



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

ANA ISABEL COELHO PEREIRA DA SILVA

***SUSCETIBILIDADE GENÉTICA DA HEPATITE TÓXICA MEDICAMENTOSA
IDIOSINCRÁTICA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FARMACOGENÉTICA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

PROFESSORA DOUTORA HENRIQUETA COIMBRA SILVA

PROFESSOR DOUTOR ARMANDO CARVALHO

junho/2013

SUSCETIBILIDADE GENÉTICA DA HEPATITE TÓXICA MEDICAMENTOSA
IDIOSSINCRÁTICA

ANA ISABEL COELHO PEREIRA DA SILVA *

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal.

***Endereço eletrónico da autora: isanacps@hotmail.com**

Índice

1. Resumo.....	5
1. Abstract	6
2. Lista de Abreviaturas	7
3. Introdução.....	10
4. Materiais e Métodos	14
5. Drug-Induced Liver Injury (DILI)	15
5.1. Epidemiologia	15
5.2. Mecanismos celulares e moleculares	18
6. Suscetibilidade à DILI.....	21
6.1. Fatores não genéticos	21
6.2. Fatores genéticos	24
6.2.1. Enzimas de metabolismo.....	24
Enzimas da família do Citocromo P450	27
N-acetiltransferase tipo 2 (NAT2).....	29
Glutathione S-Transferases (GST's)	31
Polimerase γ (POLG).....	32
6.2.2. Sistema HLA (Human Leukocyte Antigens).....	32
6.2.3. Regulação da resposta imunológica e inflamação	33
6.2.4. Stress oxidativo	34
6.2.5. Proteínas de transporte transmembranar.....	35

7. Diagnóstico.....	36
7.1. Critérios analíticos de DILI.....	38
7.2. Escalas de diagnóstico.....	40
Escala de Probabilidade segundo Naranjo (Naranjo Adverse Drug Reactions Probability – NADRP).....	40
Escala Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) ou Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM).....	41
Escala Maria e Vitorino (M&V).....	41
7.3. Testes de hipersensibilidade retardada.....	44
7.4. Reexposição ao medicamento.....	45
7.5. Biópsia hepática.....	45
7.6. Biomarcadores.....	46
8. Tratamento.....	47
9. Discussão.....	49
10. Agradecimentos.....	52
11. Bibliografia.....	53
Anexos.....	62
Anexo 1.....	63
Anexo 2.....	64

1. Resumo

A hepatite tóxica medicamentosa (DILI) é a causa mais citada para a retirada de medicamentos do mercado e representa um sério problema de saúde havendo já um registo de mais de 100 medicamentos que provocam esta doença. Apesar da sua importância, o diagnóstico da DILI baseia-se em critérios subjetivos dificultando a sua validação e reprodutibilidade. Em termos gerais, a DILI idiossincrática é determinada pela presença de variações genéticas que codificam genes que desempenham papéis centrais nas vias metabólicas e/ou pela resposta imunológica, e pela interação destas variações genéticas com fatores ambientais.

Neste trabalho, a literatura relevante relativa a meios de diagnóstico atuais foi revista, dando ênfase aos polimorfismos das enzimas envolvidas nas vias de bioativação (CYP450) e nas reações de destoxificação e transporte como potenciais biomarcadores. Os estudos de associação e suscetibilidade genética à DILI bem como abordagens futuras para o estudo da DILI foram exploradas. Um conhecimento mais detalhado dos genes candidatos envolvidos na DILI irá permitir identificar doentes suscetíveis ao risco de desenvolvimento de DILI, desenvolver ferramentas de diagnóstico mais fiáveis e estabelecer novas estratégias de tratamento.

1. Abstract

Drug-induced liver injury (DILI) is the most cited cause for drug withdrawal from the market and is a major health problem. Up to now, more 100 drugs were reported to induce DILI. Besides this facts, DILI diagnosis continues to rely on subjective measurements which makes difficult its validation and reproducibility. From a general point of view, idiosyncratic DILI is determined by the presence of genetic variations key players of metabolic pathways and/or by the immune response, and by the interaction between genetic variants and environmental factors.

The relevant literature regarding diagnostic tools was revised, giving special attention to the potential of polimorfisms in enzymes participating in the bioactivation pathways (CYP450), detoxification and transport reactions as DILI biomarkers. Genetic and susceptibility studies as future tools for DILI diagnosis were explored. A detailed knowledge about the candidate genes involved in DILI will allow the identification of patients with increased risk of developing DILI, develop new diagnostic tools and establish new treatment strategies.

2. Lista de Abreviaturas

ABC - ATP Binding Cassette

AINES - Anti-Inflamatórios Não-Esteroides

ALF - Falência Hepática Aguda

ALT - Alanina Transaminase

ATP - Adenosina Trifosfato

BSEP - Bomba Transportadora dos Sais Biliares

CIOMS - Council for International Organizations of Medical Sciences

CYP, CYP450 - Citocromo P450

DDW-J - Digestive Disease Week Japan (DDW-J)

DILI – Drug-Induced Liver Injury (hepatite tóxica medicamentosa)

DISC - Complexo de Sinalização de Indução de Morte

EUA – Estados Unidos da América

FA – Fosfatase Alcalina

FasL – Fas Ligante

GLDH - Glutamato Desidrogenase

GST – Glutationa S-transferase

GWAS - Genomewide Association studies (Estudos de Associação de Genoma Completo)

HLA - Human Leukocyte Antigens (Sistema Humano de Antígenos Leucocíticos)

IDANAT2 - Isoniazid Dose Adjustment According to NAT2 Genotype (Ajustamento da dose de isoniazida de acordo com o genótipo da NAT2)

IL - Interleucina

LSN - Limite Superior Normal

LTT - Teste de Transformação de Linfócitos

MDH - Malato Desidrogenase

MPT - Transição da Permeabilidade Mitocondrial

M&V - Escala de Maria e Vitorino

NADRP - Naranjo Adverse Drug Reactions Probability (Escala de Probabilidade segundo Naranjo)

NAT - N-acetiltransferase

NFE2L - Fator Nuclear (derivado de eritroide 2)

OMS - Organização Mundial de Saúde

PNP - Purina Nucleosídeo Fosforilase

PON1 - Paraoxonase 1

RUCAM - Roussel Uclaf Causality Assessment Method (Método de avaliação de causalidade de Roussel Uclaf)

SNPs - Polimorfismos de Nucleotídeo Único

SOD2 - Superóxido Dismutase

TNF-alfa - Fator de Necrose tumoral alfa

UDP – Uridina Difosfato

3. Introdução

O fígado é o principal órgão envolvido no metabolismo e na eliminação de agentes químicos e farmacológicos. A reação adversa a medicamentos mais comum é a hepatotoxicidade, motivando a suspensão de tratamentos e do licenciamento e comercialização de inúmeras substâncias (1). Um estudo realizado em 17 hospitais dos Estados Unidos revelou que 50% dos casos de falência hepática aguda foram causados por toxicidade medicamentosa (2). A relativamente baixa taxa de incidência de lesões hepáticas induzidas por drogas, internacionalmente denominada por DILI (*Drug-Induced Liver Injury*) – torna difícil a recolha de amostras biológicas em número significativo para estabelecer técnicas de deteção eficazes (3). Apesar da sua baixa ocorrência, a DILI contribui significativamente para a morbidade por doença hepática, pelo que urge a necessidade de introduzir na prática clínica métodos de diagnóstico fiáveis, rápidos e de baixo custo.

A hepatotoxicidade pode ser originada por medicamentos, excipientes, drogas ilícitas, ou ainda ervas medicinais.

A reação sobre o fígado pode ser de dois tipos: intrínseca e característica do medicamento, ou idiossincrática e dependente de características do indivíduo. A intrínseca é geralmente dependente da dose de fármaco administrada, que causa lesão de forma direta ou indireta, como no caso da intoxicação por paracetamol. Não é muito comum, já que a maioria dos medicamentos com esta característica não chega a ser comercializada. A idiossincrática é imprevisível, não depende diretamente da dose administrada e inclui mecanismos de hipersensibilidade (alérgica) e formas não relacionadas com a hipersensibilidade (não-alérgica). Corresponde à maioria das reações encontradas, ocorrendo em cerca de 0,01 a 1% dos indivíduos expostos. Tem um período de latência que pode ser relativamente longo (1 a 12 semanas) e, na presença de uma base imunológica, são frequentes as manifestações de

hipersensibilidade e uma resposta positiva à reexposição. As formas idiossincráticas não alérgicas, sendo a causa principal para o desenvolvimento de hepatotoxicidade medicamentosa, merecem maior atenção em termos clínicos e científicos (4).

Ao nível celular e molecular os mecanismos etiopatogénicos não estão bem estabelecidos mas todos os dados apontam para um papel central das espécies reativas de oxigénio e da mitocôndria, determinantes na resposta do hepatócito que pode culminar com morte por apoptose ou necrose (5).

Certos autores utilizam o acrónimo DILI (Drug-induced liver injury) para se referirem à forma intrínseca e à idiossincrática. No entanto, a maioria utiliza-o para se referir apenas á segunda e será neste âmbito que vai ser abordada.

Em termos clínicos, a DILI pode ter várias apresentações podendo ser assintomática, frequentemente autolimitada e com uma elevação transitória das enzimas hepáticas, até casos de icterícia e falência hepática aguda com elevado risco de mortalidade e mais raramente como doença hepática crónica (5). Um dos grandes problemas da DILI é, aliás, a dificuldade da sua deteção que é frequentemente tardia. Esta dificuldade prende-se com o facto de os sintomas apresentados pelos doentes (que incluem perda de apetite, náuseas, fadiga, icterícia, hepatomegalia e alteração dos níveis de enzimas do fígado) serem comuns à maioria das doenças hepáticas, aliada à inexistência de marcadores de diagnóstico fiáveis (2). Uma revisão realizada no Reino Unido dos registos de suspeita de DILI, revelou a existência de muitos diagnósticos errados que adiaram o estabelecimento do diagnóstico correto e condicionaram o tratamento do doente (6).

Na prática clínica, a deteção da DILI implica a exclusão de doenças hepáticas de outra origem (consumo de álcool, hepatite autoimune ou viral, tumor, etc.) e a decisão de que se trata de um caso de hepatotoxicidade medicamentosa (7). Para melhorar a precisão, consistência e

objetividade do diagnóstico, diversos instrumentos clínicos têm sido propostos. São disso exemplo as escalas de probabilidade de reação adversa a drogas, nomeadamente a Escala de Probabilidade segundo Naranjo (*Naranjo Adverse Drug Reactions Probability – NADRP*) (8), a Escala de Maria e Vitorino (M&V) (9) e a Escala RUCAM da CIOMS (*Council for International Organizations of Medical Sciences*) (2). Estas escalas avaliam a relação causal de um determinado fármaco com a DILI e resultam de uma pontuação atribuída às respostas a um questionário que explora diversos parâmetros como critérios cronológicos relativos ao intervalo entre administração do medicamento e o aparecimento dos sintomas, fatores de risco prévios do doente, terapêutica concomitante, exclusão de outras causas de doença hepática, dados bibliográficos e resposta à reintrodução da terapêutica. A aplicação destas escalas é complexa e difícil de implementar na prática diária, além de estar sujeita à subjetividade implícita às respostas do questionário por parte do clínico e do paciente. O estabelecimento de novos métodos de deteção mais fiáveis e replicáveis é importante, e implica uma abordagem científica que integre conceitos genéticos e mecanísticos.

A suscetibilidade individual à DILI é influenciada por fatores não genéticos, como idade, sexo, características metabólicas, interação com outros medicamentos, dose diária, entre outros, e por fatores genéticos (1). Estes últimos contribuem para alterações no metabolismo e transporte de substâncias, apoptose, resposta imunológica e regeneração celular.

A relação entre perfil genético individual e a ocorrência de DILI é atualmente evidente, sendo a DILI considerada um fenótipo complexo, dependente da interação entre fatores do meio e múltiplas variantes genéticas. Vários polimorfismos são já conhecidos e foram associados a suscetibilidade genética à DILI, embora alguns deles ainda necessitem de validação estatística (10). São variantes genéticas frequentes na população, quase sempre com uma frequência alélica superior a 1%, mas de baixa penetrância, isto é, individualmente associam-se a uma baixa probabilidade de manifestação do fenótipo (11). Os polimorfismos que têm sido

estudados na DILI estão associados a enzimas de metabolismo, sistema HLA (*Human Leukocyte Antigens*), regulação da resposta imunológica e inflamação, stress oxidativo e proteínas de transporte transmembranares (12). Muitas destas variantes genéticas são funcionais e alteram os níveis de expressão génica e /ou a constituição da proteína; outras são não funcionais e poderão ser consideradas como marcadores, em desequilíbrio de ligação com variantes funcionais próximas.

Neste trabalho, pretendeu-se rever os conhecimentos atuais relativos à DILI, dando ênfase aos mecanismos moleculares e celulares envolvidos e aos métodos de diagnóstico, dois aspetos importantes para a sua prevenção primária e secundária.

4. Materiais e Métodos

A revisão baseou-se numa pesquisa nas bases de dados “Pubmed” e “b-on”, a partir de combinações entre as seguintes palavras-chave: “DILI”, “susceptibilidade genética” e “hepatite tóxica medicamentosa”.

Da pesquisa foram recolhidos e analisados cerca de 60 artigos com base na data de publicação e tema de interesse. A estes juntaram-se outros considerados pertinentes e obtidos a partir da pesquisa original.

5. Drug-Induced Liver Injury (DILI)

5.1. Epidemiologia

A incidência anual de DILI com a prescrição de medicamentos aprovados é estimada entre 1 em cada 10.000 a 100.000 pessoas expostas, no entanto, já foram relatados até 14 casos por 100.000 habitantes (13). A DILI é responsável por cerca de 10% de todas as reações adversas a medicamentos, 30% das causas de hepatite aguda, 10% das consultas de gastroenterologia e 1% de todos os internamentos médicos gerais (14).

Tanto nos EUA como na Europa, a DILI é uma das causas principais responsáveis pela falência hepática aguda, sendo-lhe atribuídos cerca de 7 a 15% dos casos registados. Na Coreia, a incidência anual extrapolada de casos hospitalizados no hospital universitário foi calculada em 12 por 100 000 pessoas (15).

Esta reação adversa é a principal responsável pela retirada do mercado de fármacos, mas dado ser uma entidade rara, pode não ser detetada durante os ensaios clínicos e surgir apenas quando o fármaco em causa já tenha sido aprovado e administrado a inúmeros doentes (6).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) possui uma base de dados de monitorização das reações adversas a medicamentos desde 1968. Desde 1990 houve um aumento do número de casos de DILI (16). Paracetamol, antirretrovirais, troglitazona, anticonvulsivantes (valproato), analgésicos, antibióticos e antineoplásicos são os agentes causais mais comuns de DILI fatal (Tabela 1) (17, 16). Por essa razão, deve ser dada particular importância a doentes que se encontram a tomar um ou mais destes medicamentos e que indiciam lesão hepática.

A análise de 461 casos de DILI em Espanha ao longo de 10 anos mostrou que a associação de amoxicilina com ácido clavulânico era o fármaco mais comum envolvido em casos de DILI (59/461 casos; 12,8%) naquele país (18). Outros medicamentos de uso comum como o

diclofenac e anti-agregantes plaquetários como a ticlopidina, também estão relacionados com esta patologia (12).

Tabela 1. Fármacos associados com casos de DILI fatais (12).

Fármaco	N (%)
Paracetamol	305 (16,9)
Antirretrovirais (estavudina, didanosina, nevirapina)	303 (16,8)
Troglitazona	211 (11,7)
Anticonvulsivantes (valproato, fenitoína)	187 (10,3)
Anti-neoplásicos	223 (12,3)
Flutamida	59 (3,3)
Ciclofosfamida	56 (3,1)
Metotrexato	55 (3,0)
Citarabina	53 (2,9)
Antibióticos	158 (8,7)
Trovafloxacina	57 (3,2)
Sulfa / Trimetoprim	52 (2,9)
Claritromicina	51 (2,8)
Halotano	85 (4,8)
Isoniazida	57 (3,2)
Diclofenac	56 (3,1)
Oxicodona	56 (3,1)

De uso menos comum mas igualmente de risco são os antibióticos usados no tratamento da tuberculose (dos quais se destaca a isoniazida), antineoplásicos e ainda psicofármacos como antidepressivos tricíclicos e antipsicóticos (16).

No Serviço de Medicina Interna dos CHUC-HUC foram estudados 24 doentes que estiveram internados com suspeita de hepatotoxicidade medicamentosa (Tabela 2).

Tabela 2. Casos estudados de DILI do Serviço de Medicina Interna dos CHUC-HUC.

Grupo	Fármaco/classe farmacológica	Nº de doentes
Antibióticos 37,5%	Quinolonas	4
	Azitromicina	1
	Amoxicilina + ácido clavulânico	1
	Cotrimoxazol	3
Psicofármacos 20,8%	Aripiprazol	1
	Quetiapina	1
	Antidepressivos tricíclicos	1
	Carbamazepina	1
	Topiramato	1
Anti-inflamatórios 16,7%	Ibuprofeno	2
	Diclofenac	1
	Aceclofenac	1
Outros 25%	Valaciclovir	1
	Alopurinol	1
	Rosuvastatina	1
	Nitrofurantoína	1
	Irbesartan	1
	Metotrexato	1

Embora a amostra seja pequena, o que pode limitar a extrapolação dos resultados para a população, verifica-se que os fármacos mais implicados foram os antibióticos, com a maior frequência atribuída às quinolonas (16,7%) seguidas pela associação de sulfametoxazol + trimetoprim (12,5%). Entre os restantes fármacos implicados constavam os anti-inflamatórios tanto não esteroides como inibidores da ciclooxigenase, antivíricos, estatinas, antagonistas dos recetores da angiotensina, entre outros.

5.2. Mecanismos celulares e moleculares

A metabolização hepática dos medicamentos é um processo que envolve inúmeras reações e que tem como objetivo principal a transformação dos produtos lipofílicos em componentes hidrofílicos, passíveis de serem excretados.

O metabolismo da droga pode resultar em intoxicação ou desintoxicação - a ativação ou desativação - do composto químico. Embora ambos possam ocorrer, a maioria das drogas origina metabolitos menos tóxicos (19).

Este processo pode dividir-se em duas grandes etapas: a fase I e a fase II. Na fase I ocorrem reações de oxidação, redução e hidrólise que aumentam a solubilidade dos metabolitos e alteram a sua reatividade química. As enzimas que intervêm nesta fase são principalmente as do sistema do citocromo P450, que catalisam reações de oxidação e redução, e as esterases e amidases, responsáveis pela hidrólise (20). Por seu lado, as principais reações que ocorrem durante a fase II são reações de conjugação, em que a molécula inicial ou os seus metabolitos (ou os seus radicais) são conjugados com glicuronídeos, sulfatos, radicais acetil ou glutatião por ação de enzimas como GST, UDP e as NAT (21).

Os derivados resultantes das reações de conjugação, que têm carácter hidrofílico, são exportados para o plasma através de proteínas de transporte situadas na membrana hepatocitária e são posteriormente eliminados por via urinária ou digestiva (bílis) (22).

Quando em contacto com as células hepáticas, as moléculas iniciais ou os seus metabolitos podem provocar lesões, quer diretamente – toxicidade direta -, quer por mecanismos indiretos como a hipersensibilidade.

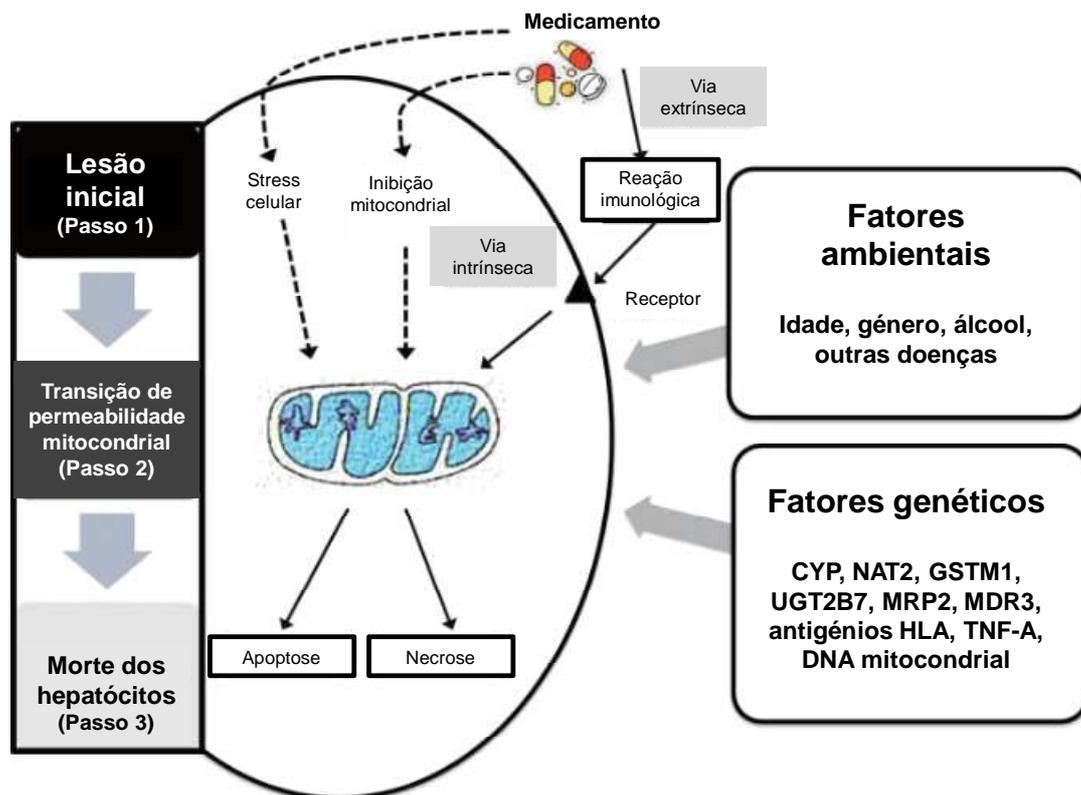
Com base nos conhecimentos mecanísticos da DILI e considerando o papel central da mitocôndria no processamento dos medicamentos, Russmann e os seus colegas propuseram em 2009 um modelo de desenvolvimento de DILI em três passos (Fig. 1) (23).

No primeiro passo deste modelo, a droga ou, mais frequentemente, o seu metabolito ativo, causa uma lesão inicial induzida por *stress* celular, por inibição mitocondrial ou por reações imunológicas específicas.

No segundo passo, a lesão inicial pode levar a alteração da permeabilidade da membrana mitocondrial (Mitochondrial Permeability Transition, MPT), iniciando a via da apoptose. O *stress* celular causa MPT pela via intrínseca que envolve a ativação de cascatas intracelulares e de proteínas pro-apoptóticas. A via extrínseca inicia a MPT através do complexo sinalizador de indução de morte (DISC) que é ativado por reações imunológicas, através do TNF-alfa e FasL e modulado por citocinas. No terceiro passo, ocorre apoptose ou necrose, dependendo da disponibilidade de ATP (23).

Durante o processo patogénico, podem ocorrer mecanismos de adaptação que consistem na reversão da lesão hepática, mesmo com a manutenção da terapêutica. São várias as respostas que podem mediar essa adaptação. Alterações que ocorrem na fase 1, 2 ou 3, podem diminuir a exposição dos hepatócitos ao fármaco. Outro meio consiste na ativação da expressão de genes anti-oxidantes, em resposta ao *stress* oxidativo induzido pelo fármaco. Por outro lado, os danos

mitocondriais induzem regeneração mitocondrial e o *stress* do retículo endoplasmático pode igualmente induzir uma resposta adaptativa para limitar o dano.



Adaptada de (15)

Fig. 1. Modelo de desenvolvimento de DILI em três passos.

Vários fatores podem influenciar a ocorrência e o grau de ativação da resposta mitocondrial e do hepatócito, nomeadamente os que influenciam direta ou indiretamente as concentrações séricas dos fármacos e seus metabolitos.

6. Suscetibilidade à DILI

6.1. Fatores não genéticos

Como seria de esperar para um fenótipo complexo, a suscetibilidade individual à DILI é influenciada por fatores não genéticos como: idade, sexo, características metabólicas adquiridas, interação com outros medicamentos, dose diária, etc.

Relativamente à idade, este é um fator de risco para DILI mas, somente para fármacos específicos. Com o aumento da idade, o risco de lesão hepática provocado por fármacos como por exemplo: eritromicina, halotano, isoniazida, nitrofurantoína e flucloxacilina é maior. O tipo de DILI colestático é o mais comum entre as pessoas idosas enquanto, o tipo hepatocelular é mais comum nos jovens (1). As razões pelas quais, a idade afeta os fenótipos de DILI não estão esclarecidas. Apesar da idade avançada poder interferir com a eliminação de certos substratos da enzima CYP3A, ela não altera significativamente a atividade ou expressão das enzimas de metabolização de fase I e II. Como se sabe, o avançar da idade leva a uma deterioração progressiva da função renal que associada à tão frequente polimedicação da população idosa determinam a acumulação de fármacos e seus metabolitos no fígado.

Relativamente ao género, estudos recentes revelam uma maior prevalência desta patologia entre homens (51% em homens; 49% em mulheres) (24). Zimmerman observou que a DILI do tipo autoimune ocorre quase exclusivamente em mulheres (25), facto este confirmado por outros estudos (26). O género feminino parece ser um fator de mau prognóstico, associando-se a casos de DILI com padrão hepatocelular, a falência hepática aguda, a transplante hepático e mesmo à morte.

Atualmente não existe consenso acerca da relação entre a predisposição para DILI e a dose de medicamento administrada (1). Existem vários autores que consideram que a dose de

medicamento ingerido não influencia o desenvolvimento desta entidade patológica (25). Contudo, existem outros estudos que apontam uma maior incidência de DILI quando a dose de fármaco administrada é superior. Por exemplo, numa amostra de 600 casos de DILI, apenas 9% foram medicados com 10 mg/dia, enquanto 14% ingeriram entre 11-49 mg/dia e 77% receberam doses superiores a 50 mg/dia (23).

A associação de certos fármacos pode ser um fator de risco dado que alguns podem modificar o potencial hepatotóxico de outros, através da indução enzimática e formação de metabolitos tóxicos reativos (1). Por exemplo, a rifampicina, fenitoína, isoniazida, tabaco e etanol são indutores do CYP. Meta-análises revelaram que quem tomava a associação de isoniazida e rifampicina tinha maior incidência de hepatotoxicidade do que aqueles que tomavam apenas um desses fármacos. Foi igualmente comprovado que a pirazinamida aumenta a hepatotoxicidade da isoniazida. A sinvastatina é metabolizada primariamente pelo CYP3A4 e a amiodarona é um conhecido inibidor desta enzima, existindo relatos de hepatotoxicidade em doentes a tomar os dois medicamentos (27).

O tipo de metabolização do fármaco poderá igualmente interferir com a probabilidade de DILI. Um estudo realizado nos EUA avaliou o risco de DILI para 207 fármacos mais comumente prescritos por via oral, dividindo-os em metabolizados e não metabolizados por via hepática. Demonstrou-se que os metabolizados em 50% ou mais por via hepática causavam um aumento significativo da ALT superior a 3x LSN (34% vs 10%), falência hepática (28% vs 9%), transplante hepático (9% vs 1%) e DILI fatal (23% vs 4%) mas não icterícia (43% vs 34%). Doze dos fármacos que não eram metabolizados por via hepática (risedronato, alendronato, hidroclorotiazida, nadolol, cefdinir, cefprozil, gabapentina, metformina, cefalexina, benzonatato, cefuroxima e sotalol) não causaram falência hepática, transplante nem DILI fatal (28). Os fármacos com excreção biliar causavam um aumento significativo da incidência de icterícia (67% vs 33%).

Está bem estabelecido que o consumo agudo ou crônico de álcool aumenta o risco de hepatotoxicidade pelo paracetamol. O consumo de álcool é um dos parâmetros avaliados na escala de RUCAM, porém não existe evidência de que o seu consumo aumente o risco de lesão hepática com a ingestão de medicamentos que não sejam o metotrexato, isoniazida ou halotano. O efeito do álcool como potenciador da hepatotoxicidade dos antituberculosos deve-se possivelmente à indução do *CYP2E1*.

Acredita-se que doentes com patologia hepática crônica e cirrose não estão necessariamente predispostos a DILI, mas se sofrerem um episódio de DILI terão maior risco de desenvolver complicações. Pacientes com níveis basais de aminotransferases elevadas correm maior risco de desenvolver hepatotoxicidade por estatinas (29).

Um estudo revelou que em homens de meia-idade, a esteatose hepática não alcoólica comporta um risco de DILI superior ao de indivíduos portadores de hepatite C (2,4% vs 0%). Alguns estudos demonstraram que as Hepatites B ou C podem ser fatores de risco para hepatotoxicidade por antituberculosos (30,31). No entanto, outros estudos não confirmaram estes achados (32).

Doentes co-infetados com VIH e vírus da hepatite C mas que responderam à terapêutica com interferão foram menos propensos a mostrar sinais de hepatotoxicidade com a toma de agentes antirretrovirais em elevada dose do que os doentes que não responderam à terapia com o interferão (33). Contudo, mais estudos são necessários para confirmação destas hipóteses.

Outras doenças foram descritas como aumentando o risco de DILI como por exemplo a psoríase. Segundo alguns autores, doentes com psoríase sob tratamento com metotrexato, corriam maior risco de DILI do que doentes sob a mesma terapia mas com artrite reumatoide. Contudo, fatores de confusão como: idade, obesidade, diabetes mellitus e o uso de outras drogas potencialmente hepatotóxicas limitam a validade destas observações (34, 35).

6.2. Fatores genéticos

Nos últimos anos, foram feitos avanços significativos em tecnologias e metodologias genéticas que possibilitaram a realização de estudos de associação de gene candidato e de genómica (*Genome Wide Association Studies – GWAS*) os quais permitiram a identificação de variantes genéticas que conferem diferentes graus de risco de desenvolvimento de DILI (Tabela 3) (36).

Tendo em conta o mecanismo de processamento dos medicamentos pelo organismo e as respostas do hepatócito descritas, será de esperar que polimorfismos em genes envolvidos no metabolismo e transporte de substâncias, apoptose, resposta imunológica e regeneração celular contribuam para alterar a predisposição individual para o desenvolvimento deste fenótipo (1).

6.2.1. Enzimas de metabolismo

A atividade das enzimas do metabolismo como o CYP450, NAT2 e a GST influenciam o desenvolvimento de DILI ao determinarem as concentrações séricas dos fármacos e dos seus metabolitos. A sua atividade pode ser influenciada por polimorfismos dos genes que as codificam e que determinam quer os seus níveis de expressão quer a sua constituição química. Dependendo da maior ou menor atividade enzimática podem acumular-se produtos tóxicos, quer seja por metabolitos, pelo próprio fármaco, ou ocorrer um desvio para vias de metabolização alternativas.

Para alguns fármacos, as concentrações séricas são determinadas essencialmente por uma única enzima – fenótipo monogénico – como no caso da isoniazida, metabolizada essencialmente pela N-acetiltransferase 2. Nestes casos a genotipagem das variantes funcionais do gene que codifica a enzima é útil para a individualização da terapêutica, aumentando a sua eficácia e diminuindo as reações adversas. Apesar disso, mesmo para estes fármacos, ao contrário das concentrações

séricas, a ocorrência de DILI continua a ser um fenótipo complexo, multifatorial, influenciado mas não completamente determinado, pelas variantes genéticas da enzima de metabolismo.

Contudo, para a maioria dos fármacos, as concentrações séricas são determinadas por várias enzimas, dificultando a identificação dos genótipos de suscetibilidade. Por exemplo, há fármacos cujo metabolismo exige a intervenção de enzimas de fase I e II e a existência de mais ou menos produtos tóxicos, depende, nestes casos, da interação dos polimorfismos dos vários genes.

A atividade destas enzimas também pode ser influenciada pela ação de indutores enzimáticos como o álcool, como a rifampicina, ou, pelo contrário, de fármacos inibidores enzimáticos como a claritromicina. Todos estes indutores podem interferir com a expressão do genótipo.

Por fim, alguns destes genes estão sob controlo de mecanismos epigenéticos (nomeadamente metilação da região reguladora) pelo que a determinação do genótipo pode não corresponder ao fenótipo de metabolização.

Vários estudos sobre a especificidade dos polimorfismos associados à indução de DILI por determinados fármacos, revelaram que os marcadores genéticos de DILI são amplamente dependentes do fármaco em questão (Tabela 3), isto porque substâncias do mesmo grupo farmacológico podem ser metabolizadas preferencialmente por enzimas diferentes (37).

Este facto faz com que não se possam fazer extrapolações de resultados, já que o perfil genético de risco tem de ser estudado individualmente para cada fármaco. Contudo, o reverso também é verdadeiro, isto é, estudando o perfil farmacogenético ficamos com informação útil para a administração de vários medicamentos. Esta é, aliás, uma das vantagens relativamente aos estudos farmacocinéticos.

Tabela 3. Relação entre os polimorfismos identificados e os medicamentos envolvidos na DILI (38).

Gene	Alelos de risco	Medicamento
<i>CYP2C19</i>	*2	Isoniazida
<i>CYP2E1</i>	*5A, *5B, *6, *1A, *1B	Isoniazida
<i>CYP3A</i>	*5	Macrólidos
<i>CYP2D6</i>	*4 (ultrarrápido)	Tamoxifeno
	Lento	Perhexilina, clorpromazina
<i>NAT 2</i>	*14, *5, *6,*7 (Lento)	Isoniazida
		Troglitazona
<i>GSTM1</i>	Nulo	Antituberculosos
		Carbamazepina
		Amoxicilina e ácido clavulânico
<i>GSTT1</i>	Nulo	Antituberculosos
		Troglitazona
<i>UGT1A</i>	*6	Tolcapone
<i>UGT2B7</i>	*2	Diclofenac
<i>ABCB11</i>	Exão 13	Vários
	13311T>C	Sulindac, flucloxacilina, terbinafina
<i>ABCC2</i>	C-24T	Diclofenac
<i>SOD2</i>		Antituberculosos
	Val16Ala	Vários
<i>IL4</i>	C-590 ^a	Diclofenac
<i>IL6</i>	Intrão e 3' repetido na sequência	Tacrina
<i>IL10</i>	C-627 ^a	Diclofenac
<i>HLA</i>	*15	Amoxicilina + ácido clavulânico
<i>HLADQB1</i>	*0201	Antituberculosos
<i>HLA-B</i>	*5701	Flucloxacilina, Abacavir
<i>POLG</i>	p.q1236H	Valproato de sódio
	p.E1143G	Valproato de sódio

Enzimas da família do Citocromo P450

O grupo de enzimas do citocromo P 450 (CYP450), inclui mais de 50 enzimas necessárias ao metabolismo celular (síntese de colesterol, esteroides, de prostaciclina e tromboxano A2) e à destoxificação de compostos químicos e fármacos. A denominação vem de Cy por estarem ligadas às membranas celulares (cyto) e por conterem um grupo heme que absorve a luz no comprimento de onda de 450 nm quando expostos a monóxido de carbono. Genes candidatos que codificam enzimas da família CYP têm sido bem estudados na relação com a suscetibilidade a DILI, uma vez que estas enzimas de fase I, apresentam um importante papel no metabolismo oxidativo e na produção de espécies reativas intermediárias (10).

Um pequeno grupo de CYPs é responsável pelo metabolismo de mais de 90% dos fármacos: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 e CYP2E1. Contudo, destas enzimas, a CYP2C9 e a CYP2C19, são as que mais frequentemente têm sido associadas a DILI (28).

Da subfamília do CYP3A, duas isoenzimas, codificadas pelos genes *CYP3A4* e *CYP3A5* são as mais importantes. Para o gene *CYP3A4* não há variantes que comprovadamente se associem a alteração da atividade. Para o *CYP3A5*, a variante *CYP3A5*3* origina um local de splicing alternativo resultando numa proteína truncada com défice de função enzimática. Os macrólidos, um grupo de antibióticos associados a episódios de hepatotoxicidade, são metabolizados por estas enzimas. Da inativação do macrólido pelo CYP3A resulta um metabolito que forma um complexo estável com CYP inativando-o. A administração simultânea de um macrólido com outra droga, também ela inativada pelo CYP3A, conduz ao aumento dos níveis séricos da segunda, podendo resultar em toxicidade. Fármacos como a carbamazepina, o fenobarbital e a rifampicina são indutores do CYP3A4 e 5.

A atividade da subfamília CYP2D6 (debrisoquina hidroxilase) depende sobretudo do controlo genético, sendo conhecidos mais de 115 alelos com aumento ou diminuição da atividade enzimática. Cerca de 5 a 10% dos caucasianos são metabolizadores lentos, sendo o alelo *CYP2D6**4 a variante mais frequente nestes indivíduos (39). Os metabolizadores ultrarrápidos, possuem várias cópias do gene e estão expostos a reações de toxicidade no caso de administração de pró-fármacos como o tamoxifeno, ou se os metabolitos forem mais tóxicos do que o próprio fármaco.

A CYP2D6 está envolvida na metabolização de opióides, antidepressivos, β -bloqueantes, agentes antiarrítmicos, tamoxifeno entre outros. A diminuição da sua atividade tem sido associada a hepatotoxicidade por perhexilina e clorpromazina, entre outros (1). Não nos podemos esquecer que a CYP2D6 pode ser inibida por fármacos como a cimetidina, amiodarona, fluoxetina e paroxetina, explicando situações de hepatotoxicidade em doentes sem genótipo de risco (40).

A CYP2E1 é uma enzima-chave na oxidação hepática e está envolvida na ativação metabólica de compostos lipofílicos de baixo peso molecular como a acetona (41) e de fármacos como o paracetamol, o enflurano, a isoniazida, o pirazol, a 7-etoxicoumarina, ou a clorzoxazona (42), e de muitos carcinogénios (43, 44).

No caso da isoniazida, a CYP2E1 catalisa a ativação deste fármaco para um metabolito hepatotóxico (45). Estudos feitos em ratinhos *knock-out* para o gene *CYP2E1* mostraram que quando estes eram expostos ao paracetamol, eram 2 vezes menos sensíveis aos efeitos tóxicos do fármaco, comparativamente com os ratinhos *wild-type* confirmando o envolvimento deste gene na hepatotoxicidade do paracetamol (46).

Até ao presente, foram descritas 13 variantes alélicas deste gene, a maioria localizada em regiões reguladoras não codificantes. Os alelos *5A, *5B (na região reguladora) e o *6 (no

intrão 6) são os com maior evidência de associação a alterações nos níveis de expressão da enzima (42).

Existem inúmeros estudos que identificaram um risco 2,2 vezes superior de hepatotoxicidade por antituberculostáticos em indivíduos homocigotos para o alelo *wild type*, *CYP2E1*1A*, quando comparados com doentes heterocigóticos ou homocigóticos para outras variantes (36). Pensa-se que este alelo se associa a uma maior atividade enzimática, e conseqüentemente maior concentração de metabolitos hepatotóxicos.

No entanto, é importante considerar vários outros fatores como sejam a indução e inibição dos níveis de expressão desta enzima. O álcool (47), a obesidade (48, 49), o tabagismo (50) e a própria hidrazina, produto do metabolismo da isoniazida (51, 52) são conhecidos indutores da CYP2E1. Como inibidores existem o dissulfiram e o dietilditiocarbamato (53).

A idade também constitui um fator importante na atividade da CYP2E1. George e os seus colegas verificaram uma associação negativa entre a idade e o conteúdo total da CYP2E1 em amostras de uma biópsia ao fígado (54) e Tanaka concluiu que a atividade da CYP2E1 aumenta rapidamente após o nascimento, atingindo um *steady-state* até à fase adulta, seguindo-se uma diminuição gradual até aos 64 anos, quando os níveis de enzima decaem rapidamente (55).

N-acetiltransferase tipo 2 (NAT2)

A enzima N-acetiltransferase 2 (NAT2) metaboliza alguns compostos terapêuticos (ex.: isoniazida, hidralazina, nitrazepam e sulfonamidas) e tem sido também implicada na etiologia da DILI, particularmente na associada à administração de isoniazida.

Alguns polimorfismos funcionais do gene *NAT2* são responsáveis pela variação interindividual na atividade enzimática da NAT2: os portadores de um ou dois alelos correspondentes a elevada

atividade enzimática são designados por acetiladores intermédios (AI) e rápidos (AR), respetivamente, e os portadores de dois alelos correspondentes a baixa atividade enzimática são designados por acetiladores lentos (AL). Os acetiladores lentos têm maior suscetibilidade à hepatotoxicidade para as sulfonamidas e isoniazida (1). A elevada correlação entre o genótipo e o fenótipo de acetilação, permite que a determinação do perfil genotípico do doente possa desempenhar um papel fundamental na individualização da terapêutica e redução do risco de hepatotoxicidade (56, 57).

Atualmente estão descritos vários polimorfismos de tipo SNP no gene *NAT2* que no conjunto permitem identificar 62 combinações de alelos ou haplótipos. As variantes associadas com o fenótipo de acetilação lenta mais frequentes entre caucasianos são: o *NAT2*14*, *NAT2*5*, *NAT2*6* e o *NAT2*7*. O alelo *NAT2*4* é considerado o *wild-type* ou alelo de referência, e codifica uma enzima de elevada atividade.

A prevalência das variantes genéticas do *NAT2* associadas com acetiladores intermediários e lentos encontra-se entre 40 a 70% entre os caucasianos e 10 a 40% entre os asiáticos (58, 59).

Estudos realizados indicam que na população asiática, portadores de variantes genéticas de *NAT2* com acetilação lenta apresentam um maior risco de desenvolver hepatotoxicidade com a isoniazida (60). Embora neste estudo não se tenha demonstrado um risco tão elevado em amostras de população de diferentes etnias, ele serviu como ponto de partida para o consórcio *Isoniazid Dose Adjustment According to NAT2 Genotype* (IDANAT2) que tem como objetivo comparar a segurança e eficácia da isoniazida na Europa desde 2008 (21).

Julga-se que os polimorfismos da *NAT2* e da *CYP2E1* podem atuar de forma sinérgica na predisposição para a hepatotoxicidade pela isoniazida (61).

Glutathione S-Transferases (GST's)

As Glutathione S-Transferases (GST) são enzimas da fase II do metabolismo que desempenham importantes funções na proteção contra o stresse oxidativo e na destoxificação de potenciais toxinas endógenas, incluindo carcinogénios e fármacos (62). Atuam catalisando a conjugação da glutathione (GSH) com vários substratos endógenos e exógenos, originando compostos inativados e hidrossolúveis que podem ser excretados pela urina ou pela bÍlis.

Duas das isoenzimas mais relevantes para a DILI são a GSTT1 (Glutathione-S-Transferase da classe θ) e GSTM1 (Glutathione-S-Transferase da classe μ) (1), codificadas por genes com variantes polimórficas nulas, constituídas por deleções dos genes, frequentes na população. Entre caucasianos os homozigotos para a deleção do *GSTT1* (*GSTT1*0*) variam entre 13 e 26%, enquanto que os homozigotos para a deleção do *GSTM1* (*GSTM1*0*), podem atingir os 40 a 60% (63). Os genótipos *GSTM1* e *GSTT1* nulos têm sido associados a um aumento, não específico, da suscetibilidade a DILI (64).

O aumento de risco de hepatotoxicidade associado a estes alelos foi recentemente confirmado num estudo que envolveu 154 doentes diagnosticados com DILI provocada por múltiplos agentes, 250 indivíduos saudáveis do mesmo sexo e idade que não tomavam qualquer medicação e 88 indivíduos saudáveis a quem foi dada a mesma medicação tomada pelos doentes com DILI. Neste estudo, os indivíduos com duplo genótipo nulo *GSTT1-GSTM1*, revelaram um risco de desenvolvimento de DILI aumentado em comparação com aqueles cujos genes estavam presentes. Esta relação verificou-se sobretudo para DILI provocada por antibióticos e AINES. (1).

Outros estudos sugerem igualmente uma associação com a DILI provocada por troglitazona e antituberculostáticos (36). Um estudo em Caucasianos mostrou uma associação significativa entre a homozigotia para a deleção do *GSTT1* e a hepatotoxicidade induzida por

tuberculostáticos, mas não para a homozigotia para a deleção do *GSTMI* (65). No entanto, uma meta-análise realizada por Sun e seus colegas revelou resultados opostos (21).

Polimerase γ (POLG)

Recentemente, variantes do gene nuclear *POLG*, que codifica a polimerase responsável pela síntese do DNA mitocondrial, foram descritas como sendo fatores de risco para a hepatotoxicidade associado ao valproato de sódio (66).

Num estudo realizado em 2010 por Stewart e seus colaboradores, cerca de 50% (8/14) dos doentes com provável hepatotoxicidade ao valproato eram heterozigotos para variantes do gene *POLG*, sendo as variantes mais frequentes as p.Q1236H e p.E1143G (67), mas outras variantes têm sido descritas (66).

Segundo alguns autores, a sequenciação do gene *POLG* estaria indicada antes de se iniciar o tratamento com valproato em crianças com epilepsia refratária, para impedir casos fatais de DILI (66).

6.2.2. Sistema HLA (Human Leukocyte Antigens)

O sistema HLA desempenha um papel chave nas reações adversas imuno-mediadas a medicamentos, incluindo a DILI (68). Esta associação parece ser mais forte relativamente ao padrão colestático.

A associação de variações genéticas do sistema HLA com o desenvolvimento de DILI provocada por abacavir é bem conhecida (69). A relação entre a hipersensibilidade ao abacavir e o HLA-B*5701 (um dos polimorfismos que pode determinar suscetibilidade para DILI)

sugere a possibilidade de efetuar testes genéticos que visem detetá-lo, com vista à prevenção primária de lesão hepática por este fármaco. Outro exemplo é o risco aumentado de portadores do genótipo HLA-B*5701 para o desenvolvimento de DILI induzida pela flucloxacilina (70). Este alelo é, por si só, o principal fator de risco para DILI jamais encontrado (36). Em 2009, Daly e os seus colegas fizeram um estudo de associação genómica em que foram usados 866399 marcadores, e confirmaram que doentes portadores de HLA-B*5701 apresentam um risco significativamente mais elevado de desenvolverem DILI induzida por flucloxacilina. Estes resultados evidenciam o valor de estudos genéticos para aprofundar os conhecimentos em DILI e apresentam um modelo de sucesso para aplicação na prática clínica (38).

Variantes genéticas do sistema HLA, nomeadamente o alelo HLA*15, também têm sido implicadas no aumento do risco de hepatite tóxica induzida pela amoxicilina associada ao ácido clavulânico, parecendo ser este último o agente causal (71).

Estas relações entre HLA e DILI apontam para uma reação imunomediada. O mecanismo pode envolver a formação de um complexo covalente entre o fármaco ou os seus metabolitos e proteínas celulares. Este complexo covalente pode ser apresentado a células T por moléculas do sistema HLA, provocando, por parte das células T, uma reação local inapropriada que poderá causar lesão celular.

6.2.3. Regulação da resposta imunológica e inflamação

O reconhecimento do papel da regulação da resposta imune e dos mecanismos subsequentes na DILI definiu como novos alvos de investigação as variantes genéticas associadas aos genes de mediadores imunoinflamatórios.

Aithal e colaboradores investigaram o envolvimento de polimorfismos das interleucinas IL10, IL4 e dos recetores da IL4 na DILI induzida por diclofenac em 24 doentes, 48 indivíduos saudáveis expostos ao mesmo medicamento e 321 indivíduos saudáveis sem medicação (72). Neste estudo, observaram uma maior frequência de variações genéticas nas IL10 e IL4 nos doentes com DILI em comparação com os controlos sugerindo uma relação entre as alterações na resposta imunológica induzida por variações genéticas e a suscetibilidade à DILI (73).

A IL6 também parece ter um potencial relevante na predisposição para DILI. Esta citocina regula um grande número de genes implicados na resposta de fase aguda, e poderá estar sobre-expressa durante um episódio agudo de DILI. Num estudo em doentes que revelaram elevação da ALT após a toma de tacrina, verificou-se associação com polimorfismos da IL-6, mas o seu significado funcional ainda é desconhecido (10).

6.2.4. Stress oxidativo

O *stress* oxidativo e a defesa antioxidante estão envolvidos em vários mecanismos de hepatotoxicidade, incluindo toxicidade direta dos metabolitos reativos, regulação das reações imunes e inflamatórias e agressão mitocondrial (36).

Tendo em conta o papel central da superóxido dismutase mitocondrial (SOD2) na eliminação de espécies reativas de oxigénio, neste caso do radical superóxido, o gene que a codifica foi considerado um possível gene candidato para a DILI. Um estudo em humanos mostrou que doentes com a variante alanina do polimorfismo Val16Ala apresentam maior suscetibilidade a DILI provocada por diferentes tipos de fármacos (71).

Outro aspeto de especial interesse é a defesa antioxidante controlada pelo Keap1-Nrf2. (72,74). Novos alvos terapêuticos podem incluir a sinalização citoprotectora do Keap1-Nrf2 que é despoletada aquando da inflamação hepática, através da translocação do Nrf2 para o núcleo,

onde vai ativar a transcrição de um determinado número de genes antioxidantes tais como o NQO1, HO-1, e yGCS. Estudos realizados em ratos demonstraram que a ausência da atividade deste gene pode determinar a redução da capacidade funcional do fígado. Assim, ativadores do Nrf2 podem ter propriedades hepáticas protetoras em casos de hepatotoxicidade.

6.2.5. Proteínas de transporte transmembranar

Após conjugação catalisada pelas enzimas de fase II, os metabolitos são transportados através da membrana hepatocitária, pelo que é de esperar que variantes genéticas nos transportadores aqui implicados (ex.: bomba transportadora dos sais biliares (BSEP), transportadores canaliculares), possam estar associadas a suscetibilidade a DILI (1).

A bomba transportadora dos sais biliares (BSEP), codificada pelo gene *ABCB11* é responsável pelo fluxo dos ácidos biliares desde os hepatócitos até aos canalículos biliares. Quando uma alteração neste sistema acontece, ocorre acumulação da bÍlis a nível intracelular, que poderá resultar em lesão hepática. São atualmente conhecidas mais de 100 variantes do gene *ABCB11* e algumas delas são consideradas como um fator de risco para DILI. Um polimorfismo missense, V444A, correspondendo à transição 1331T>C, foi associado a baixos níveis de expressão de BSEP. Este polimorfismo é muito frequente em caucasianos, encontrando-se o genótipo 1331 CC presente em cerca de 32.3% da população, o 1331 TT em 16.1% e o 1331 CT em 51.6%. Este SNP tem sido associado à ocorrência de colestase da gravidez e colestase secundária à toma de contraceptivos orais (75), de sulindac, flucloxacilina, terbinafina e bosentan (1). Recentemente foi implicado na evolução para lesão hepática crónica em doentes com infeção pelo VHC (76).

7. Diagnóstico

O diagnóstico de DILI pode ser difícil devido à escassez de sinais e sintomas específicos. No entanto, quando estes estão presentes podem incluir náuseas, anorexia, dor abdominal, icterícia ou mal-estar geral. Ainda assim, muitos casos de DILI podem manifestar-se como cirrose, síndrome de obstrução sinusoidal, hepatite crónica ou neoplasia (2).

No caso da lesão hepatocelular aguda, habitualmente não surgem os aspetos clínicos característicos, como por exemplo, a icterícia. Por vezes, observam-se outros sinais que podem indiciar uma reação alérgica ao fármaco tais como febre, exantema ou eosinofilia periférica. Os níveis séricos de ALT apresentam-se bastante aumentados.

O tempo de latência do dano hepático é definido como o período de tempo decorrido desde o primeiro dia de exposição ao fármaco até ao primeiro dia de manifestação de sintomas. Este período é variável já que a toxicidade hepática se desenvolve mesmo após a descontinuação do agente causal (típico na hepatotoxicidade da amoxicilina + ácido clavulânico) (77).

O período de latência de diferentes fármacos varia consideravelmente. No entanto, existe um perfil relativamente consistente para cada medicamento que está ligado ao mecanismo de lesão envolvido.

Na maioria dos casos idiossincráticos, o período de latência é aproximadamente entre uma semana a 3 meses (em cerca de 80% dos casos) (78). Um intervalo superior a três meses é normalmente associado a mecanismos não-alérgicos. Embora a hepatite aguda induzida por medicamentos raramente ocorra depois de 12 meses de exposição, este longo período de latência é ainda possível em formas incomuns de lesões crónicas como a esteatose hepática, fibrose e hepatite crónica, as quais podem ser assintomáticas, permitindo que o

tratamento contraindicado continue, ou simplesmente porque o tipo de lesão requer uma exposição prolongada para se começar a manifestar (por ex, lesões vasculares e tumores).

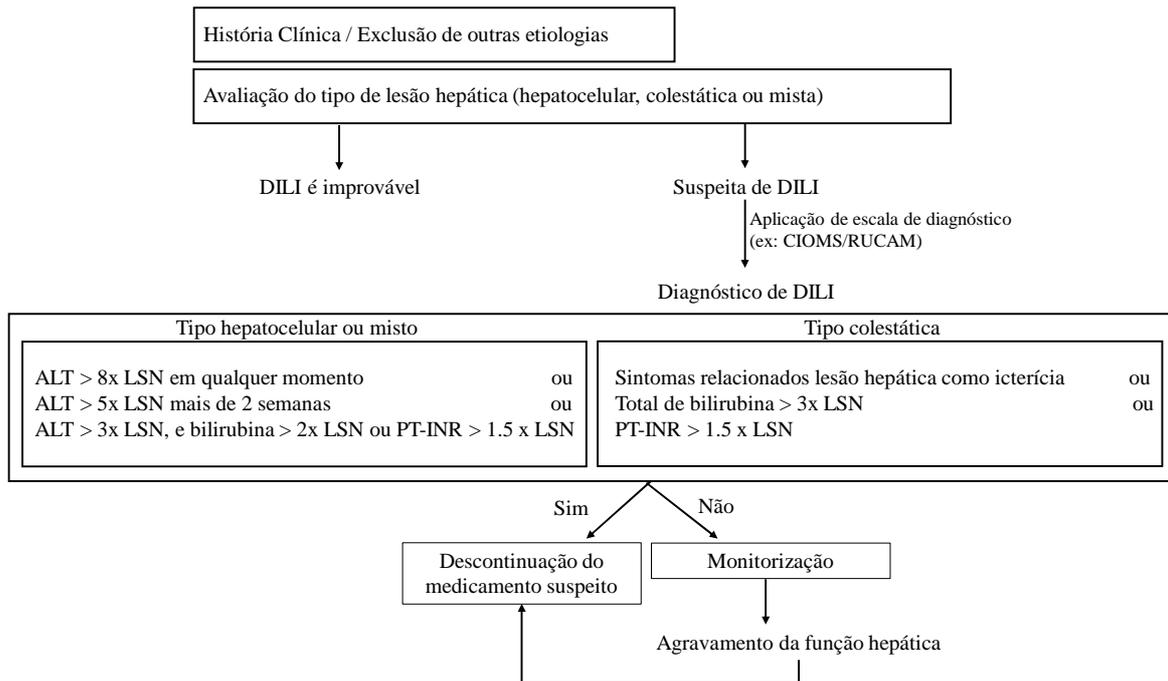
Em alguns casos, o papel do medicamento é difícil de reconhecer devido a um atraso considerável (até três ou quatro semanas) entre a interrupção do tratamento e a apresentação clínica da doença. Exemplos incluem a amoxicilina + ácido clavulânico, midecamicina e trovafloxacina. As razões para este fenómeno não são claras.

A DILI é sobretudo um diagnóstico de exclusão de outras patologias como hepatites virais, hepatite alcoólica, de causa autoimune, reação de hipersensibilidade ao fármaco ou patologia colestática. Muitos dos exames complementares de diagnóstico têm precisamente essa finalidade (ver Anexo 1).

O diagnóstico baseia-se ainda em múltiplos critérios que incluem o tempo decorrido desde o início da administração do medicamento até ao aparecimento dos sintomas, características clínicas, tempo decorrido até à recuperação, fatores de risco específicos e história de hepatotoxicidade do medicamento em causa. O diagnóstico pode ainda ser reforçado com reexposição ao medicamento e biópsia do fígado, embora estes dois últimos elementos não estejam muitas vezes disponíveis por serem inapropriados (37).

Recentemente, e com a explosão de conhecimentos genéticos nas últimas décadas, vários biomarcadores têm sido identificados que podem contribuir para uma maior precisão do diagnóstico de DILI (3).

Na Figura 2 apresenta-se um fluxograma representativo de decisões de diagnóstico em caso de suspeita de DILI.



Adaptada de (17)

Figura 2. Decisões de diagnóstico após apresentação de disfunção hepática. O tipo, severidade e causas da lesão hepática devem ser cuidadosamente avaliados.

7.1. Critérios analíticos de DILI

Para tornar mais objetivo e consensual o diagnóstico de DILI, assim como para evitar o sobrediagnóstico, existem critérios analíticos internacionalmente aceites. Assim, para confirmar a presença de DILI, terá de se verificar pelo menos uma das seguintes situações:

1. ALT (Alanina aminotransferase) $\geq 5 \times$ limite superior ao normal (LSN)
2. FA (Fosfatase Alcalina) $\geq 2 \times$ LSN (sobretudo se acompanhada de elevação da 5'-nucleotidase ou da γ -glutamil transpeptidase)

-
3. ALT (Alanina aminotransferase) $\geq 3 \times$ LSN com elevação simultânea da bilirrubina $> 2 \times$ LSN

(Deve considerar-se o valor mais elevado atingido durante o episódio (12).)

Dependendo do rácio (R) (ALT/LSN) / (FA/LSN), sendo os valores de ALT e FA referentes à mesma amostra), a lesão pode ser classificada como hepatocelular ($R \geq 5$), mista ($2 < R < 5$) ou colestática ($R \leq 2$) (17). Devido às variações do perfil enzimático do plasma durante a progressão da doença, o momento em que R é calculado é de extrema relevância. Enquanto alguns clínicos usam os valores enzimáticos do primeiro teste que revelou aumentos acima do normal, outros usam os valores de pico, que poderão ou não coincidir com os primeiros valores. A ausência de instruções claras sobre quando calcular o valor de R pode levar a avaliações variadas do tipo de lesão hepática, dependendo do clínico a fazer a avaliação (15).

Uma lesão hepática classificada como hepatocelular será provavelmente mais severa e aliada a níveis elevados de bilirrubina e que pode levar à morte. Em contraste, pacientes diagnosticados com lesão hepática mista/colestática apresentam uma maior probabilidade de desenvolver doença crónica (17).

Fármacos como o paracetamol, alopurinol, amiodarona, anti-retrovirais, AINE's entre outros, causam mais comumente uma elevação dos níveis de R $>$ ou igual a 5 e por isso, causam mais frequentemente lesão do tipo hepatocelular. Um R $<$ ou igual a 2 está muito vezes associado a DILI causado por esteroides anabólicos, clorpromazina, clopidogrel, eritromicina e contraceptivos hormonais. As lesões do tipo misto podem surgir por exemplo depois do consumo de amitriptilina, enalapril, carbamazepina, sulfonamidas ou de fenitoína.

Como muitos fármacos podem induzir uma elevação enzimática assintomática sem hepatotoxicidade grave, elevações moderadas das transaminases nem sempre implicam a cessação da terapêutica causal.

7.2. Escalas de diagnóstico

A manifestação de hepatotoxicidade medicamentosa é altamente variável, indo de elevação assintomática dos valores enzimáticos a falha hepática fulminante (15). O julgamento clínico, subjetivo por natureza, é o primeiro passo necessário para a identificação de determinada medicação como causa de uma doença hepática (2). Uma vez que não existem critérios normalizados para o diagnóstico de DILI, várias escalas clínicas foram desenvolvidas para estabelecer uma relação de causalidade entre a lesão hepática e a toma de medicação, com vista a uma redução da subjetividade e da inconsistência de diagnóstico na prática clínica (7).

Escala de Probabilidade segundo Naranjo (Naranjo Adverse Drug Reactions Probability – NADRP)

Esta escala foi proposta em 1981 por Naranjo e colaboradores para a classificação de reação adversa a drogas durante a realização de estudos clínicos (8). A NADRP tem sido amplamente usada para diagnóstico de DILI, embora não tenha sido desenvolvida especificamente para este efeito.

A escala baseia-se na pontuação atribuída a 10 questões de resposta “sim” e “não” ou “desconhecido/não aplicável” que varia entre -1 e +2. A soma da pontuação varia entre -4 e +13 e os resultados são categorizados em “Definitivo”, “Provável”, “Possível” e “Improvável” (79, 37). Apesar da sua simplicidade, importante para a sua aplicação clínica, num estudo comparativo de 225 casos suspeitos de hepatotoxicidade realizado pelo *Council for International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) a escala revelou fragilidades, como baixa sensibilidade e baixo valor preditivo negativo assim como insuficiente reprodutibilidade na avaliação de casos de DILI (7, 80).

Escala Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) ou Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM)

No início dos anos 90, esta escala foi proposta por Danan e Benichou no International Consensus Meeting (81). Este método estabelece um sistema de pontuação normalizado, em que os limites e conteúdos dos critérios foram definidos por consenso entre vários especialistas tendo em conta aspetos únicos da lesão hepática (2).

A escala CIOMS/RUCAM classifica o padrão da lesão hepática – hepatocelular, colestática ou mista – baseando-se numa pontuação de 7 critérios que incluem relação temporal, desenvolvimento clínico, fatores de risco, exclusão de outras causas, reações adversas reportadas anteriormente e reexposição ao medicamento suspeito (17). A soma dos pontos atribuídos a cada um dos critérios varia entre -9 e +14, posteriormente agrupados em categorias como “Excluído” (Pontuação <0) ou “Muito provável” (Pontuação > 8) (37). Este método, quando validado pela primeira vez, demonstrou ter uma sensibilidade de 86% e especificidade de 89% (82). Contudo, ao estudar-se a sua reprodutibilidade concluiu-se que a concordância entre 2, 3 e 4 especialistas era de 99%, 74% e 37%, respetivamente, indicando elevada discrepância com o aumento do número de aplicações desta escala (81). Num outro estudo, comprovou-se uma frágil relação entre a opinião do especialista e os resultados da aplicação da escala CIOMS/RUCAM, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de métodos mais simples, precisos e reprodutíveis para o diagnóstico de DILI (83).

Escala Maria e Vitorino (M&V)

Em 1997, Maria e Vitorino desenvolveram uma nova escala na tentativa de ultrapassar a complexidade da escala RUCAM. A escala M&V, também conhecida como Escala de

Diagnóstico Clínico, usa vários critérios da escala CIOMS/RUCAM mas com foco em apenas 5 componentes (9). Os autores incluíram elementos no sistema de pontuação como a presença de características imunoalérgicas, excluíram fatores de risco como a idade, álcool e gravidez, competição medicamentosa e separaram os casos em lesão hepatocelular e lesão colestática (9). A soma da pontuação resultante da aplicação desta escala corresponde a 5 graus de probabilidade de causa efeito: definitiva, provável, possível, improvável ou excluída. Esta escala foi validada por três especialistas externos que aplicaram a escala em casos reais e fictícios. A comparação entre as avaliações dos diferentes especialistas revelou 84% de concordância entre a escala e a opinião de cada um. No entanto existem também algumas limitações associadas à aplicação desta escala como a classificação de casos como “definitivo” apenas quando há reação a uma reexposição ao medicamento em causa, apesar de este critério ser raramente aplicado em casos de suspeita de DILI devido aos riscos que lhe estão associados (15).

Uma revisão de 61 casos de DILI publicados na base de dados PubMed durante a última década relativa aos métodos usados para o diagnóstico de DILI revelou que em 16,4% dos casos foi utilizada a escala CIOMS/RUCAM, em 3,3% dos casos a escala M&V, outros métodos foram usados em 6,5% dos casos e em 62,3% dos casos nenhum método foi utilizado além da avaliação do especialista (17).

De facto, as revistas científicas devem insistir na aplicação das escalas como um meio de controlo da qualidade prioritário, com vista à publicação dos trabalhos.

As vantagens de utilização das escalas de RUCAM e M&V e o seu grau de concordância foram comparados numa população de 215 doentes incluídos num registo de hepatotoxicidade (84). Foi determinado previamente por três peritos que 185 casos foram causados por medicamentos e 30 casos por outras substâncias. A total concordância entre as duas escalas foi obtida apenas

em 42 dos casos (18%) (84). Discrepâncias na verificação da causalidade ocorreram em 186 das avaliações. Em cada um destes casos a escala RUCAM determinou um nível superior de certeza em relação à M&V. A escala M&V classificou apenas um terço dos casos como “provável” ou “definido” e tendeu a subestimar a probabilidade de causalidade. De fato o desempenho da escala M&V foi fraco nas reações com longo período de latência (>15 dias no caso da amoxicilina + ácido clavulânico por exemplo), progressão clínica para um estado crônico ou morte.

As razões subjacentes à discordância foram claramente identificadas, já que a valorização dos critérios utilizados foi muito diferente para as duas escalas. Como exemplo, um período de latência >15 dias entre a retirada do fármaco e o início do evento pode ser retificado subtraindo 3 pontos da escala de M&V. Um período de latência superior a 6 meses entre a retirada do fármaco e a normalização dos valores laboratoriais (na lesão do tipo colestático ou misto) ou 2 meses (na lesão hepatocelular) impediu que o estabelecimento do diagnóstico fosse “definitivo” ou “provável” (84).

Estes estudos de comparação claramente demonstram que a escala RUCAM, apesar de estar longe de ser um instrumento perfeito, fornece uma base uniforme a partir da qual se desenvolve uma abordagem mais precisa na determinação de causas de DILI (2).

Assim, para tornar a escala de RUCAM mais realística deveriam ser realizadas algumas alterações como incorporar dados mais relevantes e eliminar outros de baixo impacto.

A escala NADRPS foi amplamente utilizada para o diagnóstico de DILI devido à sua simplicidade e enorme aplicabilidade, apesar de não ter sido desenvolvida especificamente para este fim. Embora a simplicidade seja importante para o uso na prática clínica, concluiu-se que esta escala possuía baixa sensibilidade e uma grande limitação na capacidade de distinguir categorias adjacentes de probabilidade como “possível” e “provável” (80).

A escala M&V não leva em conta o padrão da lesão hepática, não tendo por isso, sido registados tantos casos de DILI colestática quanto os que de facto existiam.

A escala RUCAM é a mais utilizada e parece ser a escala padrão para o diagnóstico de DILI. Porém, apesar deste facto, não se pode esquecer que muitos médicos continuam a obter o diagnóstico baseado no seu julgamento clínico, provavelmente pela complexidade dos sistemas de avaliação disponíveis. Assim, os critérios para atribuir a causalidade na DILI, não devem prevalecer sobre o julgamento médico. Por exemplo, quando mais de um fármaco pode ser culpado por esta patologia, uma aplicação cega da escala pode levar a uma atribuição errada do agente causal se só se tiver em conta o critério cronológico.

7.3. Testes de hipersensibilidade retardada

O teste de transformação de linfócitos (LTT) e os testes cutâneos permitem o diagnóstico de hipersensibilidade a vários tipos de drogas. A necessidade de identificar a hipersensibilidade como causa da hepatotoxicidade advém do facto de que nestas situações o doente não poderá voltar a tomar esse medicamento ou outro com idêntica imunorreatividade (85).

O LTT é uma alternativa aos testes de hipersensibilidade cutânea e pode ser útil para identificar as situações de hepatotoxicidade por reações de hipersensibilidade ao fármaco. Este teste tem a vantagem de exigir uma colaboração mínima do doente e de não o expor novamente ao fármaco. Para este teste, células mononucleares do sangue periférico do paciente são cultivadas *in vitro* com o medicamento suspeito, e uma proliferação aumentada é interpretada como uma hipersensibilidade à droga em causa. A sensibilidade e especificidade deste teste são de 60-70% e 85% respetivamente (86). Este teste é vastamente utilizado no Japão e foi incorporado numa escala de diagnóstico desenvolvida no mesmo país – *Digestive Disease Week Japan* (DDW-J).

Esta escala revela superioridade em relação às escalas anteriormente descritas devido à inclusão do teste LTT mas ainda requer uma avaliação mais ampla, nomeadamente em populações não japonesas (17). As associações conhecidas entre alelos específicos do HLA e DILI, sugerem um importante papel da resposta imunológica adaptativa na patogénese de DILI, evidenciam o valor deste teste na avaliação etiológica da doença (15).

7.4. Reexposição ao medicamento

A reexposição intencional ao medicamento suspeito raramente é feita uma vez que pode causar a recorrência da doença com um desfecho fatal ou originar lesões permanentes (87). A reintrodução do medicamento tem grande valor clínico e contribui para a pontuação nas escalas clínicas com base na reação do doente. No entanto, fatores éticos e de risco para o paciente limitam esta prática, levando a que este teste seja de pouca utilidade em termos de diagnóstico de DILI.

7.5. Biópsia hepática

A biópsia hepática é considerada até à data a ferramenta ideal para a definição do padrão de hepatotoxicidade. A lesão hepatocelular caracteriza-se por vários graus de necrose e inflamação predominantemente na zona 3 dos ácinos hepáticos e pela abundância de eosinófilos no infiltrado inflamatório. A colestática, a mais predominante de entre os três tipos de lesão apresenta-se com colestase hepatocitária, canalículos biliares dilatados por rolhões de bÍlis, pouco infiltrado inflamatório e necrose (10). A lesão mista apresenta, como o próprio nome indica, características pertencentes a ambos os tipos de lesão atrás descritos: reação inflamatória e reação granulomatosa (2). Contudo, embora algumas características histológicas como a

prevalência de infiltrado eosinofílico, necrose massiva ou parcial e colestase com hepatite possam aumentar o grau de suspeita de DILI, não existem características histológicas únicas que confirmem inequivocamente o diagnóstico (2, 37).

Apesar disto, na maior parte das vezes, o tecido hepático não está disponível para análise por não se ter realizado a biópsia, tornando esta ferramenta pouco útil para o diagnóstico definitivo (2).

7.6. Biomarcadores

Um biomarcador de lesão do hepatócito já referido e amplamente utilizado no diagnóstico de DILI é a atividade de Alanina Aminotransferase (ALT). Contudo, um aumento da ALT pode indicar uma lesão hepatocelular transitória que não progride para DILI (ex.: aspirina, heparina). Assim, a diferenciação entre aumentos transitórios de ATL e aumentos de ATL que progridem para DILI evidencia a necessidade e importância do desenvolvimento de biomarcadores alternativos (3). Vários biomarcadores identificados em revisões literárias e bases de dados internas de diversas instituições estão a ser avaliados por vários grupos. Estes incluem glutamato desidrogenase (GLDH), purina nucleosídeo fosforilase (PNP), malato desidrogenase (MDH) e paraoxonase 1 (PON1). Apesar destas enzimas se terem revelado promissores biomarcadores alternativos de lesão hepática, uma caracterização sistemática em humanos é ainda necessária (3).

Os avanços nas técnicas moleculares têm permitido a caracterização de vários marcadores genéticos, já mencionados, que poderão facilitar um diagnóstico etiológico de DILI e adotar medidas de prevenção (4).

8. Tratamento

O primeiro passo no tratamento de DILI é obviamente a interrupção do medicamento implicado assim que se suspeite do diagnóstico. Se o medicamento suspeito não puder ser descontinuado por pôr em risco a vida do doente, a medicação deve ser dada acompanhada de uma monitorização cuidadosa (17).

A maioria dos doentes com DILI sintomática aguda, recuperam totalmente com cuidados de suporte após a suspensão do medicamento suspeito. Os doentes com episódios de DILI moderada, muitas vezes indetetável, habitualmente também recuperam sem qualquer tipo de evidência de patologia hepática. Grande parte dos doentes com lesão hepática significativa e com icterícia também têm bom prognóstico (15). Por exemplo, 712 de 784 (90,8%) dos doentes com icterícia recuperaram e apenas 72 (9,2%) morreram ou foram submetidos a transplante hepático (88).

Contudo, a ocorrência de icterícia associada à administração de determinado medicamento ou à elevação da transaminase aumenta a probabilidade de falência hepática fatal (>10%) (25). Os casos de DILI acompanhados de hepatite grave com elevação dos níveis de bilirrubina 3x acima do LSN podem conduzir à falência do fígado e deve ser tratada cuidadosamente pelo hepatologista após remoção de todos os medicamentos suspeitos (17). Dois estudos recentes revelaram que a icterícia associada a lesões hepatocelulares pode ser fatal mesmo após a descontinuação do medicamento, sugerindo a necessidade de uma monitorização cuidadosa (18, 16).

Não há relatos de terapias benéficas a pacientes com DILI para além do uso de N-acetilcisteína nos casos de hepatotoxicidade por paracetamol onde se verifica que a taxa de sobrevivência aumenta em 31% quando os doentes são tratados com este composto (89, 79). A terapia com corticosteroides pode ser usada nos casos de DILI onde há evidência de hipersensibilidade,

embora os seus benefícios não estejam provados (15). Da mesma forma, a utilização de ácido ursodesoxicólico e antioxidantes em doentes com DILI grave ou prolongada não está devidamente evidenciada em estudos clínicos (37).

Recomenda-se que os pacientes com casos de DILI graves sejam encaminhados para um centro de transplante, dada a elevada probabilidade de falência hepática total (15). Um estudo realizado nos EUA em 2008 sugere que 5,6 a 17,3% dos casos de DILI resultaram em morte ou requereram transplantação do fígado (79).

O desenvolvimento de tratamentos baseados no mecanismo etiopatogénico da DILI constitui um grande desafio para os investigadores nesta área (37).

9. Discussão

DILI é um grave problema de saúde que influencia não só a vida dos doentes mas também a prática médica, indústria farmacêutica e autoridades responsáveis pela aprovação da introdução de um medicamento no mercado. É a causa mais comum de morte por falência hepática e também a reação adversa que mais provoca a interrupção de estudos de desenvolvimento de um medicamento ou a retirada do mercado de um fármaco já em utilização (88).

Como já foi referido anteriormente, a DILI tem um largo espectro de manifestações que variam desde pequenas alterações enzimáticas sem sintomas associados até hepatite grave com icterícia associada e que pode mesmo ser fatal (17).

O conhecimento do mecanismo fisiopatológico subjacente à maior parte dos casos de DILI é ainda insuficiente (86).

O reconhecimento e diagnóstico de DILI são muitas vezes difíceis e demorados, já que se trata de uma reação adversa inesperada, dependente da suscetibilidade individual e também porque é sempre necessário excluir outras causas mais comuns de hepatotoxicidade (88).

Atualmente, os instrumentos de diagnóstico mais utilizados são em primeiro lugar a suspeita do médico baseada na relação temporal entre o início da terapêutica e o surgimento das manifestações de DILI, a determinação dos valores das enzimas hepáticas e a aplicação de escalas de diagnóstico.

No entanto, estes métodos não se têm mostrado eficazes e a sua utilização não faz parte da prática clínica diária da maioria das instituições hospitalares.

Como tal, tornou-se essencial procurar outros métodos de diagnóstico mais fiáveis. Com o desenvolvimento da farmacogenética e a suspeita de uma suscetibilidade individual para DILI,

procurou-se identificar genes intervenientes no metabolismo hepático que pudessem contribuir para o aumento da suscetibilidade a DILI.

Como exemplos, podem-se referir a relação da DILI induzida pela isoniazida com os polimorfismos do CYP2E1 e do NAT2 e na presença de variantes do gene POLG.

Um dos obstáculos à realização dos estudos genéticos prende-se com o facto de se tratar de um fenótipo complexo e não monogénico, com a existência de fatores epigenéticos que modelam a expressão do genótipo, com a heterogeneidade da apresentação clínica da DILI, com a frequente existência de polimedicação e com a possibilidade de interações farmacológicas diretas e indiretas.

Outra limitação para o estabelecimento de relação causa-efeito entre fármacos e a sua hepatotoxicidade é o facto de nem todas as reações adversas serem notificadas às entidades competentes para tal (10).

Apesar de os dados existentes indicarem que a incidência de DILI tem vindo a aumentar, o valor exato da frequência é difícil de estimar, devido à falta de um sistema internacional de registo e de um método de diagnóstico considerado de primeira linha (17)

Evidências mais recentes demonstram que existem outros genes que também contribuem para a suscetibilidade a este problema, embora com efeitos menores, impossíveis de serem detetados com a metodologia atual (10).

Torna-se necessário realizar estudos com amostras populacionais mais representativas com vista à identificação desses genes, bem como à interação gene-gene e gene-ambiente.

Parece possível que alguns genes constituam fator de risco para DILI relacionado com mais do que um fármaco. Contudo, atualmente, não está definido qual a melhor forma de detetar os

novos genes, se utilizando grupos de casos de DILI referentes a mais do que uma droga ou estudar cada fármaco potencialmente envolvido de forma isolada (10).

Tendo em conta estes aspetos, cientistas de todo o mundo têm-se unido para reunir informação acerca de todos os casos conhecidos de DILI. Para facilitar os estudos de comparação, é importante que os fenótipos sejam padronizados e aceites a nível internacional (6).

Para tal, foi criado um grupo internacional de trabalho de DILI que baseado em recomendações e publicações anteriores, procurou encontrar um consenso para o diagnóstico atempado, tendo em conta os seguintes itens: critérios definidores de DILI, padrão de lesão hepática, confirmação da causalidade e grau de gravidade, cronicidade e um algoritmo para avaliação de potenciais indivíduos (6).

Dada a gravidade deste evento patológico, é essencial a consciencialização por parte da comunidade médica da importância do seu diagnóstico atempado.

Gestos tão simples como reportar os casos de reações adversas a medicamentos, registar no processo do doente a data, o medicamento e os sinais e sintomas apresentados no momento, podem ajudar imenso na melhoria da investigação acerca de DILI.

Em resumo, os avanços obtidos a nível da farmacogenética permitiram encontrar uma linha de orientação para a prevenção, diagnóstico e possível tratamento da DILI. Contudo, existe ainda um longo caminho a percorrer para que a deteção de polimorfismos genéticos associados à suscetibilidade a DILI façam parte da prática diária hospitalar e dos estudos laboratoriais para desenvolvimento de um novo fármaco.

10. Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores, Senhora Professora Doutora Henriqueta Coimbra Silva e ao Senhor Professor Doutor Armando Carvalho, por toda a disponibilidade e dedicação.

Agradeço também à Dra. Sara Leitão, Dra. Rita Garcia e à Dra. Emília Louro, por todo o apoio e colaboração na realização deste trabalho.

Por último, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o sucesso deste projeto.

11. Bibliografia

1. Chalasani N, Björnsson E. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury. *Gastroenterology*. Junho de 2010;138(7):2246–59.
 2. Andrade R-J, Robles M, Fernández-Castañer A, López-Ortega S, López-Vega M-C, Lucena M-I. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists. *World J. Gastroenterol. Wjg*. 21 de janeiro de 2007;13(3):329–40.
 3. Schomaker S, Warner R, Bock J, Johnson K, Potter D, Van Winkle J, et al. Assessment of emerging biomarkers of liver injury in human subjects. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* Abril de 2013;132(2):276–83.
 4. Corsini A, Bortolini M. Drug-induced liver injury: the role of drug metabolism and transport. *J. Clin. Pharmacol.* Maio de 2013;53(5):463–74.
 5. Devarbhavi H. Adaptation and antituberculosis drug-induced liver injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 15 de agosto de 2012;186(4):387–388; author reply 388–389.
 6. 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.* Junho de 2011;89(6):806–15.
 7. Grant LM, Rockey DC. Drug-induced liver injury. *Curr. Opin. Gastroenterol.* Maio de 2012;28(3):198–202.
 8. 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.* Agosto de 1981;30(2):239–45.
 9. Maria VA, Victorino RM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatol. Baltim. Md.* Setembro de 1997;26(3):664–9.
 10. Daly AK, Day CP. Genetic association studies in drug-induced liver injury. *Drug Metab. Rev.* Fevereiro de 2012;44(1):116–26.
-

-
11. Hirschhorn JN, Gajdos ZKZ. Genome-wide association studies: results from the first few years and potential implications for clinical medicine. *Annu. Rev. Med.* 2011;62:11–24.
 12. Tajiri K. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World J. Gastroenterol.* 2008;14(44):6774.
 13. Bell LN, Chalasani N. Epidemiology of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Semin. Liver Dis.* Novembro de 2009;29(4):337–47.
 14. Galan MV, Potts JA, Silverman AL, Gordon SC. The burden of acute nonfulminant drug-induced hepatitis in a United States tertiary referral center [corrected]. *J. Clin. Gastroenterol.* Janeiro de 2005;39(1):64–7.
 15. Suk KT, Kim DJ. Drug-induced liver injury: present and future. *Clin. Mol. Hepatol.* Setembro de 2012;18(3):249–57.
 16. Björnsson E, Olsson R. Suspected drug-induced liver fatalities reported to the WHO database. *Dig. Liver Dis. Off. J. Ital. Soc. Gastroenterol. Ital. Assoc. Study Liver.* Janeiro de 2006;38(1):33–8.
 17. Tajiri K, Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World J. Gastroenterol.* Wjg. 28 de novembro de 2008;14(44):6774–85.
 18. 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.* Agosto de 2005;129(2):512–21.
 19. Mizuno N, Niwa T, Yotsumoto Y, Sugiyama Y. Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol. Rev.* Setembro de 2003;55(3):425–61.
 20. Guengerich FP. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* Junho de 2001;14(6):611–50.
 21. Sun F, Chen Y, Xiang Y, Zhan S. Drug-metabolising enzyme polymorphisms and predisposition to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis. Off. J. Int. Union Tuberc. Lung Dis.* Setembro de 2008;12(9):994–1002.
 22. Tratado de Hepatologia (SBH) - Livro - Editora Rubio - ANGELO ALVES DE MATTOS, ESTHER BUZAGLO DANTAS-CORRÊA - ISBN 8577710556 [Internet]. [citado
-

3 de junho de 2013]. Obtido de: [http://relativa.com.br/livros_template.asp?Codigo_Produto=125169&Livro=Tratado-de-Hepatologia-\(SBH\)-](http://relativa.com.br/livros_template.asp?Codigo_Produto=125169&Livro=Tratado-de-Hepatologia-(SBH)-)

23. Russmann S, Kullak-Ublick GA, Grattagliano I. Current concepts of mechanisms in drug-induced hepatotoxicity. *Curr. Med. Chem.* 2009;16(23):3041–53.
 24. Lucena MI, Andrade RJ, Kaplowitz N, García-Cortes M, Fernández MC, Romero-Gomez M, et al. Phenotypic characterization of idiosyncratic drug-induced liver injury: the influence of age and sex. *Hepatology*. Baltimore, Md. Junho de 2009;49(6):2001–9.
 25. Maddrey WC. Hepatotoxicity: The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. *Gastroenterology*. Maio de 2000;118(5):984–5.
 26. Björnsson E, Davidsdottir L. The long-term follow-up after idiosyncratic drug-induced liver injury with jaundice. *J. Hepatol.* Março de 2009;50(3):511–7.
 27. Ricaurte B, Guirguis A, Taylor HC, Zabriskie D. Simvastatin-amiodarone interaction resulting in rhabdomyolysis, azotemia, and possible hepatotoxicity. *Ann. Pharmacother.* Abril de 2006;40(4):753–7.
 28. Lammert C, Björnsson E, Niklasson A, Chalasani N. Oral medications with significant hepatic metabolism at higher risk for hepatic adverse events. *Hepatology*. Baltimore, Md. Fevereiro de 2010;51(2):615–20.
 29. Chalasani N, Aljadhey H, Kesterson J, Murray MD, Hall SD. Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. *Gastroenterology*. Maio de 2004;126(5):1287–92.
 30. Wong WM, Wu PC, Yuen MF, Cheng CC, Yew WW, Wong PC, et al. Antituberculosis drug-related liver dysfunction in chronic hepatitis B infection. *Hepatology*. Baltimore, Md. Janeiro de 2000;31(1):201–6.
 31. Patel PA, Voigt MD. Prevalence and interaction of hepatitis B and latent tuberculosis in Vietnamese immigrants to the United States. *Am. J. Gastroenterol.* Maio de 2002;97(5):1198–203.
-

-
32. Hwang SJ, Wu JC, Lee CN, Yen FS, Lu CL, Lin TP, et al. A prospective clinical study of isoniazid-rifampicin-pyrazinamide-induced liver injury in an area endemic for hepatitis B. *J. Gastroenterol. Hepatol.* Janeiro de 1997;12(1):87–91.
 33. Labarga P, Soriano V, Vispo ME, Pinilla J, Martin-Carbonero L, Castellares C, et al. Hepatotoxicity of antiretroviral drugs is reduced after successful treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *J. Infect. Dis.* 1 de Setembro de 2007;196(5):670–6.
 34. Ujfalussy I, Koó E, Seszták M, Gergely P. Termination of disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis and in psoriatic arthritis. A comparative study of 270 cases. *Z. Für Rheumatol.* Abril de 2003;62(2):155–60.
 35. Tilling L, Townsend S, David J. Methotrexate and hepatic toxicity in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin. Drug Investig.* 2006;26(2):55–62.
 36. Russmann S, Jetter A, Kullak-Ublick GA. Pharmacogenetics of drug-induced liver injury. *Hepatol. Baltim. Md.* Agosto de 2010;52(2):748–61.
 37. Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Björnsson E, Day CP, Serrano J, et al. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-induced liver injury: summary of a clinical research workshop. *Hepatol. Baltim. Md.* Agosto de 2010;52(2):730–42.
 38. Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, Shen Y, Pe'er I, Floratos A, et al. HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat. Genet.* Julho de 2009;41(7):816–9.
 39. Bijl MJ, Visser LE, Hofman A, Vulto AG, van Gelder T, Stricker BHC, et al. Influence of the CYP2D6*4 polymorphism on dose, switching and discontinuation of antidepressants. *Br. J. Clin. Pharmacol.* Abril de 2008;65(4):558–64.
 40. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am. Fam. Physician.* 1 de agosto de 2007;76(3):391–6.
 41. Carrière V, Berthou F, Baird S, Belloc C, Beaune P, de Waziers I. Human cytochrome P450 2E1 (CYP2E1): from genotype to phenotype. *Pharmacogenetics.* Junho de 1996;6(3):203–11.
-

-
42. Neafsey P, Ginsberg G, Hattis D, Sonawane B. Genetic polymorphism in cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population distribution of CYP2D6 activity. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2009;12(5-6):334–61.
 43. Lucas D, Ménez C, Girre C, Berthou F, Bodénez P, Joannet I, et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and chlorzoxazone metabolism in healthy and alcoholic Caucasian subjects. *Pharmacogenetics.* Outubro de 1995;5(5):298–304.
 44. Huang Y-S, Chern H-D, Su W-J, Wu J-C, Chang S-C, Chiang C-H, et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatol. Baltim. Md.* Abril de 2003;37(4):924–30.
 45. Ryan DE, Ramanathan L, Iida S, Thomas PE, Haniu M, Shively JE, et al. Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J. Biol. Chem.* 25 de Maio de 1985;260(10):6385–93.
 46. Lee SS, Buters JT, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen. *J. Biol. Chem.* 17 de Maio de 1996;271(20):12063–7.
 47. Takahashi T, Lasker JM, Rosman AS, Lieber CS. Induction of cytochrome P-450 2E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *Hepatol. Baltim. Md.* Fevereiro de 1993;17(2):236–45.
 48. Salazar DE, Sorge CL, Corcoran GB. Obesity as a risk factor for drug-induced organ injury. VI. Increased hepatic P450 concentration and microsomal ethanol oxidizing activity in the obese overfed rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30 de novembro de 1988;157(1):315–20.
 49. Raucy JL, Lasker JM, Kraner JC, Salazar DE, Lieber CS, Corcoran GB. Induction of cytochrome P450 2E1 in the obese overfed rat. *Mol. Pharmacol.* Março de 1991;39(3):275–80.
 50. Zevin S, Benowitz NL. Drug interactions with tobacco smoking. An update. *Clin. Pharmacokinet.* Junho de 1999;36(6):425–38.
 51. Jenner AM, Timbrell JA. In vitro microsomal metabolism of hydrazine. *Xenobiotica Fate Foreign Compd. Biol. Syst.* Junho de 1995;25(6):599–609.
 52. Jenner AM, Timbrell JA. Influence of inducers and inhibitors of cytochrome P450 on the hepatotoxicity of hydrazine in vivo. *Arch. Toxicol.* 1994;68(6):349–57.
-

-
53. Brady JF, Ishizaki H, Fukuto JM, Lin MC, Fadel A, Gapac JM, et al. Inhibition of cytochrome P-450 2E1 by diallyl sulfide and its metabolites. *Chem. Res. Toxicol.* Dezembro de 1991;4(6):642–7.
 54. George J, Byth K, Farrell GC. Age but not gender selectively affects expression of individual cytochrome P450 proteins in human liver. *Biochem. Pharmacol.* 25 de agosto de 1995;50(5):727–30.
 55. Tanaka E. In vivo age-related changes in hepatic drug-oxidizing capacity in humans. *J. Clin. Pharm. Ther.* Agosto de 1998;23(4):247–55.
 56. Walraven JM, Zang Y, Trent JO, Hein DW. Structure/function evaluations of single nucleotide polymorphisms in human N-acetyltransferase 2. *Curr. Drug Metab.* Julho de 2008;9(6):471–86.
 57. Kinzig-Schippers M, Tomalik-Scharte D, Jetter A, Scheidel B, Jakob V, Rodamer M, et al. Should we use N-acetyltransferase type 2 genotyping to personalize isoniazid doses? *Antimicrob. Agents Chemother.* Maio de 2005;49(5):1733–8.
 58. Zand R, Nelson SD, Slattery JT, Thummel KE, Kalhorn TF, Adams SP, et al. Inhibition and induction of cytochrome P4502E1-catalyzed oxidation by isoniazid in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* Agosto de 1993;54(2):142–9.
 59. Kukongviriyapan V, Prawan A, Tassaneyakul W, Aiemsard J, Warasiha B. Arylamine N-acetyltransferase-2 genotypes in the Thai population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* Março de 2003;55(3):278–81.
 60. Huang Y-S, Su W-J, Huang Y-H, Chen C-Y, Chang F-Y, Lin H-C, et al. 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.* Julho de 2007;47(1):128–34.
 61. Huang Y-S. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* Fevereiro de 2007;3(1):1–8.
 62. Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat. Res.* 1 de outubro de 2001;482(1-2):21–6.
-

-
63. Garte S, Taioli E, Crosti F, Sainati L, Barisone E, Luciani M, et al. Deletion of parental GST genes as a possible susceptibility factor in the etiology of infant leukemia. *Leuk. Res.* Novembro de 2000;24(11):971–4.
 64. Lucena MI, Andrade RJ, Martínez C, Ulzurrun E, García-Martín E, Borraz Y, et al. Glutathione S-transferase m1 and t1 null genotypes increase susceptibility to idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology*. Baltimore, Md. Agosto de 2008;48(2):588–96.
 65. Leiro V, Fernández-Villar A, Valverde D, Constenla L, Vázquez R, Piñeiro L, et al. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population. *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver*. Julho de 2008;28(6):835–9.
 66. Saneto RP, Lee I-C, Koenig MK, Bao X, Weng S-W, Naviaux RK, et al. POLG DNA testing as an emerging standard of care before instituting valproic acid therapy for pediatric seizure disorders. *Seizure J. Br. Epilepsy Assoc.* Abril de 2010;19(3):140–6.
 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*. Baltimore, Md. Novembro de 2010;52(5):1791–6.
 68. Posadas SJ, Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions - new concepts. *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* Julho de 2007;37(7):989–99.
 69. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet*. 2 de Março de 2002;359(9308):727–32.
 70. Daly AK. Drug-induced liver injury: past, present and future. *Pharmacogenomics*. Maio de 2010;11(5):607–11.
 71. Lucena MI, Molokhia M, Shen Y, Urban TJ, Aithal GP, Andrade RJ, et al. Susceptibility to amoxicillin-clavulanate-induced liver injury is influenced by multiple HLA class I and II alleles. *Gastroenterology*. Julho de 2011;141(1):338–47.
 72. Copple IM, Goldring CE, Kitteringham NR, Park BK. The Nrf2-Keap1 defence pathway: role in protection against drug-induced toxicity. *Toxicology*. 3 de abril de 2008;246(1):24–33.
-

-
73. Aithal GP, Ramsay L, Daly AK, Sonchit N, Leathart JBS, Alexander G, et al. Hepatic adducts, circulating antibodies, and cytokine polymorphisms in patients with diclofenac hepatotoxicity. *Hepatology*. Baltim. Md. Maio de 2004;39(5):1430–40.
74. Goldring CEP, Kitteringham NR, Elsby R, Randle LE, Clement YN, Williams DP, et al. Activation of hepatic Nrf2 in vivo by acetaminophen in CD-1 mice. *Hepatology*. Baltim. Md. Maio de 2004;39(5):1267–76.
75. Meier Y, Zodan T, Lang C, Zimmermann R, Kullak-Ublick GA, Meier PJ, et al. Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the 1331T>C polymorphism in the bile salt export pump. *World J. Gastroenterol.* Wjg. 7 de janeiro de 2008;14(1):38–45.
76. Iwata R, Baur K, Stieger B, Mertens JC, Daly AK, Frei P, et al. A common polymorphism in the ABCB11 gene is associated with advanced fibrosis in hepatitis C but not in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979. Abril de 2011;120(7):287–96.
77. 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*. Baltim. Md. Outubro de 2006;44(4):850–6.
78. Takikawa H, Murata Y, Horiike N, Fukui H, Onji M. Drug-induced liver injury in Japan: An analysis of 1676 cases between 1997 and 2006. *Hepatology*. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hepatol. Maio de 2009;39(5):427–31.
79. García-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ, Spanish Group for the Study of Drug-Induced Liver Disease (Grupo de Estudio para las Hepatopatías Asociadas a Medicamentos GEHAM). Causality assessment methods in drug induced liver injury: strengths and weaknesses. *J. Hepatol.* Setembro de 2011;55(3):683–91.
80. 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.* Maio de 2008;27(9):780–9.
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.* Novembro de 1993;46(11):1323–30.
-

-
82. Benichou C, Danan G, Flahault A. Causality assessment of adverse reactions to drugs-II. An original model for validation of drug causality assessment methods: case reports with positive rechallenge. *J. Clin. Epidemiol.* Novembro de 1993;46(11):1331–6.
83. 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*. Baltim. Md. Junho de 2010;51(6):2117–26.
84. 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*. Baltim. Md. Janeiro de 2001;33(1):123–30.
85. Pichler WJ, Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. Agosto de 2004;59(8):809–20.
86. Kim M-H, Shim E-J, Jung J-W, Sohn S-W, Kang H-R. A case of allopurinol-induced fixed drug eruption confirmed with a lymphocyte transformation test. *Allergy Asthma Immunol. Res.* Setembro de 2012;4(5):309–10.
87. Papay JI, Clines D, Rafi R, Yuen N, Britt SD, Walsh JS, et al. Drug-induced liver injury following positive drug rechallenge. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* Rtp. Junho de 2009;54(1):84–90.
88. Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, 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*. Dezembro de 2008;135(6):1924–1934, 1934.e1–4.
89. Tan H-H, Chang CY, Martin P. Acetaminophen hepatotoxicity: current management. *Mt. Sinai J. Med.* New York. Fevereiro de 2009;76(1):75–83.
-

Anexos

Anexo 1

Proposta de protocolo de história clínica a aplicar antes de estabelecer o diagnóstico de DILI.

1. Identificação do caso
 2. Dados demográficos: idade, género, naturalidade, etnia, altura, peso
 3. Naturalidade
 4. Fármaco suspeito, dose diária
 5. Etnia dos pais
 6. Datas de início/fim, reinício e duração da exposição
 7. Substâncias concomitantes incluindo medicações alternativas com datas de início/fim
 8. Condições médicas subjacentes incluindo a presença de isquémia/hipotensão, hipoxémia grave ou insuficiência cardíaca congestiva, septicémia, ou gravidez coincidente com o início da elevação dos valores das enzimas hepáticas.
 9. Sinais clínicos: febre, erupção cutânea, icterícia, encefalopatia
 10. Data de início dos sintomas
 11. Sintomas: fadiga, astenia, náuseas, anorexia, dor abdominal, colúria, prurido
 12. História do consumo de álcool: quantidade média de bebidas / dia (unidades por semana) e duração em anos
 13. Doença hepática anterior ou síndrome metabólica (obesidade, resistência à insulina, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia)
 14. Manifestações extra-hepáticas: presença de características de hipersensibilidade tais como erupções cutâneas, eosinofilia, linfopenia, títulos elevados de anticorpos
-

Anexo 2

Proposta de protocolo de exames laboratoriais e imagiológicos que devem ser investigados antes de estabelecer o diagnóstico de DILI.

Teste/quadro clínico	Doença	Comentários
<u>Serologia viral</u> Anti-HAV IgM Anti-HBc IgM Anti-HCV, HCV-RNA IgM anti-HEV, HEV-RNA CMV IgM EBV IgM	Hepatite viral	Mais comum em mulheres jovens Investigar fatores de risco Problema similar após resolver toxicidade do fígado
<u>Serologia bacteriana</u> (se a febre persistir, diarreia) <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i> , <i>Coxiella</i>	Hepatite bacteriana	Sintomatologia sistêmica
<u>Serologia da sífilis</u>	Sífilis secundária	Múltiplos parceiros sexuais. Níveis de AP desproporcionalmente altos
Autoanticorpos (ANA, ANCA, AMA, ASMA, anti-LKM-1)	Hepatite autoimune Cirrose biliar primária	Gênero feminino. Evolução imprevisível após descontinuação da medicação. Associado a doenças autoimunes
Ceruloplasmina, cobre urinário (pacientes <40 anos)	Doença de Wilson	Excluir sempre em pacientes mais jovens
Alfa-1-antitripsina	Deficiência de Alfa-1 antitripsina	Doença pulmonar associada
Saturação da transferrina (lesão hepatocelular anictérica)	Hemocromatose	Dano hepatocelular anictérico. Mulheres idosas, homens de meia-idade
Hipotensão, choque, insuficiência cardíaca Doença vascular, velhice.	Hepatite isquêmica	Níveis desproporcionalmente elevados de Aspartato transaminase. Hipertensão, choque, cirurgia, insuficiência cardíaca recente.
Técnicas de imagem: radiografia / endoscópica (Ecografia abdominal, TAC, CPRM, CPRE)	Obstrução biliar	Dor abdominal tipo cólica. Padrão misto ou colestático