# CREACION DE UNA RED MULTICENTRICA, MULTIDISCIPLINAR DE SOSPECHAS DE HEPATOTOXICIDAD POR MEDICAMENTOS O PREPARADOS DE HERBORISTERIA EN LATINOAMERICA

**Raúl J Andrade, M.Isabel Lucena,**

**en representación del Grupo Español de Hepatotoxicidad**

**XXIV Congreso de la Sociedad Española de Farmacología Clínica**

**Málaga, 4 de Octubre de 2011**

## 1. DESCRIPCION RESUMIDA

Las enfermedades hepáticas debidas a fármacos se han convertido en un desafío constante para los clínicos, las agencias reguladoras y la industria farmacéutica debido sobre todo a que suponen una de las mayores causas de retirada de fármacos del mercado. Además, la carencia de marcadores específicos de toxicidad que permitan un diagnóstico etiológico de certeza, explica que muchas incidencias pasen, en la práctica, desapercibidas. Por otra parte, la hepatotoxicidad por fármacos puede remedar en su presentación cualquier síndrome hepático agudo o crónico. La dificultad en detectar la hepatotoxicidad en los estudios clínicos en fase de desarrollo, hace que sea casi imposible predecir de manera fiable la seguridad de un medicamento. Además, la ausencia de modelos animales fiables para profundizar en su patogenia, su relativa rareza, la dificultad de establecimiento de causalidad por la ausencia de un "patrón de oro" para el diagnostico y la variabilidad étnica en la respuesta, representan un auténtico desafío clínico. En este contexto, un objetivo clave es identificar los factores de riesgo que incrementan la susceptibilidad del individuo (genéticamente único) a desarrollar daño hepático tóxico.

En el momento actual existe un enorme interés en el panorama internacional y muy potentes iniciativas orientadas a intentar armonizar la metodología de identificación de casos y aumentar el número de muestras para realizar estudios genéticos de susceptibilidad a la hepatotoxicidad, identificación de nuevos biomarcadores de daño hepático tóxico y de progresión de daño.
Una de estas iniciativas es el consorcio internacional denominado **IDILIC** (Internacional Drug-Induced Liver Injury Consortium) cuyo objetivo primario es ayudar a canalizar estos esfuerzos (realización de un análisis amplio del genoma y secuenciación) y que ahora en una nueva fase se propone incorporar a Latinoamérica en dicho consorcio.

El grupo español de hepatotoxicidad usando su propia metodología y red, tendrá en este proyecto la misión de facilitar la incorporación de países

Latinoamericanos expandiendo así la red a LatinoAmerica con la finalidad de buscar factores genéticos de susceptibilidad individual teniendo en cuenta las peculiaridades regionales propias de los fármacos responsables de causar hepatotoxicidad y la variabilidad étnica.

Esta propuesta facilitará generar un conocimiento que permitirá una translación rápida de los resultados a la práctica clínica con importante impacto en la Salud Pública.

## 2. ANTECEDENTES Y RAZON DE SER DE LA PROPUESTA

El hígado es un órgano clave en el destino de los fármacos en el organismo, al participar en la biotransformación de fármacos y xenobióticos, los cuales son eliminados por el riñón o el sistema biliar. Por lo que no sorprende que su disfunción tenga una notable repercusión en la respuesta farmacológica. De hecho, las lesiones hepáticas de naturaleza tóxica se han convertido en un desafío constante para los clínicos, industria farmacéutica y organismos reguladores.

De los fármacos comercializados muy pocos (el paracetamol y el ácido acetilsalicílico son los ejemplos más representativos) son capaces de producir lesión hepática en forma dependiente de la dosis, la gran mayoría de las reacciones adversas hepáticas que se ven en la práctica clínica son de carácter impredecible y en sujetos que reciben dosis terapéuticas. Este tipo de reacciones son consideradas idiosincrásicas, es decir, dependen de la singularidad única e intransferible del huésped. Debido su rareza, este tipo de reacciones no son habitualmente detectadas en los ensayos clínicos previos a la comercialización de los fármacos. Esto ocurre porque, a diferencia de otros problemas de seguridad con el uso de medicamentos, las facetas de la toxicidad hepática inducida por fármacos son múltiples y de difícil abordaje.

La incidencia real de reacciones hepatotóxicas no se conoce con exactitud; un estudio poblacional ha estimado aproximadamente 14 casos por 100.000

habitantes/año (Sgro C, Hepatology 2002). En la práctica, solo una minoría de casos se notifica de forma voluntaria a través de la “tarjeta amarilla” y, frecuentemente, existe dificultad para establecer relación causal entre la determinada lesión hepática y la exposición a un fármaco concreto. A ello se suma la ausencia de parámetros específicos de toxicidad hepática. El riesgo se estima que oscila ampliamente (entre 1/10.000 y 1/100.000 sujetos expuestos) Dicha variabilidad está relacionada con la presencia de factores de susceptibilidad individual tanto constitucionales (factores genéticos) como adquiridos (factores ambientales). En consecuencia, la hepatotoxicidad es con frecuencia olvidada entre las alternativas diagnósticas de un síndrome hepático determinado, y en el mejor de los casos la imputabilidad de un tratamiento farmacológico se debe por exclusión de otras causas (virales, obstructivas, etc.).

Los investigadores Raúl J. Andrade y María Isabel Lucena coordinan desde el año 1994 el Registro Español de Hepatotoxicidad (www.spanishdili.uma.es). Este proyecto tiene la finalidad de desarrollar una “cultura farmacoepidemiológica” y una metodología de recogida de información, perfilar los síndromes hepáticos producidos por fármacos, reconocer señales de alerta de hepatotoxicidad e identificar factores de riesgo. La información sobre hepatotoxicidad generada es más depurada permitiendo formular hipótesis de trabajo.

Las principales líneas de investigación derivadas son: Estudios farmacoepidemiológicos, factores de riesgo e historia natural; establecimiento de causalidad, estudios genéticos y de biomarcadores. Este grupo se ha consolidado en el panorama nacional con la participación en su estructura de más de 60 unidades de hepatología y farmacología clínica repartidas en todo el territorio nacional, y tiene una fuerte presencia internacional participando en el comité científico de importantes grupos de trabajo y colaborando en proyectos internacionales.

Un correcto fenotipado de los pacientes y la creación de un banco de muestras biológicas posibilitará la realización de estudios centrados en el conocimiento de los mecanismos de daño, identificar estructuras dianas o sistemas

biológicos relacionados con la toxicidad hepática y así, sentar las bases para diseñar fármacos más seguros.

Los avances en la compresión de los factores de riesgo que determinan las reacciones adversas a los fármacos mejoraran la capacidad para predecir que sujetos van a desarrollar con mayor probabilidad una reacción adversa a medicamentos, lo que tendrá un impacto positivo en términos de salud pública, desarrollo de medicamentos y manejo del riesgo de toxicidad farmacológica una vez los fármacos alcancen el mercado farmacéutico.

**BIBLIOGRAFIA**


1. Sgro C, Clinard F, Ouazir K, et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a Frech population-based study. Hepatology 2002;36:451-5.
2. Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, et al. Drug-Induced Liver Injury: An análisis of 461 incidences submitted to the Spanish Registry over a 10-year period. Gastrenterology 2005;129:512-21.
3. Lucena MI, Cohen H, Hernández N, Bessone F, et al. Hepatotoxicidad, un problema global con especificidades locales: hacia la creación de una red Hispano Latinoamericana de hepatotoxicidad. Gastroenterol Hepatol 2011;34:361-68.
4. Bessone F, Colombato L, Fassio E, Regiardo MV, Vorobioff J, Tanno H. The spectrum of nimesulide induced hepatotoxicity. An overview. Anti-inflammatory & Anti-allergy agents in Medicinal Chemistry 2010;9:355-65.
5. Bénichou C. Criteria for drug-induced liver disorders. Report of an International Consensus meeting. J Hepatol 1990;11:272-76.
6. Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, et al. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-induced liver injury: Summary of a clinical research workshop. Hepatology. 2010, 52:730-42.
7. Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, et al. Case Definition and Phenotype Standardization in Drug-Induced Liver Injury. Clin Pharmacol Ther 2011; 89:806-15.

8. Lucena MI, Camargo R, Andrade RJ, et al. Comparison of two clinical scales for causality assessment in hepatotoxicity.. Hepatology. 2001;33:123-30.
9. Garcia-Cortes M, Stephens C, Lucena MI, Fernandez-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug-induced liver injury: Strenghts and weaknesses. J Hepatol 2011; 55:683-91.
10. Zimmerman HJ. Hepatotoxicity. The adverse effects of Drug and Others Chemicals on the liver (2nd edn). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
11. Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, et al. Causes, clinical features and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. Gastroenterology 2008;135:1924-1934.
12. . Borraz Y, Fernández MC, García-Muñoz B, et al. Would it be desirable to modify the cut-off point for definition of chronicity in drug-induced liver injury (DILI)? (abstract). Hepatology 2010; **52**, 457A.
13. Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, et al. HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. Nat Genet 2009;41:816-819.
14. Lucena MI, Molokhia M., Shen Y, et al. Susceptibility to amoxicillin-clavulanate-induced liver injury is influenced by multiple HLA class I and II alleles. Gastroenterology 2011;141:338-47.

## 3. OBJETIVOS

El objetivo de nuestro grupo es incorporar a países de Latinoamérica en la identificación y caracterización de pacientes con hepatitis tóxica usando nuestra metodología y experiencia con la red española, para formar de este modo, una amplia red LatinoAmericana en el marco del International Drug-Induced Liver Injury Consortium (IDILIC).

1. Establecer una red multicentrica de especialistas latinoamericanos en hepatología, medicina interna, pediatras y farmacólogos clínicos, enfocada a la identificación y caracterización prospectiva de hepatopatias asociadas a medicamentos, siguiendo un protocolo uniforme y coordinada por el Registro Español de Hepatotoxicidad.

    - Creación y mantenimiento de una base de datos de pacientes latinoamericanos con hepatopatías asociadas a medicamentos que permita el registro de la información necesaria.

    - Crear una Web de la Red Iberoamericana de Hepatotoxicidad hospedada en la página del Registro Español de Hepatotoxicidad (www.spanishdili.uma.es)

2. Realizar estudios farmacoepidemiológicos para dibujar las características del daño hepático tóxico, los principales fármacos involucrados e identificación de factores de riesgo.

    - Ofrecer un soporte válido y uniforme de registro de hepatitis idiopáticas, recogiendo información sobre exposición a fármacos u otros agentes etiológicos para así incrementar el diagnóstico y las garantías de certeza de las sospechas de hepatotoxicidad.

- Facilitar la caracterización clínica y, en su caso,patogénica de las hepatitis tóxicas, ayudar a resolver posibles dudas diagnósticas y servir de apoyo al clínico en el consejo terapéutico
- Mantener un foro abierto en la red de discusión y consulta terapéutica en la materia.

- Generar posibles señales de alerta e identificación de factores de riesgo de hepatotoxicidad

3. Evaluar de manera sistemática los parámetros para el establecimiento de causalidad

4. Obtener muestras biológicas de pacientes con hepatitis tóxica para la realización de estudios genéticos y de biomarcadores y avanzar en el mecanismo etiopatogenico del daño tóxico. Formular nuevas hipótesis de trabajo con el fin de responder problemas clínicos relevantes, sin fines comerciales.

## 4. METODOLOGÍA

### Diseño

Estudio seguimiento prospectivo de pacientes con hepatopatía de naturaleza medicamentosa o relacionada con la ingesta de productos de herboristeria identificados en los diferentes centros clínicos participantes

### Población de estudio

### Criterios de inclusión de los pacientes:

Aquellos casos que a juicio del médico responsable en las diferentes Unidades de Hepatología, Medicina Interna, Toxicología participantes presenten una sospecha de hepatopatía asociada a la ingesta de medicamentos, productos de herboristería, drogas o tóxicos serán remitidos al Registro Español de Hepatotoxicidad.

Todos los casos son notificados mediante un protocolo estructurado (Anexo 1) y revisado por los coordinadores del Registro. Este protocolo se usa para recoger información de los pacientes acerca de sus características demográficas, historia médica actual y pasada, enfermedades concurrentes y exposición a otros fármacos. El formulario incluye una investigación sobre el uso de fármacos consumidos por el paciente en los tres meses previos a la hospitalización o consulta y además sobre el posible uso de otro tipo de remedios terapéuticos como las plantas medicinales. Para cada medicamento se recoge información de la fecha de inicio y final del uso, la dosis y la indicación, a través del propio paciente o sus familiares. En todos los casos los datos clínicos y biológicos se revisarán cuidadosamente, así como los datos anatomopatológicos de la biopsia hepática en aquellos pacientes en los que se disponga de ella.

Para descartar posibles causas alternativas, en todos los pacientes se obtiene una historia clínica detallada en lo que respecta a antecedentes de patología biliar o hepática, así como información sobre factores de riesgo asociados a enfermedad hepática como adicción a drogas, consumo de alcohol, antecedentes de transfusión de hemoderivados o cirugía en los 6 meses previos al episodio que motiva su inclusión en el Registro. Los marcadores serológicos de hepatitis aguda viral se determinan en todos los pacientes previamente al diagnostico de hepatotoxicidad así como la ceruloplasmina sérica y la batería de autoanticuerpos relacionados con patologías hepáticas de origen autoinmune. Por otro lado se realiza una ecografía hepatobiliar previa al diagnóstico de hepatotoxicidad en todos los casos. Se hará constar la duración del consumo del fármaco en cuestión, el momento de inicio de los síntomas y todos los datos clínicos con especial interés en aquellos relacionados con hipersensibilidad.

El patrón de daño hepático y la relación cronológica entre el fármaco y el inicio del mismo se define de acuerdo a los criterios de la Reunión Consenso Internacional de daño hepático inducido por fármacos que ha sido recientemente actualizado (Fontana et al., Hepatology 2010; Aithal et al., Clin Pharmacol Ther 2011). La definición estándar de lesión hepática formulada por

el grupo internacional de consenso en 1989 (Benichou C, J Hepatol 1990): incremento de dos veces sobre el límite superior a la normalidad (ULN) en alanino aminotransferasa (ALT) o bilirrubina conjugada; o a la combinación del incremento de aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA) y bilirrubina total siendo uno de ellos 2 veces > LSN. Esta definición ha sido recientemente reemplazada por otros grupos de consenso de expertos (Aithal et al, 2011) que ha redefinido el concepto de caso según dichos criterios bioquímicos, debido a la percepción de que al haber un volumen creciente de pacientes con elevaciones de ALT secundarias al hígado graso no alcohólico, habría que elevar el umbral para los niveles de ALT a ≥ 5 veces el LSN con el fin de reducir al mínimo el número de falsos negativos, y también para descartar muchos fenómenos de adaptación, mientras que la FA mantendría en el umbral previamente establecido (≥ 2 x LSN). Una nueva categoría de caso sería la combinación de un incremento de ALT > 3 x LSN y de bilirrubina total > 2 x LSN.

**Resumen del Criterio bioquímico de definición de daño hepático tóxico**

**ALT ≥ 5 x LSN**

**FA ≥ 2 x LSN**

**ALT > 3 x LSN y Bilirrubina total > 2xLSN**

Se clasificó el tipo de lesión en base a los hallazgos anatomopatológicos o alternativamente en base a los hallazgos bioquímicos si no se disponía de biopsia.

La lesión hepática se clasifica en base a criterios de laboratorio sencillos y asequibles, que incluyen la actividad de la alanino aminotransferasa (ALT) sérica y de la fosfatasa alcalina (FA) expresadas en múltiplos del límite superior de la normalidad (LSN) y la relación (R) entre ambas ((ALT/ULN) ÷ (FA/ULN)). El daño hepático se determinó como hepatocelular cuando el ratio ALT/FA de R≥5, como colestásica <2 y mixta >2 pero <5. Se utilizaran para dicha clasificación, los primeros valores analíticos realizados al paciente.

El diagnóstico de hepatotoxicidad será primero establecido por los médicos responsables de los pacientes y posteriormente por tres expertos en el centro coordinador previamente a la inclusión del paciente en el Registro. Los criterios de evaluación incluyen una secuencia temporal adecuada desde la administración del fármaco hasta el inicio de los síntomas, un curso clínico no coincidente con los efectos de otra enfermedad concomitante, otro fármaco u otra terapia no farmacológica; la mejoría con la retirada del fármaco y la existencia de casos previos de hepatotoxicidad a ese fármaco. Se incluirán aquellos casos de hepatotoxicidad que cumplan los criterios clínicos y además cuya evaluación de causalidad al fármaco(s) haya sido estimada como posible, probable o definida por la escala de CIOMS (Lucena et al., Hepatology 2001). Casos de hepatitis con manifestaciones de autoinmunidad, evolución a la cronicidad o que carezcan de dechallenge serán también valorados para su inclusión independientemente de la puntuación de CIOMS.

### Establecimiento de causalidad

La imputabilidad de un fármaco en la producción de un daño hepático se evaluará aplicando la escala de CIOMS (Lucena et al, Hepatology 2001). Esta escala contiene una serie de cuestiones preseleccionadas que son puntuadas según la información disponible. Dicha escala se basa en un sistema de puntuación estandarizado según diferentes criterios (cronológicos, evolución, factores de riesgo, fármaco concomitante, exclusión de causas alternativas no farmacológicas, información previa de hepatotoxicidad del fármaco, reexposición), finalmente el resultado se traslada a categorías de sospecha divididas en: definida o altamente probable (> 8 puntos), probable (6-8 puntos), posible (3-5 puntos), improbable (< 2 puntos) y excluida (≤ 0 puntos). Uno de los principales problemas de la escala de CIOMS es una cierta ambigüedad en las preguntas que pueden afectar a la reproducibilidad. Para evitar esta potencial variabilidad entre observadores la escala de CIOMS se aplicará en el centro coordinador.

# Causality Assessment of a Drug in a Case of Acute Liver Injury. CIOMS* Scale

| | HEPATO CELLULAR TYPE | | CHOLESTATIC OR MIXED TYPE | | ASSESSMENT |
|---|---|---|---|---|---|
| TIME TO ONSET | | | | | |
| Incompatible | Reaction occurred before starting the drug or more than 15 days after stopping the drug (except for slowly metabolized drugs) | | Reaction occurred before starting the drug or more than 30 days after stopping the drug (except for slowly metabolized drugs) | | |
| Unknown | When Information is not available to calculate time to onset, then the case is | | | | insufficiently Documented |
| | Initial treatment | Subsequent treatment | Initial treatment | Subsequent treatment | SCORE |
| -From the beginning of the drug | | | | | |
| Suggestive | 5-90 days | 1-15 days | 5-90 days | 1-90 days | +2 |
| Compatible | <5 or >90 days | >15 days | <5 or > 90 days | > 90 days | +1 |
| -From cessation of the drug | | | | | |
| Compatible | </= 15 days | </= 15 days | </= 30 days | </= 30 days | +1 |
| COURSE | Difference between the peak of ALT (SGPT) and upper limits of normal values | | Difference between the peak of A.P. (or TB) and upper limits of normal values | | |
| Alter cessation of the drug | | | | | |
| Highly suggestive | Decrease >/= 50% within 8 days | | Not applicable | | +3 |
| Suggestive | Decrease >/= 50% within 30 days | | Decrease >/= 50% within 180 days | | +2 |
| Compatible | Not applicable | | Decrease < 50% within 180 days | | +1 |
| Inconclusive | No information or decrease >/= 50%, after the 30th day | | Persistence or Increase or no Information | | 0 |
| Against the role of the drug | Decrease </= 50%, after the 30th days or recurrent increase | | No situation. Not applicable | | -2 |
| If the drug is continued | | | | | |
| Inconclusive | All situations | | All situations | | 0 |
| RISK FACTORS | Ethanol | | Ethanol or pregnancy | | |
| Presence | | | | | +1 |
| Absence | | | | | 0 |
| Age of the patient >/= 55 years | | | | | +1 |
| Age of the patient < 55 years | | | | | 0 |
| CONCOMITANT DRUG(S) | | | | | |
| None or no information or concomitant drug with incompatible time to onset | | | | | 0 |
| Concomitant drug with compatible or suggestive time to onset | | | | | -1 |
| Concomitant drug known as hepatotoxin and with compatible or suggestive time to onset | | | | | -2 |
| Concomitant drug with evidence for its role in this case (positive rechallenge or validated test) | | | | | -3 |
| SEARCH FOR NON DRUG CAUSES | | | | | |
| Group 1 (6 causes) Recent viral infection with HAV (IgM anti HAV) or HBV (IgM anti HBV) or HCV (anti HCV and non A- non B hepatitis); Biliary obstruction (ultrasonography); Alcoholism (AST/ALT >/= 2); Acute recent hypotension history (particularly if heart disease) Group II Complications of underlying disease; Clinical and/or biological Context suggesting CMV, EBV or Herpes virus infection | All causes - group I and II - reasonably ruled out | | | | +2 |
| | The 6 causes of group I ruled out | | | | +1 |
| | 4 or 5 causes of group I ruled out | | | | 0 |
| | Less than 4 causes of group I ruled out | | | | -2 |
| | Non drug cause highly probable | | | | -3 |
| PREVIOUSE INFORMATION ON HEPATOTOXICITY OF THE DRUG | | | | | |
| Reaction labelled in the product characteristics | | | | | +2 |
| Reaction published but unlabelled | | | | | +1 |
| Reaction unknown | | | | | 0 |
| RESPONSE TO READMINISTRATION | | | | | |
| Positive | Doubling of ALT with the drug alone | | Doubling of AP (or TB) with the drug alone | | +3 |
| Compatible | Doubling of ALT with the drugs already given at the time of the 1st reaction | | Doubling of AP (or TB) with the drug already given at the time of the 1st reaction | | +1 |
| Negative | Increase of ALT but less than N in the same conditions as for the first administration | | Increase of AP (or TB) but less than N in the same conditions as for the first administration | | -2 |
| Not done or not interpretable | Other situations | | Other situations | | 0 |
| | | | Total (add the encircled figures) | | |

The total store may be classified in 5 degrees: SCORE </= 0 excluded; 1-2 unlikely; 3-5 possible; 6-8 probable; above 8 highly probable.

* Council for the International Organization of Medical Sciences.

## Variables del estudio

**Duración del daño hepático:** Daño agudo definido como alteración de la bioquímica hepática secundariamente al consumo del fármaco durante un periodo inferior a 3 meses en el daño hepatocelular y 6 meses en el daño colestásico/mixto y el daño crónico definido como la alteración de la misma durante un periodo superior a 3 y 6 meses en el daño hepatocelaular y colestásico/mixto, respectivamente. Los resultados de un estudio de historia natural realizado en una cohorte de pacientes con toxicidad hepática incluidos en el Registro Español sugieren que esta definición debe ser usada para el daño hepático de resolución prolongada pero para definir el daño crónico se debería establecer un nuevo punto de corte que se prolongaría hasta 1 año tras la interrupción del tratamiento, y que sería independiente del patrón de lesión (Borraz et al., Hepatology 2010, 457A).

**Tipo de daño hepatico:** Este será definido como hepatocelular, colestásico o mixto dependiendo de los valores del cociente entre el valor de la alanino aminotransferasa (ALT) sérica y la fosfatasa alcalina (FA) (Benichou, J Hepatol 1990), expresadas en múltiplos del límite superior de la normalidad (LSN) y la relación (R) entre ambas ((ALT/ULN) ÷ (FA/ULN)). Un valor de R≥5 se define como daño hepatocelular, R≤2 como colestásico y cuando la proporción R está entre los valores 2 y 5 se habla de daño mixto.

**Patogenia de la hepatotoxicidad:** Se definirán tres tipos de reacciones hepatotóxicas según el presumible mecanismo de producción (a criterio de los expertos), por mecanismo intrínseco o dosis dependiente y por mecanismo idiosincrásico que a su vez se dividirán en reacciones de idiosincrásica metabólica o por hipersensibilidad en función de la presencia o no de signos clínicos de hipersensibilidad como son rash cutáneo, fiebre, eosinofília (en sangre o biopsia hepática) o linfopenia, artralgia y autoinmunidad positiva.

**Gravedad de la hepatotoxicidad:** La gravedad es un concepto complejo y subjetivo. La clasificación ideal de la gravedad debe basarse en la duración y el grado en que la lesión hepática interfiere con las actividades diarias y forma de

vida. Esta información, sin embargo, es difícil de captar y la mayoría de escalas de gravedad se basan en la presencia y número de síntomas, bioquímica hepática o elevaciones de bilirrubina, presencia de signos de insuficiencia hepática, y el resultado final como la recuperación, cronicidad o muerte. En el desarrollo de una base de datos prospectiva de casos, Drug Induced Liver Injury Network (DILIN) estableció un sistema de cinco puntos para la clasificación de la gravedad basado en los síntomas: ictericia, necesidad de hospitalización, signos de insuficiencia hepática, muerte o necesidad de trasplante hepático (Fontana et al., Hepatology 2010). La precisión de este sistema simple requiere validación prospectiva utilizando más medidas objetivas de gravedad de DILI

Los casos de DILI a veces se clasifican como "grave" por medio de lo que se conoce como "Ley de Hy" en nombre de J. Hyman Zimmerman, un líder en la investigación en DILI del siglo 20. Hyman Zimmerman predijo en pacientes con lesión hepatocelular aguda tóxica e ictericia (descartando una causa distinta como el síndrome de Gilbert o la obstrucción biliar aguda), una mortalidad o su marcador subrogado (el trasplante hepático) de un 10 % de promedio, frente a la hepatitis viral aguda en la que la tasa de mortalidad suele ser del 1% o menos. Esta Ley ha sido validada en la cohorte de pacientes del Registro Español (Andrade et al, Gastroenterology 2005).

**Escala de clasificación de la gravedad (Aithal et al., Clin Pharmacol Ther 2011)**

| Categoría | Gravedad | Definición |
|---|---|---|
| **1** | **Leve** | Elevación de los niveles séricos de ALT / FA cumpliendo criterios de DILI, **pero** la bilirrubina total sérica < 2 x LSN |
| **2** | **Moderado** | Elevación de los niveles séricos de ALT / FA cumpliendo criterios de DILI, **y** la bilirrubina total sérica ≥ 2 x LSN, ó hepatitis sintomática |
| **3** | **Grave/Severo** | Elevación de los niveles séricos de ALT / FA cumpliendo criterios de DILI y concentración de bilirrubina total ≥ 2 x LSN y uno de los siguientes:<br>**Internacional Normalizad Ratio** ≥ 1.5<br>**Ascitis y/o encefalopatía**, duración de la enfermedad < 26 semanas, y en ausencia de cirrosis hepática subyacente<br>**Fallo de otro órgano** probablemente atribuido al evento de DILI (i.e. renal, pulmonar) |
| **4** | **Fatal o Transplante** | Muerte o transplante hepático durante el evento de DILI |

ALT: alaninoaminotransferasa, FA: Fosfatasa alcalina, **LSN**: Límite superior de Normalidad, DILI: del inglés *Drug Induced Liver Injury.*

**Procedimiento a seguir:**

1. *Identificación de casos de sospecha de hepatotoxicidad y mantenimiento de una base de datos que permita el registro de la información necesaria*

Para la recogida de datos se utilizará un protocolo estructurado (Anexo 1) que contiene los siguientes códigos: la relación temporal entre el comienzo del consumo del fármaco o la exposición al tóxico y el inicio de la enfermedad hepática y entre la suspensión del agente sospechoso y la mejora o recuperación de la disfunción hepática; descartar otras enfermedades hepáticas; presencia de factores de riesgo conocidos de hepatotoxicidad como el consumo de alcohol (cantidad en conversión del volumen de bebida en gramos) o embarazo; y el resultado del daño hepático. Se revisaran exhaustivamente los fármacos de consumo actual y los previos, productos de herboristería y posibles tóxicos. Se excluyen otras causas de enfermedad hepática: etílica, hepatitis viral reciente por virus A (IgM anti VHA), B (IgM antiVHB) o C (anti VHC y PCR), enfermedades autoinmunes (ANA, anticuerpos antimitocondriales, anti-LKM1 y antimusculo liso) y obstrucción biliar (ecografía abdominal complementada con resonancia magnética o colangiografía endóscopica en los casos necesarios). Si el contexto clínico lo sugería se descartó citomegalovirus, Epstein Barr, infección por herpes virus o hepatitis E, y serología de bacterias como salmonella, campylobacter y listeria. Si el paciente es menor de 40 años se determinó la ceruloplasmina y la excreción urinaria de cobre para descartar la enfermedad de Wilson. Se evaluará asimismo la presencia de otras enfermedades metabólicas hepáticas como la Hemocromatosis, el déficit de alfa 1 antitripsina y en pacientes con historia de hipotensión reciente se descartó la presencia de hepatitis isquémica. En casos dudosos como pacientes con marcadores de autoinmunidad, alcohólicos, enfermedad hepática previa o enfermedades sistémicas que pueden afectar al hígado se indicará una biopsia hepática para obtener más información etiológica.

Los casos serán revisados por el médico responsable y posteriormente evaluados por tres expertos independientes del centro coordinador quienes valoran la causalidad, primero por juicio clínico y posteriormente mediante la

aplicación de la escala Council for Internacional Organizations of Medical Sciences (CIOMS).

2. *Entrevistar a los pacientes y recoger información sobre exposición a medicamentos y a otros posibles agentes etiológicos.*

La metodología de recogida de información de las sospechas de hepatotoxicidad consiste en una entrevista directa con el paciente y no en la mera revisión de historias clínicas, en la cual se realiza una historia medicamentosa exhaustiva detallada para recoger información actualizada y con fechas sobre exposición a medicamentos y a otros posibles agentes etiológicos (productos de herboristería, automedicación). El proceso incluye recomendaciones a los pacientes para evitar nuevos episodios.

3. *Analizar los datos para identificar posibles nuevas asociaciones y cuantificar el riesgo.*

Una vez se envía una sospecha de toxicidad hepática al centro coordinador se analiza la información remitida en el protocolo estructurado que se ha diseñado para ello, se valoran las respuestas emitidas en cada apartado y si está correctamente cumplimentado, se estudia la posible imputación al fármaco mas probable, se estudia la posibilidad/sospecha de ser la reacción producto de una interacción farmacológica, se analizan las principales causas hepáticas excluidas y finalmente si se considera la reacción relacionada con la ingesta de un fármaco(s) tras evaluación por 3 expertos independientes, se le aplica la escala de CIOMS para asignarle una puntuación numérica que es convertida en una categoría de probabilidad de sospecha de la hepatotoxicidad. Posteriormente los protocolos se introducen en la base de datos generada RegHepatox y son archivados.

Las nuevas incidencias son analizadas para identificar posibles señales de alerta, nuevas asociaciones y cuantificar el riesgo.

4. *Realizar un análisis final de toda la información generada y publicación en una revista indexada*

Se presentará una memoria final de actividades y se procederá a difundir los datos obtenidos en Congresos de la Especialidad y en Revistas médicas de

alto índice de impacto. La contribución en término de reclutamiento de pacientes será un criterio de primer orden para la autoría en estos artículos.

**Clasificación de los fármacos:** Los fármacos responsables de la reacción hepática se clasificaron de acuerdo con el *Anatomical Therapeutic Classification* (ATC) recomendado por *WHO-Europe.*

**Clasificación de las enfermedades asociadas:** Las enfermedades asociadas que pueda presentar el paciente serán clasificadas según la lista de códigos ICD-10 –décima edición del International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems- donde se clasifican las enfermedades y una amplia variedad de causas externas de daño y/o enfermedad.

## 5. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos se compararán usando el test de la Chi-cuadrado. Este es un test estadístico apropiado para comparar proporciones entre grupos. Los datos que se comparan se disponen en una tabla de contingencia. En cada celda de la tabla se comparan las frecuencias observadas con las esperadas: si hay asociación entre la variable independiente y la dependiente habrá un cambio sustancial entre la frecuencia de la variable independiente frente a la esperada y el valor de chi-cuadrado será grande.

Test T-Student para muestras independientes se utilizará en el análisis de medias.

Análisis de la varianza (ANOVA) usado para realizar comparaciones entre grupos si existe una distribución normal de los datos. Tests no paramétricos de Mann-Withney o Kruskal Wallis, en los casos que no pueda asumirse la normalidad.

Todos los cálculos se realizaran utilizando el programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS, versión 13.0; SPSS Inc, Chicago; IL). Se determinará la Odds ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95% para estimar el riesgo de desarrollar hepatotoxicidad que confiere una determinada variable.

Un p-valor bilateral inferior al 0,05 se considera que hay diferencias significativas. No obstante, para tener en cuenta el problema de que aparezcan asociaciones significativas debidas al azar tras la realización de múltiples comparaciones, se utilizará la corrección de Bonferroni para múltiples tests que se calcula multiplicando el valor de probabilidad (P) por el número de genotipos que se comparan para obtener el valor de P corregido (pc).

## 6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los investigadores y monitores informarán verbalmente a los pacientes/controles seleccionados para ser incluidos acerca de los objetivos del estudio. Solicitarán su consentimiento, que deberá ser otorgado de forma escrita, para proceder a la entrevista y a su inclusión efectiva en el estudio. En caso que el paciente no consienta, será excluido del estudio y se registrará dicha eventualidad en el cuaderno de recogida de datos. (ver hoja de información al paciente y modelo de consentimiento informado).

En todas las fases del estudio se respetará lo establecido por la Ley 14/2007, de 3 de Julio de Investigaciones Biomédicas y se mantendrá la confidencialidad de todos los datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal), los cuales quedarán anonimizados en la base de datos central, que, además, estará protegida por una contraseña que sólo será conocida por el personal autorizado implicado en el estudio.

## HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

**TÍTULO DEL ESTUDIO: "Identificación de marcadores genéticos y biomarcadores en la susceptibilidad para desarrollar hepatotoxicidad"**

**¿Por qué hacemos este estudio?** Determinados sujetos pueden presentar una reacción del higado no deseada ni esperada a un determinado medicamento.

Esta investigación tiene como objetivo el desarrollo de marcadores que permitan que las personas con riesgo eviten el uso de fármacos con probabilidades de producir daños. El descubrimiento de genes y de proteinas implicadas en las reacciones a medicamentos puede también ayudar a los investigadores a diseñar fármacos más seguros que no produzcan estas reacciones.

**¿Por qué han pensado en incluirle en el estudio?**

Su médico le ha diagnosticado un problema hepático probablemente debido a la toma de un medicamento por lo que Ud sería un candidato idóneo para participar en este estudio. Por este motivo lo invitamos a participar de este estudio de investigación, que se desarrolla en diferentes países, donde es uno de los centros. Este estudio cuenta con la aprobación del Comité de Ética de .

**¿Que le pedimos que haga?**

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria. Su médico se pondrá en contacto con Ud. Le pedimos que conteste a unas breves preguntas sobre el consumo previo de fármacos. Se le solicitarán algunos datos de su historia clínica, sobre todo vinculados a la ingesta de medicamentos, productos de herboristería y otros. Le pedimos que done una muestra de sangre para estudios de los genes y proteínas que regulan las vías del metabolismo y la respuesta inmune. Se le extraerán aproximadamente 20 cc de sangre, que serán enviadas a España e Inglaterra para el estudio genético.

**Riesgos y molestias**

Este estudio no representa ningún riesgo para usted, dado que sólo se le pide que done un poco de sangre y/o orina para este estudio y la extracción se hará coincidir con las extracciones que le solicite su médico responsable para evaluar su evolución clínica. Puede presentar algún hematoma (moratón) a nivel de la zona de punción, que en pocos días desaparece.

**¿Cómo se protegerá su intimidad?**

Tanto si finaliza el estudio como si no sus datos serán confidenciales, y se le garantiza que su nombre no saldrá en ninguna publicación o informe relativo al estudio.

Una vez que el equipo investigador haya cotejado su muestra de sangre y su cuestionario, se eliminará del registro toda la información que pudiera identificarle a usted. De este modo se protegerá su intimidad cuando se compartan las muestras de sangre con otros investigadores. También le informamos que como será imposible vincular (asociar) la muestra con su identidad, no podremos informarle de los resultados de las pruebas genéticas llevadas a cabo con su muestra de sangre. Sin embargo, si mediante este proyecto de investigación se descubrieran pruebas genéticas que pudieran ayudar a evitar las reacciones a medicamentos, le aseguramos que estos descubrimientos se harán públicos para que todo el mundo pueda beneficiarse de ellos.

El investigador garantizará la confidencialidad de los datos y velará porque se cumpla en todo momento.

En los documentos e información que de usted se recoja durante la realización de este estudio no aparecerá su nombre ni sus iniciales, ni cualquier otro dato que permita identificarle. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código aleatorio de manera que sólo su médico del estudio y colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores y Comité Ético de Investigación.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO.**

TÍTULO DEL ESTUDIO: **"Identificación de marcadores genéticos y biomarcadores en la susceptibilidad para desarrollar hepatotoxicidad"**

Yo.....
(nombre y apellidos del paciente escritos por él)

Doy mi pleno consentimiento, de manera libre, para participar en este estudio. He leído la hoja informativa sobre el proyecto. He comprendido que la investigación es una contribución a los conocimientos médicos. Sé que puedo retirar mi consentimiento en cualquier fase del procedimiento.

Estoy de acuerdo en que se utilice la muestra de sangre en estudios de variación genética. Estos estudios incluyen la investigación de predictores genéticos de reacciones a fármacos. Estoy de acuerdo en que, tras eliminar mi nombre y mis datos identificativos, la muestra de sangre pueda ser compartida con laboratorios de otros paises.

Doy mi permiso para que los datos de mi historia clínica, incluidas las sospechas de reacciones a medicamentos, sean utilizados por el equipo de investigación para cotejarlos con la muestra de sangre, entendiendo que tras esta comprobación se eliminará del registro toda información que pudiera identificarme.

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio y he comprendido que este trabajo es una contribución a los conocimientos médicos
Comprendo que mi participación es voluntaria.
Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio. Autorizo a que los datos de mi historia clínica, incluida la sospecha de reacción a medicamento, sea utilizada por el equipo de investigación para cotejarlos con la muestra de sangre, entendiendo que tas esta comprobación se eliminará del registro toda información que pidiera identificarme.

| _____ | _____ | _____ |
|---|---|---|
| Fecha | Nombre y Apellidos del participante | Firma del participante |

Confirmo que he explicado al participante el carácter y el propósito del proyecto de investigación.

Firmado _____ (miembro del equipo del proyecto)

## 7. FORMULARIO DE CONTROL DE CALIDAD EN LA EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS

### Recogida de muestras estudio hepatotoxicidad

Recoger muestra de los pacientes en los que se sospeche hepatopatía asociada al consumo de fármacos:

- 2 tubos de EDTA (K2E, tapón lila, hemograma) de 4-5 mL.
- 1 tubo para la separación del suero (tapón amarillo, bioquímica) de 8-10 mL.
- 2 tubo (tapón lila)) 5 mL de sangre, se congela a -80ºC. No necesita ninguna preparación ni fraccionamiento.

La muestra debe ir identificada con una etiqueta o escrita a mano perfectamente legible con el número de la historia clínica, iniciales del paciente y fecha de extracción, acompañada de una hoja con el nombre y apellidos del médico que solicita la recogida.

Identificación correcta:

-SI -NO

La sangre debe mezclarse inmediatamente con el anticoagulante, invertir suavemente varias veces, nunca agitar enérgicamente así evitamos la coagulación.

Coágulos:

-SI -NO

Evitar la contaminación de las muestras, así como asegurase que la muestra corresponde al paciente de estudio.

Comprobación de datos:

-SI -NO

La hemólisis es la ruptura de los hematíes que liberan hemoglobina y otras substancias en el plasma. Esto afecta al rendimiento en la extracción del ADN.

Hemolisis:

-SI -NO

La temperatura inadecuada de la muestra hace que se deteriore y sea rechazada o aporte datos erróneos por lo que se debe refrigerar inmediatamente después de la extracción.

Refrigeración:

-SI -NO

La muestra debe centrifugarse pasado aproximadamente 15min para la separación del suero (sobrenadante del tubo de tapón amarillo), plasma y células (del tubo de tapón lila), a 4º C, 3 000rpm, 15min.

Centrifugación:
-SI -NO

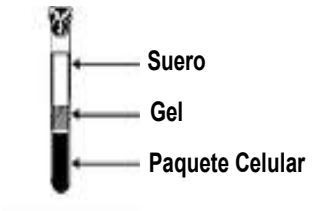
Después de la centrifugación alicuotar* la muestra en tubos eppendorf de 1.5ml identificados con el nombre, apellidos del paciente, fecha de extracción y tipo de muestra (suero, plasma o células) y congelarlos a -80ºC ya que la correcta conservación de la muestra evita la degradación de las proteínas y otros procesos que alteran los resultados.

Congelación:
-SI -NO
-Tiempo transcurrido desde la extracción a la congelación (min)……..

Fecha:

Fdo:

*NOTA:
Alicuotado del suero: poner <1 mL de suero por cada tubo eppendorf de 1.5mL.




**Alicuotado del plasma y células:** poner <1 mLl de plasma por cada tubo eppendorf sin absorber la capa blanca ya que son los leucocitos y de ellos extraeremos el ADN. Una vez separado el plasma mezclaremos homogéneamente los leucocitos con los glóbulos rojos y haremos alícuotas de 1 mL de esta mezcla de glóbulos rojos y leucocitos.

## 8. PLAN DE TRABAJO

### Creación de la Red LatinoAmericana *de Hepatotoxicidad*

Selección y acercamiento a potenciales lideres de unidad en Latinoamérica.

Formular la propuesta de proyecto entre las instituciones escogidas.

Solicitar la declaración de interés en participar en el proyecto.

Expandir nuestra pagina Web para introducir nueva información con el fin de promover las colaboraciones y facilitar la utilización de material común, protocolos e intercambio de información concerniente a la red de trabajo.

Se mantendrán reuniones periódicas – al menos una trimestral- mediante teleconferencia y al menos una reunión anual, aprovechando la celebración de un Congreso Internacional o una Reunión Científica.

Propiciar una reunión presencial aprovechando la celebración del XXIV Congreso de la Sociedad Española de Farmacología Clínica a realizar el 4 de octubre de 2011 en la ciudad de Málaga.

Se creara un **Comité Científico** que será presidido por el hepatólogo Prof. Miguel Bruguera y que estará integrado por los diferentes investigadores responsables de los centros nacionales. Entre sus funciones figurará el análisis y discusión de casos controvertidos, la actualización periódica del proyecto con análisis intermedios, identificación de posibles señales de alerta y plan estratégico de actuaciones a desarrollar.

El **Centro coordinador** es el Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de Málaga y Unidad de Hepatología del Hospital Universitario "Virgen de la Victoria", y el Servicio de Farmacología Clínica del H Universitario y Departamento de Farmacología de la Universidad de Málaga.

*Funciones como centro coordinador*:

a) valoración y análisis de todos los protocolos remitidos, envío de acuse de recibo a las unidades colaboradoras, b) recibir, revisar y realizar el control de calidad de los protocolos de recogida de datos y solicitud de información adicional cuando proceda, c) establecimiento de la relación de causalidad, d) Mantener un registro de aquellos casos excluidos y sus causas; e) desarrollar y mantener la base de datos específica del **LatinAmerican DILI Registry** donde se almacena toda la información recogida de los pacientes. Posteriormente, nuestro grupo se encargaría de introducir en la base de datos de IDILIC los casos validados, haciendo constar el centro reclutador y la persona responsable, f) Mantenimiento de las muestras remitidas. Y finalmente, g) analizar de forma sistemáticas la información y realizar un análisis de datos final e informe; h) identificar posibles trabajos a realizar con los grupos para su comunicación en Congresos y publicaciones en revistas especializadas.

Nuestra idea de estructura de la red sería que en cada país de los identificados existiera un **Centro Coordinador Nacional** que a su vez tuviera la responsabilidad de identificar aquellas unidades que contribuyeran de manera efectiva al proyecto. Nuestro grupo coordinaría a todos los centros nacionales.

-Las funciones del Centro coordinador Nacional y de los investigadores responsables de cada centro colaborador serán:

a) efectuar el seguimiento de los pacientes identificados en cada centro colaborador.

b) recibir, revisar y realizar el control de calidad de los protocolos de recogida de datos. Mantener un registro de aquellos casos excluidos y sus causas

c) analizar de forma sistemáticas la información y realizar un análisis de la información

d) generar hipótesis de trabajo, participar en la planificación de artículos científicos, y comunicaciones a Congresos especializados.

***Envío de muestras de sangre al Centro Coordinador en Málaga***

## 9. PLAN DE DIFUSIÓN

*A nivel de la comunidad científica* se divulgarán los resultados en congresos tanto nacionales como Internacionales. También a través de publicaciones en revistas especializadas en el tema: Hepatology, Gastroenterology, Journal of Hepatology o en revistas de Farmacología: British Journal of Pharmacology, Drug Safety etc.,, de elevado factor de impacto. La contribución en términos de reclutamiento de pacientes y recogida de muestras biológicas será un criterio de primer orden para la autoría en estos artículos.

*A nivel Académico*, dado que varios de los investigadores somos profesores de las áreas de Farmacología, Toxicología y Digestivo se desarrollaran cursos de Formación Continuada a petición de las unidades clínicas colaboradoras.

Participación en estudios colaborativos con el Drug-Induced Liver Injury Network de EE.UU.y el Serious Adverse Events Consortium y con grupos europeos para la realización de un análisis amplio del genoma en pacientes con DILI.

El presente estudio puede servir de base para la realización del trabajo de Tesis Doctoral de uno de los colaboradores de los centros participantes.

Se ha publicado un artículo en la revista Gastroenterologia y Hepatologia para presentar el proyecto de creación del LatinAmerican DILI Network con los objetivos y metodología a utilizar y las ventajas y oportunidades de los registros de enfermedades que firmaron todos los integrantes del grupo en ese momento. De igual forma se podría preparar un artículo para su publicación en la revista Annals of Hepatology, órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Hepatología.

Además, es nuestra intención hacer un análisis farmacoepidemiológico de todos los casos remitidos durante el primer año de funcionamiento del LatinDILIN para su publicación en una revista internacional.

*Perspectiva clínica*. El conocimiento de las diferencias genéticas en pacientes con hepatotoxicidad idiosincrásica puede contribuir a su prevención y/o predicción. El gran objetivo pendiente en sujetos con hepatotoxicidad idiosincrásica bien definida es identificar las diferencias genéticas que afectan al metabolismo de los fármacos con los sujetos que toman fármacos sin experimentar esta reacción adversa e identificar posibles biomarcadores.