *J Clin Transl Res* 2017; 3(1 Suppl): 212.

155. Targher G, Bertolini L, Poli F, Rodella S, Scala L, Tessari R, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2005; 54(2): 3541-6.
156. Ioannou GN, Weiss NS, Boyko EJ, Mozaffarian D, Lee SP. Elevated serum alanine aminotransferase activity and calculated risk of coronary heart disease in the United States. *Hepatology* 2006; 43(5): 1145-51.
157. Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 191(2): 235-40.
158. Tapper EB, Sengupta N, Bonder A. The incidence and outcomes of ischemic hepatitis: a systematic review with meta-analysis. *Am J Med* 2015; 128(12): 1314-21.
159. Yurkovich M, Avina-Zubieta JA, Thomas J, Gorenchtein M, Lacaille D. A systematic review identifies valid comorbidity indices derived from administrative health data. *J Clin Epidemiol* 2015; 68(1): 3-14.
160. Reuben A, Koch DG, Lee WM. Drug-induced acute liver failure: results of a U.S. multicenter, prospective study. *Hepatology* 2010; 52(6): 2065-76.
161. Jaiswal P, Attar BM, Yap JE, Devani K, Jaiswal R, Wang Y, Szykarek R, Patel D, Demetria M. Acute liver failure with amiodarone infusion: A case report and systematic review. *J Clin Pharm Ther* 2018; 43(1): 129-33.
162. Hui CK, Yuen MF, Ng IOL, Tsang KW, Fong GC, Lai CL. Low molecular weight heparin-induced liver toxicity. *J Clin Pharmacol* 2001; 41(6): 691-4.
163. Arora N, Goldhaber SZ. Anticoagulants and transaminase elevation. *Circulation* 2006; 113(15): e698-e702.
164. Harrill AH, Roach J, Fier I, Eaddy JS, Kurtz CL, Antoine DJ, et al. The effects of heparins on the liver: application of mechanistic serum biomarkers in a randomized study in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92(2): 214-20.
165. Wild SH, Byrne CD. ABC of obesity: risk factors for diabetes and coronary heart disease. *BMJ* 2006; 333(7576): 1009-11.
166. Zheng, J, Woo SL, Huu X, Botchlett, R., Chen, L., Huo, Y, et al. Metformin and metabolic diseases: a focus on hepatic aspects. *Front Med* 2015; 9(2): 173-86.
167. Firneisz G. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: the liver disease of our age?. *World J Gastroenterol* 2014; 20(27): 9072-89.

168. Saeedi Saravi SS, Hasanvand A, Shahkarami K, Dehpour AR. The protective potential of metformin against acetaminophen-induced hepatotoxicity in BALB/C mice. *Pharm Biol* 2016; 54(12): 2830-7.
169. Ling S, Shan Q, Liu P, Feng T, Zhang X, Xiang P, et al. Metformin ameliorates arsenic trioxide hepatotoxicity via inhibiting mitochondrial complex I. *Cell Death Dis* 2017; 8(11): e3159.
170. Tan S, Vollmar N, Benson S, Sowa JP, Bechmann LP, Gerken G, et al. Liver injury indicating fatty liver but not serologic NASH marker improves under metformin treatment in polycystic ovary syndrome. *Int J Endocrinol* 2015; 2015: 254169.
171. Crowley MJ, Diamantidis CJ, McDuffie JR, Cameron CB, Stanifer JW, Mock CK, et al. Clinical outcomes of metformin use in populations with chronic kidney disease, congestive heart failure, or chronic liver disease: a systematic review. *Ann Intern Med* 2017; 166(3): 191-200.
172. Lebovitz RM, Zhang H, Vogel H, Cartwright J Jr. Dionne L, Lu N, et al. Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(18):9782-7.
173. Williams MD, Van Remmen H, Conrad CC, Huang TT, Epstein CJ, Richardson A. Increased oxidative damage is correlated to altered mitochondrial function in heterozygous manganese superoxide dismutase knockout mice. *J Biol Chem* 1998; 273(43):28510-5.
174. Mäntymaa P, Siitonen T, Guttorm T, Säily M, Kinnula V, Savolainen ER, Koistinen P. Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase confers resistance to apoptosis in acute myeloblastic leukaemia cells exposed to etoposide. *Br J Haematol* 2000;108(3):574-81.
175. Huang P, Feng L, Oldham EA, Keating MJ, Plunkett W. Superoxide dismutase as a target for the selective killing of cancer cells. *Nature*. 2000; 407(6802):390-5.
176. Sutton A, Khoury H, Prip-Buus C, Capanec C, Pessayre D, Degoul F. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics* 2003; 13(3):145–57.
177. Akimoto AK, Miranda-Vilela AL, Alves PC, Pereira LC, Lordelo GS, Hiragi Cde O, et al. Evaluation of gene polymorphisms in exercise-induced oxidative stress and damage. *Free Radic Res* 2010;44(3):322-31. doi: 10.3109/10715760903494176.
178. Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, Degoul F. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(5):311-9.

179. Caple F, Williams EA, Spiers A, Tyson J, Burtle B, Daly AK, et al. Inter-individual variation in DNA damage and base excision repair in young, healthy non-smokers: effects of dietary supplementation and genotype. *Br J Nutr* 2010;103(11):1585-93. doi: 10.1017/S0007114509993540.
180. Sampson KJ, Kass RS. Antiarrhythmic drugs. In, Brunton LL, Chabner BA, Knollman BC, eds. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 2011, pp. 815-48).
181. Montano MA, da Cruz IB, Duarte MM, Krewer Cda C, da Rocha MI, Mânica-Cattani MF, et al. Inflammatory cytokines in vitro production are associated with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism of peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine* 2012;60(1):30-3. doi: 10.1016/j.cyto.2012.05.022.
182. Murayama H, Fukuda Y, Tsunekawa S, Ikemoto M, Nagata A. Ratio of serum ornithine carbamoyltransferase to alanine aminotransferase as a potent indicator for hepatocellular carcinoma. *Clin Biochem* 2007;40(13-14):1077-80.