



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Нарциса Петровић-Субић

ПРОЦЕНА УЗРОКА АБНОРМАЛНИХ РЕЗУЛТАТА
ЛАБОРАТОРИЈСКИХ ТЕСТОВА ОШТЕЋЕЊА ЈЕТРЕНЕ
ФУНКЦИЈЕ КОРИШЋЕЊЕМ МАТЕМАТИЧКОГ МОДЕЛА

Докторска дисертација

Ментор: др сци. мед. Слободан М. Јанковић, редовни професор

Крагујевац, 2019. година

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>
Име и презиме: Нарциса Петровић-Субић
Датум и место рођења: 28.09.1965., Вршац, Србија
Садашње запослење: Хемофарм АД, Београд, Србија
<i>II Докторска дисертација</i>
Наслов: „Процена узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова оштећења јетрене функције коришћењем математичког модела“
Број страница: 116
Број слика: 7
Број библиографских података: 221
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК): медицина
Ментор: др сци. мед. Слободан М. Јанковић, редовни професор
<i>III Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 21.09.2017.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације: IV-03-1209/10 од 11.01.2018.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none"> 1. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник; 2. Проф. др Марија Станић, ванредни професор Природно – математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Математичка анализа са применама, члан; 3. Проф. др Жељко Мијаиловић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан; 4. Доц. др Валентина Николић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан; 5. Доц. др Љиљана Новковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан;
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације: <ol style="list-style-type: none"> 1. Проф. др Жељко Мијаиловић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, председник; 2. Проф. др Марија Станић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Математичка анализа са применама, члан; 3. Доц. др Валентина Николић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан;
Датум одбране дисертације:

САЖЕТАК

Увод: Израда модела који би препознао обрасце абнормалних резултата лабораторијских тестова јетрене функције и повезао их са највероватнијом етиологијом могла би да помогне клиничарима код прве орјентације ка дефинитивној дијагнози код пацијената са оштећењем јетре. Циљ ове студије био је дизајнирање, конструисање и валидација модела који на основу обрасца абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције код пацијената са оштећењем јетре предлаже највероватнију етиологију.

Материјал и методе: Образац абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције за одређену етиологију оштећења јетре преузет је из дистрибуције стварних вредности које су преузете из медицинске литературе о пацијентима чија је етиологија оштећења јетре доказана поузданим дијагностичким методама. После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго). Студија валидације модела обављена је на Војномедицинској академији у Београду током двогодишњег периода (2015-2016).

Резултати: За све тестиране дијагнозе, модел је показао веома значајну разлику између површине испод ROC (*Receiver-operator curves*) и вредности од 0,5 ($p < 0,001$), а уочен је и висок степен сензитивности (више од 90%, осим модела за хронични и акутни хепатитис) као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност модела да открије етиологију оштећења јетре.

Закључак: Нови модели показали су задовољавајућу осетљивост и специфичност за откривање главних етиологија оштећења јетре.

Кључне речи: математички модел, оштећење јетре, сензитивност, специфичност, етиологија

Abstract

Introduction/Objective: Development of a model that would identify the patterns of abnormal laboratory liver function test results and link them to the most probable etiology could help clinicians in their initial orientation towards a definitive diagnosis in patients with liver damage. The objective of this study was to design, construct and validate a model that based on a pattern of abnormal values in laboratory liver function tests of a patient with liver damage would propose the most probable etiology.

Material and methods: Patterns of abnormal laboratory liver function test values for certain etiology of liver damage were taken over from distributions of actual values taken over from medical literature about patients whose etiology of liver damage was proven by reliable diagnostic tests. After setting up the model with the patterns extracted, its diagnostic value was checked under real-life conditions, on a sample of patients with liver damage whose etiology was established by the gold standard of diagnostics (biopsy or else). The model validation study was carried out at the Military Medical Academy in Belgrade during a two-year period (2015–2016).

Results: For all tested diagnoses, the model demonstrated a highly significant difference between the area under the ROC (Receiver-operator curves) values and the value of 0.5 ($p < 0.001$), and high level of sensitivity (more than 90%, except for the model for chronic and acute hepatitis) as well as relatively high specificity (more than 75%) were noted, indicating good ability of the model to detect etiology of liver damage.

Conclusion: New models showed satisfactory sensitivity and specificity for revealing major liver damage etiologies.

Keywords: mathematical model, liver damage, sensitivity, specificity, etiology

ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујем се ментору, др сци. мед. Слободану М. Јанковић, редовном професору на подршци и залагању око израде дисертације.

Дисертацију посвећујем Маји, Александру и Анђели, мојој деци.

Садржај

1	УВОД.....	8
1.1	Оштећења јетре	9
1.1.1	Болести јетре изазване инфективним агенсима	9
1.1.2	Имунолошке болести јетре	11
1.1.3	Болести јетре изазване токсинима.....	11
1.1.4	Наследне болести јетре	13
1.1.5	Неалкохолна масна болест јетре	14
1.1.6	Цироза јетре.....	14
1.1.7	Тумори јетре	15
1.2	Друге болести повезане са поремећајем серумских параметара јетрене функције.....	15
1.2.1	Срчане болести.....	15
1.2.2	Мишићна оштећења.....	16
1.2.3	Хипертиреозидизам.....	16
1.3	Дијагностика узрока оштећења јетре	17
1.3.1	Тестови за откривање оштећења хепатоцита (испитивања ензима у серуму) 19	
1.3.1.1	Ензими који показују присуство хепатоцелуларне некрозе	20
1.3.1.2	Ензими за откривање холестазае	22
1.3.2	Испитивања биосинтетског капацитета јетре	25
1.3.2.1	Албумин	25
1.3.2.2	Протромбинско време.....	26
1.3.3	Испитивања способности јетре да преноси органске ањоне и метаболише органска једињења (билирубин)	27
1.4	Моделовање у медицини	29
1.4.1	Предиктивни модели	29
1.4.2	Рачунарски модели	30
1.4.3	Имплементација модела.....	31
1.5	Калкулатори који се користе у дијагностици обољења јетре	32
1.6	Процена степена фиброзе методама снимања.....	36
1.7	Нерешени проблеми у дијагностици узрока оштећења јетре	36

2	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	40
2.1	Главни циљеви.....	40
2.2	Хипотеза испитивања	40
3	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	40
3.1	Врста студије	40
3.2	Популација која се истражује	42
3.3	Узорковање	43
3.4	Варијабле које се мере	43
3.5	Снага студије и величина узорка	44
3.6	Статистичка обрада података.....	44
4	РЕЗУЛТАТИ	47
4.1	Основне карактеристике пацијената	47
4.2	Формирање модела	52
4.3	Опис модела.....	55
4.4	Модели	58
4.5	Валидација модела	69
5	ДИСКУСИЈА	75
5.1	Ограничења студије	90
6	ЗАКЉУЧАК.....	91
7	ЛИТЕРАТУРА	93
8	БИОГРАФИЈА	114
9	БИБЛИОГРАФИЈА	116

1 УВОД

Стопа смртности чији су узрок болести јетре је у евидентном порасту у великом броју земаља. Тако је у Великој Британији у периоду од 1970. до 2010. године стопа смртности чији су узрок различита обољења јетре повећана за 400% [1]. Код особа млађих од 65 година, пораст стопе смртности која се јавља као директна последица различитих болести јетре је већи од 500%, тако да се може рећи да обољења јетре представљају пети најчешћи узрок прераног морталитета [2]. У 2012. години, у Енглеској је забележено 57682 случајева хоспитализације и 10948 смртних случајева чији су директан узрочник била различита обољења јетре [1]. Међу обољењима јетре као најчешћи узрочници смртних случајева евидентирани су: алкохолна болест јетре, неалкохолни стеатохепатитиси, вирусни хепатитиси и аутоимуне болести јетре [3]. Тип обољења јетре везан је за узрастну категорију оболелих. Неалкохолна масна болест јетре се јавља у свим узрастима, а нарочито забрињава пораст преваленце ове болести у дечијем узрасту, који прати пораст преваленце гојазности међу овом старосном категоријом. С друге стране, код деце се ређе јављају болести јетре које настају као последица злоупотребе дроге и алкохола [4]. Вирусни хепатитис који настаје као последица перинаталног преноса, веома често прелази у хроничну форму, што доприноси повећању броја оболелих код одраслих. Друге болести јетре, као што су билијарна атрезија или метаболички поремећаји, су присутни готово искључиво у детињству, али прогресивна болест јетре наставља да се развија током детињства и манифестује се и у одраслом добу [5].

С обзиром да је преваленца различитих обољења јетре у порасту, али и због чињенице да ова обољења прати висока стопа смртности, у свету се оснивају различите организације које за циљ имају оптимизацију алгоритама за дијагностиковање, превенцију и терапију болести јетре, као што су *“The Lancet Commission on Liver Disease”*, *“Alcohol Health Alliance”* или *“Obesity Health Alliance”* [6].

1.1 Оштећења јетре

Оштећења јетре могу се према етиологији класификовати као [7]:

- болести јетре изазване инфективним агенсима и паразитима (вируси, бактерије, паразити);
- болести јетре изазване токсинима (лекови, индустријски токсини, токсини из окружења, алкохол);
- имунолошке болести јетре (аутоимуне болести јетре);
- тумори јетре (примарни малигни тумори, метастатски малигни тумори, бенигни тумори, лезије сличне туморима);
- наследне болести јетре (Вилсонова болест, хемохроматоза, урођене грешке метаболизма, дефицијенција алфа-1-антитрипсина).

Хепатитис је запаљенски процес јетре са појавом инфламаторних и некротичних промена хепатоцита или билијарних ћелија, који доводи до поремећаја функције јетре. Узроци хепатитиса могу бити: инфекције (вируси, бактерије, паразити), ксенобиотици (лекови, алкохол, средства злоупотребе), аутоимуне или урођене болести (Вилсонова болест, хемохроматоза). Хепатитис се може манифестовати као: акутни, хронични, фулминантни, цироза и холестатски хепатитис [8].

1.1.1 Болести јетре изазване инфективним агенсима

Акутни хепатитис је најчешће изазван вирусном инфекцијом (хепатотропни вируси) или ксенобиотицима (лекови, алкохол, средства злоупотребе). Акутна оштећења хепатоцита настају директним деловањем цитопатогена (лекови или токсини), или индиректним деловањем (имунолошки поремећаји). Када је реч о вирусним хепатитисима, евидентирани су следећи вируси који могу да доведу до оштећења јетре: хепатитис А вирус (*HAV*), хепатитис Б вирус (*HBV*), хепатитис Ц вирус (*HCV*), хепатитис Д вирус (*HDV*), хепатитис Е вирус (*HEV*), хепатитис Г вирус (*HGV*). Остали вируси који могу изазвати хепатитис су: цитомегаловирус (*CMV*), Епштајн-Баров вирус (*EBV*) и Херпес симплекс вирус (*HSV*) [9].

Вируси хепатитиса А и Е узрокују инфекције које се манифестују као епидемије или спорадичне инфекције. Прецизан механизам оштећења јетре није познат, али када дође до инфекције, *HAV* или *HEV* се дистрибуирају преко јетре. Инфекција *HAV*-ом или *HEV*-ом не прелази у хроничну болест код имунокомпетентних особа. *HAV* инфекција ретко може имати пролонгирани ток или рецидив и стопа смртности је ниска ако се ради о претходно здравим особама. За *HEV* инфекције је евидентирана смртност од 30 % код трудница. Акутни хепатитис А и хепатитис Е клинички се не разликују од других облика вирусног хепатитиса. Дијагноза захтева серолошку потврду [10-11] .

Акутна хепатитис Б вирусна (*HBV*) инфекција може се манифестовати као субклинички хепатитис, клинички манифестни хепатитис или акутни фулминантни хепатитис. Хронична *HBV* инфекција може се манифестовати као неактивно стање, хронични хепатитис, цироза или хепатоцелуларни карцином. Евидентирано је око 350 милиона особа инфицираних хепатитис вирусом Б у свету, од којих преко 600 000 годишње умре због болести јетре повезаних са хепатитисом Б. Преваленца *HBV* инфекције повезана је са начином трансмисије и старосном доби пацијената [12-13].

Хепатитис Д се јавља као коинфекција са *HBV*-ом или суперинфекција код особа са хроничном *HBV* инфекцијом. *HDV* користи *HBV* за сопствену репликацију и директно је токсичан за хепатоците. Коинфекција са хепатитис вирусом Д погоршава прогнозу *HBV* [14].

Хепатитис Ц је обољење јетре изазвано вирусом хепатитиса Ц. Манифестује се у облику акутног и хроничног хепатитиса. Вирус хепатитиса Ц преноси се путем крви током употребе дрога у инјекцијама, небезбедне здравствене заштите, трансфузије крви и крвних деривата. Према подацима Светске здравствене организације, 71 милион људи има хроничну хепатитис Ц инфекцију. Значајан број оних који су хронично заражени ће развити цирозу или карцином јетре. Сваке године око 399 000 људи умире од хепатитиса Ц, углавном као последица цирозе и хепатоцелуларног карцинома [13].

Хронични хепатитис је запаљење јетре које траје дуже од шест месеци. Може прогредирати у цирозу. Према етиологији, разликују се следећи типови хроничног хепатитиса: хронични вирусни хепатитис (*HBV*, *HCV*), аутоимуни хепатитис, хепатитис изазван лековима, хепатитис у наследним болестима (хемохроматоза, Вилсонова болест, дефицијенција алфа-1-антитрипсина), примарна билијарна цироза, примарни склерозирајући холангитис и неалкохолни стеатохепатитис [16-17].

1.1.2 Имунолошке болести јетре

Имунолошке болести јетре су: аутоимуни хепатитис (*AIH*), примарна билијарна цироза (ПБЦ) и примарни склерозирајући холангитис (*PSC*).

Аутоимуни хепатитис (*AIH*) може се манифестовати као: хронична, акутна и асимтоматска болест. Хронични *AIH* је прогресивно инфламаторно обољења јетре са потенцијално прогресивним исходом, које може довести до акутног отказивања јетре. *AIH* се може дијагностиковати након искључења других болести јетре и у присуству типичних имунолошких, клиничких, хистолошких и биохемијских налаза. Већина пацијената има симптоме хроничне болести који могу довести и до декомпензоване цирозе; неки пацијенти имају слику акутног, ретко фулминантног хепатитиса са жутицом и повишеним нивоима аминотрансфераза, док су неки потпуно асимптоматични [18].

Примарна билијарна цироза је прогресивна аутоимуна болест коју карактерише деструкција интрахепатичних жучних канала. Чешће се јавља код жена средње животне доби [19].

Примарни склерозирајући холангитис је и холестатска и аутоимуна болест јетре. Карактерише је инфламација и прогресивна фиброза билијарног система које прогредирају до цирозе и тешког оштећења јетре. Чешћа је код млађих мушкараца [20].

1.1.3 Болести јетре изазване токсинима

У оквиру болести јетре које настају као последица дејства токсина разликујемо алкохолну болест јетре и болести јетре изазване ксенобиотицима (лековима, хемијским агенсима и другим страним супстанцама).

Алкохолна болест јетре (*ALD*) је главни узрок трансплантације јетре и водећи узрок mortalитета међу болестима јетре; она обухвата широк спектар оштећења, од стеатозе до стеатохепатитиса и цирозе. Иако већина конзумента алкохола развија стеатозу, код пацијената код којих су присутни фактори ризика (пол, генетски,

метаболички и нутритивни фактори) долази до прогресије оштећења јетре. Алкохолна цироза се јавља код око 10% дугогодишњих алкохоличара. Биопсија јетре је златни стандард за процену озбиљности хепатостеатозе, но ултразвучна дијагностика као и употреба неинвазивних модела, показала се као врло осетљива за процену степена стеатозе и фиброзе. Серумски параметри су широко коришћени за процену тежине *ALD*-а: неки параметри су повезани са функционалношћу јетре (нпр. албумин и билирубин), неки са интегритетом хепатоцита (нпр. трансминазе), а неки са оксидативним стресом (гама-глутамил трансфераза) [21-23].

Познато је да преко 600 медицинских препарата и хемијских токсина, али и све већи број лековитих биљних препарата, могу изазвати различита оштећења јетре. Сматра се да различита обољења јетре чине 3-9% свих нежељених реакција на лекове. Спектар хепатотоксичности изазване лековима обухвата готово све облике болести јетре, и креће се од оштећења која личе на вирусни хепатитис до карцинома. Код огромне већина лекова који изазивају оштећење јетре до истог долази на непредвидљив начин и само код осетљивих појединаца (идиосинкразија или преосетљивост). Оштећења могу потицати од токсичних метаболита, који или делују на ћелијске протеине, доводећи на тај начин до некрозе (метаболичка идиосинкразија), или формирају антигенске (лек-хаптен) комплексе који стимулишу Т-лимфоците, доводећи тако до имунолошке реакције која изазива хепатичко оштећење (преосетљивост или алергија на лек). Веома мало медицинских препарата који су тренутно у примени изазива оштећење јетре као резултат својствене токсичности или токсичности једног или више њихових метаболита (предвидљива или својствена хепатотоксичност) [24]. Изузетак је парацетамол, који у случајевима предозирања може довести до центрилобуларне некрозе јетре, која настаје као последица накупљања токсичног метаболита *N*-ацетил-пара-бензохинона [25-26]. Ксенобиотици који изазивају оштећење јетре дају широк спектар лезија које подсећају на многа друга обољења јетре. Корисно је направити поделу акутних хепатоцелуларних оштећења на она која су углавном цитотоксична (хепатоцелуларна некроза), холестатска (повезана са прекинутим током жучи), или мешовита оштећења, са компонентама како хепатоцелуларне некрозе тако и холестазе [27].

1.1.4 Наследне болести јетре

У оквиру наследних болести јетре разликујемо: хемохроматозу, Вилсонову болест и урођену дефицијенцију алфа-1-антитрипсина.

Наследна хемохроматоза је аутозомно-рецесивна болест која се карактерише повећаном ресорпцијом гвожђа и његовим депоновањем у паренхимским органима, укључујући и јетру. Узрок је мутација *HFE* гена који кодира *HFE* протеин, мембрански протеин који регулише ресорпцију гвожђа тако што утиче на интеракцију између рецептора и трансферина. Клиничке манифестације болести су: поремећај функције јетре, дијабетес мелитус и хиперпигментација коже [28].

Вилсонова болест је аутозомно-рецесивна болест метаболизма бабра. Настаје као последица мутације гена који кодира транспортни протеин бакар/АТП-азу, који омогућава транспорт бабра кроз ћелијске мембране, пре свега кроз мембрану хепатоцита. Услед овог поремећаја долази до смањења билијарне екскреције бабра и немогућности уградње бабра у церулоплазмин. Бакар се депонује у базалним ганглијама мозга, у јетри и у рожњачи ока. Код одраслих, болест развија неуропсихијатријску форму. У дечијем узрасту се јавља хепатична форма која може да буде у облику хроничног или фулминантног хепатитиса [29].

Урођена дефицијенција алфа-1-антитрипсина је наследна аутозомно-доминантна болест која доводи до недостатка алфа-1-антитрипсина. Алфа-1-антитрипсин (*AAT*) је инхибитор протеаза и припада групи инхибитора серин протеаза. *AAT* инхибира протеазе, међу њима и еластазе. Овај протеин има функцију да штити доње делове респираторног тракта од протеолитичког деловања еластазе (ослобађа се из активираних неутрофила). Најучесталије мутације које доводе до недостатка овог протеина у плазми су дефицијентне изоформе *Z* и *S*. Ове изоформе протеина се нормално синтетишу, али у ендоплазматичном ретикулуму молекули *AAT*-а међусобно полимеризују, што доводи до смањене секреције из хепатоцита и стварања инклузија, тако да је секреција протеина из хепатоцита значајно снижена. Последица задржавања протеина у хепатоцитима је снижена концентрација *AAT*-а у серуму (алфа-1-антитрипсин дефицијенција), а полимери *AAT*-а делују хепатотоксично [30]. Клинички се код одраслих много чешће манифестује емфизем који настаје због деструкције алвеола, док су поремећаји функције

јетре ретки. У педијатријској популацији су повишене трансминазе, жутица је продужена и у серуму је смањена концентрација *AAT*-а [31].

1.1.5 Неалкохолна масна болест јетре

Неалкохолна масна болест јетре (*NAFLD*) је стање које карактерише хепатична стеатоза у одсуству историје значајне употребе алкохола или друге познате болести јетре. Њена прогресивна форма назива се неалкохолним стеатохепатитисом (*NASH*) [32]. Неалкохолни стеатохепатитис се карактерише хистолошким налазом сличним као код алкохолних болести јетре (стеатоза, инфламација паренхима јетре, различити степен фиброзе) [33]. Гојазност, дијабетес мелитус и хиперлипидемија су фактори ризика за настанак *NAFLD*-а [32]. Биопсија јетре је златни стандард за потврду дијагнозе, степена инфламације и фиброзе, као и за праћење тока болести и ефикасности лечења. Методе засноване на ултразвучном прегледу као и математички модели и калкулатори су неинвазивне алтернативе биопсији. У 15% до 20% случајева *NASH* прогредира у цирозу јетре. Хепатоцелуларни карцином и цироза као компликације *NASH*-а су све чешће индикације за трансплантацију јетре [33].

1.1.6 Цироза јетре

Цироза је хронична и прогресивна болест јетре. Основне промене које карактеришу цирозу су: хепатоцелуларна некроза, фиброза (стварање метаболички неактивног везивног ткива), трансформације ткива јетре у чворове (нодули). Формирање чворова у јетри утиче на циркулацију, повећава се притисак у порталној вени и јавља се портална хипертензија. Цироза представља терминалну фазу хроничног хепатитиса. Најчешћи узрочници су: прележани акутни вирусни хепатитис (*HBV*, *HCV*), алкохолизам, метаболичке и билијарне болести, аутоимуни хепатитис, лекови/токсини, наследне болести јетре (дефицит алфа-1-антитрипсина, хемохроматоза, Вилсонова болест) и непознати узрочници [34].

1.1.7 Тумори јетре

Тумори јетре могу бити примарни и секундарни (метастатски). По понашању могу бити: бенигни (хепатоцелуларни аденом, туморске лезије, хемангиом, тумори холангиоцелуларног порекла) и малигни (хепатоцелуларни карцином, холангиокарцином, примарни лимфом јетре, ангиосарком, метастатски тумори јетре). Метастазе на јетри су чешће него примарни тумори јетре [35].

Примарни карцином јетре који потиче од хепатоцита је хепатоцелуларни карцином, док из ћелија епитела жучних канала настаје холангиоцелуларни карцином. Хепатохолангиоцелуларни карцином је мешовити тип примарног карцинома јетре. Узрочници примарног карцинома јетре су: цироза јетре, хепатитиси Б и Ц, токсична оштећења јетре, наследне метаболичке болести јетре и други [36].

1.2 Друге болести повезане са поремећајем серумских параметара јетрене функције

1.2.1 Срчане болести

Повишене вредности аминотрансфераза у серуму нису специфичне за хепатобилијарне поремећаје. Такође се срећу код пацијената са озбиљним оштећењем срчаног и скелетног мишића. Код пацијената са инфарктом миокарда чешће је повећан ниво *AST*-а у односу на ниво *ALT*-а. Приметна повећања *AST*-а и *ALT*-а (>5000 IU/L) код пацијената са озбиљним срчаним болестима вероватно настају као последица исхемије јетре са центрилобуларном некрозом [37]. Све већи број клиничких студија се бави праћењем нивоа трансаминаза код болести срца [38-40]. Вредности серумских параметара јетрене функције су директно повезани са краткорочном и дугорочном прогнозом срчаних обољења код пацијената [37].

Гама-глутамил трансфераза (*GGT*) је присутна у ћелијским мембранама многих ткива. Мања активност *GGT*-а је откривена у панкреасу, јетри, слезини, срцу, мозгу и семеним везикулама. Објављене су клиничке студије у којима се гама-глутамил трансфераза користи као нови биомаркер за предвиђање инфаркта миокарда, možданог удара и морталитета који настаје као последица срчаних болести [41-43].

Вредности лабораторијских тестова јетре добијени током студије *Ripley TL* и сарадника [44] су употребљени у мултиваријабилном моделу за предвиђање дугорочног исхода болести. Показало се да највећу вредност имају повишене вредности укупног билирубина, које су независно од осталих параметара удружене са морбидитетом и морталитетом. Објављене су студије које доводе у везу и друге серумске параметре са предикцијом морбидитета и морталитета код пацијената са кардиоваскуларним обољењима.

1.2.2 Мишићна оштећења

Вредности *AST*-а и *ALT*-а код болести мишића су типично мање од 300 J/L, али су забележени и случајеви где су вредности *AST*-а и *ALT*-а код пацијената са болестима мишића биле знатно изнад 300 J/L. Осим у случајевима акутне рабдомиолизе, вредности ретко достижу опсег примећен код пацијената са акутним хепатоцелуларним поремећајима. Серумске активности *AST*-а и, повремено, *ALT*-а могу да се повећају након енергичног вежбања, уз ниво *AST*-а већи од 1000 J/L. У таквим случајевима однос *AST:ALT* је иницијално већи од 3:1, али се због краћег времена полуелиминације *AST*-а брзо изједначава на 1:1 [45]. У објављеним клиничким студијама евидентирана је висока корелација између нивоа креатин киназе и серумских трансминаза. Серумске трансминазе су повишене у 80% пацијената код којих су повишене и вредности креатин киназе, док је код 85% таквих пацијената нормализација вредности креатин киназе праћена истовременом нормализацијом вредности серумских трансминаза. [46].

1.2.3 Хипертиреозидизам

Хипертиреозидизам је болест коју карактерише прекомерно стварање тиреоидних хормона и то је једна од најчешћих ендокриних болести. Озбиљни поремећај јетрене функције у склопу хипертиреозе није чест, али тиреотоксикоза може довести до озбиљних дисфункција јетре, које су праћене жутицом, акутном инсуфицијенцијом јетре па чак и смрћу. Случајеви хипертиреозидизма праћени озбиљним поремећајима функције јетре се често објављују као дијагностички и терапијски изазов и зато третман хипертиреозе са дисфункцијом јетре захтева посебну пажњу и правовремену реакцију [45].

1.3 Дијагностика узрока оштећења јетре

Узроци болести јетре могу бити инфективни агенси, као и различити генетски, аутоимуни или метаболички поремећаји. Постављање дијагнозе захтева сет тестова и метода које треба спровести са циљем да се утврди оштећење и узрок болести. Пацијенти са симптомима као што је слабост, мучнина, повишена температура, жутица, бол у пределу јетре захтевају медицинску обраду [47].

Лабораторијским и радиолошким испитивањима јетрене функције предходи анамнестички преглед са посебним освртом на факторе ризика (употреба дрога или алкохола, породична анамнеза, трансфузија крви) и детаљан физички преглед који укључује и преглед абдомена, срца, плућа, коже, неуролошки преглед [47].

Лабораторијски тестови обухватају проверу вредности серумских параметара:

- *AST, ALT, GGT*, алкална фосфатаза, билирубин (коњуговани и некоњуговани), серумски протеини и албумин;
- вредности фактора коагулације, *INR* (смањена продукција у случајевима хроничних болести јетре доводи до поремећаја коагулације) [48];
- тест комплетне крвне слике (укупан број леукоцита и еритроцита може бити смањен у одмаклим болестима јетре када може доћи до супресије коштане сржи) [47];
- панкреасна липаза (болести јетре могу бити удружене са болестима панкреаса) [49];
- вредност урее, креатинина, електролита (болести јетре могу бити праћене поремећајем функције бубрега) [47];
- вредност амонијака у крви (код пацијената са хепатичном енцефалопатијом повишене вредности амонијака то потврђују) [50];
- присуство аутоантитела у крви (у случају аутоимуног оштећења јетре);
- вирусолошка испитивања у случајевима вирусног хепатитиса [47].

Снимања и радиолошка испитивања се такође користе за откривање и праћење болести јетре. Она укључују следеће.

- Ултразвучни преглед абдомена – ултразвучни таласи се широко користе као приступачна и неинвазивна метода која је посебно корисна код калкулоза у жучним путевима и других патолошких стања. Овом техником се може сагледати крвоток у систему порталне вене, што је значајно за дијагнозу опструкција и порталне хипертензије [51].
- *CT* – компјутеризована (аксијална) томографија – омогућава детаљнији преглед ткива јетре.
- *MR* – магнетна резонанција – даје јасније податке о оштећењу јетреног ткива [52].
- *ERCP* – ендоскопска ретроградна холедопанкреатографија – ендоскопска метода прегледа жучних и панкреасних канала, која се користи код дијагнозе тумора, калкулоза жучних путева, опструкција, цисти [53].

Биопсија јетре је инвазивна дијагностичка метода која је индикована код неких болести за потврду дијагнозе, праћење терапије или прогнозу исхода [54].

Коришћење лабораторијских испитивања је важна компонента процене пацијената са обољењем јетре. Све чешће, пораст ензима јетре откривен при рутинским скрининг тестовима пружа први доказ обољења јетре код иначе асимптоматичних пацијената. Код пацијената са претходно препознатом дисфункцијом јетре, лабораторијска испитивања могу да помогну у утврђивању етиологије обољења јетре и пруже вредне прогностичке информације. Ретко се деси да један тест пружи довољно информација за постављање дијагнозе или процену озбиљности обољења јетре. Комбинација тестова као што су серумски билирубин, албумин, аминотрансферазе и алкална фосфатаза се понекад називају „панел јетре”. Ови тестови, у комбинацији са протромбинским временом могу да пруже почетне податке о етиологији и озбиљности обољења јетре. Код оштећења јетре изазваних лековима, случајеви кад је *ALT* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT*-а и алкалне фосфатазе (*AP*) већи од 5, се сматрају примарно хепатоцелуларним оштећењима. Они случајеви где је *AP* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT:AP* мањи од 2, се сматрају примарно холестатским оштећењима. Ако су *ALT* и *AP* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT:AP* буде већи од 2 а мањи од 5, поремећај се сматра мешовитим, хепатоцелуларним/холестатским [55].

Једна од могућих класификација лабораторијских тестова је следећа [25].

- Испитивања за откривање оштећења хепатоцита: ови тестови обухватају сва испитивања ензима, од којих су најкориснији аминотрансферазе и алкална фосфатаза.
- Испитивања биосинтетског капацитета јетре: ова група тестова обухвата факторе коагулације (протромбинско време/интернационални нормализовани однос (*INR*)), серумски албумин, церулоплазмин, феритин, алфа-1-антитрипсин и липопротеине. Ове супстанце се синтетишу у јетри и преносе у крвоток.
- Испитивања капацитета јетре да преноси органске ањоне и метаболише лекове: у оквиру ове категорије тестова, најкориснији је серумски билирубин. Остала испитивања која процењују клиренс органских једињења из крвотока путем јетре укључују зелени индоцијанин, жучне киселине, кофеин, лидокаин и издисајне тестове. Ови тестови се ретко користе у клиничкој медицини али могу имати ограничену улогу у неким истраживачким студијама.
- Испитивања за откривање фиброзе јетре: ова категорија укључује патентиране тестове као што су *FibroSure*®, *FibroTest*® и *Enhanced Liver Fibrosis*® тест. Ова испитивања се базирају на неколико биохемијских параметара, који се математички комбинују ради процене степена фиброзе.
- Испитивања која одражавају хронично запаљење или измењену имунорегулацију: она обухватају специфична аутоантитела и имуноглобулине, протеине које стварају Б лимфоцити, а не хепатоцити. Нека од ових испитивања су важна у дијагностиковању аутоимуних обољења јетре као што су аутоимуни хепатитис и примарна билијарна цироза.

1.3.1 Тестови за откривање оштећења хепатоцита (испитивања ензима у серуму)

Јетра садржи хиљаде ензима, од којих су неки присутни у серуму у веома малим концентрацијама. Већина ових ензима има непознату функцију у серуму. Дистрибуирају се у плазми и интерстицијалној течности и имају карактеристична полувремена елиминације, која се углавном мере данима. Мало се зна о њиховом катаболизму и клиренсу. Сматра се да пораст активности за дати ензим у серуму примарно одражава његову повећану брзину уласка у серум из оштећених ћелија јетре. Постоје две

категије ензима који указују на одређене болести јетре: ензими чији раст у серуму одражава генерализовано оштећење хепатоцита и ензими чији раст у серуму примарно одражава холестазу [57].

1.3.1.1 Ензими који показују присуство хепатоцелуларне некрозе

Серумске аминотрансферазе (раније зване трансминазе) су осетљиви показатељи оштећења ћелија јетре и од највећег су значаја у препознавању акутних хепатоцелуларних болести као што је хепатитис. Активности *ALT*-а, раније серумске глутаминско-пирувинске трансминазе, и аспартат аминотрансферазе (*AST*), раније серумске глутаминске-оксалоацетатне трансминазе, у серуму су најчешће одређивани параметри обољења јетре [56].

Обе аминотрансферазе се налазе у серуму у ниској концентрацији. Порекло ових ензима у серуму није са сигурношћу утврђено. Највероватније је да потичу из ткива богатих *ALT*-ом и *AST*-ом. *AST* се налази у јетри, срчаном мишићу, скелетном мишићу, бубрезима, мозгу, панкреасу, плућима, леукоцитима и еритроцитима. *ALT* је присутна у највећој концентрацији у јетри. У ткивима, *ALT* је присутна у цитосолу, док се *AST* налази у цитосолу и митохондријама. Цитосолни и митохондријски облици *AST*-а су прави изоензими и имунолошки се разликују. Око 80% активности *AST*-а у људској јетри је митохондријски изоензим, док већи део *AST*-а у серуму здравих особа представља цитосолни изоензим. Ни *ALT* ни *AST* немају изоензиме који су специфични за одређено ткиво. Изоензимска анализа серумске *ALT* или *AST* је ретко корисна. Пацијенти са акутним инфарктом миокарда и хроничном алкохолном болешћу јетре могу бити изузеци. Знатна повећања митохондријске *AST* се јављају у серуму после обимне некрозе ткива. Због тога, процена митохондријске *AST* се посматра као тачан тест за откривање инфаркта миокарда, али није у широкој употреби. Ниво митохондријске *AST* је такође повишен код хроничне али не и акутне алкохолне болести јетре. Нивои *AST*-а и *ALT*-а су једнако повишени код већине хепатобилијарних поремећаја, где је ниво *ALT*-а углавном нешто виши од нивоа *AST*-а. *ALT* је осетљивији и специфичнији ензим за испитивање оштећења јетре у односу на *AST* и уобичајено се користи у епидемиолошким студијама за документовање инциденце вирусног хепатитиса [58].

Нивои аминотрансфераза су повишени у свим поремећајима јетре. Аминотрансферазе су повишене код свих врста акутног и хроничног хепатитиса, цирозе јетре, акутне и хроничне срчане инсуфицијенције, различитих инфекција, метастатског карцинома, грануломатозне и алкохолне болести јетре. Највећи раст се јавља у поремећајима повезаним са обимним хепатоцелуларним оштећењем, као што је хепатитис изазван лековима или вирусима, акутна исхемија и излагање хепатотоксинима. Вредности су уобичајено у опсегу од неколико стотина до неколико хиљада, иако вредности у опсегу од 10000 до 15000 IU/L могу да се јаве код ретких пацијената са вирусним хепатитисом. Нивои аминотрансфераза ретко иду изнад 500 IU/L код опструктивне жутице, вирусног хепатитиса код пацијената са синдромом стечене имунодефицијенције и цирозе [27].

Раст вредности *ALT*-а и *AST*-а у серуму је везан за оштећење ћелија богатих аминотрансферазама или за промене пропустљивости ћелијске мембране. Активност било ког ензима јетре у серуму одражава брзину ослобађања ензима из јетре у крвоток и клиренс ензима из крвотока. Активност *AST*-а и *ALT*-а у ћелијама јетре је преко 1000 пута већа од активности у серуму, тако да се, како ћелије јетре умиру, активност аминотрансфераза повећава у плазми. Акутно хепатоцелуларно оштећење које се деси у кратком временском периоду, као што је некроза због тровања ацетаминофеном, довешће до брзог повећања серумског нивоа ензима како ензимска активност умирућих ћелија улази у крвоток. Код пацијената са тровањем ацетаминофеном или исхемијским оштећењем, највиши ниво *AST*-а премашује ниво *ALT*-а у првих 24 сата. Када више нема даљег оштећења ћелија, серумска активност и *AST*-а и *ALT*-а ће се вратити у нормални опсег. Брзина смањења нивоа ензима зависи од клиренса из крвотока, на сличан начин као код елиминације лекова [60].

ALT и *AST* се катаболишу у јетри што доводи до полувремена елиминације у плазми од 47 ± 10 сати за *ALT* и 17 ± 5 сати за *AST*. Претпоставља се да се ензими катаболишу у ћелијама у ретикулоендотелијалном систему. Јетрини синусоиди су главно место за клиренс *AST*-а. Аминотрансферазе скоро да и нису присутне у урину и само мала количина је присутна у жучи. Стога је мало вероватно да билијарно или уринарно излучивање игра улогу у клиренсу *ALT*-а или *AST*-а [56].

Хронично оштећење јетре доводи до значајне променљивости брзине ослобађања ензима у крвоток. Многе студије су показале слабу корелацију између озбиљности

некрозе или запаљења и нивоа *ALT*-а у серуму. Пошто је ниво *ALT*-а у плазми под утицајем како брзине ослобађања ензима у плазму тако и брзине клиренса *ALT*-а из плазме, оба параметра могу потенцијално да утичу на ниво *ALT*-а у плазми. Нажалост, има мало информација о утицају хроничне болести јетре на плазма клиренс аминотрансфераза. Ниво *ALT*-а у серуму варира значајно током времена код пацијената са хроничним вирусним хепатитисом, претпоставља се као резултат променљивих нивоа запаљења и/или некрозе у јетри. Ниво *ALT* код хроничног вирусног хепатитиса ретко прелази 500 IU/L. Иако је ниво *ALT*-а променљив код пацијената са хроничним хепатитисом, нема доследног и предвидивог опадања серумског нивоа, као што се може приметити након тровања ацетаминофеном или у случају исхемије. Ове произвољне флукуације у вредностима *AST*-а и *ALT*-а се лако могу разликовати од обимне некрозе настале због оштећења изазваног лековима или исхемијског оштећења што помаже у разликовању краткорочног акутног оштећења од оног које је више хронично [61].

1.3.1.2 Ензими за откривање холестазе

Алкална фосфатаза је металоензим цинка који катализује хидролизу великог броја органских фосфатних естера. Алкалне фосфатазе различитих ткива су прави изоензими јер катализују исту реакцију, али се разликују по својим физичко-хемијским особинама. Већина изоензима алкалне фосфатазе од клиничког значаја (ензим јетре/костију/бубрега, такође познат као ткивно неспецифична алкална фосфатаза) је кодирана једним геном. Ови ензими имају исте имунолошке особине и редослед аминокиселина. Њихове јединствене физичко-хемијске особине су одређене различитим бочним ланцима угљених хидрата и липида, који се додају пост-транслационом модификацијом. Други ген кодира цревну алкалну фосфатазу; трећи ген кодира плаценталну алкалну фосфатазу и изоензим који се ствара код неких карцинома, Реганов изоензим; а четврти ген кодира изоензим налик на плаценту [62].

Алкалне фосфатазе се налазе у мембрани коштаних остеобласта, каналикуларним мембранама хепатоцита, ћелијама слузокоже танког црева, проксималном тубулу бубрега, плаценти и белим крвним зрнцима. У костима је алкална фосфатаза задужена за калцификацију. Серумска алкална фосфатаза се код нормалних одраслих особа примарно добија из три извора: јетре, костију и интестиналног тракта. Јетра и кости су

главни извори. Полувреме елиминације је 7 дана, а клиренс из серума не зависи од функционалног капацитета јетре или пролазности жучних путева. Места деградације су непозната [56].

У старосној групи од 15 до 50 година, средња активност серумске алкалне фосфатазе је нешто виша код мушкараца него код жена. Насупрот томе, међу особама старијим од 60 година, ензимска активност код жена је иста или већа него код мушкараца, а оба пола имају нешто више вредности него млађе одрасле особе. Код деце, активност алкалне фосфатазе у серуму је значајно повећана код оба пола, у доброј је корелацији са стопом раста костију и зависи од прилива ензима из коштаног ткива. Серумска алкална фосфатаза код здравих мушких адолесцената може достићи средње нивое који су три пута већи него код здравих одраслих особа, без указивања на присуство хепатобилијарне болести. Ензимска активност у серуму може се дуплирати у нормалној поодмаклој трудноћи, првенствено због прилива плаценталне фосфатазе [59]. Иако се повећање активности алкалне фосфатазе у серуму може видети у различитим хепатобилијарним болестима, слична повећања се виде и код поремећаја у костима које карактерише повећана активност остеобласта, а нормално се јавља током раста и трудноће. Интестинални тракт (повремено) и бубрези (ретко) могу бити извор повишених нивоа ензима у серуму [63-64].

Хепатобилијарна болест води до повећане активности алкалне фосфатазе у серуму која је праћена приметним повећањем активности ензима јетре [56].

Основни дијагностички значај одређивања вредности серумске алкалне фосфатазе је у препознавању холестатских поремећаја. Код око 75% пацијената са продуженом холестазом вредности алкалне фосфатазе су увећане четири или више пута. Таква повећања јављају се како код екстрахепатичких тако и код интрахепатичких опструкција. У основи нема разлике између вредности нађених у опструктивној жутици због карцинома, камена у холедохусу, склерозантног холангитиса или опструкције жучних путева. Вредности се слично повећавају код пацијената са интрахепатичком холестазом, код хепатитиса изазваног лековима, примарне билијарне цирозе, одбацивања трансплантиране јетре и стеатонекрозе изазване алкохолом. Вредности су такође веома повећане код хепатобилијарних компликација код пацијената са *AIDS*-ом или туберкулозе са хепатичким компликацијама [65].

Гама-глутамилтрансфераза (*GGT*) катализује трансфер гама-глутамил групе из гама-глутамил пептида као што је глутатион, у друге пептиде и L-амино киселине. *GGT* је присутан у ћелијским мембранама многих ткива, укључујући дукталну страну у проксималном тубулу бубрега, као и у цревима и пасеменику. Мања активност *GGT*-а је откривена у панкреасу, јетри, слезини, срцу, мозгу и семеним везикулама У јетри, *GGT* се налази на билијарним епителним ћелијама и на апексној мембрани хепатоцита. Иако је активност *GGT*-а у јетри релативно ниска у поређењу са бубрезима и другим ткивима, јетра је претежни извор ензима у серуму. Вредности ензима у серуму су углавном упоредиве за мушкарце и жене, иако су неки истраживачи открили више вредности овог ензима код мушкараца [66]. Деца изнад 4 године старости имају серумске вредности здравих одраслих особа. Активност ензима у серуму не повећава се током нормалне трудноће. Нормални опсег је 0-30 U/L [56].

Повећана активност *GGT*-а у серуму се евидентира код болести јетре, билијарног тракта и панкреаса. Абнормалне вредности се јављају у приближно истом спектру хепатобилијарних болести као и за алкалну фосфатазу, леуцин аминопептидазу и 5'-нуклеотидазу. Механизам који је у основи повећања *GGT*-а код хепатобилијарних болести остаје неодређен, али солубилизација и ослобађање *GGT*-а везаног за мембрану је један од могућих механизма. Алтернативно томе, смрт ћелија билијарног епитела је друга могућност [66].

Високе вредности *GGT*-а у серуму су такође нађене код пацијената који узимају лекове као што су барбитурати или фенитоин или код оних који узимају велике количине алкохола [67], чак и када су друге вредности ензима и билирубина у серуму нормалне. Изоловано повећање нивоа *GGT*-а, или повећање нивоа *GGT*-а које није у сразмери са другим ензимима као што је алкална фосфатаза или *ALT*, посебно код пацијената без симптома, може бити показатељ велике конзумације алкохола. Индуковање хепатичког микрозомалног *GGT*-а путем алкохола и других лекова може бити узрок ових запажања. Ипак, ово није једино објашњење, пошто ни повећани нивои *GGT*-а у серуму, нити историја недавног узимања алкохола, нису у корелацији са активношћу хепатичког *GGT*-а код пацијената са алкохолном болешћу јетре која је доказана биопсијом [67]. Активности алкалне фосфатазе и хепатичког *GGT*-а се слично повећавају код пацијената са алкохолиним хепатитисом [68]. Са изузетком специфичности које *GGT* има приликом тестирања пацијената на конзумирање алкохола, мерење серумског *GGT*-а нуди мало

предности над испитивањем аминотрансфераза и алкалне фосфатазе у процени пацијената са суспектном болешћу јетре. У проспективној студији са 1040 неселектованих болничких пацијената, 139 пацијената (13,4%) је имало повећану активност *GGT*-а у серуму. Само 32% ових пацијената су имали хепатобилијарну болест; осталих 68% имало је друге болести које нису укључивале јетру [69]. Клиничка вредност *GGT*-а лежи у његовој употреби у приписивању специфичности органа повећаној вредности алкалне фосфатазе, јер активност *GGT*-а није повећана код пацијената са обољењем костију.

1.3.2 Испитивања биосинтетског капацитета јетре

1.3.2.1 Албумин

Албумин, који је квантитативно најважнији протеин плазме, се синтетише искључиво у јетри. Нормалне вредности у серуму варирају од 3,5 до 4,5 g/dL (35-45 g/L). Просечна одрасла особа има око 300-500 g албумина распоређеног у телесним течностима, и синтетише око 15 g/дневно (200 mg/kg/дан). Брзина синтетисања може се дуплирати у условима у којима се јавља брз губитак албумина или смањење концентрације албумина у серуму због разређивања, као што је случај приликом брзе акумулације асцитне течности [59]. Албумин има дуго полувреме елиминације од око 20 дана. Приближно 4% се распадне сваког дана, али мало се зна о месту распадања. Ниво у серуму у било ком тренутку одражава брзину синтезе и распадања и волумен дистрибуције. Синтеза албумина је регулисана променама у ухрањености, осмотском притиску, системском запаљењу и нивоима хормона [65]. Супстанце које стимулишу синтезу албумина доводе до тога да се индивидуални рибозоми везују за *iRNK* албумина ради формирања полизома, који синтетишу албумин ефикасније. Аминокиселине као што су триптофан, фенилаланин, глутамин и лизин функционишу на овај начин и повећавају *in vitro* синтезу албумина. Кортикостероиди и тиреоидни хормони стимулишу синтезу албумина повећањем концентрације *iRNK* албумина [59,65]. *In vitro*, алкохол смањује синтезу албумина тако што инхибира стварање полизома [68], док запаљење смањује синтезу албумина кроз инхибиторне утицаје интерлеукина 1 и фактора некрозе тумора [59,65].

Нивои серумског албумина теже нормали код пацијената са болешћу јетре као што је акутни вирусни хепатитис, хепатотоксичност везана за лекове и опструктивна жутица. Нивои албумина мањи од 3 g/dL повезани са хепатитисом требало би да изазову сумњу у хронични хепатитис. Хипоалбуминија је чешћа међу особама са хроничним поремећајима јетре, као што је цироза и углавном одражава озбиљно оштећење јетре и смањену синтезу албумина. Изузетак су пацијенти са асцитесом, код којих синтеза може бити нормална или чак повећана, али су нивои у серуму ниски због повећаног волумена дистрибуције. Велики унос алкохола, хронично запаљење и недостатак протеина у исхрани могу инхибирати синтезу албумина [68].

1.3.2.2 Протромбинско време

Згрушавање је крајњи резултат сложеног низа ензимских реакција. Јетра је главно место синтезе протеина за згрушавање крви (фактора коагулације): фактор I (фибриноген), фактор II (протромбин), фактор III (ткивни тромбoplastин), фактор IV, фактор V (проакцелерин), фактор VI (акцеларин), фактор VII (проконвертин), фактор VIII (антихемофилијски глобулин А), фактор IX (антихемофилијски глобулин Б), фактор X (Стјуарт-Проверов фактор), фактор XI (антихемофилијски фактор Ц), фактор XII (Хагеманов фактор) и фактор XIII (фактор стабилизације фибрина), прекаликреин и кининоген велике молекулске масе [70-71].

Хепатичка синтеза биолошки активних облика фактора II, VII, IX и X захтева витамин К за гама-карбоксилацију остатака глутаминске киселине у овим протеинима. Одсуство витамина К, уношење антагониста витамина К или присуство одређених хепатичких поремећаја (хепатоцелуларни карцином) инхибира карбоксилацију која зависи од витамина К и омогућава ослобађање дес-гама-карбокси (абнормалног) протромбина у серум [72-73]. Здраве особе немају дес-гама-карбокси протромбин у серуму. Нивои дес-гама-карбокси протромбина у плазми нису у корелацији са нивоима алфа-фетопропротеина код пацијената са утврђеним хепатоцелуларним карциномом, али ова два теста имају комбиновану осетљивост од 85%. Ниво дес-гама-карбокси протромбина може се вратити у нормалу уз одстрањивање хепатоцелуларног карцинома или лечење истог, а поново ће се повећати приликом поновног јављања тумора [74].

1.3.3 Испитивања способности јетре да преноси органске анјоне и метаболичке органске једињења (билирубин)

Билирубин је тетрапиролски пигмент који се добија разлагањем феропротопорфина IX (хема), интегралног дела протеина који садржи хем. Дневно се у организму произведе око 250-300 mg билирубина, од чега 70-80% настаје као последица распадања хемоглобина у еритроцитима који старе. Остатак долази из прерано уништених еритроидних ћелија у коштаном сржи и промета хемопротеина у ткивима у целом телу [59,65]. У првој фази долази до стварања билирубина у ретикулоендотелијалним ћелијама, првенствено у слезини и јетри. У првој реакцији, коју катализује микрозомни ензим хем оксигеназа, оксидативно се цепа алфа-мост порфиринске групе, отвара се прстен у хему и производе се еквимоларне количине биливердина и угљен-моноксида. У оквиру друге реакције, коју катализује цитосолни ензим биливердин редуктаза, долази до редукције централног метиленског моста биливердина, услед чега се биливердин претвара у билирубин [55].

Билирубин који је створен у ретикулоендотелијалним ћелијама је растворљив у мастима и скоро нерастворљив у води. Како би се транспортовао у крв, мора се растворити, што се постиже реверзибилним, нековалентним везивањем за албумин. Билирубин се затим транспортује у јетру, где њега, али не и албумин, преузимају хепатоцити помоћу посебног носача трансмембранског транспорта. Иако је идентификовано неколико потенцијалних транспортера, ниједан још увек није клониран. У хепатоцитима, билирубин се спаја са глутатион-С-трансферазама (раније познате као лигандини). Билирубин се затим раствара путем коњугације са глукуронском киселином, стварају се билирубин моноглукуронид и диглукуронид, оба под називом билирубини са директним дејством. Коњугација глукуронске киселине са билирубином се катализује путем ензимског система у ендоплазматичном ретикулуму хепатоцита који преноси глукуронску киселину из уридин-дифосфат глукуронске киселине до ацилних група бочних ланаца пропионске киселине билирубина. Коњугати билирубина се затим активно преносе из хепатоцита у каналикуларну жуч транспортом који зависи од аденозин трифосфата што је корак који ограничава брзину хепатичког излучивања билирубина. У овом процесу посредује протеин у каналикуларној мембрани

жучи који се зове протеин вишеструке резистенције на лекове. Коњуговани билирубини се одводе из жучних путева у дванаестопалачно црево и преноси се дистално кроз црева. У дисталном илеуму и дебелом цреву, коњуговани билирубини се хидролизују у некоњугован билирубин помоћу бактеријских бета-глукуронидаза. Некоњуговани билирубин се редукује помоћу нормалних цревних бактерија како би формирао групу безбојних тетрапиурола који се зову уробилиногени. Приближно 80-90% ових производа се излучује у измет, било неизмењени или оксидовани у наранџасте деривате који се зову уробилини. Преосталих 10-20% уробилиногена се пасивно апсорбује, улази у крв порталне вене и поново се излучује путем јетре. Мали део, углавном мање од 3 mg/dL, избегава хепатичко преузимање, филтрира се кроз бубрежни гломерул и излучује се урином. Бубрежно излучивање уробилиногена је компликовано, делом јер је уробилиноген слаба киселина која се пасивно разлива преко бубрежног тубула када је у свом недисосованом облику [75].

Билирубин који је нормално присутан у серуму представља равнотежу између инпута из производње и отклањања пигмента путем јетре. Хипербилирубинемичка може стога бити резултат бројних фактора: прекомерног стварања билирубина; поремећаја преузимања, коњугације или лучења билирубина; регургитације некоњугованог или коњугованог билирубина из оштећених хепатоцита или жучних путева. Повећање некоњугованог билирубина у серуму је резултат прекомерне производње или поремећаја преузимања или коњугације, док је повећање коњугованог билирубина изазвано смањеним излучивањем [56].

Појава некоњуговане хипербилирубинемичке настаје услед превелике производње билирубина, смањеног исцрпљивања или коњугације јетре или као последица оба фактора. Присутна је код генетског дефекта УДП-глукуронилтрансферазе (Гилбертов синдром) [76], Криглер-Најаровог синдрома, реасорпције великих хематома и неефикасне еритропоезе [56]. Високе вредности коњугованог билирубина у серуму се могу наћи код пацијената са вирусним хепатитисом, као и у случајевима хепатоцелуларног исхемијског или токсичног оштећења јетре. Хипербилирубинемичка код акутног вирусног хепатитиса је директно пропорциона степену хистолошког оштећења хепатоцита и дужини трајања болести [77]. Паренхималне болести јетре или непотпуна екстрахепатична опструкција билијарних канала дају нижу вредност билирубина у серуму од оних које се јављају код малигне опструкције заједничког

жучног канала, али ниво може да остане нормалан код инфилтративних болести попут тумора и гранулома [56]. Код здравих, асимптоматских трудница укупне и слободне концентрације билирубина биле су значајно ниже током сва три триместра, а у другом и трећем триместру су забележене смањене вредности коњугованог билирубина [78].

1.4 Моделовање у медицини

1.4.1 Предиктивни модели

Модел клиничког предвиђања може да се примени у различитим случајевима, као што је тестирање високо ризичних појединаца на асимптоматске болести, предвиђање морбидитета и морталитета, доношење одлука о терапији, као и праћење терапијског учинка. Моделирање предвиђања је сложен процес који захтева пажљиве статистичке анализе и компетентну клиничку процену. Нема јасних препорука о развоју модела и валидацији али су кључни следећи процеси: начин одабира података, управљање варијаблама, фомирање модела и провера (валидација) модела. У клиничкој пракси се могу користити модели који поседују адекватну предиктивност. Модели се баве комбиновањем већег броја параметара са циљем да се дефинише релативни утицај појединачних варијабли. Клинички подаци засновани на доказима који су евидентирани кроз рандомизована контролисана испитивања, мета-анализе и прегледе објављених радова из клиничке области су извори потребних података [79].

Модели морају бити специфични како би обезбедили добру процену активности, али и релативно једноставни за кориснике. Модели који су комплексни за коришћење, одузимају превише времена или су скупи, не налазе широку примену у клиничкој пракси [79].

Иако тренутно нема консензуса о идеалном начину изградње модела предвиђања, Група за развој стратегије-*Prognosis Research Strategy (PROGRESS)* предложила је низ мера за побољшање квалитета и подстицај развоја модела [80-81].

Процес формирања модела у медицини (медицински моделинг) се састоји из 5 фаза: (1) циљ дефинисања модела, (2) селекција података, (3) управљање варијаблама, (4) формирање модела и (5) провера модела и интерна и екстерна валидација. У оквиру

прве фазе потребно је дефинисати циљ будућег медицинског модела. Циљ медицинског моделирања је развој тачног и корисног модела са већим бројем варијабли за клиничку примену. У следећој фази је потребно извршити селекцију улазних података за развој модела, при чему треба нагласити да не постоје општа правила за процену квалитета података, већ је потребно трагати за најприкладнијим скупом података. У оквиру треће фазе треба извршити процену и одабир најважнијих варијабли које ће поседовати задовољавајућу сензитивност. Укључивање више од 10 варијабли/питања може смањити ефикасност, предиктивност и погодност модела предвиђања. Након тога следи фаза у којој се врши формирање дефинисаног модела, при чему су доступне различите стратегије са статистичким алатима које омогућавају развој коначног модела предвиђања. Коначно, за саму имплементацију модела обично је потребна веб или компјутерска платформа. У супротном, у каснијој фази, истраживачи могу претворити модел у *user-friendly* формат категоризацијом неких варијабли, ако то не ремети предиктивни капацитет модела [79-81].

Неке од статистичких мера за евалуацију модела су [82]: (1) сензитивност и специфичност (*sensitivity and specificity*), (2) дискриминација (*ROC/AUC*) (*discrimination (ROC/AUC)*), (3) предиктивне вредности (позитивне и негативне), (4) коефицијент вероватноће (позитиван и негативан), (5) статистичка значајност (*p* вредност), (6) магнитуда удруживања (β коефицијент), (7) *Odds Ratio (OR)*.

Апликације на вебу или смартфону могу бити добри путеви за доступност модела широкој клиничкој пракси [82].

1.4.2 Рачунарски модели

Рачунарски модели имају примену у клиничкој пракси. Могу бити корисни за боље разумевање настанка болести, за процену клиничке ефикасности и економичности постојеће дијагностике, а користе се и током процеса развоја лекова и развоја нових дијагностичких метода. Омогућавају тумачење сложених података о процесима у организму.

Статистички модели су веома коришћени алати који су неопходни у дијагностици, и често се користе за повезивање клиничких тестова са исходима болести.

Један пример је дијагностички калкулатор за Сјогренов синдром, системску аутоимуноу болест, који се заснива на клиничким и лабораторијским варијаблама [83].

Поред статистичких модела, и други типови модела су коришћени за повезивање клиничких мерења директно са резултатима болести. На пример, *ProstAsure Index* користи вештачку анализу неуронских мрежа за анализу серумских параметара у циљу постављања дијагнозе карцинома простате [84]. *Schneider* и сарадници су у студији [49] користили логички систем како би дијагностиковали туморе плућа на основу серумских маркера.

Други пример је група модела вероватноће, који су погодни за истраживање утицаја случајне варијације у датом биолошком систему. Модел специфицира биолошке процесе, укључујући и вероватноће које се дешавају у процесу. Пример оваквог модела је ензимска реакција у којој реагенси имају одређену вероватноћу да реагују са ензимом уместо фиксне брзине одигравања реакције [86].

Бајесовске мреже су модели који комбинују коришћење откривених података уз интегрирање биолошких знања у тумачење сложених процеса [51]. Бајесовске мреже се могу користити за опис приближних односа између веза који представљају биолошке ентитете, као што су нивои *iRNK*, протеина или метаболита.

1.4.3 Имплементација модела

Најбоља стратегија за имплементацију модела зависи од врсте модела који се гради. За статистичке моделе, доступан је велики број пакета. За Бајесовске моделе, најчешће коришћен пакет је *Baies Net* за *MATLAB*, али постоје и друге опције. За *ODE* моделе постоји много различитих окружења за моделирање. Код биохемијских модела који се често се раде као *ODE*, истраживачи су се сложили са стандардним начинима формулисања својих модела, названих *SBML* и *CELLML*. Више општих окружења за моделовање као што су *Oktave*, *MATLAB*, *FreeMAT* и други омогућавају већу флексибилност у формулацији модела, али су такође сложеније за рад и захтевају вештине програмирања [88].

1.5 Калкулатори који се користе у дијагностици обољења јетре

Код пацијената са идентификованом дисфункцијом јетре, процена узрока абнормалних вредности тестова јетрене функције обично је први корак ка препознавању етиологије болести јетре и утврђивања прогнозе. Код асимптоматских пацијената повишење јетрених ензима често је први доказ болести јетре [89]. Међутим, недостатак специфичности може ограничити дијагностичку вредност изолованих тестова функције јетре. Алкална фосфатаза се може повећати код поремећаја костију и јетре, а аминоксидотрансферазе се могу повећати код многих болести срца, скелетних мишића као и код обољења јетре. Током хроничних болести, као што је алкохолна болест јетре, на серумски албумин могу утицати многи фактори који нису директно повезани са главним узрочником болести (нпр. неухрањеност, малапсорпција, хронична запаљења) [89-90]. Повећане серумске вредности гама-глутамил трансферазе могу одражавати болести јетре, билијарног тракта и панкреаса [91]. Продужено протромбинско време није специфично за обољења јетре и види се у различитим урођеним недостацима фактора коагулације, као и у стеченим условима. Тестови јетрене функције такође имају недовољну сензитивност и код одређених болести јетре као што је цироза, рана фаза може бити присутна без абнормалности тестова јетрене функције [92]. Једноставни тестови јетрене функције не пружају довољно података и не могу дати специфичну дијагнозу. Комбинација тестова и образаца абнормалности може да прикаже општу категорију дисфункције јетре [93-95].

Модел за крајње болести јетре (*Model for End-Stage Liver Disease-MELD*) је калкулатор који користи лабораторијске параметре (креатинин, билирубин, *INR*) како би пројектовао стање хроничне болести јетре у датом тренутку, као и потребу за трансплантацијом. Педијатријски модел за крајње болести јетре (*The Pediatric End-Stage Liver Disease (PELD) model*) представља модификовану формулу за децу до 12 година старости. Оригинална верзија је израђена на клиници Мајо, али има неколико адаптација [96-98].

FibroTest[®], *Fibrosure*[®] и *Enhanced Liver Fibrosis*[®] су математичке формуле које се користе за оцену фиброзе јетре [99-101].

Израђен је модел где се вредности *ALT*-а, *AST*-а и креатин киназе користе за дијагностичке, диференцијалне дијагностичке и прогностичке сврхе код пацијената са неким облицима мишићне дистрофије, као што је Дишенова мишићна дистрофија [102].

Такође, у студији *Allen LA* и сарадника [103] вредности лабораторијских тестова функције јетре су коришћени у мултиваријабилном моделу за предвиђање дуготрајног исхода болести. Међутим, ниједан досадашњи калкулатор није развијен тако да омогући откривање етиолошког узрочника оштећења јетрене функције.

Процена и праћење фиброзе и цирозе јетре су се традиционално обављале биопсијом јетре. Међутим, током последњих 20 година постало је очигледно да је овај „златни стандард“ несавршен. У тражењу нових решења направљени су неинвазивни калкулатори, формуле и визуелне методе. Основне предности ових начина процене су боља толеранција, безбедност за пацијента, и могућност понављања. Већина ових метода је значајно јефтинија од поступка биопсије јетре. Сходно томе, њихова употреба расте, а у неким земљама број изведених биопсија, бар за рутинску процена хепатитиса Б и Ц, нагло је опао. И поред контраверзних ставова, има доказа да би неинвазивне методе могле бити једнако добре као биопсија јетре. Нови експериментални маркери и технике приказа могли би да донесу драматичне промене у дијагнози обољења јетре у блиској будућности [99-100].

Серумски параметри који се користе у форми калкулатора су ензими или друге молекули који се стварају у јетри или у другим ткивима и везани су за биохуморалне промене у процесу фиброзе и цирозе су следећи.

- *AST/ALT* однос, који се изражава кроз *De Ritis* индекс [104-105].
- *APRI* индекс, за чију калкулацију су потребни *AST* и број тромбоцита. Однос *AST*-а и броја тромбоцита је један од једноставнијих дијагностичких калкулатора, који се рачуна према следећој формули: $APRI = [AST \text{ вредност} / 40 / \text{број тромбоцита} (10^9/L)] \times 100$. Користи се за процену фиброзе код хепатитис Ц вирусне инфекције и неалкохолног стеатохепатитиса [106-107].
- *The Fibrosis-4 (Fib-4) Index - 4*, у чију калкулацију улазе следећи параметри: *AST*, *ALT*, узраст и број тромбоцита. Примењује се за процену степена фиброзе код хепатитис Б вирусне инфекције и хепатитис Ц вирусне инфекције [108-110].

- *FibroTest*[®], где се комбинује следећих пет параметара: алфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, хаптоглобин, гама-глутамилтрансфераза и билирубин. Развијен је и валидиран за процену хроничне хепатитис Ц вирусне инфекције [111-112].
- *PGA* и *PGAA* индекс (комбинација протромбинског времена (*PT*), гама-глутамил трансферазе (*GGT*), нивоа аполипопротеина А1 (*Apo-A1*) и алфа-2 макроглобулина (*A2M*)), нивоа серумске хијалуронске киселине (*HA*) [113]. *PGA* и *PGAA* индекс користе следеће тестове: *PT* (специфични тест за озбиљну болест јетре), *GGT* (осетљив тест алкохолне болести јетре), *Apo-A1* и *A2M* (тест за фиброзу јетре) у скали 0-4. *PGA* индекс се креће од 0 до 12. Када је $PGA \geq 2$, вероватноћа цирозе је 0%, а вероватноћа нормалног налаза или минималних промена на јетри 83%. Уколико је $PGA \geq 9$, вероватноћа нормалног налаза или минималних промена на јетри је 0%, а вероватноћа цирозе је 86%. *PGA* индекс може бити корисно за клиничаре опште праксе у идентификацији пацијената са високим ризиком за тешку алкохолну болест јетре [114].

Детаљнији приказ неких од наведених тестова укључујући податке за њихову сензитивност и специфичност је приказан у Табели 1.

Табела 1. Дијагностичка тачност утврђених серумских маркера [101].

Тест	Параметри	Прогноза	Сензитивност	Специфичност	AUROC
APRI	AST, број тромбоцита	Значајна фиброза	81	55	0.77
		Цироза	77	75	0.84
FIB-4	AST, број тромбоцита, ALT, узраст	Значајна фиброза	64	68	0.74
		Цироза	90	58	0.87
Fibrotest	алфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, хаптоглобин, GGT и билирубин	Значајна фиброза	92	38	0.79
		Цироза	83	76	0.86
Форнсов индекс	број тромбоцита, узраст, GGT, холестерол	Значајна фиброза	88	52	0.76
		Цироза	98	27	0.87
Нерасcore	Билирубин, GGT, хијалуронан, алфа-2-макроглобулин, узраст, пол	Значајна фиброза	-	-	0.75
		Цироза	65	86	0.92
FibroMeter	Број тромбоцита, PT, AST, алфа-2-макроглобулин	Значајна фиброза	66	79	0.79
		Цироза	72	86	0.89
НА	хијалуронан	Значајна фиброза	69	81	0.82
		Цироза	62	87	0.90

Остали калкулатори који се користе за процену јетрене функције у појединим суспектним болестима су следећи.

- Мадријева дискриминативна функција за алкохолни хепатитис. У калкулацију ове функције су урачунати вредности протромбинског времена (пацијента и контроле) и вредности билирубина. Резултати изнад 32 указују на лошу прогнозу и да овим пацијентима може помоћи терапија кортикостероидима.

- Глазгов индекс за алкохолни хепатитис. За израчунавање овог индекса су потребне вредности протромбинског времена, билирубина и податак о старости пацијента. Високи индекс указује на лошу прогнозу са могућим леталним исходом [115].
- Калкулатор за процену Вилсонове болести се израчунава на основу следећих података: присуство *Kayser-Fleischer* прстенова, присуство неуролошких симптоми, ниво серумског церулоплазмина, ниво бакра у јетри, ниво барка у урину, генетска анализа [29].

1.6 Процена степена фиброзе методама снимања

Друге методе и технике које се користе у процени стања и степена оштећења јетре су:

- магнетна резонанција (*MR*) је метода која се рутински користи и може да буде: конвенционална магнетна резонанција, *MR* еластографија, *T1* мапирање јетре [116];
- компјутеризована томографија (*CT*) са техникама као што су: Префузиона *CT* или Фибро *CT* [117];
- ултразвучна дијагностика (*УЗ*) која може да буде: конвенционални *УЗ*, контрастни *УЗ*, еластографија, *Real-time* еластографија, *TE*, *SSWE*, *ARFI* [116].

1.7 Нерешени проблеми у дијагностици узрока оштећења јетре

Болест јетре се развија тихо, не мора бити знакова или симптома све док се не развију компликације или портна хипертензија. У овој касној, често претерминалној фази, тестови - билирубин, албумин, протромбински време (*INR*) и број тромбоцита могу бити абнормални. У болестима јетре праћеним некрозом и запаљењем ензими су повишени, док код апоптозних обољења, укључујући масне инфилтрације јетре (алкохолне или неалкохолне), ензими јетре могу бити нормални или повишени. Лабораторијски тестови јетрене функције проверавају се рутински и у примарној и секундарној здравственој заштити са циљем (1) искључивања болести јетре, (2) за праћење потенцијалних штетних ефеката лекова на јетру, или (3) у склопу испитивања

општег стања пацијента [118]. Ови тестови, међутим, често имају резултат чији је клинички значај нејасан. У многим случајевима постоји недовољна повезаност између симптома и вероватноће обољења јетре [119]. Честа су накнадна испитивања серумских параметара јетрене функције код иначе асимптоматских појединаца, а већина пацијената упућених у болницу са абнормалним тестовима јетре нема доказа о значајној болести јетре [6]. Тако је у току 2016. године у Универзитетску болницу у Бирмингему стигло 130849 захтева за тестирање јетрене функције, а резултати су показали да је код чак 38636 налаза пронађена најмање једна вредност неког од параметара функције јетре која је била изван референтног опсега. Слично, у студији *Donnan PT, et al* [121] која је спроведена у Шкотској је показано да су за период од 10 година тестови јетрене функције рађени код 25% популације старије од 16 година, при чему је око трећина испитаника имала најмање једну абнормалну вредност. Иако абнормалне вредности *AST*-а и *ALT*-а имају висок ниво предикције на обољење јетре ($HR=4,2$), стопа детекције је била изузетно ниска, а само код 3,9% особа са абнормалном вредношћу дијагностикована је значајна болест јетре у року од 5 година од теста.

Лабораторијска испитивања имају важну улогу у процени озбиљности обољења јетре, као што је то случај при коришћењу протромбинског времена за идентификовање акутне инсуфицијенције јетре код пацијената са акутним обољењем или оштећењем јетре. Код хроничних обољења, као што је алкохолна болест јетре, уобичајена испитивања као што је одређивање вредности серумског албумина нису довољно специфична, јер поред оштећења функције јетре, повишене вредности серумског албумина могу бити последица потхрањености, малапсорпције или неког хроничног запаљења. Лабораторијским тестовима често недостаје специфичност, што може да ограничи њихову примену при постављању дијагнозе. Повишене вредности алкалне фосфатазе јављају се код болести јетре, али и болести костију. Повишене вредности трансаминаза евидентирају се код различитих обољења јетре, али и код кардиоваскуларних болести и код оштећења скелетних мишића. Добијене вредности ензима јетре нису у корелацији са степеном фиброзе или степеном оштећења метаболичке функције јетре, па тако пацијенти са цирозом могу бити без абнормалних вредности јетрених тестова [6].

Постоји слаба корелација између обима некрозе ћелија јетре и раста нивоа трансаминаза у серуму код хроничних болести јетре. Слично томе, апсолутни раст нивоа

трансаминаза је од мале вредности у предвиђању исхода акутних хепатоцелуларних поремећаја. Брза смањења нивоа аминотрансферазе у серуму су углавном знак опоравка од болести, али могу бити и лош прогностички знак код акутне инсуфицијенције јетре. Повећана активност трансаминаза је међу првим лабораторијским абнормалностима које се откривају у раним фазама вирусног хепатитиса. Код пацијената са жутицом због хепатитиса, раст нивоа серумског билирубина углавном заостаје за повећањем нивоа трансаминаза за око 1 недељу. Стога, нивои трансаминаза често опадају како се повећава ниво билирубина. Нивои трансаминаза стабилно опадају током опоравка од вирусног хепатитиса. Секундарна повећања нивоа трансаминаза или упоран раст могу указати на поновно јављање акутног хепатитиса или развој хроничног активног хепатитиса [58, 59, 61].

Однос *AST:ALT* може бити од помоћи за препознавање алкохолне болести јетре. Ако је *AST* мањи од 400 IU/L и ако је однос *AST:ALT* преко 2, онда то указује на алкохолну болест јетре [68]. Увећан однос примарно одражава ниску активност *ALT*-а у серуму код пацијената са алкохолном болешћу јетре. Ово је секундарно у односу на недостатак пиридоксал 5'-фосфата код пацијената са алкохолном болешћу јетре. Синтеза *ALT*-а у јетри захтева пиридоксал 5'-фосфат више него синтеза *AST*-а. Измењен однос *AST:ALT* у серуму чини се да одражава измењене односе у јетри. Повећање вредности *ALT*-а и *AST*-а у серуму које је мање од очекиваног код алкохолне болести јетре не може се објаснити само кроз призму смањених концентрација у јетри. Ово постаје очигледно кад пацијент са алкохолном болешћу јетре има истовремено и срчану инсуфицијенцију, вирусни хепатитис или хепатотоксичност изазвану лековима, нарочито парацетамолом. У таквим ситуацијама, нивои *AST*-а и *ALT*-а у серуму могу да скоче и до више хиљада. Упркос упечатљивом расту, однос *AST:ALT* остаје повећан и типичан за алкохолну болест јетре [56].

Повишене вредности трансаминаза у серуму нису специфичне за хепатобилијарне поремећаје. Такође се срећу код пацијената са озбиљним оштећењем срчаног и скелетног мишића. Ниво *AST*-а је чешће повећан код пацијената са инфарктом миокарда него ниво *ALT*-а. Приметна повећања *AST*-а и *ALT*-а (>5000 IU/L) код пацијената са озбиљним срчаним болестима вероватно настају као последица исхемије јетре са центрилобуларном некрозом [37]. Вредности *AST*-а и *ALT*-а код болести мишића су мање од 300 IU/L. Осим у случајевима акутне рабдомиолизе, вредности трансаминаза

ретко достижу опсег примећен код пацијената са акутним хепатоцелуларним поремећајима [45]. Сем тога, нивои трансминаза могу бити лажно повишени или снижени под неким околностима. Лекови као што је еритромицин [121] и парааминосалицилна киселина [122] могу да дају лажно повећане вредности трансминаза ако се користе старији колориметријски тестови. Супротно томе, ниске вредности *AST*-а могу да се јаве код пацијената са уремијом [123].

Алкалне фосфатазе се могу наћи у мембрани коштаних остеобласта, каналикуларним мембранама хепатоцита, ћелијама слузокоже танког црева, проксималном тубулу бубрега, плаценти и белим крвним зрнцима. Мања повећања активности алкалних фосфатаза, до три пута већа од горње границе, су неспецифична и могу се јавити код свих врста поремећаја јетре (укључујући вирусни хепатитис, хронични хепатитис, цирозу и инфилтрирајуће болести јетре), али и код конгестивне болести срца [65]. Умерена повећања нивоа алкалне фосфатазе хепатичког порекла могу се јавити у поремећајима који не укључују директно јетру, као што су Хоџкинова болест, мијелоидна метаплазија, конгестивна срчана инсуфицијенција, абдоминалне инфекције и остеомијелитис. Неке породице такође могу имати повећане нивое серумске алкалне фосфатазе који су генетског порекла [123-125].

Албумин, који је квантитативно најважнији протеин плазме, се синтетише искључиво у јетри. Хипоалбуминемија није специфична за болест јетре и може се јавити код недостатка протеина у исхрани из било ког разлога, као што је ентеропатија са губитком протеина, хронична инфекција или нефротски синдром [65].

Продужено протромбинско време није специфично за болести јетре и среће се код различитих урођених недостатака фактора коагулације и у стеченим стањима, укључујући уношење лекова који утичу на протромбински комплекс. Када су претходно наведени услови искључени, продужено протромбинско време може бити последица било хиповитаминозе К - која се среће код пацијената са продуженом опструктивном жутицом, стеаторејом, недостатком у исхрани или узимањем антибиотика који мењају интестиналну флору, било лоше искоришћености витамина К због болести паренхима јетре [72-74].

Укупни ниво серумског билирубина није осетљив показатељ дисфункције јетре и може погрешно да одрази степен оштећења јетре. Хипербилирубинемиа може проћи неоткривена у случајевима умереног до озбиљног оштећења јетреног паренхима или

делимично или кратко опструираног холедохуса. Овај недостатак осетљивости је делом објашњен праћењем промена које се дешавају када се инфузије некоњугованог билирубина примене код здравих особа и код пацијената са некомплицованом хемолизом. Ова запажања сугеришу да је капацитет људске јетре да уклони билирубин из серума пре појаве хипербилирубинемije најмање двоструко већи од дневног оптерећења пигментом. Концентрација билирубина у серуму може понекад да се пролазно смањи уз присуство супстанци као што су салицилати, сулфонамиди или слободне масне киселине у серуму, које ометају везивање билирубина за албумин у плазми и појачавају трансфер пигмента у ткива [56,75,77,78]. Насупрот томе, повећање концентрације албумина у серуму може изазвати привремени трансфер билирубина из ткива у крвоток [77].

2 ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1 Главни циљеви

Главни циљ је израда и анализа математичког модела за процену узрока абнормалних вредности лабораторијских тестова оштећења јетрене функције.

2.2 Хипотеза испитивања

Модел за процену узрока абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције који буде израђен у овој студији ће на валидационој групи пацијената показати сензитивност већу од 80% и специфичност већу од 70%.

3 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 Врста студије

Студија се бави испитивањем узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова оштећења јетрене функције коришћењем математичког модела. Модел је пробабилистичког карактера, где су улазни параметри уношени у виду дистрибуције највероватнијих вредности са унапред одређеним карактеристикама. Излази из модела

су добијени на основу статистичке анализе великог броја (више од 1000) појединачних резултата модела добијених случајним узорковањем вредности улазних варијабли.

Модел абнормалних резултата лабораторијских тестова јетрене функције за одређену етиологију оштећења јетре добијен је из дистрибуције стварних вредности преузетих из медицинске литературе о пацијентима чија је етиологија оштећења јетре доказана поузданим дијагностичким тестовима (златни стандарди за сваку специфичну дијагнозу). Спроведено је свеобухватно и систематско претраживање литературе у *MEDLINE* бази података о абнормалним резултатима серумских параметара јетрене функције. Резултати претраге укључивали су 5867 публикација из категорије клиничких испитивања, серија случајева или студија случаја. Модел је заснован на насумично изабраном узорку од 1100 публикација чији су резултати додатно пондерисани према величини узорка пацијената. Излазне варијабле модела су добијене на основу анализе великог броја (више од 1000) резултата појединачних модела добијених случајним узорковањем вредности улазних варијабли (*bootstrapping*). Улазне варијабле су: серумске вредности аланин-аминотрансферазе (ИЈ/Л), аспартат-аминотрансферазе (ИЈ/Л), билирубина (mmol/L), алкалне фосфатазе (ИЈ/Л), гама-глутамил трансферазе (ИЈ/Л) и албумина (g/L), као и протромбинско време по *Quick-u*, подаци о дуготрајном узимању алкохола, присуству гојазности, дијабетеса, хиперлипидемије, интензивном физичком напору, нивоу тиреостимулишућег хормона и употреби лекова и препарата на бази биљака.

Модел даје излаз у облику највероватнијег етиолошког оштећења јетре или дијагнозе рангиране вероватноћом узрочности: акутни хепатитис, хронични хепатитиси, неалкохолни стеатохепатитиси, алкохолна болест јетре, аутоимуне болести јетре, метаболичке болести, токсични и медикаментозни хепатитиси, миопатије, срчане болести, хипертиреозидизам.

Модел функционише по принципу подударности степена позитивности параметара клиничког стања болесника који има лезију јетре са степеном у коме су такве промене параметара описане у научној медицинској литератури. Параметри клиничког стања се вреднују бинарно (1 - има значајне промене и 0 - нема значајне промене), као и вредности параметара у оквиру одређеног описаног клиничког ентитета (1 - описана је значајна промена, 0 - није описана значајна промена). У зависности од тога колики проценат од укупног броја публикованих студија, које описују одређену промену

параметра, је утврдио да се параметар мења и обрнуто, тј. да ли прелази одређени процентуални праг (позитивног или негативног налаза), том параметру се додељује вредност 1 (преко прага позитивних вредности), 0 (преко прага негативних вредности) или се уопште не додељује. Најзад, комбинација вредности појединачних параметара болесника се пореди са оствареном комбинацијом вредности параметара описаних у литератури за одређену дијагнозу, па модел даје резултат да клиничка слика одговара одређеној дијагнози, тј. указује на дијагнозу која се највише слаже са клиничком сликом болесника. Модел је сачињен у програму *Microsoft Excel*, верзија 2007, уз употребу Булових оператора, функција "*if-than*" и других општих функција тог програма.

После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго) у оквиру ретроспективне, опсервационе, пресечне (*cross-section*) студије.

3.2 Популација која се истражује

Модел се односио на пацијенте оба пола, старости од 18 до 65 година година.

Укључујући критеријуми:

1. пацијенти са абнормалним лабораторијским вредностима тестова јетрене функције код којих је постављена дефинитивна дијагноза узрока абнормалних вредности на отпусној листи и/или на извештају одговарајућег специјалисте (група са утврђеним узроком);
2. пацијенти са абнормалним лабораторијским вредностима тестова јетрене функције код којих није постављена дефинитивна дијагноза узрока абнормалних вредности на отпусној листи и/или на извештају одговарајућег специјалисте (група без утврђеног узрока);

Искључујући критеријуми:

1. пацијенти са некомплетном медицинском документацијом код којих се не могу проценити вредности улазних варијабли у модел;
2. пацијенти са нормалним вредностима тестова јетрене функције;
3. пацијенти млађи од 18 година;

4. труднице и жене у лактацији;
5. пацијенти који нису потписали информативни пристанак.

3.3 Узорковање

У оквиру модела вршено је узорковање вредности улазних варијабли по принципу генерисања случајних бројева.

Пацијенти су укључени у валидациону групу по принципу „згодног“ узорка, с обзиром да због ограничених ресурса истраживача није могуће изабрати прост или кластер случајан узорак. Међутим, узорак је био консекутиван, тј. сви пацијенти који су били третирани на месту истраживања током времена испитивања били су укључени у студију. Студија валидације модела је спроведена од 1. септембра 2015. до 28. фебруара 2016. године на Војномедицинској академији у Београду. Подаци су сакупљани из медицинске документације. Анонимност коришћених података обезбеђена је протоколом и процедурама студије. Пацијенти су били укључени у валидациону групу по принципу „згодног“ узорка, јер због ограничених ресурса истраживача није било могуће изабрати једноставни или кластер случајни узорак. Студију је одобрио Стручни одбор здравствене институције у којој је спроведена студија, а студија је спроведена у складу са смерницама Хелсиншке декларације.

3.4 Варијабле које се мере

Улазне варијабле које су мерене у студији: серумске вредности аланин-аминотрансферазе *ALT* (U/L) и аспартат-аминотрансферазе *AST* (U/L), серумски билирубин (mmol/L), алкална фосфатаза (U/L), гама-глутамилтрансфераза (U/L), серумске вредности албумина (g/L), протромбинско време по *Quicki*, дуготрајно узимање алкохола, гојазност, дијабетес, хиперлипидемија, употреба лекова и препарата на бази биљака, ниво *TSH*, интензиван физички напор.

Ислазне варијабле су највероватнији узроци, односно дијагнозе, поређани по вероватноћи узрочности: акутни хепатитис, хронични хепатитиси, неалкохолни стеатохепатитиси, алкохолна болест јетре, аутоимуне болести јетре, метаболичке

болести, токсични и медикаментозни хепатитиси, миопатије, срчане болести, хипертиреоидизам.

3.5 Снага студије и величина узорка

Пошто се провера овог модела спроводи као одређивање његове сензитивности и специфичности, величина групе се израчунава на основу жељене снаге студије, вероватноће грешке првог типа, претпостављене сензитивности или специфичности и граница поверења за претпостављену вредност (нивоа и ширине). У овом случају жељена снага студије је 80%, вероватноћа грешке првог типа (алфа) је 0.05, претпостављена вредност сензитивности је 80%, ниво граница поверења $1.96*SE$, а ширина интервала поверења $\pm 10\%$. На основу ових параметара, уз коришћење *Hulley* таблица (12) излази да је потребна величина узорка пацијената са абнормалним вредностима тестова функције јетре и познатим узроком 61 пацијент. У групи пацијената са абнормалним вредностима тестова функције јетре и непознатим узроком, код којих је очекивана вредност сензитивности 70%, уз исте остале параметре потребан је 81 пацијент.

3.6 Статистичка обрада података

Вредности излазних варијабли су обрађиване статистички, уз употребу дескриптивне статистике (средња вредност, стандардна девијација, медијана и опсег). Схематски приказ за одређивање сензитивности и специфичности модела дат је у Табели 2.

Табела 2: Схематски приказ за одређивање сензитивности и специфичности модела

		Утврђен узрок абнормалних вредности функције јетре		Укупно
		Да	Не	
Модел указује на узрок абнормалних вредности тестова јетрене функције	Да	а	б	а + б
	Не	ц	д	ц + д
Укупно		а + ц	б + д	а + б + ц + д

Прорачун је вршен према следећим формулама:

- сензитивност = $a/(a+c) = 731/809 = 90\%$;
- специфичност = $d/(b+d) = 1500/1770 = 85\%$;
- однос могућности (*likelihood ratio LR*) за позитиван исход теста = $OM+ = \text{сенз}/(1-\text{спец}) = 90\%/15\% = 6$;
- Однос могућности (*likelihood ratio LR*) за негативан исход теста = $OM- = (1-\text{сенз})/\text{спец} = 10\%/85\% = 0,12$;
- позитивна вредност предвиђања = $a/(a+b) = 731/1001 = 73\%$;
- негативна вредност предвиђања = $d/(c+d) = 1500/1578 = 95\%$;
- преваленца = $(a+c)/(a+b+c+d) = 809/2579 = 32\%$;
- однос пре теста (*pre-test odds*) = преваленца / (1-преваленца) = $31\%/69\% = 0,45$;
- однос после теста (*post-test odds*) = однос пре теста x однос могућности;
- вероватноћа после теста = однос после теста / (однос после теста + 1).

Сви подаци резимирани су адекватним методама дескриптивне статистике. Бројеви и проценти су коришћени за категоричне варијабле, док је старост у годинама као континуирана варијабла представљена као опсег (минималне-максималне вредности), медијана и интерквartilни опсег, јер дистрибуција није била нормална према

Kolmogorov-Smirnov-ом тестирању. Разлика између мушкараца и жена у старосном опсегу (групама) испитана је помоћу *Mann-Whitney U* теста. Криве пријемник-оператер (*ROC*) су конструисане на основу процента преклапања између шаблона абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције за одређену дијагнозу и стварне абнормалне вредности тестова јетрене функције код пацијената. Површине испод кривих (*AUC*) и граничне вредности (*Manhattan distance*) показале су одговарајућу осетљивост и специфичност, позитивне и негативне предиктивне вредности (*PPV* и *NPV*), позитивне и негативне односе вероватноће (*LRs*); такође, израчунате су и *pre-test* и *post-test* за сваку релевантну дијагнозу. Релативни допринос улазних параметара у најчешћим дијагнозама тестиран је логистичком регресијом. Ниво значајности постављен је на 0,05. Све анализе извршене су коришћењем *SPSS* софтверског пакета верзија 20.0 (*SPSS Inc., Chicago, Illinois, US*) и онлине калкулатора *Manhatann* (доступно на: <http://molpath.charite.de/cutoff/>).

4 РЕЗУЛТАТИ

4.1 Основне карактеристике пацијената

У делу студије који је проверавао дијагностичку вредност конструисаног модела у стварним условима учествовало је укупно 145 пацијената и то 84 пацијената мушког пола (57,9%) и 61 пацијената женског пола (42,1%). Подаци о старости учесника у студији према полу приказани су у Табели 3. Не постоји статистички значајна разлика у старости пацијената мушког и женског пола ($p=0,224$).

Табела 3: Старост учесника у студији према полу

Пол	М	U тест	p
Мушки	47,5	2258,500	0,224
Женски	52		
Легенда: М – средња вредност; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; p – ниво значајности			

Дистрибуција клиничких дијагноза (потврђених применом „златног стандарда“) приказана је у Табели 4.

Табела 4: Број пацијената са потврђеном одговарајућом клиничком дијагнозом

Дијагноза	Број пацијената	%
Акутни хепатитис	17	11,7
Алкохолна болест јетре	11	7,6
Хронични хепатитис	41	28,3
Аутоимуна болест јетре	11	7,6
Неалкохолни стеатохепатитис	15	10,3
Метаболичка болест јетре	3	2,1
Токсични и медикаментозни хепатитис	33	22,8
Срчане болести	5	3,4
Хипертиреозидизам	7	4,8
Миопатија	2	1,4

Дистрибуција потврђених клиничких дијагноза према полу представљена је у Табели 5.

Табела 5: Дистрибуција потврђених клиничких дијагноза према полу (n=145)

Дијагноза	Мушки пол		Женски пол		χ^2 тест (p)
	n	%	n	%	
Акутни вирусни хепатитис	16	94,1	1	5,9	16,733 (0,053)
Алкохолна болест јетре	8	80,0	2	20,0	
Хронични вирусни хепатитис	23	56,1	18	43,9	
Аутоимуна болест јетре	4	33,3	8	66,7	
Не алкохолни стеатохепатитис	11	73,3	4	26,7	
Метаболичка болест јетре	2	66,7	1	33,3	
Токсични и медикаментозни хепатитис	20	60,6	13	39,4	
Срчане болести	2	40,0	3	60,0	
Хипертиреозидизам	2	42,9	4	57,1	
Миопатија	1	50,0	1	50,0	

Легенда: χ^2 – вредност χ^2 теста; p – ниво значајности

Просечне вредности концентрација аланин-аминотрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 6. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација аланин-аминотрансферазе између пацијената мушког и женског пола (p=0,866).

Табела 6: Просечне вредности концентрација аланин-аминотрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Аланин-аминотрансфераза (U/L)	497,0±1057,5	600,3±1264,1	328,1±549,2	2433,500 (0,866)

Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност *Mann-Whitney*-евог U теста; U/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности

Просечне вредности концентрација аспартат-аминотрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 7. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација аспартат-аминотрансферазе између пацијената мушког и женског пола ($p=0,712$).

Табела 7: Просечне вредности концентрација аспартат-аминотрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Аспартат-аминотрансфераза (IU/L)	393,5±878,3	471,6±1064,3	265,9±404,4	2384,500 (0,712)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; IU/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Просечне вредности концентрација билирубина укупно и према полу приказане су у Табели 8. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација билирубина између пацијената мушког и женског пола ($p=0,539$).

Табела 8: Просечне вредности концентрација билирубина укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Билирубин (mmol/L)	64,7±92,2	64,4±86,3	65,2±101,7	1848,000 (0,539)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; mmol/L – милимол по литру; p – ниво значајности				

Просечне вредности концентрација алкалне фосфатазе укупно и према полу приказане су у Табели 9. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација алкалне фосфатазе између пацијената мушког и женског пола ($p=0,120$).

Табела 9: Просечне вредности концентрација алкалне фосфатазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Алкална фосфатаза (ИЈ/Л)	315,8±242,0	279,8±169,5	367,9±314,0	1207,000 (0,120)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; ИЈ/Л – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Просечне вредности концентрација гама-глутамилтрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 10. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација гама-глутамилтрансферазе између пацијената мушког и женског пола (p=0,607).

Табела 10: Просечне вредности концентрација гама-глутамилтрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Гама-глутамилтрансфераза (ИЈ/Л)	145,6±313,5	146,7±347,2	143,7±248,7	1716,500 (0,607)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; ИЈ/Л – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Просечне вредности серумског албумина укупно и према полу приказане су у Табели 11. Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима серумског албумина између пацијената мушког и женског пола (p=0,531).

Табела 11: Просечне вредности серумског албумина укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Серумски албумин (g/L)	34,1±6,6	33,8±7,1	34,5±5,8	446,500 (0,531)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; g/L – грама по литру; p – ниво значајности				

Просечне вредности протромбинског времена укупно и према полу приказане су у Табели 12.

Табела 12: Просечне вредности протромбинског времена укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Протромбинско време (s)	1,14±0,14	1,16±0,16	1,10±0,08	303,500 (0,164)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; s – секунда; p – ниво значајности				

Заступљеност фактора ризика у вези са животним навикама у испитиваној популацији приказани су у Табели 13.

Табела 13: Фактори ризика у вези са животним навикама

Дијагноза	Број пацијената	%
Дуготрајно узимање алкохола	4	2,8
Унос лекова или дрога (ксенобиотици)	5	3,4
Гојазност	8	5,5
Дијабетес	10	6,9
Интензиван физички напор	2	1,4

Табела 14: Фактори ризика у вези са животним навикама према полу (n=145)

Дијагноза		Мушки пол		Женски пол		χ^2 тест (p)
		n	%	n	%	
Дуготрајно узимање алкохола	Не	86	95,6	55	100	2,514 (0,113)
	Да	4	4,4	0	0	
Унос лекова или дрога (ксенобиотица)	Не	85	94,4	55	100	3,165 (0,075)
	Да	5	5,6	0	0	
Гојазност	Не	82	91,1	55	100	5,174 (0,023)*
	Да	8	8,9	0	0	
Дијабетес	Не	80	88,9	55	100	6,564 (0,010)*
	Да	10	11,1	0	0	
Интензиван физички напор	Не	88	97,8	55	100	1,239 (0,266)
	Да	2	2,2	0	0	

Легенда: χ^2 – вредност χ^2 теста; p – ниво значајности; * - статистички значајно

Статистички значајна разлика уочена је у оквиру појаве гојазности ($p=0,023$) и дијабетеса ($p=0,010$). Сви фактори ризика у вези са животним навикама су уочени код пацијената мушког пола.

4.2 Формирање модела

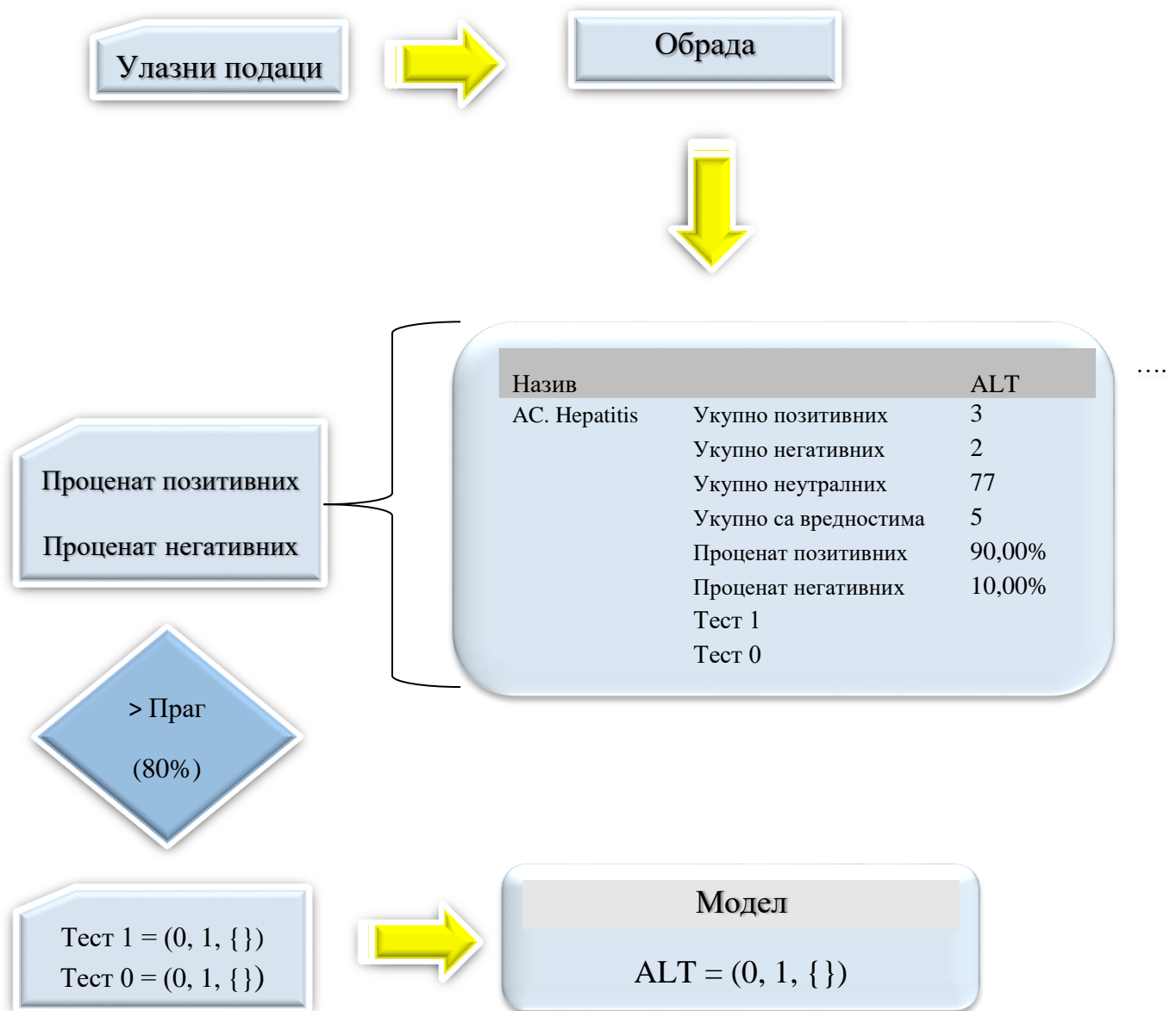
Формирање модела описано је детаљно, по фазама. Прво је описано формирање модела за сваку од дијагноза према унетим подацима из литературе. Улазни параметри коришћени за конструисање модела приказани су у Табели 15, док су дијагнозе за које су конструисани модели приказане у Табели 16.

Табела 15: Улазни параметри коришћени за конструисање модела

Вредности параметара функције јетре	Скраћеница	Вредности
Референца	Ref	Референца податка
Серумске вредности аланин-аминотрансферазе (И/Л)	ALT	(0, 1)
Серумске вредности аспартат-аминотрансферазе (И/Л)	AST	(0, 1)
Серумски билирубин (mmol/L)	BIL	(0, 1)
Алкална фосфатаза (И/Л)	AP	(0, 1)
Гама-глутамил-трансфераза (И/Л)	GGT	(0, 1)
Серумске вредности албумина (g/L)	SALB	(0, 1)
Протромбинско време по Quicku (sec)	PROT	(0, 1)
Дуготрајно узимање алкохола	ALKO	(0, 1)
Унос лекова или дрога (ксенобиотица)	DRUGS	(0, 1)
Гојазност	GOJAZNOST	(0, 1)
Дијабетес	DIJABETES	(0, 1)
Липидемија	HIPERLIP.	(0, 1)
Ниво ТСХ	TSH	(0, 1)
Интензиван физички напор	F NAPOR	(0, 1)
Дијагноза	Dijagnoza	Дијагноза из табеле (1)

Табела 16: Дијагнозе за које су конструисани модели

Дијагноза	Скраћеница
Акутни хепатитис	AC. Hepatitis
Хронични хепатитис	CHR. Hepatitis
Неалкохолни стеатохепатитис	NASH
Алкохолна болест јетре	ALK.bolest jetre
Аутоимуна болест јетре	Autoim.bolest jetre
Метаболичка болест јетре	Metabol.bolest jetre
Токсични и медикаментозни хепатитис	Toks.Imedicam.hepat
Миопатија	Miopatije
Срчана болест	Srcane bolesti
Хипертиреодизам	Hipertireodizam



Слика 1: Алгоритам израде модела предвиђања узрока абнормалних вредности лабораторијских тестова оштећења јетрене функције

4.3 Опис модела

На основу улазних параметара за сваку дијагнозу се рачунају следећи подаци по параметрима:

Укупно позитивних	Број позитивних дијагноза за сваки параметар унетих вредности
Укупно негативних	Број негативних дијагноза за сваки параметар унетих вредности
Укупно неутралних	Број дијагноза које немају параметар у унетим референцама
Укупно са вредностима	Укупан број дијагноза са параметрима (Укупно позитивних +Укупно негативних)
Процент позитивних	Укупно позитивних / Укупно са вредностима
Процент негативних	Укупно негативних / Укупно са вредностима

Уколико проценат позитивних или негативних прелази задати праг (80%), у модел се уписује 1 или 0, уколико су ови проценти испод задатог прага не уписује се никаква вредност у модел.

Скраћеница	Процент позитивних	Процент негативних	Вредност
ALT	60%	40%	{}
AST	20%	80%	{}
BIL	80%	20%	{}
AP	0%	100%	0
GGT	100%	0%	1
SALB	0%	100%	0
PROT	0%	0%	{}
ALKO	0%	0%	{}
DRUGS	0%	0%	{}
GOJAZNOST	50%	50%	{}
DIJABETES	0%	0%	{}
HIPERLIP.	0%	0%	{}
TSH	0%	0%	{}
F NAPOR	0%	0%	{}
Модел дијагнозе	AP=0 GGT=1 SALB=0		

Предвиђање болести функционише по принципу проналажења модела који највише одговара унетим улазним параметрима.

Улазни параметри:

Модел дијагнозе

Скраћеница	Вредности
ALT	(0, 1, {})
AST	(0, 1, {})
BIL	(0, 1, {})
AP	(0, 1, {})
GGT	(0, 1, {})
SALB	(0, 1, {})
PROT	(0, 1, {})
ALKO	(0, 1, {})
DRUGS	(0, 1, {})
GOJAZNOST	(0, 1, {})
DIJABETES	(0, 1, {})
HIPERLIP.	(0, 1, {})
TSH	(0, 1, {})
F NAPOR	(0, 1, {})

Улазни параметри

Скраћеница	Вредности
ALT	(0, 1, {})
AST	(0, 1, {})
BIL	(0, 1, {})
AP	(0, 1, {})
GGT	(0, 1, {})
SALB	(0, 1, {})
PROT	(0, 1, {})
ALKO	(0, 1, {})
DRUGS	(0, 1, {})
GOJAZNOST	(0, 1, {})
DIJABETES	(0, 1, {})
HIPERLIP.	(0, 1, {})
TSH	(0, 1, {})
F NAPOR	(0, 1, {})

Први корак је налажење вредности које се подударају у моделу дијагнозе и у унетим улазним параметрима

Модел дијагнозе	Вредност	Операција	Улазни параметар	Вредност
ALT	{}	=	1	False
AST	{}	=		False
BIL	{}	=		False
AP	0	=	0	True
GGT	1	=	0	False
SALB	0	=	0	True
PROT	{}	=	0	False
ALKO	{}	=	0	False
DRUGS	{}	=	1	False
GOJAZNOST	{}	=		False
DIJABETES	{}	=	1	False
HIPERLIP.	{}	=		False
TSH	{}	=	1	False
F NAPOR	{}	=		False
Σ Слаже се	2			

Следећи корак је дефинисање укупног броја постојећих параметара у моделу и унетих улазних параметара за који тражимо дијагнозу. Овде користимо функцију OR (ИЛИ).

Модел дијагнозе	Вредност	Операција	Улазни параметар	Вредност
ALT	{}	OR	1	True
AST	{}	OR		{}
BIL	{}	OR		{}
AP	0	OR	0	True
GGT	1	OR	0	True
SALB	0	OR	0	True
PROT	{}	OR	0	True
ALKO	{}	OR	0	True
DRUGS	{}	OR	1	True
GOJAZNOST	{}	OR		{}
DIJABETES	{}	OR	1	True
HIPERLIP.	{}	OR		{}
TSH	{}	OR	1	True
F NAPOR	{}	OR		{}
Σ Укупан број параметара	9			

На основу броја параметара који се слажу и укупног броја параметара, одређује се проценат подударања модела и унетих улазних параметара.

$$\% \text{ podudaranja} = \frac{\sum \text{Slაჰe se}}{\sum \text{Ukupan broj parametara}} * 100\%$$

Дијагноза се предвиђа тако што се узима максимална вредност процента подударања за све моделе дијагноза и улазних параметара:

$$\text{Дијагноза} = \text{MAX} (\% \text{ подударања (модел, улазни параметри) }).$$

4.4 Модели

После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на горе представљеном узорку пацијената. У табелама од 17-26 представљени су математички модели за обрађене болести.

Табела 17: Модел за акутни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	8	6	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	112	114	112	118	118	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	8	6	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1									
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1									
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1													

Табела 18: Модел за хронични хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	35	30	16	0	0	9	6	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	84	90	103	120	120	110	113	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	36	30	17	0	0	10	7	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	97,22	100,00	94,12	0,00	0,00	90,00	85,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	2,78	0,00	5,88	0,00	0,00	10,00	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1			1	1							
Тест 0														
Модел	1	1	1			1	1							
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 SALB=1 PROT =1													

Табела 19: Модел за неалкохолни стеатохепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	11	11	0	2	2	0	0	0	0	11	9	11	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	109	109	120	118	118	120	120	120	120	109	111	109	120	120
Укупно са вредностима	11	11	0	2	2	0	0	0	0	11	9	11	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1		1	1					1	1	1		
Тест 0														
Модел	1	1		1	1					1	1	1		
Модел текст	ALT=1 AST=1 AP=1 GGT=1 GOJAZNOST=1 DIJABETES=1 HIPERLIP.=1													

Табела 20: Модел за алкохолни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	12	12	7	2	12	4	2	11	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	108	108	113	118	108	116	118	109	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	12	12	7	2	12	4	2	11	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1	1	1						
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1	1	1						
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1 PROT =1 ALKO=1													

Табела 21: Модел за аутоимуноу болест јетре

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJAB ETES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	18	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	102	105	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	18	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1												
Тест 0														
Модел	1	1												
Модел текст	ALT=1 AST=1													

Табела 22: Модел за метаболичку болест јетре

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	6	6	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	114	114	118	118	118	119	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	6	6	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1								
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1								
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1													

Табела 23: Модел за токсични и медикаментозни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	13	13	5	9	11	0	0	0	13	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	107	107	115	111	109	120	120	120	107	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	13	13	5	9	11	0	0	0	13	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1				1					
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1				1					
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 DRUGS=1													

Табела 24: Модел за миопатију

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	116	116	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	116
Укупно са вредностима	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1												1
Тест 0														
Модел	1	1												1
Модел текст	ALT=1 AST=1 F NAPOR=1													

Табела 25: Модел за срчане болести

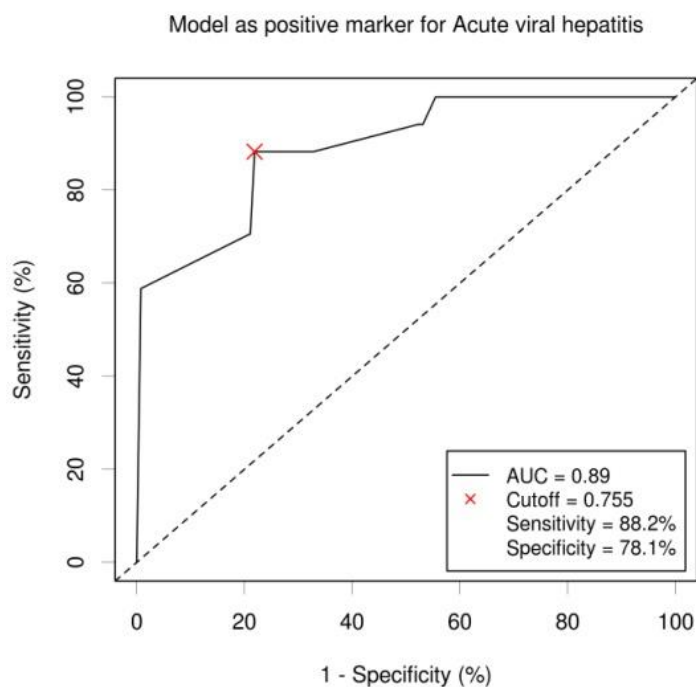
	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	5	6	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	114	114	117	117	117	119	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	6	6	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	83,33	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	16,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1								
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1								
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1													

Табела 26: Модел за хипертиреозидизам

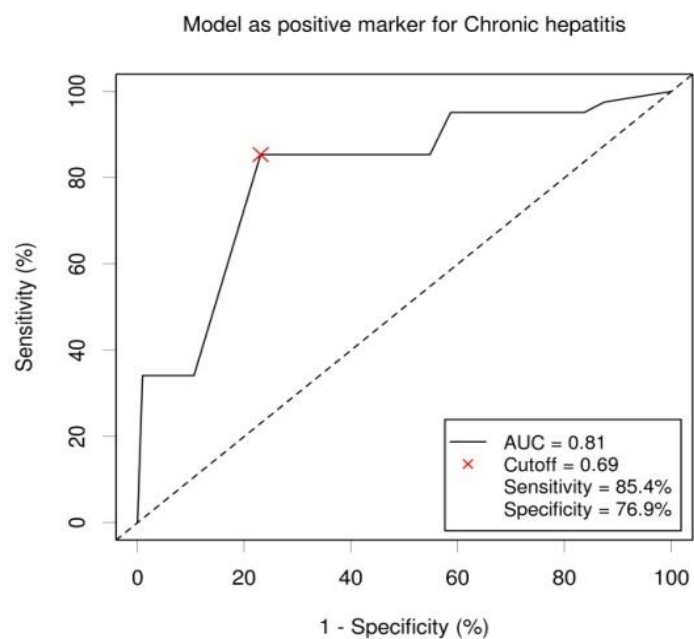
	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJAB ETES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	5	5	5	3	3	0	2	0	0	0	0	0	5	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	115	115	115	117	117	120	118	120	120	120	120	120	115	120
Укупно са вредностима	5	5	5	3	3	0	2	0	0	0	0	0	5	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1		1						1	
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1		1						1	
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 PROT =1 TSH=1													

4.5 Валидација модела

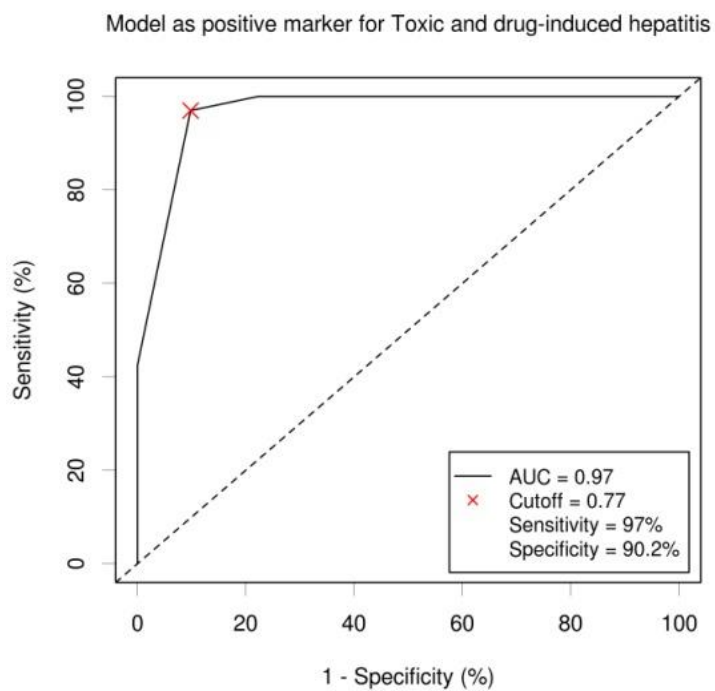
Стварна клиничка дијагноза (утврђена „златним стандардом“) у узорку изражена је као број/процент укупног броја: акутни хепатитис (17/11,7%), хронични хепатитис (41/28,3%), токсични и медикаментозни хепатитис (33/22,8%), неалкохолни стеатохепатитис (15/10,3%), алкохолни хепатитис (11/7,6%), аутоимуни хепатитис (11/7,6%), метаболичка болест јетре (3/2,1%), хипертироидизам (7/4,8%), срчане болести (5/3,4%) и миопатије (2/1,4%). *ROC* криве за три најважније дијагнозе су приказане на сликама 2-4.



Слика 2. *ROC* крива за акутни хепатитис (АВ)

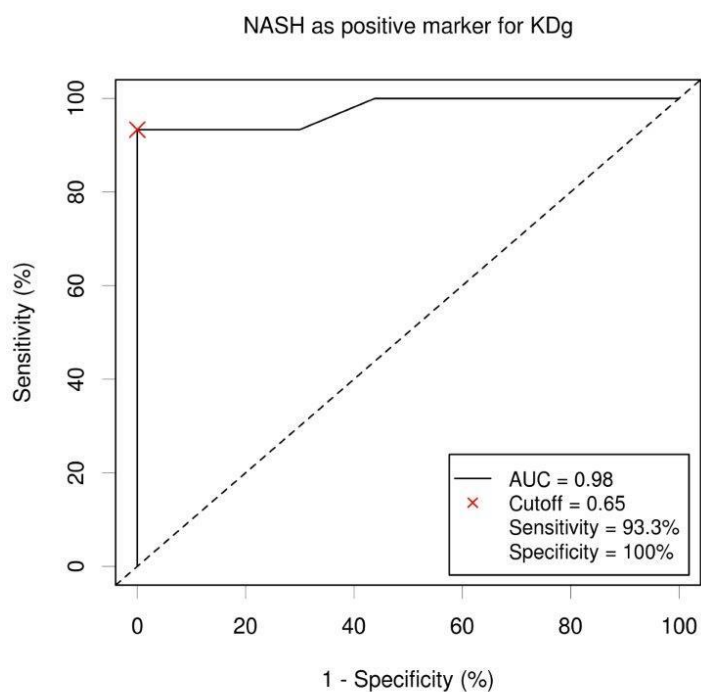


Слика 3. *ROC* крива за хронични хепатитис (*HH*)

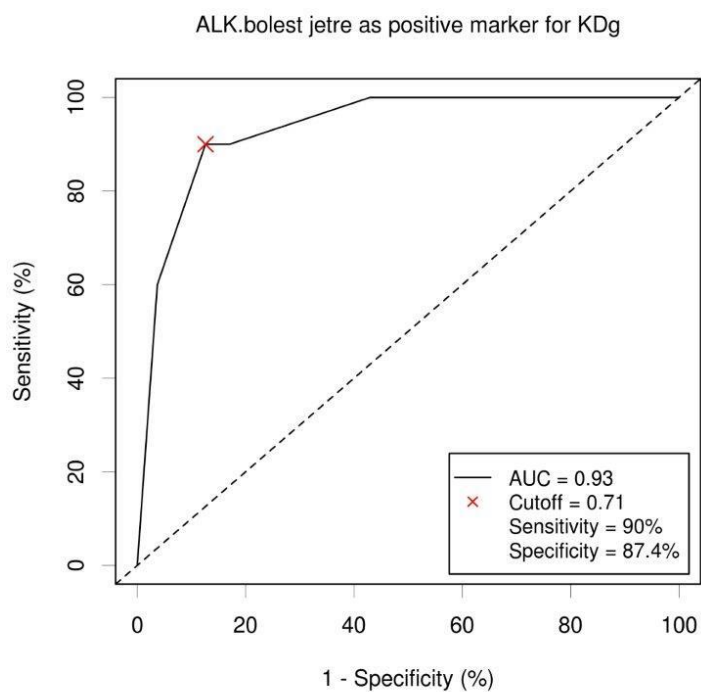


Слика 4. *ROC* крива за токсични и медикаментозни хепатитис (*ТМН*)

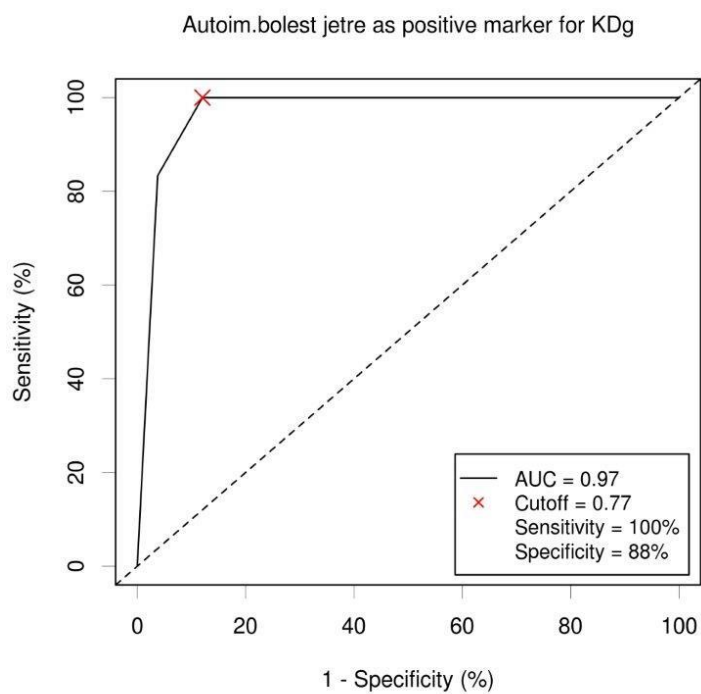
ROC криве за преостале три дијагнозе, то јест за неалкохолни стеатохепатитис (*NASH*), алкохолни хепатитис (*ALH*) и аутоимуни хепатититис (*AIH*), такође су показале сличне резултате: *AUC* 0,98, 0,93, 0,97; граничне вредности 0,65, 0,71, 0,77; сензитивност 93,3%, 90%, 100%, односно специфичност 100%, 87,4% и 88%.



Слика 5. *ROC* крива за неалкохолни стеатохепатитис (*NASH*)



Слика 6. ROC крива за алкохолни хепатитис (ALH)



Слика 7. ROC крива за аутоимуни хепатитис (AIH)

За све тестиране дијагнозе, модел је показао веома значајну разлику између површине испод криве, вредности *ROC* криве и вредности од 0,5 ($p < 0,001$) а уочен је висок степен сензитивности (више од 90%, осим модела за хронични и акутни хепатитис), као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност модела да открије етиологију оштећења јетре. Додатни резултати валидације модела приказани су у Табели 27.

Табела 27: Резултати валидације калкулатора за шест најчешћих етиологија оштећења јетре, засновани на граничним вредностима добијеним од *ROC* кривих

Дијагностичка вредност	Стварна дијагноза ¹					
	<i>AH</i>	<i>HH</i>	<i>TMH</i>	<i>NASH</i>	<i>ALH</i>	<i>AIH</i>
Позитивна предиктивна вредност	0,36	0,59	0,75	1,00	0,35	0,42
Негативна предиктивна вредност	0,98	0,93	0,99	0,99	0,99	1,00
Преваленција	0,12	0,28	0,23	0,10	0,07	0,08
Позитивни однос вероватноће	4,03/0,55	3,70/1,46	9,90/2,96	∞	7,14/0,54	8,33/0,72
Негативни однос вероватноће	0,15/0,02	0,19/0,07	0,03/0,01	0,07/0,01	0,11/0,01	0,00/0,00
<i>Pre-test</i> шансе	0,13	0,39	0,29	0,12	0,07	0,09
<i>Post-test</i> шансе	0,53	1,43	2,87	∞	0,50	0,75
Легенда: ¹ – Дијагноза потврђена тестом који је златни стандард за ту болест, <i>AH</i> – акутни хепатитис; <i>HH</i> – хронични хепатитис; <i>TMH</i> – токсични и медикаментозни хепатитис, <i>NASH</i> – неакохолни стеатохепатитис, <i>ALH</i> – алкохолни хепатитис; <i>AH</i> – аутоимуни хепатитис						

Бинарни модел логистичке регресије за хепатитис изазван токсинима и лековима (*TMH*) (Cox & Snell R Square = 0,202; Nagelkerke R Square = 0,326; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0,050$) није открио значајан допринос улазних параметара за дијагнозу, иако су старост и

AST показали су снажну тенденцију ($p < 0,1$). С друге стране, бинарни модел логистичке регресије за хронични хепатитис (CH) (Cox & Snell R Square = 0,466; Nagelkerke R Square = 0,640; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0,180$) показали су значајан допринос AST-а (odds ratio = 1,005 [1,000 – 1,009], $p = 0,036$) and ALT-а (odds ratio = 0,984 [0,970 – 0,997], $p = 0,021$), иако у супротним правцима. Бинарни модел логистичке регресије за алкохолни хепатитис (ALH) (Cox & Snell R Square = 0,193; Nagelkerke R Square = 0,699; Hosmer and Lemeshow Test $p = 1,000$) није открио значајан допринос било ког улазног параметра за дијагнозу.

5 ДИСКУСИЈА

Валидација модела на скупу узорака пацијената дала је задовољавајуће резултате. С обзиром на релативно ниску преваленцију тестираних дијагноза оштећења јетре код пацијената у овој студији, добијене позитивне и негативне предиктивне вредности указују на добре перформансе модела за готово све етиологије, осим за неалкохолни стеатохепатитис (Табела 27). Коефицијенти вероватноће, као и *post-test odds* вредности, показују да модел значајно повећава вероватноћу којом нека етиологија одговара неком образцу абнормалних резултата лабораторијских тестова јетрене функције код појединачних пацијента, а посебно када су у питању хронични хепатитис и токсични и медикаментозни хепатитис (Табела 27).

У оквиру истраживања формиран су модели за следеће болести јетре: акутни хепатитис, хронични хепатитис, неалкохолни стеатохепатитис, алкохолну болест јетре, аутоимуноу болест јетре, токсични и медикаментозни хепатитис. У оквиру сваког од наведених модела приказани су фактори предвиђања односно предиктивни фактори, чија повишена вредност указује на присуство болести за коју је модел конструисан. У практичном смислу модел означава оне тестове односно лабораторијске параметре јетрене функције чије вредности треба да буду абнормалне да би се могло претпоставити да се код одређеног пацијента може поставити дијагноза обољења за које је модел конструисан.

У оквиру модела за акутни хепатитис који је развијен у оквиру овог истраживања, као предиктивни фактори издвојили су се аланин-аминотрансфераза, аспартат-аминотрансфераза, билирубин, алкална фосфатаза и гама-глутамил трансфераза. Уколико су вредности наведених параметара код одређеног пацијента повишене, и уколико су са друге стране вредности осталих параметара чији смо потенцијални утицај на настанак болести јетре изучавали у оквиру овог истраживања (вредности серумског албумина, протеина, тиреостимулишућег хормона, конзумирање алкохола, лекова, присуство гојазности, дијабетеса, хиперлипидемије, повећан физички напор) у границама референтних вредности, онда можемо претпоставити да пацијент има дијагнозу акутног хепатитиса. Предиктивни фактори који су приказани у оквиру модела за акутни хепатитис су у складу са општим клиничким сазнањима везаним за акутни хепатитис. Познато је да су

вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а и билирубина повишени код пацијената са акутним хепатитисом [31,40,59]. Одређени број студија наводи да се код пацијената са акутним хепатитисом, могу уочити и поремаћаји у хематолошком профилу [127-128], тако да би за развој потпунијег дијагностичког модела за акутни хепатитис било потребно у обзир узети и вредности хематолошких и серолошких параметара.

Када је у питању модел за хронични хепатитис, може се приметити да у односу на модел акутног хепатитиса постоји разлика у томе што су се за хронични хепатитис као статистички значајни параметри показале и абнормалне вредности протромбинског времена и серумског албумина, поред повишених вредности *ALT*-а, *AST*-а и билирубина, које су заједничке и за акутни и за хронични хепатитис. Узрочници акутног и хроничног хепатитиса су бројни, па се самим тим и разликују дијагностичке препоруке за ове болести. Уколико се сумња на вирусне хепатитисе, онда се као златни стандард за постављање дијагнозе хепатитиса намећу серолошки тестови [129-131]. Постоји велики број калкулатора за класификацију и одређивање стадијума оштећења јетре код пацијената са хроничним вирусним хепатитисом: индекс хистолошке активности Кнодела, бодовни систем Шауера, Исаков систем, *METAVIR* систем и Исаков модификован индекс хистолошке активности [132]. *METAVIR* систем служи за процену степена фиброзе јетре (скала од 0 до 4) и степена некроинфламације (скала од 0 до 3). Интересантно је да је управо примена *METAVIR* система показала да не постоји корелација између фиброзе и некроинфламације јетре. *METAVIR* систем има значајних ограничења, јер зависи од квалитета биопсије. Поред тога, може постојати значајна хетерогеност или варијабилност инфламације и фиброзе у различитим регионима јетре, при чему се помоћу *METAVIR* теста добијају резултати за само један регион јетре. На тај начин се може преувеличати или потценити количина фиброзе и/или инфламације [133]. Исаков скор омогућава прецизније дефинисање степена фиброзе јетре у односу на све остале системе, с обзиром да Исаков систем разликује 7 степена фиброзе (скала од 0 до 6), за разлику од осталих система и калкулатора који разликују 5 степена фиброзе (скала од 0 до 4) [134]. Постоје и комерцијални модели серумских маркера, који се користе за откривање фиброзе јетри, као што су: *FibroTest*® (вишепараметарски тест који укључује хаптоглобин, билирубин, гама-

глутамил трансферазу, аполипопротеин А1 и алфа-макроглобулин) или *Enriched Liver Fibrosis*® (ELF) тест [135].

Када је реч о златном стандарду за постављање дијагнозе хепатичке фиброзе и хепатичке инфламације, дуго времена је биопсија сматрана златним стандардом. У савременој ери, биопсија је веома безбедна процедура са стопом од 0,3% озбиљних компликација, као што су постпроцедурални бол и крвављење, које је прате. Ипак, међу клиничарима широм света постоји жеља за проналаском неинвазивних серумских маркера или калкулатора заснованих на вредностима серумских параметара, који ће омогућити прецизну и безбедну дијагнозу обољења јетре. Ови тестови морају бити поуздани, тачни, једноставни за извођење и морају бити спровођени методама које се могу поновити на идентичан начин. Идеалан маркерски тест би био у стању да прецизно утврди болести и да буде осетљив на промене фиброзе изазване терапијом или природном прогресијом болести [136]. Коришћење биопсије код пацијената са хроничним вирусним хепатитисима има значајна ограничења. Тако је студија коју су спровели *Regev A* и сарадници [137] показала да код пацијената са хроничним хепатитисом Ц перкутана биопсија не може бити златни стандард, будући да цироза јетре није била примећена код чак 30% пацијената који су је заправо имали. Многи различити маркери серумске фиброзе су проучавани код обољења јетре, укључујући појединачне маркере екстрацелуларног матрикса, као што је хијалуронска киселина, али и комбинације екстрацелуларних маркера и маркера функције јетре. Готово сви ови маркери имају *ROC* подручја за постављање фиброзе од 0,8 или веће. Тако се *FibroTest*® заснива на алгоритму пет маркера фиброзе и додатком аланин-аминотрансферазе као маркера упале. Иако овај индекс не мери директне маркере производње или уклањања екстрацелуларног матрикса, студије истраживачке групе на челу са *Poynard*-ом [138-140] су показале да *FibroTest*® пружа линеарну биохемијску процену фиброзе јетре. *FibroTest*® је валидиран за откривање фиброзе код многих обољења јетре и има укупну површину испод *ROC* криве од 0,8 [141]. Компоненте екстрацелуларног матрикса имају значајну улогу у фибрози јетре. Оне не само да могу да одражавају обим фиброзе јетре, већ су такође укључене и у запаљенске процесе. Тако је описан директан имунолошки утицај хијалуронске киселине који она остварује кроз регулисање запаљенског процеса и ослобађање инфламаторних цитокина [142]. Супротно томе, различити цитокини

играју улогу у активирању хепатичких ћелија за производњу екстрацелуларног матрикса [143]. Штавише, апоптоза хепатоцита, која има улогу у запаљенском оштећењу јетре, је механички повезана са активацијом ћелија јетре и повећаном фиброгенезом [144]. Активирани хепатичке стелатне ћелије не само да регулишу фиброзу помоћу секреције компоненти екстрацелуларног матрикса, већ и индукују инфламаторни одговор експресијом проинфламаторних цитокина и рецептора [145-146]. На тај начин постоји више путева интеракције између продукције компоненти екстрацелуларног матрикса и запаљенских реакција, због чега је важно да се приликом дијагностиковања фиброзе јетре у обзир узме и мерење компоненти екстрацелуларног матрикса.

Неалкохолна масна јетра је једно од најчешћих обољења јетре које укључује стеатозу, стеатохепатитис и неалкохолни стеатохепатитис и може напредовати до цирозе, отказивања јетре или хепатоцелуларног карцинома. Биопсија јетре је златни стандард за дијагностиковање неалкохолног стеатохепатитиса [147-148]. Пошто је биопсија инвазивна, ризична и повезана са грешкама код гојазних пацијената, утврђене су неинвазивне алтернативе [149]. У оквиру математичког модела за неалкохолни стеатохепатитис у овом истраживању, као значајни предиктивни фактори удружени са појавом овог обољења издвајају се абнормалне вредности *AST*-а, *ALT*-а, *GGT*-а, *AP*-а као и присуство дијабетеса, гојазности и хиперлипидемије код пацијената.

Студија [150] је имала за циљ успостављање неинвазивног модела за предвиђање неалкохолног стеатохепатитиса код пацијената са комбинованим хроничним хепатитисом Б и неалкохолном масном болешћу јетре. Успостављен је нови модел који комбинује ниво цитокератина 18 (*CK 18 M30*), контролисаног атенуацијског параметра (*CAP*), серумски ниво глукозе и ниво *HBVDNA* користећи логистичку регресију. *AUROC* која предвиђа неалкохолни стеатохепатитис је 0,961 (95% интервал поверења: 0,920-1,00, вредност прекидања је 0,218), са осетљивошћу од 100% и специфичношћу од 80,6%. Овај неинвазивни модел могао би да постане део клиничке праксе за предвиђање неалкохолног стеатохепатитиса код пацијената са комбинованим хроничним хепатитисом Б и неалкохолном масном болешћу јетре [150]. Он нам пружа увид у неке савремене биомаркере и тестове које је потребно узети у обзир приликом дијагностиковања неалкохолног стеатохепатитиса. Тако је овим моделом потврђена значајна улога

цитокератина 18 у дијагностиковању неалкохолног стеатохепатитиса. Цитокератин 18 је главни интермедијерни протеин повезан са структурним променама карактеристичним за апоптозу у јетри [151]. Постоје докази да је апоптоза хепатоцита најважнији патофизиолошки механизам који прати неалкохолни стеатохепатитис [147]. Интересантно је и да је *CK 18 M30* у корелацији са *NAS* скором (*NAFLD Activity Score*), који по неким ауторима представља златни стандард за дијагнозу неалкохолног стеатохепатитиса [152]. Познато је да се дијагноза неалкохолног стеатохепатитиса поставља када су поред хепатичне стеатозе, присутни и инфламаторни инфилтрати, као и балонирање и оштећење јетре. *NAS* скор је развијен управо како би се обезбедио нумерички резултат за пацијенте који највероватније имају неалкохолни стеатохепатитис. *NAS* скор представља збир засебних резултата за стеатозу (0-3), хепатоцелуларно балонирање (0-2) и лобуларну упалу (0-3), при чему већина пацијената са неалкохолним стеатохепатитисом има скор ≥ 5 [153]. Поред *CK 18 M30*, други важан предиктивни фактор математичког модела који су развили *Liang J* и сарадници [150] је и контролисани атенуацијски параметар (*CAP*). *CAP* је неинвазивни дијагностички метод за детекцију и квантификацију стеатозе [154]. *CAP* је параметар који се последњих 10 година имплементира у оквиру неинвазивне методе која је позната као транзијентна еластографија [155]. Транзијентна еластографија је неинвазивна, безболна и краткотрајна метода (до десетак минута) која се може понављати неограничени број пута и која је економски исплативија од биопсије. Примена транзијентне еластографије у којој је имплементиран и *CAP* омогућава истовремену детекцију и фиброзе и стеатозе јетре [156].

У оквиру математичког модела из овог истраживања за неалкохолни стеатохепатитис, као важни предиктивни фактори издвојили су се и гојазност, дијабетес и хиперлипидемија. Гојазност се повезује са читавим спектром поремећаја јетре, а нарочито је јасна корелација између гојазности и неалкохолне масне болести јетре, која је праћена накупљањем триглицерида у хепатоцитима (стеатоза) са или без инфламације и фиброзе (стеатохепатитис) [157]. Механизам настанка неалкохолне масне болести јетре и неалкохолног стеатохепатитиса је комплексан и веома често подразумева садејство фактора који су познати под називом *метаболички синдром*, а који поред гојазности подразумевају и присуство инсулинске резистенције односно дијабетес мелитуса, хиперлипидемије и

кардиоваскуларних болести [158]. Дислипидемије које се јављају код пацијената са неалкохолним стеатохепатитисом и неалкохолном масном болешћу јетре се поред повећане интрахепатичке концентрације триглицерида, одликују и различитим променама нивоа *LDL* и *HDL* холестерола [159-160]. С обзиром на поменуто улогу коју гојазност, дислипидемије и дијабетес мелитус имају у патогенези неалкохолног стеатохепатитиса, можемо закључити да математички модел за неалкохолни стеатохепатитис развијен у оквиру овог истраживања садржи већину познатих предиктивних фактора на основу којих се може поставити дијагноза ове болести.

Постојећи неинвазивни модели и калкулатори за неалкохолни стеатохепатитис комбинују клиничке податке (старост, степен гојазности и дијабетес, породичну историју, однос $AST:ALT >1$), мере еластичности и променљиве крвних тестова (показатеље метаболизма колагена, апоптозе ћелије (*CK 18 M30*), инсулинску резистенцију (адипонектин и резистин) или маркере оксидативног стреса (тиоредоксин, липидопероксиди), али још увек нису досегли широко клиничко прихватање [150,161-162]. У оквиру Табеле 28 приказане су формуле појединих калкулатора и математичких модела за дијагнозу неалкохолног стеатохепатитиса, при чему се за све ове калкулаторе може рећи да је пре доношења дефинитивног закључка о њиховој ефикасности потребна дуготрајнија примена на већем броју пацијената.

Табела 28. Формуле неинвазивних калкулатора за откривање неалкохолног стеатохепатитиса или узрапредовале фиброзе [38]

Калкулатор	Формула
NAFIC калкулатор	Феритин > 200 (жене) или 300 (мушкарци) ng/mL = 1 поен Инсулин > 10 μ J/mL = 1 поен Тип IV колаген 7s > 5.0 ng/mL = 2 поена Скала: 0-4
Модификовани NAFIC	Феритин > 200(жена) или 300(мушкараца) ng/mL = 1 поен Инсулин > 10 μ J/mL = 1 поен > 15 μ J/mL = 2 поена Тип IV колаген 7s > 5.0 ng/mL = 2 поена Скала: 0-5
FIB-4 индекс	(Узраст [број година] \times AST [U/L]) / (број тромбоцита [$\times 10^9/L$] $\times \sqrt{ALT [U/L]}$)
PAAR индекс	Тромбоцити < 19.5 $\times 10^4/\mu L$ = 1 поен AST/ALT однос (AAP) ≥ 0.8 = 1 поен Скала 0-2
PLALA калкулатор	Тромбоцити < 15.3 $\times 10^4/\mu L$ = 1 поен Албумин < 4.0 g/dL = 1 поен AST/ALT однос (AAP) > 0.9 = 1 поен Скала 0-3

Основни етиолошки фактори код алкохолног хепатитиса су оксидативни стрес, метаболички поремећаји и инфламаторни одговори [163-165]. Модификације ензима јетре су типичне код злоупотребе алкохола [166]. У калкулатору који је настао у овој студији бележе се абнормалне вредности AST-а, ALT-а, GGT-а, AP-а, билирубина, серумског албумина и протромбинског времена, код пацијената са доказаном злоупотребом алкохола. Типичан образац лабораторијских абнормалности код алкохолне болести јетре којег су приметили други аутори били су повишени AST и ALT (однос AST: ALT је већи од 2); AP и GGT су повишене до различитог нивоа; вредности серумског албумина, серумског билирубина и протромбинско време обично су нормални до појаве значајног оштећења јетре [167-168].

У већини случајева, алкохолна болест јетре је клинички нечујна болест са мало или без имало симптома код пацијената у раној фази болести и са компензованом цирозом јетре. Према томе, дијагноза зависи од анамнезе, лабораторијских испитивања и примене одређених инвазивних или неинвазивних техника. Код неких пацијената са алкохолном болешћу јетре могу бити присутни симптоми као што су билатерална хипертрофија паротидне жлезде, губитак мишића, неухрањеност и знаци периферне неуропатије, мада су овакви пацијенти најчешће асимптоматски и нерадо признају да абнормални тестови функције њихове јетре потичу због проблема који имају са злоупотребом алкохола [169]. Лабораторијски тестови који се могу користити за дијагностиковање алкохолне болести јетре подразумевају мерење *GGT*-а, *AST*-а, *ALT*-а, средње корпускуларне запремине еритроцита, док се низак ниво серумских албумина и тромбоцита, односно повишен ниво билирубина и повишен *INR* могу очекивати у узнапредовалој фази болести. Код тешких форми болести могу се очекивати повишени нивои триглицерида и мокраћне киселине, што провоцира појаву гихта код ових пацијената [170]. Клинички, *GGT* је најчешће коришћени маркер који открива претходно конзумирање алкохола код пацијената, али овај тест има ниску специфичност јер његови резултати могу бити абнормални и код бројних других обољења јетре. Такође, код пацијената са алкохолном болешћу јетре однос *AST:ALT* је често већи од 1, па и од 2, али се такав однос може сусрести код свих пацијената са узнапредовалом цирозом, без обзира на етиологију [171]. Биопсија јетре се не препоручује рутински код пацијената са раним или циротичним стадијумом алкохолне болести јетре. Међутим, биопсија може бити корисна за искључивање неалкохолних етиологија хепатитиса или онда када неинвазивне алатке не пруже јасан резултат. Биопсије се углавном изводе перкутано, али могу захтевати и трансјугуларни пут код пацијената са оштећеном коагулационом функцијом због ниског броја тромбоцита или пролонгираног протромбинског времена [172].

За процену фиброзе јетре код алкохолног хепатитиса постоји доста неинвазивних метода и калкулатора, међутим ови калкулатори углавном нису валидирани за дијагнозу алкохолног хепатитиса. Тестови као што су *FibroTest*®, *Enriched Liver Fibrosis*® и *FibroMeter*® такође нису довољно валидирани за алкохолну болест јетре. Заједничко за ове

тестове је да су корисни у разликовању благе и тешке фиброзе, али имају ограничену ефикасност у интермедијерним фазама фиброзе [173].

У клиничкој пракси су у употреби калкулатори који се најчешће баве прогнозом mortalитета код алкохолног хепатитиса, користећи вредности лабораторијских параметара. Мадрејева дискриминативна функција (*Maddrey Discriminant Function-MDF*) је прогностички калкулатор који се користи код алкохолног хепатитиса. Данас се углавном користи модификован калкулатор, који је настао као унапређење примарне верзије. *MDF* калкулатор функционише по следећој формули: $4.6 \times (PT \text{ пацијента} - \text{референтно } PT) + \text{укупни билирубин (mg/dL)}$. Код пацијената са алкохолним хепатитисом, *MDF* већи од 32 уз хепатичну енцефалопатију прогнозира mortalитет који је већи од 50% у року од 28 дана. Међутим, познати су и фатални исходи код пацијената са вредностима *MDF* скора мањим од 32. Ова ниска специфичност је указала на потребу за алтернативним калкулаторима [164]. Модел за крајњи стадијум болести јетре (*Model For End-Stage Liver Disease-MELD*) је поуздан калкулатор ризика смртности код пацијената са терминалним обољењем јетре. *MELD* резултат ≥ 21 (у року од 24 сата од презентације) је добар предиктор mortalитета од 90 дана код пацијената са акутним хепатитисом [174]. Резултати *MELD* скора и модификованог *MDF* скора (израчунати у року од 24 сата од презентације) су еквивалентни у предвиђању смртности од 30 и 90 дана код пацијената са акутним хепатитисом [164]. Глазгов индекс алкохолног хепатитиса (*GASH*) је систем бодовања заснован на старости, серумском билирубину, вредностима урее и азота у крви, протромбинском времену и периферном броју леукоцита [175]. Вредности *GASH* ≥ 9 су значајан предиктор mortalитета. *GASH* скор тачнији је од *MDF* скора у предвиђању смртности од 28 и 84 дана, али је еквивалентан *MELD* скору у предвиђању смртности од 28 дана код пацијената са алкохолним хепатитисом [164]. *Lille* модел се заснива на функцији која укључује старост, бубрежну инсуфицијенцију, албумин, протромбинско време, билирубин и промену вредности билирубина на седми дан, како би се предвидео шестомесечни mortalитет код пацијената са тешким алкохолним хепатитисом који су примали кортикостероидну терапију [176-177].

Модел за аутоимуне болести јетре који је конструисан у овом истраживању као предиктивне факторе је издвојио абнормалне вредности *ALT*-а и *AST*-а. Повишење јетрених

трансаминаза (мање од 500 ИЈ/Л) са нормалном алкалном фосфатазом је типично за АИП. Абнормални ниво алкалне фосфатазе, који је несразмеран елевацији трансаминаза је неуобичајен и захтева истраживање других узрока болести јетре, као што је болест изазвана лековима, примарна билијарна цироза и примарни склерозни холангитис. Дијагноза аутоимуног хепатитиса заснива се на клиничким, биохемијским налазима, присуству хистолошке слике, аутоантитела и абнормалних вредности серумских глобулина [178]. Савремени дијагностички системи су кодирани и користе метод рангирања тежине болести на основу бодова како би допунили клиничку процену у тешким случајевима [179-181]. Међународна група за аутоимуни хепатитис предложила је бодовни систем за који постоји неколико адаптација. Систем је намењен углавном у истраживачке сврхе, али може бити користан (посебно у тешким случајевима) у рутинској клиничкој пракси. Важно је напоменути да је систем бодовања дизајниран да се примењује у почетним фазама болести. Његова употреба у другим ситуацијама, као што је сумња на поновну појаву аутоимуног хепатитиса након трансплантације јетре или за поновно процењивање дијагнозе код пацијената са дуготрајном болести, није потврђена. Поред тога, мора се напоменути да су додељене вредности потпуно произвољне. Оне су квалитативне по природи и не одражавају укупну тежину болести. Дијагностички критеријуми за аутоимуни хепатитис захтевају присуство компатибилности између лабораторијских налаза (абнормални налази *AST*-а, *ALT*-а, повишене вредности *GGT*-а), серолошких тестова (позитивна *ANA*, *SMA* или анти-*LKMI*) и хистолошких налаза (инфекција хепатоцита са или без инфилтрације плазма ћелија). Болести које могу да подсећају на аутоимуни хепатитис такође морају да буду искључене, а то подразумева искључивање вирусног и алкохолног хепатитиса, Вилсонове болести, наследне хемохроматозе и других обољења [179]. Према овом систему бодовања, оцењују се четири различите клиничке категорије и то на основу налаза аутоантитела, имуноглобулина, виралних маркера и хистолошких налаза. Овај савремени систем бодовања је значајно поједностављен у односу на стари, оригинални систем бодовања у оквиру којег је испитивано 13 клиничких категорија [182]. Оригинални систем бодовања има већу сензитивност за аутоимуни хепатитис (100% наспрам 95% колико износи сензитивност ревидираног система бодовања), али поједностављени систем бодовања има већу специфичност (90% наспрам 73% колико износи специфичност оригиналног система

бодовања). Овакви системи бодовања имају и значајна ограничења, будући да се они неадекватно користе за утврђивање присуства аутоимуног хепатитиса код пацијената са примарном билијарном цирозом јетре [183-184]. Поред тога, ови системи бодовања су коришћени, али нису и валидирани код пацијената тешким акутним (фулминантним) отказивањем јетре [185] и код пацијената са дисфункцијом графта након трансплантације јетре [186].

Вилсонова болест је аутозомно-рецесивни метаболички поремећај који настаје због мутације *ATP7B* гена, услед чега долази до акумулирања бакра у погођеним ткивима (јетри и мозгу) изнад нормалних метаболичких потреба [29]. У оквиру калкулатора који је развијен у овој студији, предиктивни фактори Вилсонове болести су абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и серумског албумина. Ипак, дијагноза Вилсонове болести се у практичном смислу поставља на основу дијагностичких критеријума које је развила радна група на 8. међународном скупу о Вилсоновој болести у Лајпцигу 2001. године. Лајпцишки критеријуми укључују корнеалне Кајзер-Флајшерове кругове, неуролошке сметње, податке о нивоу церулоплазмине, *Coombs*-ов тест, ниво бакра у урину и јетри, као и мутацијске анализе [187-188]. Типично, дијагноза Вилсонове болести се поставља када су присутни Кајзер-Флајшерови прстенови и када је ниво серумског церулоплазмине мањи од 0,1 g/L. Када нису присутни Кајзер-Флајшерови прстенови (што је уобичајено у хепатичкој манифестацији Вилсонове болести), нивои церулоплазмине нису увек поуздани, јер могу бити ниски и код неких других обољења (аутоимуни хепатитис, тешка хепатичка инсуфицијенција, целиакија). На основу Лајпцишких критеријума, дијагноза Вилсонове болести се поставља уколико је укупна вредност скорa најмање 4, док се за вредност скорa од 3 поена може посумњати на Вилсонову болест, али су у том случају неопходна додатна тестирања. Највећу вредност у оквиру овог скорa (4 поена) носи доказано присуство мутације *ATP7B* гена на оба хромозома, док по 2 поена доноси присуство Кајзер-Флајшерових прстенова, неуролошких симптома, повећан ниво бакра у јетри и урину, као и снижен ниво серумског церулоплазмине. Најмању вредност у оквиру овог скорa има позитиван *Coombs*-ов тест (1 поен).

Користећи добро утврђене серумске параметре, у овој студији примећено је да абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и анамнестички податак о

узимању одређеног лека код пацијента могу бити предиктивни фактори у математичком моделовању хепатитиса узрокованог лековима. Дијагноза болести јетре изазване лековима заснива се на анамнези, анализама крви и ако је применљиво, биопсији јетре. Не постоје специфични лабораторијски тестови, хистолошке промене или клинички знаци и симптоми који омогућавају дијагнозу медикаментозног и токсичног хепатитиса. Знаци и симптоми разликују се зависно од лека, пацијента и степена оштећења [189]. У већини случајева, оштећења јетре изазвана лековима настају као последица идиосинкратске реакције коју изазива препоручена доза лека, а у мањем проценту је реч о токсичном оштећењу јетре које се јавља као последица предозирања одређеним леком [190]. У случајевима када оштећење јетре изазове лек примењен у препорученој дози, количине токсичних метаболита су немерљиве па се зато ти метаболити не могу користити као дијагностички биомаркери [191]. С друге стране, најчешћи пример оштећења јетре у случају предозирања је центрилобуларна некроза коју узрокују токсичне дозе парацетамола [192]. Највећи проблем код медикаментозног хепатитиса је чињеница да се он често не препознаје као такав, већ се дуго времена трага за другим потенцијалним узроцима оштећења јетре [193-194]. Пропуштене дијагнозе медикаментозног хепатитиса се доста често описују у литератури и могу се појавити на било ком нивоу, а најчешће настају као резултат недовољно добро дефинисаних критеријума и система. Са циљем отклањања дијагностичких недостатака и ограничења код медикаментозног хепатитиса, развијен је *RUCAM/CIOMS* систем за квантитативно процењивање узрочности у случајевима сумње на оштећење јетре индуковано лековима или биљним препаратима [195]. *RUCAM/CIOMS* систем је међународни пројекат који подлеже честим ревизијама, а оригинална верзија овог калкулатора за дијагностиковање медикаментозног хепатитиса има сензитивност 86%, специфичност 89%, позитивну предиктивну вредност 93% и негативну предиктивну вредност 78% [196]. Иако се може рећи да *RUCAM/CIOMS* систем представља златни стандард за дијагностиковање медикаментозног хепатитиса, важно је напоменути да и такав калкулатор има значајних ограничења. Та ограничења се пре свега односе на произвољно оцењивање, нарочито у случајевима када је присутна и злоупотреба алкохола; такође, овај скор се не може применити за испитивање токсичног утицаја лека на јетру у случајевима када већ постоји неко хронично обољење јетре [197].

Поред *RUCAM/CIOMS* система, постоји још један званични калкулатор који се може користити за дијагнозу медикаментозног и токсичног хепатитиса. То је *LTKB* база (*Liver Toxicity Knowledge Base*) коју је развила Америчка савезна управа за храну и лекове (*Food and Drug Administration*) [198]. На основу дневне дозе, липофилности и формирања реактивних метаболита, развијен је бодовни алгоритам за болести јетре индуковане лековима. Он даје скалу за процену озбиљности ризика од медикаментозног оштећења јетре, повезаног са оралним лековима који се примењују код људи [199]. Специфичност овог система је велика, али његову примену ограничава ниска сензитивност [198]. Због недостатка сензитивних и специфичних клиничких тестова за дијагнозу, предвиђање и праћење оштећења јетре изазваних лековима, Европска агенција за лекове (*EMA*) је отпочела пројекат за утврђивање нових биомаркера како би се омогућила ранија дијагноза, прецизније предвиђање исхода и прогнозе код болести јетре изазваних лековима [200].

Поред званичних иницијатива које за циљ имају развој калкулатора за дијагностиковање токсичног и медикаментозног хепатитиса, слична иницијатива је присутна и у ширим научним круговима. Тако су *Reimen CH* и сарадници [201] развили математички модел за процену оштећења јетре у случајевима предозирања парацетамолом. Неки од предиктивних фактора њиховог модела (*AST* и *ALT*) су заједнички са моделом који смо развили у нашој студији. Поред абнормалних вредности трансаминаза, *Reimen CH* и сарадници су открили да важан предиктивни фактор јесте и вредност *INR*-а. Овај модел је показао максималну сензитивност од 100%, специфичност од 91%, позитивну предиктивну вредност од 67% и негативну предиктивну вредност од 100%.

У моделу који је настао у овој студији, код болести мишића као што је идиопатска инфламаторна миопатија или оштећења мишића индукована вежбањем, бележи се: значајно повећање вредности серумских трансаминаза- *AST*-а и *ALT*-а. И други аутори су се бавили испитивањем односа серумских вредности *AST*-а, *ALT*-а и креатин киназе у процесу дијагностиковања идиопатске инфламаторне миопатије. Ти радови су показали значајну корелацију између вредности креатин киназе и серумских трансаминаза. Серумске трансаминазе су повишене код 80% пацијената у време болести а нормализују се код 85% пацијената истовремено са креатин киназом. Препознавање узрока абнормалности серумских трансаминаза код идиопатске инфламаторне миопатије је важно за клиничку

праксу јер се на тај начин избегавају непотребне биопсије јетре, одлагање праве дијгнозе и постављање погрешне дијагнозе болести јетре [202]. Серумске вредности трансминаза нису довољно специфичан тест за постављање дијагнозе идиопатске инфламаторне миопатије, па се зато у те сврхе користе и методе мишићне биопсије, имунохистохемијске методе и електромиографија [203], мада је потребно нагласити да не постоји златни стандард за постављање дијагнозе миопатија.

Оштећења мишића услед вежбања су битан аспект истраживања у домену спортске медицине. У циљу избегавања инвазивних дијагностичких техника као што је биопсија, користе се серумски параметри који служе за процену степена оштећења, периода опоравка или потребе за терапијом. Тако је у студији *Kanda K, et al* [46] анализиран серум спортиста након серије вежби, при чему су мерене вредности креатин киназе, *AST*-а, *ALT*-а, лактат дехидрогеназе, алдолазе, као и вредности параметара попут интерлеукина 17 и 23, фактора раста нерава, растворљивог ендотелијалног селектина и других. Резултати ове студије су недвосмислено потврдили да не постоје довољно специфични биомаркери за дијагностиковање оштећења мишића изазваних вежбама. Из тог разлога су у неким истраживањима вршене и анализе урина у потрази за специфичним биомаркерима који би могли указати на оштећења мишића индукована претераним физичким напором [204].

У оквиру модела за срчане болести развијеног у оквиру овог истраживања, као предиктивни фактори издвојене су абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и серумских албумина. Модел који је унет у калкулатор не прави разлику између различитих болести срца. Из литературних података је познато да су код пацијената који пате од кардиоваскуларних болести повишене вредности серумског *AST*-а, *ALT*-а и/или *AP*-а, *GGT*-а и билирубина. У великом броју спроведених студија је документована значајна корелација између повишених нивоа ових серумских параметара и краткорочног и дугорочног исхода болести [37-38, 205-208]. Тако су *Bozkus F* и сарадници у студији [205] показали да се *GGT*, поред тога што се све чешће користи као биомаркер за предвиђање инфламације, инфаркта миокарда и изненадне срчане смрти, може користити и у процени стања хроничне опструктивне болести плућа као маркер оксидативног стреса. Такође је у оквиру ове студије показано да постоји висок степен корелације између високих серумских нивоа *GGT*-а и кардиоваскуларних догађаја код пацијената са хроничном опструктивном

болешћу плућа. Слично, показано је да су серумске трансминазе у преко 95% случајева повезане са значајно већом учесталошћу морталитета код пацијената са инфарктом миокарда са СТ елевацијом [208].

Дисфункција јетре је честа код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, па је тако дефинисан и кардиохепатички синдром, односно стање које се карактерише развојем конгестивне хепатопатије и цирозе јетре код пацијената са узрапредовалом срчаном инсуфицијенцијом [209]. Из тог разлога се модели за процену јетрене функције могу користити у сврху процене прогнозе и ризика од морталитета код пацијената са кардиоваскуларним болестима. Тако се унапређена верзија *MELD* система-*MELD-XI* систем, који у оквиру своје калкулације урачунава и вредности *INR*-а, користи за процену функције јетре код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, при чему су високе вредности овог скорa независан предиктор не само срчане смрти, већ и целокупног морталитета код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом [206]. Повезаност абнормалних вредности тестова јетрене функције и појаве кардиоваскуларних болести уочена је и у студији коју су спровели *Lazo M* и сарадници [38]. Показано је да, у случајевима минималног конзумирања алкохола, постоји снажна повезаност између нивоа ензима јетре (*ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а) и минутног пораста срчаног тропонина. Такође, серумске вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а и билирубина су биле нарочито високе у групи пацијената који су имали озбиљне кардиоваскуларне нежељене догађаје, при чему је логистичка регресиона анализа показала да највећа корелација постоји у случају алкалне фосфатазе. С друге стране, између нивоа ензима јетре и *NT-proBNP*-а постоји инверзна повезаност која проистиче из метаболичких ефеката натриуретских пептида.

Абнормални биохемијски тестови јетрене функције чести су код пацијената са тиреотоксикозом [210], чак и пре примене антитиреодних лекова за које је познато да могу довести до погоршања функције јетре [211-213]. Вишеструки механизми укључени су у развој хепатичке дисфункције код пацијената са тиреотоксикозом, као што су вишак тиреоидног хормона, повишени титри антитела на тиреоидне рецепторе, релативна хепатична аноксија и осетљивост на оксидативни стрес, срчана инсуфицијенција, антитиреодни лекови и пратећа болест јетре [214]. Као највероватнији узрок оштећења функције јетре код пацијената са хипертиреозом, наводи се апоптоза хепатоцита која

је индукована прекомерном концентрацијом тријодтиронина [214-215]. С друге стране, *He K* и сарадници су у студији [216] показали да се код Гравесове болести оштећења јетре јављају као последица повишеног нивоа антитела усмерених против тиреоидних рецептора. У оквиру овог истраживања, развијен је калкулатор за хипертиреозидизам, који као предиктивне факторе обухвата абнормалне вредности *AST*-а, *ALT*-а, *GGT*-а, *AP*-а, *TSH*-а, билирубина и продужено протромбинско време. Може се рећи да је овај математички модел за хипертиреозидизам у складу са познатим чињеницама да се код пацијената са хипертиреозидизмом често срећу повишене вредности серумских трансминаза и албумина [210], гама-глутамил трансферазе [217], алкалне фосфатазе [218], билирубина [219], као и продужено протромбинско време [210]. Постоји широк спектар инциденце ових абнормалности у објављеној литератури. У неким случајевима биохемијска абнормалност може доминирати у клиничком налазу и компликовати ток примарне болести [220-221].

5.1 Ограничења студије

Главно ограничење ове студије био је релативно мали број пацијената са одређеним дијагнозама, тако да је валидација могла бити спроведена за ограничени етиолошки спектар. Поред тога, ниска преваленција одређених дијагноза могла је довести до прецењивања дијагностичке тачности калкулатора у том погледу. Потребне су додатне студије како би се добила потпуна слика о дијагностичкој вредности овог калкулатора.

6 ЗАКЉУЧАК

Валидација модела на скупу узорака пацијената дала је задовољавајуће резултате. С обзиром на релативно ниску преваленцију тестираних дијагноза оштећења јетре код пацијената у овој студији, добијене позитивне и негативне предиктивне вредности указују на добре перформансе модела за готово све етиологије, осим за неалкохолни стеатохепатитис. Коефицијенти вероватноће, као и *post-test odds* вредности, показују да модел значајно повећава вероватноћу којом нека етиологија одговара неком образцу абнормалних резултата лабораторијских тестова јетрене функције код појединачних пацијента, а посебно када су у питању хронични хепатитис и токсични и медикаментозни хепатитис.

За следеће дијагнозе модел је показао задовољавајућу дијагностичку тачност: акутни и хронични хепатитис, неалкохолни стеатохепатитис, алкохолну болест јетре, аутоимуноу болест јетре, и токсични и медикаментозни хепатитис. У оквиру сваког од наведених модела приказани су предиктивни фактори, чија абнормална вредност указује на присуство болести за коју је модел конструисан. У практичном смислу модел означава оне лабораторијске тестове, односно параметре јетрене функције, чије вредности треба да буду абнормалне да би се могло претпоставити да се код одређеног пацијента може поставити дијагноза обољења за које је модел конструисан.

Модели за метаболичку болест јетре, миопатију, срчане болести и хипертиреозидизам нису могли бити тестирани (валидирани) због недовољног броја пацијената.

За све тестиране дијагнозе, модел је показао веома значајну разлику између површине испод ROC (Receiver-operator curves) крива и вредности од 0,5 ($p < 0,001$), а уочен је и висок степен сензитивности (више од 90%, осим модела за хронични и акутни хепатитис) као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност модела да открије етиологију оштећења јетре.

Модел је показао највећу осетљивост за токсични и медикаментозни хепатитис, аутоимуни хепатитис и неалкохолни стеатохепатитис, док је специфичности била највиша код неалкохолног стеатохепатитиса и токсичног и медикаментозног хепатитиса.

У закључку, модел је показао задовољавајућу осетљивост и специфичност код одређених, важних, етиологија оштећења јетре. Јасно је да модел није замена за детаљне дијагностичке алгоритме и методе које су већ коришћене за проналажење узрока оштећења јетре, али би могао бити корисно средство за брзу оријентацију при првом сусрету са пацијентом чије су вредности лабораторијских тестова јетрене функције абнормалне. Клиничари не треба да се ослањају на овај модел ради дефинитивне етиолошке дијагнозе оштећења јетре; требало би да се сматра помоћним средством за брзо скенирање таквих пацијената и усмеравање даље дијагностике, укључујући по потреби, златни стандард.

Потребне су додатне студије како би се добила потпуна слика о дијагностичкој вредности метода, обзиром да потпунији подаци о лабораторијским параметрима могу повећати прецизност процене дијагностичке тачности и њен опсег.

У будућности овај модел би могао постати доступан клиничарима као бесплатна апликација на паметним телефонима, тако да ће их моћи лако и брзо користити код првог сусрета са пацијентом са абнормалним вредностима лабораторијских тестова јетрене функције.

7 ЛИТЕРАТУРА

1. Williams R, Aspinall R, Bellis M, Camps-Walsh G, Cramp M, Dhawan A, et al. Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis. *Lancet* 2014;384(9958):1953-97.
2. Murray CJ, Richards MA, Newton JN, Fenton KA, Anderson HR, Atkinson C, et al. UK health performance: findings of the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2013;381(9871):997-1020.
3. Armstrong MJ, Houlihan DD, Bentham L, Shaw JC, Cramb R, Olliff S, et al. Presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease in a large prospective primary care cohort. *J Hepatol* 2012;56(1):234-40.
4. Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Parker R, Koushiappi E, Mann J, Khan S, et al. Severe asymptomatic non-alcoholic fatty liver disease in routine diabetes care; a multi-disciplinary team approach to diagnosis and management. *QJM* 2014;107(1):33-41.
5. Della Corte C, Mosca A, Vania A, Alterio A, Alisi A, Nobili V. Pediatric liver diseases: current challenges and future perspectives. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;10(2):255-65.
6. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut* 2018;67(1):6-19.
7. Soloway RD, Summerskill WH. Chronic active liver disease: classification and treatment. *Postgrad Med* 1973;53(1):88-94.
8. Mondelli MU, Bortolotti F, Pontisso P, Rondanelli EG, Williams R, Realdi G, et al. Definition of hepatitis B virus (HBV)-specific target antigens recognized by cytotoxic T cells in acute HBV infection. *Clin Exp Immunol* 1987;68(2):242-50.
9. Svirtlih N, Delic D, Simonovic J, Dokic L, Gvozdenovic E, Dulovic O, et al. Characteristics of patients dying from acute viral hepatitis in Serbia. *Turk J Gastroenterol* 2011;22(2):152-7.
10. Seo YS, Lee KG, Jung ES, An H, Park S, Keum B, et al. Dynamic changes in liver stiffness during the course of acute hepatitis A. *Scand J Gastroenterol* 2010;45(4):449-56.

11. Lin S, Yang L, Zhang YJ. Hepatitis E Virus: Isolation, Propagation, and Quantification. *Curr Protoc Microbiol* 2018;48:15L.1.1-15L.1.15.
12. Bhat M, Ghali P, Deschenes M, Wong P. Prevention and Management of Chronic Hepatitis B. *International Journal of Preventive Medicine* 2014;5 (Suppl 3):S200-S207.
13. Trépo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014;384(9959):2053-63.
14. Sy BT, Ratsch BA, Toan NL, Song le H, Wollboldt C, Bryniok A, et al. High prevalence and significance of hepatitis D virus infection among treatment-naïve HBsAg-positive patients in Northern Vietnam. *PLoS One* 2013;8(10):e78094.
15. Manns MP, Buti M, Gane E, Pawlotsky JM, Razavi H, Terrault N, et al. Hepatitis C virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17006.
16. Tang CM, Yau TO, Yu J. Management of chronic hepatitis B infection: current treatment guidelines, challenges, and new developments. *World J Gastroenterol* 2014;20(20):6262-78.
17. Fujiwara S, Yokokawa Y, Morino K, Hayasaka K, Kawabata M, Shimizu T. Chronic hepatitis E: a review of the literature. *J Viral Hepat* 2014;21(2):78-89.
18. Czaja AJ. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis: Current Status and Future Directions. *Gut and Liver* 2016;10(2):177-203.
19. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ; American Association for Study of Liver Diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009;50(1):291-308.
20. Silveira MG, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Canadian Journal of Gastroenterology* 2008;22(8):689-698.
21. Saberi B, Dadabhai AS, Jang Y-Y, Gurakar A, Mezey E. Current Management of Alcoholic Hepatitis and Future Therapies. *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2016;4(2):113-122.
22. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ; Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010;51(1):307-28.

23. Frazier TH, Stocker AM, Kershner NA, Marsano LS, McClain CJ. Treatment of alcoholic liver disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2011;4(1):63-81.
24. Lee WM. Drug-induced Acute Liver Failure. *Clinics in liver disease* 2013;17(4):10.
25. Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pysopoulos N. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2016;4(2):131-142.
26. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*. 2010;(196):369-405.
27. Leise MD, Poterucha JJ, Talwalkar JA. Drug-induced liver injury. *Mayo Clin Proc* 2014;89(1):95-106.
28. Crownover BK, Covey CJ. Hereditary hemochromatosis. *Am Fam Physician* 2013;87(3):183-90.
29. Liu J, Luan J, Zhou X, Cui Y, Han J. Epidemiology, diagnosis, and treatment of Wilson's disease. *Intractable Rare Dis Res* 2017;6(4):249-255.
30. Townsend SA, Edgar RG, Ellis PR, Kantas D, Newsome PN, Turner AM. Systematic review: the natural history of alpha-1 antitrypsin deficiency, and associated liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2018;47(7):877-885.
31. Mitchell EL, Khan Z. Liver Disease in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Approaches and Future Directions. *Curr Pathobiol Rep* 2017;5(3):243-252.
32. Streba LAM, Vere CC, Rogoveanu I, Streba CT. Nonalcoholic fatty liver disease, metabolic risk factors, and hepatocellular carcinoma: An open question. *World Journal of Gastroenterology : WJG* 2015;21(14):4103-4110.
33. Marra F, Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment. *Current Pharmaceutical Design* 2013;19(29):5250-5269.
34. Li X, Wang Z, Wang L, Pan M, Gao P. Liver cirrhosis: a risk factor for gallstone disease in chronic hepatitis C patients in China. *Fan. H, ed. Medicine* 2017;96(26):e7427.
35. Coletta M, Nicolini D, Benedetti Cacciaguerra A, Mazzocato S, Rossi R, et al. Bridging patients with hepatocellular cancer waiting for liver transplant: all the patients are the same? *Transl Gastroenterol Hepatol* 2017;2:78.

36. Woodrell CD, Hansen L, Schiano TD, Goldstein NE. Palliative Care for People With Hepatocellular Carcinoma, and Specific Benefits for Older Adults. *Clin Ther.* 2018. pii: S0149-2918(18)30092-4.
37. Huseynov A, Baumann S, Becher T, Koepp J, Lang S, Jabbour C, et al. Liver and cholestatic parameters as prognostic biomarkers of in-hospital MACE in patients with STEMI. *Eur J Clin Invest* 2016;46(8):721-9.
38. Lazo M, Rubin J, Clark JM, Coresh J, Schneider AL, Ndumele C, et al. The association of liver enzymes with biomarkers of subclinical myocardial damage and structural heart disease. *J Hepatol* 2015;62(4):841-7.
39. Çağlı K, Başar FN, Tok D, Turak O, Başar Ö. How to interpret liver function tests in heart failure patients? *Turk J Gastroenterol* 2015;26(3):197-203.
40. Samsky MD, Dunning A, DeVore AD, Schulte PJ, Starling RC, Tang WH, et al. Liver function tests in patients with acute heart failure and associated outcomes: insights from ASCEND-HF. *Eur J Heart Fail* 2016;18(4):424-32.
41. Ndrepepa G, Kastrati A. Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease. *Annals of Translational Medicine* 2016;4(24):481.
42. Jiang S, Jiang D, Tao Y. Role of gamma-glutamyltransferase in cardiovascular diseases. *Experimental & Clinical Cardiology* 2013;18(1):53-56.
43. Mason JE, Starke RD, Van Kirk JE. Gamma-glutamyl transferase: a novel cardiovascular risk biomarker. *Prev Cardiol* 2010;13(1):36-41.
44. Ripley TL, Chonlahan JS, Germany RE. Candesartan in heart failure. *Clinical Interventions in Aging* 2006;1(4):357-366.
45. Khemichian S, Fong T-L. Hepatic Dysfunction in Hyperthyroidism. *Gastroenterology & Hepatology* 2011;7(5):337-339.
46. Kanda K, Sugama K, Sakuma J, Kawakami Y, Suzuki K. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. *Exerc Immunol Rev* 2014;20:39-54.
47. Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 1999;14(1):59-90.

48. Wei Y, Li J, Zhang L, Zheng D, Shi B, Cong Y. Assessment of validity of INR system for patients with liver disease associated with viral hepatitis. *J Thromb Thrombolysis* 2010;30(1):84-9.
49. Pezzilli R, Andreone P, Morselli-Labate AM, Sama C, Billi P, Cursaro C, et al. Serum pancreatic enzyme concentrations in chronic viral liver diseases. *Dig Dis Sci* 1999;44(2):350-5.
50. Tarantino G, Citro V, Esposito P, Giaquinto S, de Leone A, Milan G, et al. Blood ammonia levels in liver cirrhosis: a clue for the presence of portosystemic collateral veins. *BMC Gastroenterology* 2009;9:21.
51. Gerstenmaier JF, Gibson RN. Ultrasound in chronic liver disease. *Insights into Imaging* 2014;5(4):441-455.
52. Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR* 1995;16(1):16-33.
53. Navaneethan U, Njei B, Zhu X, Kommaraju K, Parsi MA, Varadarajulu S. Safety of ERCP in patients with liver cirrhosis: a national database study. *Endoscopy International Open* 2017;5(4):E303-E314.
54. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis. Liver biopsy is not always necessary. *Prescrire Int* 2010;19(105):38-42.
55. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests . *The Pan African medical journal* 2009;3:17.
56. Schiff ER, Maddrey WC, Reddy R. Schiff's diseases of the liver. 11 th ed. Oxford, Wiley-Blackwell, 2011.
57. Hall P, Cash J. What is the Real Function of the Liver "Function" Tests? *The Ulster Medical Journal* 2012;81(1):30-36.
58. McGill MR. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI Journal* 2016;15:817-828.
59. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017;112(1):18-35.

60. Pol S, Nalpas B, Vassault A, Bousquet-Lemercier B, Franco D, Lacour B, et al. Hepatic activity and mRNA expression of aspartate aminotransferase isoenzymes in alcoholic and nonalcoholic liver disease. *Hepatology* 1991;14(4 Pt 1):620-5.
61. Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999;94(10):3010-4.
62. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2014;29(3):269-278.
63. Tung CB, Tung CF, Yang DY, Hu WH, Hung DZ, Peng YC, et al. Extremely high levels of alkaline phosphatase in adult patients as a manifestation of bacteremia. *Hepatogastroenterology* 2005;52(65):1347-50.
64. Jassam NJ, Horner J, Marzo-Ortega H, Sinclair M, Barth JH. Transient rise in alkaline phosphatase activity in adults. *BMJ Case Reports* 2009;2009:bcr09.2009.2250.
65. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut* 2018;67(1):6-19.
66. Koenig G, Seneff S. Gamma-Glutamyltransferase: A Predictive Biomarker of Cellular Antioxidant Inadequacy and Disease Risk. *Dis Markers* 2015;2015:818570.
67. Sueyoshi S, Sawai S, Satoh M, Seimiya M, Sogawa K, Fukumura A, et al. Fractionation of gamma-glutamyltransferase in patients with nonalcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *World J Hepatol* 2016;8(36):1610-1616.
68. Bruha R, Dvorak K, Petryl J. Alcoholic liver disease. *World Journal of Hepatology* 2012;4(3):81-90.
69. Burrows S, Feldman W, McBride F. Serum gamma-glutamyl transpeptidase. Evaluation in screening of hospitalized patients. *Am J Clin Pathol* 1975 Sep;64(3):311-4.
70. Mammen EF. Coagulation abnormalities in liver disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6(6):1247-57.
71. Donaldson GW, Davies SH, Darg A, Richmond J. Coagulation factors in chronic liver disease. *J Clin Pathol.* 1969;22(2):199-204.

72. Capoor MN, Stonemetz JL, Baird JC, Ahmed FS, Awan A, Birkenmaier C, et al. Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Testing: A Comparative Effectiveness Study in a Million-Patient Sample. *PLoS One* 2015;10(8):e0133317.
73. Takikawa Y, Harada M, Wang T, Suzuki K. Usefulness and accuracy of the international normalized ratio and activity percent of prothrombin time in patients with liver disease. *Hepatol Res* 2014;44(1):92-101.
74. Wang XP, Mao MJ, He ZL, Zhang L, Chi PD, Su JR, et al. A retrospective discussion of the prognostic value of combining prothrombin time(PT) and fibrinogen(Fbg) in patients with Hepatocellular carcinoma. *J Cancer* 2017;8(11):2079-2087.
75. Kang K-S. Abnormality on Liver Function Test. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition* 2013;16(4):225-232.
76. Wagner KH, Shiels RG, Lang CA, Seyed Khoei N, Bulmer AC. Diagnostic criteria and contributors to Gilbert's syndrome. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55(2):129-139.
77. Thapa BR, Anuj W. Liver Function Tests and their Interpretation. *Indian J Pediatr.* 2007;74:663–671.
78. Bacq Y, Zarka O, Bréchet JF, Mariotte N, Vol S, Tichet J, Weill J. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* 1996;23(5):1030-4.
79. Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JA, Haynes RB, Richardson WS. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 1996;312:71-2.
80. Steyerberg EW, Moons KG, van der Windt DA, Hayden JA, Perel P, Schroter S, et al; PROGRESS Group. Prognosis Research Strategy (PROGRESS) 3: prognostic model research. *PLoS Med* 2013;10(2):e1001381.
81. Hemingway H, Croft P, Perel P, Hayden JA, Abrams K, Timmis A, et al. Prognosis research strategy (PROGRESS) 1: a framework for researching clinical outcomes. *BMJ* 2013;346:e5595.
82. Lee Y, Bang H, Kim DJ. How to Establish Clinical Prediction Models. *Endocrinology and Metabolism* 2016;31(1):38-44.

83. Martin-Martin LS, Latini A, Pagano A, Ragno A, Stasi R, Coppè A, et al. A new mathematical model based on clinical and laboratory variables for the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2003;22(2):123-6.
84. Wei JT, Zhang Z, Barnhill SD, Madyastha KR, Zhang H, Oesterling JE. Understanding artificial neural networks and exploring their potential applications for the practicing urologist. *Urology* 1998;52(2):161-72.
85. Schneider J, Peltri G, Bitterlich N, Neu K, Velcovsky HG, Morr H, et al. Fuzzy logic-based tumor marker profiles including a new marker tumor M2-PK improved sensitivity to the detection of progression in lung cancer patients. *Anticancer Res* 2003;23(2A):899-906.
86. Hoops S, Sahle S, Gauges R, Lee C, Pahle J, Simus N, et al. COPASI--a COMplex PATHway SIMulator. *Bioinformatics* 2006;22(24):3067-74.
87. Needham CJ, Bradford JR, Bulpitt AJ, Westhead DR. A primer on learning in Bayesian networks for computational biology. *PLoS Comput Biol* 2007;3(8):e129.
88. van Schalkwijk DB, van Bochove K, van Ommen B, Freidig AP, van Someren EP, van der Greef J, et al. Developing computational model-based diagnostics to analyse clinical chemistry data. *Brief Bioinform* 2010;11(4):403-16.
89. Cacciola I, Scoglio R, Alibrandi A, Squadrito G, Raimondo G; SIMG-Messina Hypertransaminasemia Study Group. Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Intern Emerg Med* 2017;12(2):181-186.
90. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem* 2000; 46(12):2027-2049.
91. Hofbauer SL, Stangl KI, de Martino M, Lucca I, Haitel A, Shariat SF, et al. Pretherapeutic gamma-glutamyltransferase is an independent prognostic factor for patients with renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 2014;111(8):1526-31.
92. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017; 112 (1):18-35.
93. Carr BI, Guerra VA. Hepatocellular Carcinoma Aggressiveness Index and Its Relationship to Liver Enzyme Levels. *Oncology* 2016; 90:215–220.

94. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: a systematic review. *JAMA* 2015; 313(22):2263-2273.
95. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology* 2015; 62 (3): 932–954.
96. Wernly B, Lichtenauer M, Franz M, Kabisch B, Muessig J, Masyuk M, et al. Model for End-stage Liver Disease excluding INR (MELD-XI) score in critically ill patients: Easily available and of prognostic relevance. Wagener G, ed. *PLoS ONE* 2017;12(2):e0170987.
97. Benko T, Gallinat A, Minor T, Saner FH, Sotiropoulos GC, Paul A, et al. The postoperative Model for End stage Liver Disease score as a predictor of short-term outcome after transplantation of extended criteria donor livers. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017 ; 29(6):716-722.
98. Mannalithara A, Chan JL, Hagerty D, Kim WR. Model for end stage liver disease score dynamics in NASH patients awaiting liver transplantation and waitlist outcomes. *J Hepatol* 2017; 66(1):333-542.
99. Stasi C, Milani S. Non-invasive assessment of liver fibrosis: Between prediction/prevention of outcomes and cost-effectiveness. *World J Gastroenterol* 2016; 22(4):1711–1720.
100. Knop V, Vermehren J, Petersen J, Buggisch P, Wedemeyer H, Cornberg M, et al. Impact of Dynamic Viral and Biochemical Parameters on Progression of Liver Fibrosis in a Cohort of Inactive European Hepatitis B (HBV) Carriers: A Prospective Longitudinal Study (Albatros Study). *J Hepatol* 2016; 64(2): S379 - S380.
101. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology* 2015;21(41):11567-11583.
102. McMillan H, Gregas M, Darras B, Kang P. Serum Transaminase Levels in Boys With Duchenne and Becker Muscular Dystrophy. *Pediatrics* 2011;127(1):e132-6.
103. Allen LA, Felker GM, Pocock S, McMurray JJ, Pfeffer MA, Swedberg K, et al; CHARM Investigators. Liver function abnormalities and outcome in patients with chronic

- heart failure: data from the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) program. *Eur J Heart Fail* 2009;11(2):170-7.
104. Botros M, Sikiris KA. The De Ritis Ratio: The Test of Time. *Clin Biochem Rev* 2013;34(3):117-130.
105. Majhi S, Baral N, Lamsal M, Mehta KD. De Ritis ratio as diagnostic marker of alcoholic liver disease. *Nepal Med Coll J* 2006;8(1):40-2.
106. Loaeza-del-Castillo A, Paz-Pineda F, Oviedo-Cárdenas E, Sánchez-Avila F, Vargas-Vorácková F. AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2008;7(4):350-7.
107. Borsoi Viana MS, Takei K, Collarile Yamaguti DC, Guz B, Strauss E. Use of AST platelet ratio index (APRI Score) as an alternative to liver biopsy for treatment indication in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2009;8(1):26-31.
108. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007;46(1):32-6.
109. Nishikawa H, Nishijima N, Enomoto H, Sakamoto A, Nasu A, Komekado H, Nishimura T, Kita R, Kimura T, Iijima H, Nishiguchi S, Osaki Y. Comparison of FIB-4 index and aspartate aminotransferase to platelet ratio index on carcinogenesis in chronic hepatitis B treated with entecavir. *J Cancer* 2017;8(2):152-161.
111. Dolmazashvili E, Karchava M, Abutidze A, Sharvadze L, Tsertsvadze T. Comparative study of FIB-4 index and transient elastography among patients with chronic hepatitis C virus infection in Georgia. *Georgian Med News* 2017;(264):81-86.
112. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Ratziu V. FibroTest-FibroSURE: towards a universal biomarker of liver fibrosis? *Expert Rev Mol Diagn* 2005;5(1):15-21.
113. Mun BS, Ahn HS, Ahn DS, Lee SO. [The correlation of Child-Pugh score, PGA index and MELD score in the patient with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma according to the cause of alcohol and hepatitis B virus]. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2003;9(2):107-15.

114. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, Abella A, Naveau S, Paraf F, Chaput JC. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991;100(5 Pt 1):1397-402.
115. Tilg H, Kaser A. Predicting mortality by the Glasgow alcoholic hepatitis score: the long awaited progress? *Gut* 2005;54(8):1057-1059.
116. Hope TA, Ohliger MA, Qayyum A. MR imaging of diffuse liver disease: from technique to diagnosis. *Radiol Clin North Am* 2014;52(4):709-24.
117. Raquel Oliva M, Saini S. Liver cancer imaging: role of CT, MRI, US and PET. *Cancer Imaging* 2004;4(Spec No A):S42-S46.
118. Sherwood P, Lyburn I, Brown S, Ryder S. How are abnormal results for liver function tests dealt with in primary care? Audit of yield and impact. *BMJ* 2001;322(7281):276-8.
119. Lilford RJ, Bentham L, Girling A, Litchfield I, Lancashire R, Armstrong D, et al. Birmingham and Lambeth Liver Evaluation Testing Strategies (BALLETS): a prospective cohort study. *Health Technol Assess* 2013;17(28):i-xiv, 1-307.
120. Donnan PT, McLernon D, Dillon JF, Ryder S, Roderick P, Sullivan F, et al. Development of a decision support tool for primary care management of patients with abnormal liver function tests without clinically apparent liver disease: a record-linkage population cohort study and decision analysis (ALFIE). *Health Technol Assess* 2009;13(25):iii-iv, ix-xi, 1-134.
121. Pari L, Murugan P. Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. *Pharmacol Res* 2004;49(5):481-6.
122. Ge QP, Wang QF, Duan HF, Wang J, Chu NH. [Clinical analysis of protonamide and para-aminosalicylic acid induced hepatotoxicity in 129 cases]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2013;36(10):737-40.
123. Sette LH, Almeida Lopes EP. Liver enzymes serum levels in patients with chronic kidney disease on hemodialysis: a comprehensive review. *Clinics (Sao Paulo)* 2014;69(4):271-8.
124. Shamban L, Patel B, Williams M. Significantly Elevated Liver Alkaline Phosphatase in Congestive Heart Failure. *Gastroenterology Res* 2014;7(2):64-68.

125. Kubo SH, Walter BA, John DH, Clark M, Cody RJ. Liver function abnormalities in chronic heart failure. Influence of systemic hemodynamics. *Arch Intern Med* 1987;147(7):1227-30.
126. Avilés A, Talavera A, García EL, Guzmán R, Díaz-Maqueo JC. [Alkaline phosphatase as a prognostic factor in Hodgkin's disease]. *Rev Gastroenterol Mex* 1990;55(4):211-4.
127. Lin SM, Chu CM, Shih LY, Liaw YF. [Hematological abnormalities in acute viral hepatitis and acute hepatitis in HBsAg carrier]. *Changgeng Yi Xue Za Zhi* 1991;14(4):253-8.
128. Krajden M, McNabb G, Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology* 2005;16(2):65-72.
129. Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. *Annals of Translational Medicine*. 2016;4(18):338.
130. de Paula VS. Laboratory diagnosis of hepatitis A. *Future Virology* 2012;7(5):461-472.
131. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)a. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2013;57(4):e22-e121.
132. Mannan R, Misra V, Misra S., Singh PA, Dwivedi M. A Comparative Evaluation of Scoring Systems for Assessing Necro-Inflammatory Activity and Fibrosis in Liver Biopsies of Patients with Chronic Viral Hepatitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 2014;8(8):FC08-FC12.
133. Stănculeț N, Grigoraș A, Predescu O, Floarea-Strat A, Luca C, Manciu C, et al. Operational scores in the diagnosis of chronic hepatitis. A semi-quantitative assessment. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53(1):81-7.
134. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2007;47(4):598-607.

135. Wahl K, Rosenberg W, Vaske B, Manns MP, Schulze-Osthoff K, Bahr MJ, et al. Biopsy-Controlled Liver Fibrosis Staging Using the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Score Compared to Transient Elastography. Avila MA, ed. PLoS ONE 2012;7(12):e51906.
136. Afphal NH. Biopsy or Biomarkers: Is There a Gold Standard for Diagnosis of Liver Fibrosis? *Clinical Chemistry* 2004;50(8):1299-1300.
137. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-2618.
138. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology* 2003;38:481-492.
139. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-1075.
140. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, et al. Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (Fibrotest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:323-333.
141. Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol* 2004;99(6):1160-74.
142. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011;91(1):221-64.
143. Cao Q, Mak KM, Ren C, Lieber CS. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H₂O₂-dependant MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004;279(6):4292-304.
144. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 2002;123(4):1323-30.
145. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine

- production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998;101(4):890-8.
146. Paik YH, Schwabe RF, Bataller R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003;37(5):1043-55.
147. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(10):1969-87.
148. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012;55(6):2005-23.
149. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al; LIDO Study Group. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128(7):1898-906.
150. Liang J, Liu F, Wang F, Han T, Jing L, Ma Z, et al. A Noninvasive Score Model for Prediction of NASH in Patients with Chronic Hepatitis B and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int* 2017;2017:8793278.
151. El Bassat H., Ziada D. H., Hasby E. A., Nagy H., Abo Ryia M. H. Apoptotic and anti-apoptotic seromarkers for assessment of disease severity of non-alcoholic steatohepatitis. *Arab Journal of Gastroenterology* 2014;15(1):6–11.
152. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41(6):1313-21.
153. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. The NAS and The Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2011;53(3):810-820.

154. Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29(7):1470-6.
155. Myers RP, Pollett A, Kirsch R, Pomier-Layrargues G, Beaton M, Levstik M, et al. Controlled Attenuation Parameter (CAP): a noninvasive method for the detection of hepatic steatosis based on transient elastography. *Liver Int* 2012 ;32(6):902-10.
156. de Lédinghen V, Wong GL, Vergniol J, Chan HL, Hiriart JB, Chan AW, et al. Controlled attenuation parameter for the diagnosis of steatosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31(4):848-55.
157. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic and Clinical Implications. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2010;51(2):679-689.
158. Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology* 2012;142(4):711-725.e6.
159. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Seminars in liver disease* 2012;32(1):22-29.
160. TOMIZAWA M, KAWANABE Y, SHINOZAKI F, et al. Triglyceride is strongly associated with nonalcoholic fatty liver disease among markers of hyperlipidemia and diabetes. *Biomedical Reports* 2014;2(5):633-636.
161. Sumida Y, Nakajima A, Hyogo H, Tanaka S, Ono M, Fujii H, et al. Non-invasive systems for predicting NASH in Japan: evidences from Japan Study Group of NAFLD. *Integr Mol Med* 2015;2(2):145-149.
162. : Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Uto H, Ono M, Sumida Y, et al; Japanese Society of Gastroenterology; Japan Society of Hepatology. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2015;50(4):364-77.
163. Orman ES, Odena G, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis, management, and novel targets for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28Suppl 1:77-84.

164. Testino G. Alcoholic hepatitis. *J Med Life* 2013;6(2):161-7.
165. Grasselli E, Compalati AD, Voci A, Vecchione G, Ragazzoni M, Gallo G, et al. Altered oxidative stress/antioxidant status in blood of alcoholic subjects is associated with alcoholic liver disease. *Drug Alcohol Depend* 2014;143:112-9.
166. Torruellas C, French SW, Medici V. Diagnosis of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014;20(33):11684-99.
167. Dasarathy S, McCullough J.A.C. Alcoholic Liver Disease. In: Schiff's Diseases of the Liver, 11th Edition. Eugene R. Schiff, Willis C. Maddrey, Michael F. Sorrell (Eds.). Oxford: Wiley-Blackwell, 2012: 657:701.
168. Stickel F, Datz C, Hampe J, Bataller R. Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver* 2017; 11(2):173-188.
169. European Association for the Study of Liver. EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2012;57:399–420.
170. Tu HP, Tung YC, Tsai WC, Lin GT, Ko YC, Lee SS. Alcohol-related diseases and alcohol dependence syndrome is associated with increased gout risk: A nationwide population-based cohort study. *Joint Bone Spine* 2017;84(2):189-196.
171. Alatalo P, Koivisto H, Puukka K, Hietala J, Anttila P, Bloigu R, et al. Biomarkers of liver status in heavy drinkers, moderate drinkers and abstainers. *Alcohol Alcohol* 2009;44(2):199-203.
172. Trabut JB, Plat A, Thepot V, Fontaine H, Vallet-Pichard A, Nalpas B, et al. Influence of liver biopsy on abstinence in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol* 2008;43(5):559-63.
173. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2015;21:11044–11052.
174. Salvalaggio P, Afonso RC, Pereira LA, Ferraz-Neto BH. The MELD system and liver transplant waiting-list mortality in developing countries: lessons learned from São Paulo, Brazil. *Einstein (Sao Paulo)* 2012;10(3):278-85.

175. Forrest EH, Morris AJ, Stewart S, Phillips M, Oo YH, Fisher NC, et al. The Glasgow alcoholic hepatitis score identifies patients who may benefit from corticosteroids. *Gut* 2007;56(12):1743-6.
176. Louvet A, Naveau S, Abdelnour M, Ramond MJ, Diaz E, Fartoux L, et al. The Lille model: a new tool for therapeutic strategy in patients with severe alcoholic hepatitis treated with steroids. *Hepatology* 2007;45(6):1348-54.
177. Garcia-Saenz-de-Sicilia M, Duvoor C, Altamirano J, Chavez-Araujo R, Prado V, de Lourdes Candolo-Martinelli A, et al. A Day-4 Lille Model Predicts Response to Corticosteroids and Mortality in Severe Alcoholic Hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2017;112(2):306-315.
178. Aizawa Y, Hokari A. Autoimmune hepatitis: current challenges and future prospects. *Clin Exp Gastroenterol* 2017; 10:9-18.
179. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999;31(5):929-38.
180. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al; International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48(1):169-76.
181. Czaja AJ. Performance parameters of the diagnostic scoring systems for autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48:1540–1548.
182. Corrigan M, Hirschfield GM, Oo YH, Adams DH. Autoimmune hepatitis: an approach to disease understanding and management. *Br Med Bull* 2015; 114(1):181-191.
183. Silveira MG, Talwalkar JA, Angulo P, Lindor KD. Overlap of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: long-term outcomes. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1244–1250.
184. Neuhauser M, Bjornsson E, Treeprasertsuk S, Enders F, Silveira M, Talwalkar J, et al. Autoimmune hepatitis-PBC overlap syndrome: a simplified scoring system may assist in the diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2010;105(2):345-53.

185. Fujiwara K, Yasui S, Tawada A, Fukuda Y, Nakano M, Yokosuka O. Diagnostic value and utility of the simplified International Autoimmune Hepatitis Group criteria in acute-onset autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2011;31:1013–1020.
186. Czaja AJ. Diagnosis, pathogenesis, and treatment of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Dig Dis Sci* 2012;57:2248–2266.
187. Loudianos G, Incollu S, Mameli E, Lepori MB. Wilson’s disease in an adult asymptomatic patient: a potential role for modifying factors of copper metabolism. *Ann Gastroenterol* 2016; 29(1):96-98.
188. Hedera P. Update on the clinical management of Wilson’s disease. *Appl Clin Genet* 2017; 10:9-19.
189. Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139(7): 876-887.
190. Danan G, Bénichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs—I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: Application to drug-induced liver injuries. *J. Clin. Epidemiol* 1993;46:1323–1330.
191. Teschke R, Eickhoff A. Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: Actual key issues and new encouraging steps. *Front. Pharmacol* 2015;6:1–40.
192. Khandelwal N, James LP, Sanders C, Larson AM, Lee WM. The acute liver failure study group. Unrecognized acetaminophen toxicity as a cause of indeterminate acute liver failure. *Hepatology* 2011;53:567–576.
193. Teschke R, Schulze J, Eickhoff A, Wolff A., Frenzel C. Mysterious Hawaii liver disease case—Naproxen overdose as cause rather than OxyELITE Pro? *J. Liver Clin. Res* 2015;2:1013.
194. Teschke R, Frenzel C, Wolff A, Eickhoff A, Schulze J. Drug induced liver injury: Accuracy of diagnosis in published reports. *Ann. Hepatol* 2014;13:248–255.
195. Danan G, Teschke R. RUCAM in Drug and Herb Induced Liver Injury: The Update. Haybaeck J, ed. *International Journal of Molecular Sciences* 2016;17(1):14.
196. Bénichou 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* 1993;46:1331–1336.

197. García-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug induced liver injury: strengths and weaknesses. *J Hepatol* 2011;55(3):683-691.
198. Thakkar S, Chen M, Fang H, Liu Z, Roberts R, Tong W. The Liver Toxicity Knowledge Base (LKTb) and drug-induced liver injury (DILI) classification for assessment of human liver injury. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;12(1):31-38.
199. Chen M, Borlak J, Tong W. A Model to predict severity of drug-induced liver injury in humans. *Hepatology* 2016; 64:931–940.
200. Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut* 2017; 66(6):1154-1164.
201. Remien CH, Adler FR, Waddoups L, Box TD, Sussman NL. Mathematical modeling of liver injury and dysfunction after acetaminophen overdose: early discrimination between survival and death. *Hepatology* 2012;56(2):727-34.
202. Mathur T, Manadan AM, Thiagarajan S, Hota B, Block JA. Serum transaminases are frequently elevated at time of diagnosis of idiopathic inflammatory myopathy and normalize with creatine kinase. *J Clin Rheumatol* 2014; 20(3):130-132.
203. Lundberg IE, Miller FW, Tjärnlund A, Bottai M. Diagnosis and classification of idiopathic inflammatory myopathies. *Journal of Internal Medicine* 2016;280(1):39-51.
204. Falvo MJ, Bloomer RJ. Review of exercise-induced muscle injury: relevance for athletic populations. *Res Sports Med* 2006;14(1):65-82.
205. Bozkus F, Dikmen N, Sahin H, Samur A. Serum Gamma-Glutamyl Transferase Activity as a Potential Novel Cardiovascular Biomarker in COPD. *Respir Care* 2016; 61(11):1465-1471.
206. Abe S, Yoshihisa A, Takiguchi M, Shimizu T, Nakamura Y, Yamauchi H, et al. Liver Dysfunction Assessed by Model for End-Stage Liver Disease Excluding INR (MELD-XI) Scoring System Predicts Adverse Prognosis in Heart Failure. *PLoS One* 2014; 9(6):e100618.
207. Sommer W, Marsch G, Kaufeld T, Röntgen P, Beutel G, Tongers J, et al. Cardiac awake extracorporeal life support-bridge to decision? *Artif Organs* 2015;39(5):400-8.

208. Gao M, Cheng Y, Zheng Y, Zhang W, Wang L, Qin L. Association of serum transaminases with short- and long-term outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord* 2017; 17:43.
209. van Deursen VM, Damman K, Hillege HL, van Beek AP, van Veldhuisen DJ, Voors AA. Abnormal liver function in relation to hemodynamic profile in heart failure patients. *J Card Fail* 2010;16(1):84-90.
210. Lin TY, Shekar AO, Li N, Yeh MW, Saab S, Wilson M, et al. Incidence of abnormal liver biochemical tests in hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2017;86(5):755-759.
211. Sadoul JL, Canivet B, Freychet P. Toxic hepatitis induced by antithyroid drugs: four cases including one with cross-reactivity between carbimazole and benzylthiouracil. *Eur J Med* 1993;2(8):473-7.
212. Wang M-T, Lee W-J, Huang T-Y, Chu C-L, Hsieh C-H. Antithyroid drug-related hepatotoxicity in hyperthyroidism patients: a population-based cohort study. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2014;78(3):619-629.
213. Heidari R, Niknahad H, Jamshidzadeh A, Abdoli N. Factors affecting drug-induced liver injury: antithyroid drugs as instances. *Clinical and Molecular Hepatology* 2014;20(3):237-248.
214. de Campos Mazo DF, de Vasconcelos GB, Pereira MA, de Mello ES, Bacchella T, Carrilho FJ, et al. Clinical spectrum and therapeutic approach to hepatocellular injury in patients with hyperthyroidism. *Clin Exp Gastroenterol* 2013;6:9-17.
215. Kumar A, Sinha RA, Tiwari M, Singh R, Koji T, Manhas N, et al. Hyperthyroidism induces apoptosis in rat liver through activation of death receptor-mediated pathways. *J Hepatol* 2007;46(5):888-98.
216. He K, Hu Y, Xu XH, Mao XM. Hepatic dysfunction related to thyrotropin receptor antibody in patients with Graves' disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014;122(6):368-72.
217. Azizi F. gamma-Glutamyl transpeptidase levels in thyroid disease. *Arch Intern Med* 1982;142(1):79-81.

218. Cooper DS, Kaplan MM, Ridgway EC, Maloof F, Daniels GH. Alkaline phosphatase isoenzyme patterns in hyperthyroidism. *Ann Intern Med* 1979;90(2):164-8.
219. Bal C, Chawla M. Hyperthyroidism and Jaundice. *Indian Journal of Nuclear Medicine: IJNM: The Official Journal of the Society of Nuclear Medicine, India.* 2010;25(4):131-134.
220. Zhang Q, Guan Y, Xiang T, Liu S, Chen Q, Zhang Q. Combination of molecular adsorbent recirculating system and radioiodine for the treatment of concurrent hyperthyroidism and severe liver dysfunction: A retrospective cohort study. *Endocr Pract* 2017; 23(2):141-148.
221. Sousa A, Pérez-Rodríguez MT, Páramo C, Álvarez E, Rivera A. Severe acute liver failure and tirotoxicosis: an uncommon association. *Rev Esp Enferm Dig* 2015; 107(9):575-576.

8 БИОГРАФИЈА



Нарциса Петровић-Субић

др. мед. , мр. сци.

Специјалиста клинички фармаколог

Адреса: Џорџа Вашингтона 4/10, Београд

Адреса на послу : Хемофарм А.Д, Проте Матеје 70, Београд

Контакт: тел: 065 8 333 065, е-пошта: Narcisa.Petrovic-Subic@hemofarm.com

Датум рођења: 28.09.1965.

Породични статус: удата, једно дете

Страни језици: енглески, руски, румунски

Професионална едукација

- Дипломирала сам на Медицинском факултету, Универзитета у Београду 10.01.1991. са средњом оценом 9.21
- Стучни испит за доктора медицине пред испитном комисијом Министарства здравља Републике Србије положила сам 25.12.1991.
- Магистрирала сам на Медицинском факултету у Новом Саду 4.04.2006. са темом “Промене морфолошких карактеристика јетре под утицајем појединих ксенобиотика”
- Положила сам специјалистички испит из клиничке фармакологије на Медицинском факултету у Новом Саду 14.01. 2008.

Радно искуство:

Од 1.02.1991. године радим у Хемофарму А.Д. Тренутно радим на пословима Project Manager за тржишта Русије, ЦИС, САД и МЕНА.

Рад из докторске тезе публикован у целини у часопису на сци листи (кандидат први аутор): Petrovic Subic N, Kojic M, Jankovic MS, Stefanovic MS. Performance of calculator for diagnosing cause of liver damage. Srp Arh Celok Lek; 2018; Online First October 16, 2018; DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

Рад публикован у целини у часопису M52 (кандидат први аутор) :

Petrovic Subic N, Kojic M. Drug induced liver diseases. Facta Universitatis: Series Medicine and Biology; 2017; 19(1):11-17. doi: 10.22190/FUMB170330008P.

Рад публикован у целини у часопису М52 (кандидат коаутор) :

Jovanovic Z, Radonjic V, Jelic R, Petrovic Subic N, Soldatovic I, Terzic V, et al.

Prevalence of prolonged QTC interval in patients taking psychopharmacs.

Ser J Exp Clin Res 2018; 19 (2):159-166; DOI: 10.1515/SJECR-2016-0096

Рад публикован у целини у часопису са рецензијом (кандидат први аутор) :

Petrovic Subic N, Todorovic V. Trend of liver serum parameter changes in an acute intoxication caused by xenobiotics. M.C. 2008; 1:15- 22.

9 БИБЛИОГРАФИЈА

Рад из докторске тезе публикован у целини у часопису на сци листи (кандидат први аутор): Petrovic Subic N, Kojic M, Jankovic MS, Stefanovic MS. Performance of calculator for diagnosing cause of liver damage. *Srp Arh Celok Lek*; 2018; Online First October 16, 2018; DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

Рад публикован у целини у часопису М52 (кандидат први аутор) : Petrovic Subic N, Kojic M. Drug induced liver diseases. *Facta Universitatis: Series Medicine and Biology*; 2017; 19(1):11-17. doi: 10.22190/FUMB170330008P.

Рад публикован у целини у часопису М52 (кандидат коаутор) : Jovanovic Z, Radonjic V, Jelic R, Petrovic Subic N, Soldatovic I, Terzic V, et al. Prevalence of prolonged QTC interval in patients taking psychopharmacs. *Ser J Exp Clin Res* 2018; 19 (2):159-166; DOI: 10.1515/SJECR-2016-0096

Рад публикован у целини у часопису са рецензијом (кандидат први аутор) : Petrovic Subic N, Todorovic V. Trend of liver serum parameter changes in an acute intoxication caused by xenobiotics. *M.C.* 2008; 1:15- 22.

ПРИЛОГ

8.1. КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број:

РБ

Идентификациони број:

ИБР

Тип документације: монографска публикација

ТД

Тип записа: Текстуални штампани материјал

ТЗ

Врста рада: Докторска дисертација

ВР

Аутор: Нарциса Петровић-Субић

АУ

Ментор/коментор: др сци. мед. Слободан М. Јанковић, редовни професор

МН

Наслов рада: „Процена узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова оштећења јетрене функције коришћењем математичког модела“

НР

Језик публикације: српски

ЈП

Језик извода: српски

ЈИ

Земља публикавања: Србија

ЗП

Уже географско подручје: Шумадијски округ
УГП

Година: 2019
ГО

Издавач: Ауторски репринт
ИЗ

Место и адреса: 34000 Крагујевац, Светозара Марковића 69, Република Србија
МС

Физичи опис рада:
ФО

Научна област: Медицина

Научна дисциплина: клиничка и експериментална фармакологија
ДИ

Предметна одредница/ кључне речи математички модел, оштећење јетре, сензитивност, специфичност, етиологија
ПО

УДК

Чува се: У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, Србија
ЧУ

Важна напомена:
МН

Извод:

Увод: Израда модела који би препознао обрасце абнормалних резултата лабораторијских тестова јетрене функције и повезао их са највероватнијом етиологијом могла би да помогне клиничарима код прве орјентације ка дефинитивној дијагнози код пацијената са оштећењем јетре. Циљ ове студије био је дизајнирање, конструисање и валидација модела који на основу обрасца абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције код пацијената са оштећењем јетре предлаже највероватнију етиологију.

Материјал и методе: Образац абнормалних вредности лабораторијских тестова јетрене функције за одређену етиологију оштећења јетре преузет је из дистрибуције стварних вредности које су преузете из медицинске литературе о пацијентима чија је етиологија оштећења јетре доказана поузданим дијагностичким методама. После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго). Студија валидације модела обављена је на Војномедицинској академији у Београду током двогодишњег периода (2015-2016).

Резултати: За све тестиране дијагнозе, модел је показао веома значајну разлику између површине испод ROC (*Receiver-operator curves*) и вредности од 0,5 ($p < 0,001$), а уочен је и висок степен сензитивности (више од 90%, осим модела за хронични и акутни хепатитис) као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност модела да открије етиологију оштећења јетре.

Закључак: Нови модели показали су задовољавајућу осетљивост и специфичност за откривање главних етиологија оштећења јетре.

ИД

Датум прихватања теме од стране ННВ: 27.12.2017

ДП

Датум одбране:

ДО

Чланови комисије:

КО

1.Проф. др Жељко Мијаиловић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, председник;

2.Проф. др Марија Станић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Математичка анализа са применама, члан;

3.Доц. др Валентина Николић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан;

KEY WORDS DOCUMENTATION

**UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC**

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Documentation type: monograph

DT

Type of record: textual record

TR

Contents code: doctoral thesis

CC

Author: Narcisa Petrovic Subic

AU

Menthor/co-mentor dr sci. med. Slobodan M. Jankovic, Full professor

MN

Title: "Estimation of causes of abnormal liver function laboratory tests results using a mathematical model"

TI

Language of text: Serbian

LT

Language of abstract: English

LA

Country of publication: Serbia

CP

Locality of publication: Sumadia District

LP

Publication year: 2019

PY

Publisher: copyright reprint

PU

Publication place: 34000 Kragujevac, Svetozara Markovica 69, Republic of Serbia

PP

Physical description

PD

Scientific field: medicine

SF

Scientific discipline: clinical and experimental pharmacology

SD

Subject/key words: mathematical model, liver damage, sensitivity, specificity, etiology

SKW

UDC

Holding data: Library of Medical Faculty University of Kragujevac

HD

Note:

N

Abstract:**AB**

Introduction/Objective: Development of a model that would identify the patterns of abnormal laboratory liver function test results and link them to the most probable etiology could help clinicians in their initial orientation towards a definitive diagnosis in patients with liver damage. The objective of this study was to design, construct and validate a model that based on a pattern of abnormal values in laboratory liver function tests of a patient with liver damage would propose the most probable etiology.

Material and methods: Patterns of abnormal laboratory liver function test values for certain etiology of liver damage were taken over from distributions of actual values taken over from medical literature about patients whose etiology of liver damage was proven by reliable diagnostic tests. After setting up the model with the patterns extracted, its diagnostic value was checked under real-life conditions, on a sample of patients with liver damage whose etiology was established by the gold standard of diagnostics (biopsy or else). The model validation study was carried out at the Military Medical Academy in Belgrade during a two-year period (2015–2016).

Results: For all tested diagnoses, the model demonstrated a highly significant difference between the area under the ROC (Receiver-operator curves) values and the value of 0.5 ($p < 0.001$), and high level of sensitivity (more than 90%, except for the model for chronic and acute hepatitis) as well as relatively high specificity (more than 75%) were noted, indicating good ability of the model to detect etiology of liver damage.

Conclusion: New models showed satisfactory sensitivity and specificity for revealing major liver damage etiologies.

Accepted by the Scientific Board on: 27.12.2017

ASB

Defended on:

DE

Thesis defended board

(Degree/name/surname/title/faculty)

DB

1. Prof. Dr. Zeljko Mijailovic, associate professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the scientific field Infective diseases, president;
2. Prof. Marija Stanic, MD, full professor at the Faculty of Science and Mathematics, University of Kragujevac for the scientific field Mathematical analysis with applications, member;
3. Doc. Dr. Valentina Nikolić, Assistant Professor at the Faculty of Medicine of the University of Niš for the scientific field Pharmacology with toxicology, member;

Образац 1.

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Нарциса Петровић-Субић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Процена узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова оштећења јетрене функције коришћењем математичког модела“

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 14.6.2019. године,



потпис аутора

Образац 2.

Образац 2

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Нарциса Петровић-Субић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Процена узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова
оштећења јетрене функције коришћењем математичког модела“

која је одбрањена на Медицинском факултету

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 14.6.2019. године,



потпис аутора

Радови који су били услов за пријаву завршене докторске дисертације



Address: 1 Kraljice Natalije Street, Belgrade 11000, Serbia
☎ +381 11 4092 776, Fax: +381 11 3348 653
E-mail: office@srpskiarhiv.rs, Web address: www.srpskiarhiv.rs

Paper Accepted^{*}

ISSN Online 2406-0895

Original Article / Оригинални рад

Narcisa Petrović-Subić^{1†}, Miroslav Kojić², Slobodan M. Janković¹,
Srđan M. Stefanović¹

Performance of calculator for diagnosing cause of liver damage

Перформансе калкулатора за дијагностику узрока оштећења јетре

¹University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pharmacology and Toxicology, Kragujevac, Serbia;

²Military Medical Academy, Clinic for Infectious and Tropical Diseases, Belgrade, Serbia

Received: May 4, 2018

Revised: September 25, 2018

Accepted: October 4, 2018

Online First: October 16, 2018

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

^{*} Accepted papers are articles in press that have gone through due peer review process and have been accepted for publication by the Editorial Board of the *Serbian Archives of Medicine*. They have not yet been copy edited and/or formatted in the publication house style, and the text may be changed before the final publication.

Although accepted papers do not yet have all the accompanying bibliographic details available, they can already be cited using the year of online publication and the DOI, as follows: the author's last name and initial of the first name, article title, journal title, online first publication month and year, and the DOI; e.g.: Petrović P, Jovanović J. The title of the article. Srp Arh Celok Lek. Online First, February 2017.

When the final article is assigned to volumes/issues of the journal, the Article in Press version will be removed and the final version will appear in the associated published volumes/issues of the journal.

The date the article was made available online first will be carried over.

[†]Correspondence to:

Narcisa PETROVIĆ-SUBIĆ
Džordža Vašingtona 4/10, 11000 Belgrade, Serbia
Email: petrovicnarcisa3@gmail.com

Performance of calculator for diagnosing cause of liver damage

Перформансе калкулатора за дијагностику узрока оштећења јетре

SUMMARY

Introduction/Objective Making a calculator which would recognize patterns of abnormal liver function tests and link them to the most probable etiology could help clinicians to make the first orientation towards definitive diagnosis in a patient with liver damage. The aim of our study was to design, construct and validate a calculator that based on pattern of abnormalities in liver function tests of a patient with liver damage would propose the most probable etiology.

Methods Patterns of abnormal liver function tests for certain etiology of liver damage were extracted from distributions of actual values taken from reports in medical literature about patients whose etiology of liver damage was proven by reliable diagnostic tests. After setting up the calculator with the patterns extracted, its diagnostic value was checked under real conditions, on a sample of patients with liver damage whose etiology was established by gold standard of diagnostics (biopsy or else). The calculator validation study was carried out at the Military Medical Academy in Belgrade during the two-year period (2015-2016).

Results For all tested diagnoses the calculator demonstrated highly significant difference between area under the Receiver-operator curves values and value of 0.5 ($p < 0.001$), and high level of sensitivity (more than 90%, except of model for chronic hepatitis) as well as relatively high specificity (more than 75%) were noted, indicating the good ability of the calculator to detect etiology of liver damage.

Conclusion New calculators showed satisfactory sensitivity and specificity for revealing major liver damage etiologies.

Keywords: medical calculator; sensitivity; specificity; etiology

САЖЕТАК

Увод/Циљ Израда калкулатора који би препознао обрасце абнормалних тестова функције јетре и повезао их са највероватнијом етиологијом могла би да помогне клиничарима код прве оријентације ка дефинитивној дијагнози код пацијената са оштећењем јетре. Циљ наше студије био је да дизајнирамо, конструишемо и валидирамо калкулатор који на основу обрасца абнормалних тестова функције јетре код пацијената са оштећењем јетре предлаже највероватнију етиологију.

Метод Образац абнормалних тестова функције јетре за одређену етиологију оштећења јетре преузет је из дистрибуције стварних вредности које су преузете из медицинске литературе о пацијентима чија је етиологија оштећења јетре доказана поузданим дијагностичким методама. После постављања калкулатора, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго). Студија валидације калкулатора обављена је на Војномедицинској академији у Београду током двогодишњег периода (2015-2016).

Резултати За све тестиране дијагнозе, калкулатор је показао веома значајну разлику између површине испод *ROC* (*Receiver-operator curves*) крива и вредности од 0,5 ($p < 0,001$), а уочен је и висок степен сензитивности (више од 90%, осим калкулатора за хронични хепатитис) као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност калкулатора да открије етиологију оштећења јетре.

Закључак Нови калкулатори показали су задовољавајућу осетљивост и специфичност за откривање главних етиологија оштећења јетре.

Кључне речи: медицински калкулатор; сензитивност; специфичност; етиологија

INTRODUCTION

In patients with identified liver dysfunction, evaluation of pattern of abnormal liver function tests is usually the first step towards recognizing etiology of liver disease and establishing prognosis. In asymptomatic patients elevation of liver enzymes is frequently the first evidence of liver disease [1]. However, lack of specificity may limit diagnostic value of isolated liver function tests. Alkaline phosphatase (AP) could be elevated in both bone and liver disorders, and aminotransferases (AT) could be elevated in cardiac diseases, skeletal muscle as well as in liver diseases. During chronic

Srp Arh Celok Lek 2018 | Online First October 16, 2018 | DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P> 3

diseases such as alcoholic liver disease, serum albumin can be affected by many factors not directly related to the main cause of illness (e.g. malnutrition, malabsorption, chronic inflammation). Elevated serum values of gamma-glutamyl transferase (GGT) could reflect the liver, biliary tract and pancreas diseases [2, 3]. A prolonged prothrombin time is not specific for liver diseases and is seen in different congenital deficiencies of coagulation factors, as well as in acquired conditions. Liver function tests also lack sensitivity and in certain liver diseases like in cirrhosis, early phase can be present without liver tests abnormalities. Single liver function tests are not providing sufficient data and may not provide a specific diagnosis. Combination of tests and pattern of abnormalities can suggest a general category of hepatic dysfunction [3].

The Model for End-stage Liver Diseases (MELD) calculator uses the laboratory parameters (creatinine, bilirubin and international normalized ratio (INR)) in order to project the state of the chronic liver disease at a given moment, as well as the need for transplantation. The Pediatric Model for End-stage Liver Diseases (PELD) score is a modified formula for children up to 12 years of age. The original version was devised at the Mayo Clinic, but it has several adaptations [4, 5]. FibroTest[®], Fibrosure[®] and Enhanced Liver Fibrosis[®] are mathematical formulas used for rating the liver fibrosis [6]. A scoring system for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) was designed and validated by the nonalcoholic steatohepatitis - NASH Clinical Research network. The NAFLD Activity Score (NAS) is used for assessment of any degree of the NAFLD and is under critical evaluation in many recent studies [7]. Maddrey Discriminant Function (MDF) and Glasgow alcoholic hepatitis score are used for defining severity and predicting mortality in patients with alcohol hepatitis [8]. International Autoimmune Hepatitis Group developed a scoring system for diagnostic, differential diagnostic and prognostic purposes in patients with autoimmune hepatitis (AIH). There are several adaptations of the initial scoring system. Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM) was designed to assess likelihood causality in cases of suspected drug induced liver injury (DILI) [9]. However, none of earlier calculators was designed to reveal etiology of liver damage, which remains to be established by elaborate diagnostic algorithms.

Making a calculator which would recognize patterns of abnormal liver function tests and link them to the most probable etiology could help clinicians to make the first orientation towards definitive diagnosis in a patient with liver damage. The prerequisite for such calculator would be revealing connections between the patterns of abnormal liver tests and specific etiology, which could only be made by systematic search and analysis of published clinical studies, case series and case reports that involve liver function tests in patients with established etiology of liver damage by means of gold standard of diagnostics (usually liver biopsy).

The aim of our study was to design and construct a calculator that based on pattern of abnormalities in liver function tests of a patient with liver damage would propose the most probable

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

Copyright © Serbian Medical Society

Srp Arh Celok Lek 2018 | Online First October 16, 2018 | DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P> 4

etiology. Diagnostic accuracy of the calculator will be tested on a sample of real patients suffering from various types of liver damage whose etiology was established by gold standard of diagnostics.

METHODS

This retrospective observational, cross-sectional study was designed as testing of diagnostic accuracy of an instrument (calculator) for rapid diagnostic orientation in patients with liver damage.

Main principle by which the calculator was constructed was comparing pattern of abnormal liver function tests (i.e. certain combination of abnormal values of laboratory parameters) in a patient with distributions of patterns characteristic for certain causes of liver damage obtained from systematic search of published studies. Patterns of abnormal liver function tests for certain etiology of liver damage were extracted from distributions of actual values taken from reports in medical literature about patients whose etiology of liver damage was proven by reliable diagnostic tests (gold standards for each specific diagnosis). Comprehensive and systematic literature search in MEDLINE database dealing with the abnormal liver chemistries was conducted. The search results included 5867 publications from the categories of clinical trials, case series or case studies. The calculator was based on randomly chosen sample of 1100 publications, whose results were further weighted according to the size of a patient sample. The calculator outputs were obtained on the basis of analysis of a large number (more than 1000) of individual model results obtained by random sampling of input variable values ("bootstrapping"). Input variables were: serum alanine aminotransferase ALT (IU/L) and aspartate aminotransferase AST (IU/L) levels, serum bilirubin (mmol/L), alkaline phosphatase (IU/L), gamma-glutamyl transferase (IU/L) serum albumin values (g/L), prothrombin time (PT), long-term alcohol intake, drug or narcotics (xenobiotics) exposure, diabetes, hyperlipidemia, obesity, TSH values, intense physical effort. The calculator gives output in the form of the most probable etiology of liver damage, or diagnoses, ranked by the probability of causation: toxic and drug-induced hepatitis, chronic hepatitis, alcoholic hepatitis, nonalcoholic steatohepatitis, acute hepatitis, autoimmune hepatitis, metabolic liver disease, hyperthyroidism, heart diseases and myopathies. The calculator was built in Microsoft Excel, Version 2007, using Boolean operators, the "if - then" function and other general functions of the program.

The calculator functions according to the principle with what degree of positivity of the clinical condition parameters in patients with a liver lesion coincides with a degree in which such changes of parameters are described in scientific medical literature. Clinical condition parameters are valued binary (1 – there is a significant change, and 0 – there is no significant change), as well as parameter values within a certain described clinical entity (1 - a significant change is described, 0 - no significant

Srp Arh Celok Lek 2018 | Online First October 16, 2018 | DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P> 5

change is described). Depending on what percentage of studies, from the total number of published studies, describing a particular parameter change, has determined that the parameter has changed and vice versa, i.e. if it exceeds a certain percentage threshold (of a positive or negative finding), such a parameter is assigned a value of 1 (over the threshold of positive values), 0 (over the threshold of negative values) or is not assigned at all. Finally, the combination of individual parameter values in a patient is compared with the achieved combination of parameter values described in the literature for a certain diagnosis; therefore the calculator gives the result that the clinical picture corresponds to a certain diagnosis, i.e. points to the diagnosis that most closely corresponds to the clinical picture of the patient.

Respecting established methodology and available randomly chosen sample published data, calculator for toxic and drug-induced hepatitis, chronic hepatitis, alcoholic hepatitis, nonalcoholic steatohepatitis, and autoimmune hepatitis were set up. Established calculators are presented in the Table 1.

After setting up the calculator, its diagnostic value was checked under real conditions, on a sample of patients with liver damage whose etiology was established by gold standard of diagnostics (biopsy or else).

The inclusion criteria for validation set of the patients were: a) age between 18 and 65 years; b) male or female sex; c) patients with abnormal liver function test values in whom a definitive etiology of abnormal values was set on the discharge list and / or the report of the appropriate specialist (or it was concluded that liver damage was not the cause of abnormal liver function tests).

The exclusion (non-inclusion) criteria were: a) patients with incomplete medical documentation in whom the values of the input model variables could not be determined; b) patients with normal liver function test values; c) patients under 18 and above 65 years of age; d) pregnant and lactating women; e) patients who did not sign the informed consent.

In total, out of more than 1000 screened patients, the validation set included 145 who fulfill inclusion and did not have exclusion criteria.

The calculator validation study was conducted from September 1, 2015 to February 28, 2016 at the Military Medical Academy in Belgrade. The data were collected from the medical records. Anonymity of the data used for the study was ensured by the study protocol and procedures. The patients were included in the validation group according to the "convenient" sample principle, since due to limited resources of the researchers it was not possible to choose a simple or cluster random sample. However, the sample was consecutive, i.e. all patients treated at the study site during the study time span were included in the sample. In order to avoid bias, the author who administered

Srp Arh Celok Lek 2018 | Online First October 16, 2018 | DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P> 6

calculator was blinded for results of the gold standard of diagnostics. The study was approved by Professional Board of the health facility where the study was conducted, and the Helsinki Declaration was followed as guidance.

All data were summarized with adequate descriptive statistics. Numbers and percentages were used for categorical variables, while age in years as a continuous variable, was presented as ranges (minimum-maximum values), medians and interquartile ranges (IQRs, 25th—75th percentile) since the distribution had not been normal according to Komogorov-Smirnov testing. The difference between men and women in age ranges (groups) was explored using Mann-Whitney U test. The Receiver-operator curves (ROCs) were constructed based on percentage of overlap between the patterns of abnormal liver test for certain diagnosis and actual abnormal liver tests values of the patients. The areas under the curves (AUCs) and cut-off values (Manhattan distance) with corresponding sensitivity and specificity, positive and negative predictive values (PPV and NPV, respectively), positive and negative likelihood ratios (LRs), as well as pre-test and post-test odds were calculated for each relevant diagnosis. Relative contribution of the input parameters to the most frequent diagnoses was tested by logistic regression. The significance level was set at 0.05. All analyses were performed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL) software, version 20 and online Manhattan distance calculator (available at: <http://molpath.charite.de/cutoff/>).

RESULTS

A total of 145 patients, 84 males (57.9%) and 61 females (42.1%), with median age of 50.0 years (range 18-76; 25-75% IQR = 35-78), were enrolled in the study. Median age of female participants was 52 years (range 18-70; 25-75% IQR = 40-60) and 47.5 years (range 22-76; 25-75% IQR = 35-57.5) of male patients. Significant difference between females and males in terms of age was not observed: Mann-Whitney test = 2258.50, $Z = -1$, $p = 0.224$.

Actual clinical diagnosis (as established by the “gold standard”) in the sample were expressed as a number/percentage of total: chronic hepatitis (41/28.3%), toxic and drug-induced hepatitis (33/22.8%), nonalcoholic steatohepatitis (15/10.3%), alcoholic hepatitis (11/7.6%) and autoimmune hepatitis (11/7.6%). The ROC curves for three the most relevant diagnoses are presented in Figures 1-3.

ROC curves of the other diagnoses, i.e. for nonalcoholic steatohepatitis (NASH), and autoimmune hepatitis (AIH) also showed similar results: AUC 0.98, 0.97; cut-off values 0.65, 0.77; sensitivity 93.3%, 100%; specificity 100%, and 88%, respectively.

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

Copyright © Serbian Medical Society

For all tested diagnoses the calculator demonstrated highly significant difference between area under the ROC curve values and value of 0.5 ($p < 0.001$) and high level of sensitivity (more than 90%, except of model for CH) as well as relatively high specificity (more than 75%) were noted, indicating the good ability of calculator to detect etiology of liver damage. The additional results of validation of the calculator are shown in the Table 2.

Binary logistic regression model for toxic and drug-induced hepatitis (TDIH) (Cox & Snell R Square = 0.202; Nagelkerke R Square = 0.326; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0.050$) did not reveal significant contribution of input parameters to the diagnosis, although age and AST showed strong tendency ($p < 0.1$). On the other hand, the binary logistic regression model for chronic hepatitis (CH) (Cox & Snell R Square = 0.466; Nagelkerke R Square = 0.640; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0.180$) showed significant contributions of AST (odds ratio = 1.005 [1.000 – 1.009], $p = 0.036$) and ALT (odds ratio = 0.984 [0.970 – 0.997], $p = 0.021$), although in opposite directions. The binary logistic regression model for alcoholic hepatitis (AH) (Cox & Snell R Square = 0.193; Nagelkerke R Square = 0.699; Hosmer and Lemeshow Test $p = 1.000$) did not reveal significant contribution of any of the input parameters to the diagnosis.

DISCUSSION

Validation of our calculator on the sample set of the patients gave satisfactory results. Given the relatively low prevalence of the tested diagnoses of hepatic damage in our patients, the obtained values of PPV and NPV point to good performance of the calculator for almost all etiologies, except for the NASH (Table 2). Calculator was the most sensitive for TDIH, AIH and NASH, while specificity was the highest for AIH and TDIH. Likelihood ratios as well as values of post-test odds indicate that the calculator increases significantly the probability of an etiology to which pattern of liver test results in an individual patient correspond, particularly when it comes to CH and TDIH (Table 2). For the five diagnoses listed in the Tables 1 and 2 the calculator could be considered as having sufficient diagnostic accuracy.

Basic etiological factors in alcohol hepatitis are oxidative stress, metabolic disorders and inflammatory responses [10]. Liver enzymes modifications are typical of alcohol abuse. The pattern entered in our calculator consisted of abnormal levels of GGT, AST, ALT, bilirubin, AP, serum albumin and PT in patients with evidence of alcohol abuse. Typical pattern of laboratory abnormalities in alcoholic liver disease observed by other authors were elevated AST and ALT (AST : ALT ratio exceeds 2); the values of AP and GGT levels are usually elevated to a variable degree; serum albumin, PT and serum bilirubin values are usually normal until the occurrence of significant

liver damage. Hypoalbuminemia occurs due to the decreased hepatic synthetic function as well as coexisting protein-energy malnutrition. The level of hyperbilirubinemia and abnormal PT reflects the severity of alcoholic hepatitis and is of prognostic value [11-13]. Scoring systems available to assess severity and prognosis of AH are Maddrey Modified Discriminant Function (MDF) based on prothrombin time (PT) and serum bilirubin concentration; Glasgow alcoholic hepatitis score (GAHS) that use variables including age, blood urea, peripheral blood leukocyte count, serum bilirubin, and PT; the MELD score using bilirubin, creatinine and international normalized ratio (INR) levels; the Lille model which combine six variables (age, renal insufficiency, albumin, PT, bilirubin, and evolution of bilirubin at day 7). Scoring systems include differing cut-offs, various clinical and laboratory parameters, so combining more than one scoring system, as well as establishing new scoring models could improve the current practice [8].

Chronic hepatitis is symptomatic, biochemical or serological evidence of continuing or relapsing hepatic disease for more than six months. Histologically it is manifested as inflammation, necrosis and fibrosis. Liver diseases leading to chronic hepatitis are viral, auto-immune, alcoholic, drug induced and cryptogenic. There are many histology scoring systems used in assessing grading and staging of liver biopsies from patients with chronic hepatitis: Knodell Histology Activity Index (HAI), the Scheuer scoring system, Ishak's system, Metavir system and Ishak modified HAI [14]. There are also commercial serum marker systems, used to detect fibrosis in the liver like: FibroTest® (multiparameter test that includes haptoglobin, bilirubin, GGT, apolipoprotein A-I and alpha-macroglobulin) or Enriched Liver Fibrosis® (ELF) test. "Egy-Score" has been developed for the noninvasive assessment of hepatic fibrosis and cirrhosis. Egy-Score has shown good sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values, and AUROCs for predicting significant fibrosis (\geq F2), severe hepatic fibrosis (\geq F3), and cirrhosis (F4) [15]. Liver stiffness measurement (LSM) can be used to assess liver fibrosis in patients with chronic hepatitis. Our biochemical calculator used the following pattern of abnormal liver tests values for diagnosing chronic hepatitis: AST, ALT, total bilirubin, serum albumin and PT. Abnormal bilirubin level could signalized the disease is severe or advanced. Serum albumin and PT are determining severity; low serum albumin level and or prolonged PT may suggest cirrhosis and even portal hypertension. Non-invasive methods can now be used instead of liver biopsy to assess liver disease severity prior to therapy at a safe level of predictability [16].

Diagnosis of autoimmune hepatitis is based on clinical, biochemical findings, presence of histological image, autoantibodies and abnormalities of serum globulins [17]. In our study we observed abnormal levels of transaminases, AST and ALT. Elevation of liver transaminases (less than 500 U/L) with normal alkaline phosphatase is typical in AIH. Abnormal level of alkaline phosphatase, that is disproportional to transaminase elevation, is unusual and requires investigation of

other causes of liver disease such as drug induced disease, primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). International Autoimmune Hepatitis Group has proposed a scoring system of which there are several adaptations. A simplified scoring system uses serum antibodies, serum IgG levels, liver histology data and data on absence of viral hepatitis. The original revised scoring system has greater sensitivity for autoimmune hepatitis (100% vs. 95%), whereas the simplified scoring system has specificity 90% vs. 73% and accuracy (92% vs. 82%), using clinical assessment as the gold standard. AIH may overlap with primary biliary cholangitis (PBC) or primary sclerosing cholangitis (PSC). AIH could be combined with NAFLD and these patients are more likely to develop an adverse clinical outcome with poor survival. There is a subtype of DILI with autoimmune background. AIH will attract more attention because many serious issues related to it stay to be worked out [17, 18, 19].

Diagnosis of drug-induced liver disease (DILD) is based on history, blood tests, imaging examinations and, if applicable, liver biopsy. There are no specific laboratory tests, histological presentations, or clinical signs and symptoms enabling the diagnosis of DILD. Signs and symptoms vary with the drug, host, and severity of damage [20]. The manifestations of drug-induced hepatotoxicity are highly variable, ranging from asymptomatic elevation of liver enzymes to fulminant hepatic failure. CIOMS/RUCAM score reflects the likelihood that the hepatic damage is due to a specific medication. Limitations of such scoring algorithms are poor inter-rater reliability and arbitrary scoring, for example, for alcohol use [21]. Significant increase in scientific studies investigating this disorder in the last few years is making DILD an emerging safety issue. FDA established Liver Toxicity Knowledge Base (LTKB) at the FDA's National Center for Toxicological Research [22]. Based on the daily dose, lipophilicity, and formation of reactive metabolites, a DILD score algorithm has been developed. It provides a scale for assessing the severity of DILD risk in humans, associated with oral medications [23]. Patients with DILD at high risk for acute liver failure could be identified by Hy's Law. Limitations are low sensitivity but high specificity. Due to the current lack of sensitive and specific clinical tests to diagnose, predict and monitor drug-induced injury to the liver, EMA has opened a project in order to set up new biomarkers to enable earlier diagnosis, predict outcome and prognosis of DILD [24, 25]. By using well established liver serum parameters in our study, we have observed abnormal levels of ALT, AST, total bilirubin, GGT, and AP in DILD.

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver diseases that includes steatosis, steatohepatitis, and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and can progress to cirrhosis, liver failure, or hepatocellular cancer. Liver histology is the gold standard for diagnosing NASH [26]. Since biopsy is invasive, risky and connected to errors in obese patients, noninvasive alternatives have been established [27]. The pattern entered in our calculator consisted of abnormal

Srp Arh Celok Lek 2018 | Online First October 16, 2018 | DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P> 10

levels of AST, ALT, AP, GGT associated with hyperlipidemia, obesity and abnormal glucose metabolism (diabetes mellitus). Existing noninvasive models and scores combine clinical data (age, degree of obesity and diabetes, family history, AST: ALT ratio >1), measures of elasticity and blood tests variables (pointers of collagen metabolism, cell death (M30 CK-18), insulin resistance (adiponectin and resistin), or oxidative stress markers (thioredoxin, lipidperoxides), but have still not reached a wide clinical acceptance [28, 29].

Main limitation of our study was relatively small number of patients with certain diagnoses, so validation could have been conducted for limited etiological spectrum. Besides, low prevalence of certain diagnoses could have led to overestimate of diagnostic accuracy of the calculator in that regard. Further studies are needed to have complete picture of diagnostic value of this calculator. The calculator could be improved in the future if the full spectrum of retrieved studies is taken into account, as more complete data about laboratory parameters could increase precision of the estimate of diagnostic accuracy and its scope may be widened with a number of other diagnosis.

CONCLUSION

In conclusion, our calculator showed satisfactory sensitivity and specificity for major liver damage etiologies. It is clear that the calculator is not a substitute for elaborate diagnostic algorithms and methods already used for finding a cause of liver damage, but it could be useful tool for rapid orientation when first faced with a patient whose liver function tests are abnormal. Clinicians should not rely on this calculator for making definitive etiological diagnosis of liver damage; it should rather be considered as auxiliary, not quite precise tool for rapid screening of such patients and directing further diagnostics including gold standard, as necessary. In future this calculator should become available to clinicians as free application in smart phones, so they will be able to use it easily and rapidly whenever they first encounter a patient with abnormal liver tests.

ACKNOWLEDGEMENT

This paper is a part of a doctoral thesis.

This research was partially funded by grant No 175007, given by the Ministry of Education, Science and Technical Development of the Republic of Serbia.

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH180504064P>

Copyright © Serbian Medical Society

REFERENCES

1. Cacciola I, Scoglio R, Alibrandi A, Squadrito G, Raimondo G. Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Intern Emerg Med.* 2017;12(2):181-186. doi: 10.1007/s11739-016-1535-2. PubMed PMID: 27644706.
2. Herlong HF, Mitchell MC Jr. Laboratory Tests. In: Schiff E, Maddrey W, Sorrell M, editors. *Schiff's Diseases of the Liver.* Oxford: Wiley-Blackwell; 2012. p. 17-43
3. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol.* 2017; 112(1):18-35. doi: 10.1038/ajg.2016.517. PubMed PMID: 27995906
4. Wernly B, Lichtenauer M, Franz M, Kabisch B, Muessig J, Masyuk M, et al. Model for End-stage Liver Disease excluding INR (MELD-XI) score in critically ill patients: Easily available and of prognostic relevance. *PLoS ONE.* 2017; 12(2):e0170987. doi: 10.1371/journal.
5. Benko T, Gallinat A, Minor T, Saner FH, Sotiropoulos GC, Paul A, et al. The postoperative Model for End stage Liver Disease score as a predictor of short-term outcome after transplantation of extended criteria donor livers. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017; 29(6):716-22. doi: 10.1097/MEG.0000000000000851. PubMed PMID: 28441690
6. Stasi C, Milani S. Non-invasive assessment of liver fibrosis: Between prediction/prevention of outcomes and cost-effectiveness. *World J Gastroenterol.* 2016;22(4):1711-20. doi: 10.3748/wjg.v22.i4.1711. PubMed PMID: 26819535
7. Sanyal A, Harrison S, Ratzin V, Abdemalek M, Diehl A, Caldwell S, et al. Changes in fibrosis, but not the NAFLD Activity Score (NAS), are associated with disease progression in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis. *J Hepatol.* 2017; 6(1):S2-S3. doi: 10.1016/S0168-8278(17)30267-2.
8. Rahimi E, Pan JJ. Prognostic models for alcoholic hepatitis. *Biomark Res.* 2015; 3:20. doi: 10.1186/s40364-015-0046-z. PubMed PMID: 26203357
9. Danan G, Teschke R. RUCAM in Drug and Herb Induced Liver Injury: The Update. *Int J Mol Sci.* 2015; 17(1). doi: 10.3390/ijms17010014. PubMed PMID: 26712744
10. Grasselli E, Compalati AD, Voci A, Vecchione G, Ragazzoni M, Gallo G, et al. Altered oxidative stress/antioxidant status in blood of alcoholic subjects is associated with alcoholic liver disease. *Drug Alcohol Depend.* 2014; 143:112-9. doi:10.1016/j.drugalcdep.2014.07.013. PubMed PMID: 25107314
11. Dasarathy S, McCullough J.A.C. Alcoholic Liver Disease. In: Schiff E, Maddrey W, Sorrell M, editors. *Schiff's Diseases of the Liver.* Oxford: Wiley-Blackwell; 2012. p. 657-701.
12. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut.* 2018; 67(1):6-19. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314924. PubMed PMID: 29122851
13. Stickel F, Datz C, Hampe J, Bataller R. Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver.* 2017; 11(2):173-88. doi: 10.5009/gnl16477. PubMed PMID: 28274107
14. Mannan R, Misra V, Misra SP, Singh PA, Dwivedi M. A comparative evaluation of scoring systems for assessing necro-inflammatory activity and fibrosis in liver biopsies of patients with chronic viral hepatitis. *J Clin Diagn Res.* 2014; 8(8):FC08-12. doi: 10.7860/JCDR/2014/8704.4718. PubMed PMID: 25302199
15. Alborae M, Khairy M, Elsharkawy A, Elsharkawy M, Asem M, El-Seoud ARA, et al. Egy-score as a noninvasive score for the assessment of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C: a preliminary approach. *Saudi J Gastroenterol.* 2014; 20(3):170-4. doi: 10.4103/1319-3767.133003. PubMed PMID: 24976280

16. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014; 60(2):392–420. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.003. PubMed PMID: 24331294
17. Aizawa Y, Hokari A. Autoimmune hepatitis: current challenges and future prospects. *Clin Exp Gastroenterol.* 2017; 10:9–18. doi: 10.2147/CEG.S101440. PubMed PMID: 28176894
18. Czaja AJ. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis: Current Status and Future Directions. *Gut Liver.* 2016; 10(2):177–203. doi: 10.5009/gnl15352. PubMed PMID: 26934884
19. Arndtz K, Hirschfield GM. The Pathogenesis of Autoimmune Liver Disease. *Dig Dis.* 2016; 34(4):327–33. doi: 10.1159/000444471. PubMed PMID: 27170385
20. Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med.* 2015; 139(7):876–87. doi: 10.5858/arpa.2014-0214-RA. PubMed PMID: 26125428
21. Garcia-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug induced liver injury: strengths and weaknesses. *J Hepatol.* 2011; 55(3):683–91. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.007. PubMed PMID: 21349301
22. Sarges P, Steinberg JM, Lewis JH. Drug-Induced Liver Injury: Highlights from a Review of the 2015 Literature. *Drug Saf.* 2016; 39(9):801–821. doi:10.1007/s40264-016-0427-8
23. Thakkar S, Chen M, Fang H, Liu Z, Roberts R, Tong W. The Liver Toxicity Knowledge Base (LKTb) and drug-induced liver injury (DILI) classification for assessment of human liver injury. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 12(1):31–8. doi: 10.1080/17474124.2018.1383154. PubMed PMID: 28931315
24. Chen M, Borlak J, Tong W. A Model to predict severity of drug-induced liver injury in humans. *Hepatology.* 2016;64:931–940. doi: 10.1002/hep.28678. PubMed PMID: 27302180
25. Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, End P, Benesic A, Gerbes A, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut.* 2017; 66(6):1154–64. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313369. PubMed PMID: 28341748
26. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci.* 2016; 73(10):1969–87. doi: 10.1007/s00018-016-2161-x. PubMed PMID: 26894897
27. Ratziu V, Charlotte F, Heutier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2005; 128(7):1898–906. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.084. PubMed PMID: 15940625
28. Liang J, Liu F, Wang F, Han T, Jing L, Ma Z, et al. A Noninvasive Score Model for Prediction of NASH in Patients with Chronic Hepatitis B and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int.* 2017; 2017; 8793278. doi: 10.1155/2017/8793278
29. Sumida Y, Nakajima A, Hyogo H, et al. Non-invasive scoring systems for predicting NASH in Japan: evidences from Japan Study Group of NAFLD. *Integr Mol Med.* 2015; 2(2):145–49. doi: 10.15761/IMM.1000130.

Table 1. Established calculators

Diagnosis	Value of input parameters that determine diagnosis											
	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SA	PT	DRUG	ALCO	DM	OB	HL
Toxic and drug-induced hepatitis	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0
Chronic hepatitis	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Alcoholic hepatitis	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
Autoimmune hepatitis	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nonalcoholic steato-hepatitis	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1

ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; BIL – serum bilirubin; AP – alkaline phosphatase; GGT – gamma-glutamyl transferase; SA – serum albumin; PT – prothrombin time; DRUG – drug or narcotics (xenobiotics) exposure; ALCO – long-term alcohol intake; DM – diabetes mellitus; OB – obesity; HL – hyperlipidemia;

Calculator for the diagnoses of toxic and drug-induced hepatitis, chronic hepatitis, alcoholic hepatitis, nonalcoholic steatohepatitis and autoimmune hepatitis are presented as a combination of individual input parameters.

Table 2. Results of calculator validation

Diagnostic value	Actual diagnosis (gold standard)				
	CH	TDIH	NASH	AH	AIH
PPV	0.59	0.75	1.00	0.35	0.42
NPV	0.93	0.99	0.99	0.99	1.00
Prevalence	0.28	0.23	0.10	0.07	0.08
Positive LR (conventional/weighted for prevalence)	3.70/1.46	9.90/2.96	Infinity	7.14/0.54	8.33/0.72
Negative LR (conventional/weighted for prevalence)	0.19/0.07	0.03/0.01	0.07/0.01	0.11/0.01	0.00/0.00
Pre-test odds	0.39	0.29	0.12	0.07	0.09
Post-test odds	1.43	2.87	Infinity	0.50	0.75

CH – chronic hepatitis; TDIH- toxic and drug-induced hepatitis; NASH – nonalcoholic steatohepatitis; AH – alcoholic hepatitis; AIH – autoimmune hepatitis; PPV – positive predictive value; NPV – negative predictive value; LR – likelihood ratio

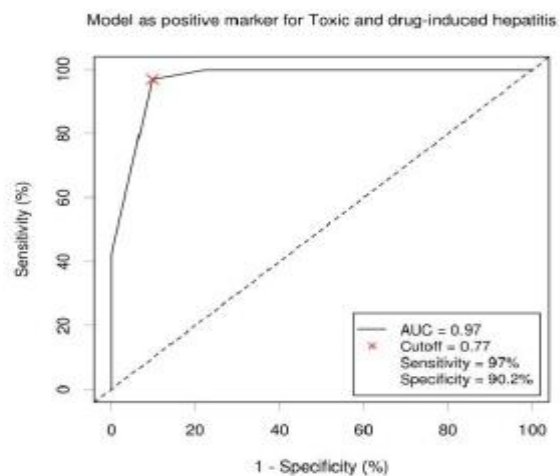


Figure 1. Receiver-operator curve for toxic and drug-induced hepatitis
AUC – area under the curve; Cutoff – cut-off value

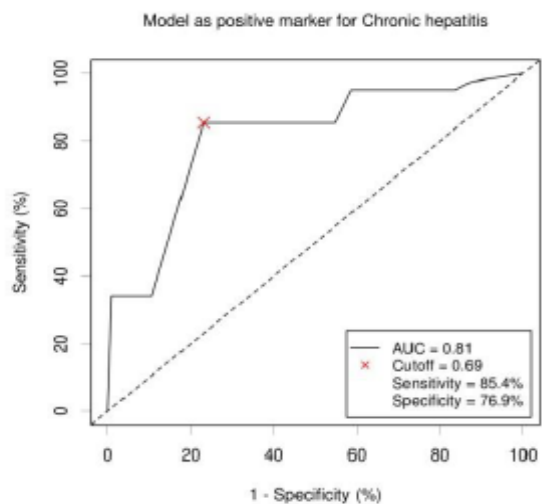


Figure 2. Receiver-operator curve for chronic hepatitis
AUC – area under the curve; Cutoff – cut-off value

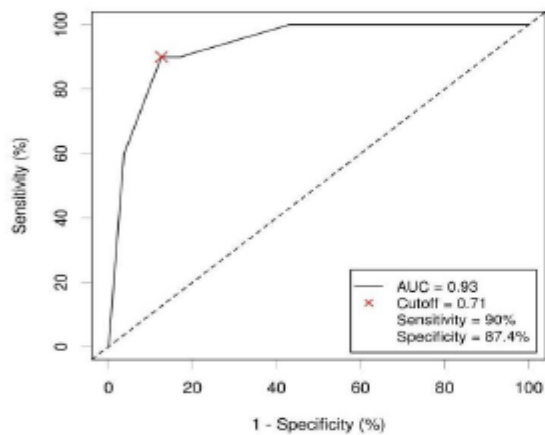


Figure 3. Receiver-operator curve for alcoholic hepatitis
AUC – areas under the curve; Cutoff – cut-off value

DRUG-INDUCED LIVER DISEASE

Narcisa Petrović Subić^{1*}, Miroslav Kojić²¹Hemofarm A.D., Business Centre Belgrade, Belgrade, Serbia²Military Medical Academy (VMA), Clinic for Infectious and Tropical Diseases, Belgrade, Serbia

Abstract. Liver impairment can be caused by a significant number of foreign compounds (xenobiotics); prescribed drugs, 'over the counter' (OTC) drugs, herbal and alternative medicines. Hepatotoxicity caused by drugs used for therapeutic, recreational or nutritional purposes as well as drugs of abuse is a drug-induced liver disease (DILD). Over 300 agents in use have been connected with causing DILD. Factors associated with increased susceptibility to DILD are: age, gender, genetic predisposition, dose, other drug reactions, concomitant use of drugs, excessive use of alcohol, nutritional status, liver disease and other diseases. Drugs may cause liver injury in a predictable, dose-dependant manner (intrinsic DILD), or in an unpredictable, non-dose-dependant manner (idiosyncratic DILD). Xenobiotics that cause liver impairment provide a wide range of lesions resembling many other liver diseases. Acute hepatocellular damage can be cytotoxic (hepatocellular necrosis), cholestatic (associated with the interrupted flow of bile), or mixed. Clinical expressions of DILD range from nonspecific abnormalities of liver tests, to cholestasis, acute hepatitis and acute liver failure. Nodular hyperplasias, chronic hepatitis, autoimmune hepatitis, fibrosis, NASH, cirrhosis, benign and malignant liver tumours have been reported. Diagnosis of DILD is based on history, blood tests, imaging examination of hepatobiliary tract and, if applicable, liver biopsy. Clinical and laboratory findings in DILDs are not always in line with liver pathology. Histologic changes can be minor compared to biochemical findings. Liver enzymes are not synonym of liver damage.

Key words: liver, injury, drugs.

Introduction

Significant increase of scientific studies investigating drug-induced liver disease (DILD) in the last few years is making DILD an emerging safety issue that requires attention by medical professionals in clinical practice, regulatory authorities, pharmaceutical companies and academic institutions [1]. Liver impairment can be caused by a significant number of foreign compounds (xenobiotics); prescribed drugs, 'over the counter' (OTC) drugs, herbal and alternative medicines. Chemical agents widely used in households, drugs of abuse, pesticides, herbicides may have toxic and/or carcinogenic properties. Hepatotoxicity caused by drugs used for therapeutic, recreational or nutritional purposes as well as drugs of abuse is a drug-induced liver disease (DILD). About 14-19 per 100 000 inhabitants in general population is the reported frequency of DILD. Health care system records the incidence of about 30-32 per 100 000 persons [2,3]. According to available data, 462 medicinal products were withdrawn from the market between 1953 and 2013. Hepatotoxicity was the most reported adverse drug

reaction causing post marketing drug withdrawal (81 cases; 18%). Withdrawals were significantly less common in Africa than in Asia, Europe, and America [4].

In the largest number of reports, DILD is unpredictable because of its idiosyncratic nature. Accurate underlying mechanisms (mitochondrial injury, reactive metabolites, biliary transport inhibition, and immune responses) have been identified rarely. DILD can occur in case of accidental or intentional overdose or during the use of a drug for therapeutic purposes in certain clinical circumstances, as in the case of paracetamol in patients who regularly consume alcohol [5]. Paracetamol is the leading cause of acute liver failure, whereas chlorpromazine, halothane, sulphuride and amoxicillin-clavulanate were found as most common drugs leading to hepatotoxicity in all prospective studies [6]. The list of top 10 drugs implicated in DILD consists of antibiotics, statins, antitumor necrosis factor antagonists (infliximab as leading); herbal and dietary supplements (most frequent causes of serious hepatotoxicity are weight loss and bodybuilding products) [7].

*Correspondence to: Narcisa Petrović Subić, M.D., PhD
Đorđina Vasiljevića 4/10, Stari Grad, Belgrade
Phone: +38165 8333065
E-mail: Narcisa.Petrovic-Subic@hemofarm.com
Received March 30th, 2017, accepted for publication June 13th, 2017

Risk Factors for Incidence and Severity of DILD

Factors associated with increased susceptibility to DILD are: age, gender, genetic predisposition, dose, other drug reactions, concomitant use of drugs, excessive use of alcohol, nutritional status, liver disease and other diseases. Age more than 60 increases the frequency and severity of DILD caused by isoniazid and halothane. Children are more commonly affected by salicylates. Women are at an increased risk of developing hepatotoxicity from halothane, nitrofurantoin and men from amoxicillin-clavulanate and azathioprine. Concomitant use of acetaminophen and isoniazid, zidovudine and phenytoin lower the hepatotoxic dose and increase severity of DILD. Obesity increases the risk of liver injury by halothane, methotrexate and tamoxifen, while malnutrition increases the risk of liver injury by acetaminophen. Genetic variation at human leukocyte antigen (HLA) class I & II loci has been shown to be associated with amoxicillin-clavulanate DILD. The strongest association thus far identified is at a single nucleotide polymorphism in the gene encoding the class II HLA-DRB1* 1501-DQB1* 0602 allele [8,9]. Variations of genes for mitochondrial DNA polymerase gamma are associated with valproate hepatotoxicity [10].

Mechanisms of Drug Injury

Drugs may cause liver injury in a predictable, dose-dependant manner (intrinsic DILD), or in an unpredictable, non-dose-dependant manner (idiosyncratic DILD).

In most cases of the drug induced liver injury, the same happens in an unpredictable manner and only in susceptible individuals (idiosyncrasy or hypersensitivity). Impairment may appear from toxic metabolites which affect cell proteins. Toxic metabolites cause necrosis (metabolic idiosyncrasy) or form antigen (drug hapten) complexes which stimulate T cells, inducing an immune reaction and causing hepatic impairment (hypersensitivity or drug allergy). Drug-induced hypersensitivity reactions are commonly merged with systemic reactions, such as fever, rash and eosinophilia. They have a fixed latent period and prompt response to a repeated provocation. This reflects an underlying immunological mechanism. Vice versa, atypical metabolism of a drug which leads to formation of toxic metabolites, generally does not cause systemic allergic manifestations and it has a long or variable latency period and frequently a late response to a repeated provocation [11,12,13]. The most common causes of idiosyncratic damage are amoxicillin-clavulanate, nitrofurantoin, co-trimoxazole, ciprofloxacin, isoniazid, tyrosine kinase inhibitors [14].

A very small number of currently used medicinal products cause liver injury as a result of intrinsic toxicity or toxicity of one or more of their metabolites (predictable or intrinsic hepatotoxicity) [15]. Paracetamol is hepatotoxic due to production of the toxic metabolite as a result of accidental or intentional overdose or when

used in recommended doses in circumstances of chronic use or alcohol abuse or starvation. The actual cause of damage to hepatocytes or cell death is damage or destruction of cell membranes or covalent binding of toxic metabolites to liver macromolecules causing a disturbance in calcium homeostasis, mitochondrial dysfunction or decay of other cell systems.

Acetaminophen (paracetamol) accounts for 50% of all drug-induced acute liver damage. Its metabolite, N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), is created in hepatocytes. This toxic metabolite is reduced by glutathione. Reduced capacity of glutathione leads to impairment of vital processes in the cells and to their death. Paracetamol induced liver disease is treated with n-acetyl cysteine, in the first 8 hours of introduction of the drug [16].

Nimesulide, diclofenac, ibuprofen are non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) widely used in therapy of most rheumatological disorders, as analgesics and antipyretics, as prescription drugs and over the counter drugs. Nearly all NSAIDs are associated with hepatotoxicity; several NSAIDs have been withdrawn from the market (amphenac, ibufenac, phenylbutazone, fluproquazone). The new more selective COX-2 inhibitors (e.g. celecoxib, rofecoxib, nimesulide) are also connected with hepatotoxicity. Pathogenic mechanisms include oxidative stress alone or in combination with mitochondrial injury [17].

Oral contraceptive steroids and 17-alkylated anabolic steroids are associated with cholestasis, vascular lesions and hepatic neoplasms.

Drugs of abuse like cocaine or 3,4 methylenediametamphetamine ("ecstasy") are related to hepatotoxicity. Cocaine toxicity is related to P450 catalysed N-demethylation to norcocaine, converted to N-hydroxynorcocaine. The latter redoxcycles to norcocaine nitroxide by receipt of an electron from NADPH, and transfers electrons to O₂, generating oxidative stress [17].

The frequency of hepatic injury with antiretroviral drugs is at least 10%. Hepatic failure has been reported in patients taking zidovudine, but didanosine and stavudine have been most often involved in severe hepatotoxicity due to mitochondrial damage. Nevirapine has been implicated in causing severe hepatotoxicity. Ritonavir, Indinavir, Saquinavir, Nelfinavir have been reported for hepatotoxicity. Anti-retrovirals can induce direct toxicity in the liver, mitochondrial toxicity; hypersensitivity reactions have been reported relatively often with nevirapine and abacavir. Newer anti-HIV drugs like raltegravir, maraviroc and enfuvirtide have not been associated with significant hepatotoxicity [18].

The frequency of the DILD with recently introduced drugs will be known after larger studies. Nature of liver injury is presented in Table 1 [18].

Xenobiotics that cause liver impairment provide a wide range of lesions resembling many other liver diseases. Acute hepatocellular damage can be cytotoxic (hepatocellular necrosis), cholestatic (associated with the interrupted flow of bile), or mixed. In addition to

Table 1 Histologic pattern and clinical expressions of DILD

Drug	Liver injury
Alfuzosin	Hepatocellular od mixed hepatocellular-cholestatic injury
Beta interferon	Liver injury rare, autoimmune hepatitis
Bosentan, sitaxsentan	Acute hepatitis
Imatinib mesilate and other tyrosine kinase inhibitors	Acute hepatitis, massive or submissive hepatic necrosis(rare); acute liver failure with sunitinib
Leukotriene antagonists (zafirlukast, montelukast)	Massive or submissive hepatic necrosis (zafirlukast), acute hepatitis, cholestitis hepatitis (montelukast)
Infliximab and other tumor necrosis factor antagonists	Cholestasis, cholestatic hepatitis, hepatic granuloma, autoimmune hepatitis
Ximelagatran	Acute liver failure (not finally proven)

hepatocellular necrosis or cholestasis, other types of liver lesions could be induced by xenobiotics. Fatty change of the liver (steatosis) is common. Macrovesicular steatosis refers to large drops of fat and the core is replaced by a large intracytoplasmic lipid globule. Microvesicular steatosis is characterized by small drops of fat within the cytoplasm that do not suppress the core. Some drugs are associated with the formation of Mallory's bodies. Hepatic granulomas are a typical damage caused by certain drugs. Various forms of chronic liver impairment resembling chronic active hepatitis, chronic cholestasis and cirrhosis can be caused by xenobiotics.

Vascular disorders of the liver caused by medicinal products include a venous-occlusive disease, very similar to Budd-Chiari's syndrome. Peliosis hepatis is formation of blood cysts within the liver. Several drugs disrupt lipid metabolism in the hepatocytes by inhibiting phospholipase, which gives a foamy texture cytoplasm and characteristic ultrastructural liposomal appearance (phospholipidosis). Finally, certain drugs and chemicals are associated with hepatic neoplasia. Benign hepatic adenomas appear after the introduction of oral contraceptive steroids.

Clinical Expressions of DILD

Clinical expressions of DILD range from nonspecific abnormalities of liver tests, to cholestasis, acute

hepatitis and acute liver failure. The most common form of presentation of DILD is an acute viral "hepatitis-like" syndrome, with jaundice, nausea, fatigue and abdominal discomfort or pain. DILI can virtually mimic any other liver disease such as chronic hepatitis, autoimmune hepatitis, fibrosis, NASH, cirrhosis, benign and even malignant liver tumours [19].

Clinicopathological classification of DILD is presented in Table 2.

Biochemical Classification

Biochemical classification of liver damage caused by drugs include hepatocellular, cholestatic and mixed pattern. R value is calculated to assist in diagnosis and management of DILD. In case there is evidence of drug or supplement use in previous 6 months, and elevated liver enzymes are detected, R value is calculated as follows:

$$R = (\text{ALT value} / \text{ALT ULN}) / (\text{ALP value} / \text{ALP ULN})$$

If $R < 2$ cholestatic damage is susceptible. Ultrasound of abdomen should be done and MRI/MRCP are to be considered. If R is between 2 and 5 mixed pattern and $R > 5$ hepatocellular liver damage is suggested. In these cases testing for hepatitis A, B, C and E should be done, as well as ultrasound imaging. In consideration are testing for EBV, HSV, autoimmune hepatitis etc.

Table 2 Clinicopathological classification of DILD

Damage type	Drug
▪ Acute hepatocellular injur	Isoniazid, aspirin, sulphonamide
▪ Autoimmune hepatitis	Nitrofurantoin, minocycline, ipilimumab
▪ Pure cholestasis	Anabolic steroid, oestrogens
▪ Macrovesicular steatosis	Tetracycline, steroids, gold, 5-fluorouracil, methotrexate, tamoxifen
▪ Microvesicular steatosis	Tetracycline, steroids, gold, 5-fluorouracil, methotrexate, tamoxifen,
▪ Cholestasis hepatitis	Phenytoin, AC, fluoroquinolones, macrolides, azithromycin
▪ Granulomatous hepatitis	Isoniazid, interferon, phenytoin, allopurinol
▪ Chronic hepatitis	Phenytoin, AC, fluoroquinolones, macrolides, azithromycin
▪ Non-Alcohol fatty liver	Tamoxifen, Amiodarone
▪ Fibrosis/cirrhosis	Metotrexate, amiodarone
▪ Liver Adenoma	Oral contraceptives

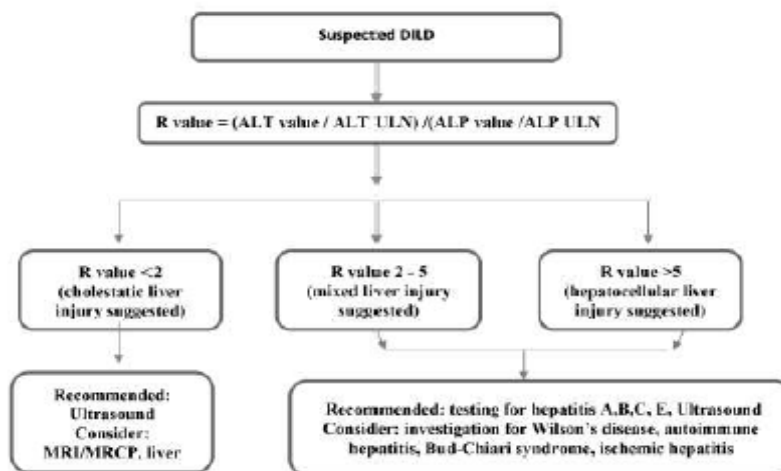


Fig 1 Calculation of R value and use in DILD management [15]

Diagnosis of DILD

Diagnosis of DILD is based on history, blood tests, imaging examination of hepatobiliary tract and, if applicable, liver biopsy. There are no specific laboratory tests, histological presentations, or clinical signs and symptoms enabling the diagnosis of DILD. Signs and symptoms vary with the drug, host, and severity of injury [20].

Some situations where the probability of the existence of DILD is likely are summarized in Table 3 [18].

The diagnostic evaluation of DILD usually includes evaluation of data summarized in Table 4

Liver biopsy is indicated in cases in which liver disease remains in doubt and this uncomfortable and risky procedure will make a difference in management of the injury. Liver biopsy is reasonable in case when continued use or re-challenge with a suspected drug is clinically necessary. For patients receiving methotrexate there are guidelines for biopsy [21,22]. Other situations where liver biopsy could be recommended are:

Table 3 Situations in which the existence of DILD is likely

- Introduction of a new therapy in the last 3-6 months;
- Evidence of extrahepatic manifestations like rash, eosinophilia, lymphadenopathy;
- Acute hepatitis not connected to hepatitis viruses, other infections, metabolic, immunologic disorders;
- Mixed hepatocellular and cholestatic injury;
- Hepatitis with microvesicular steatosis;
- Cholestasis with normal bile duct imaging;
- Chronic hepatitis without antibodies;
- Liver disease after years of taking steroids, immunosuppressive or other drugs, etc.

exacerbation of liver function in spite of stopping drug exposure, unexpected decreases of ALT within 30-60 days in hepatocellular or ALP within 180 days in cholestatic DILDs despite termination of use of the suspected drug [13].

Table 4 The diagnostic evaluation

- history (use of drugs, herbal or dietary supplements; possibility of drug interaction; exposure time/latency, alcohol intake, chronic liver disease, concomitant diseases (diabetes, heart failure))
- signs and symptoms (weakness, fatigue, fever, yellow urine, nausea, vomiting, abdominal pain, abdominal bleeding, rash, pruritus, icterus, ascites)
- initial laboratory tests (complete blood count (eosinophilia), liver function testing (AST, ALT, GGT, R value)
- routine serological tests (Acute viral hepatitis A, B, C (Anti-HAV IgM, HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HCV, HCV RNA, autoimmune hepatitis (ANA, IgG level))
- serological tests by patients history (hepatitis E (anti hepatitis E virus IgM), CMV, EBV, HSV)
- other investigations (for Wilson's disease, etc.)
- imaging studies (Ultrasound, CT, MRCT)

ALP (alkaline phosphatase); ALT (alanine aminotransferase); ANA (antinuclear antibody); CMV (cytomegalovirus), CT (computed tomography), EBV (Epstein Bar virus); GGT (gamma-glutamyl transferase, HAV (Hepatitis A virus); HBc (Hepatitis B core antigen); HBsAg (Hepatitis B surface antigen); HCV (Hepatitis C virus); HSV (hepatitis C virus); HSV (herpes simplex virus); IgG (immunoglobulin G); IgM (immunoglobulin M); MRCP (magnetic resonance imaging, RNA (ribonucleic acid); ULN (upper limit of normal range).

The Council for International Organizations of Medical Sciences has created a CIOMS/RUCAM questionnaire. Score count is based on timing of exposure and liver biochemistry washout, competing medications and diagnoses, re-challenge of data and risk factors for DILI. Additional methods have been developed. One of them is Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale (NADRPS). The CIOMS/RUCAM is widely used and considered the best assessment method respecting sensitivity and predictive value. Likelihood levels are: 'highly probable' (> 8), 'probable' (6 – 8), 'possible' (3 – 5), 'unlikely' (1 – 2), and 'excluded' (score < = 0). RUCAM score system is separated into hepatocellular injuries; cholestatic or mixed injuries form [23].

Prevention

Liver function testing is recommended before starting the treatment along with safety monitoring during therapy with agents with known hepatotoxicity and in case treatment extends for longer than 2-4 weeks. However, with respect to the costs of such screening, it is difficult to define the threshold at which the drug should be discontinued especially in case of absence of symptoms.

Generally, it is recommended that the drug should be stopped if ALT level exceeds five times ULN. Abnormal bilirubin level, albumin concentration, prothrombin time and symptoms are clear indications to stop the therapy.

The monitoring of the liver tests is strongly recommended in case of treatment with the following agents: methotrexate, isoniazid, retinoids, ketoconazole, anticancer drugs, and minocycline in prolonged time [18,24].

Treatment of DILD

There are varied presentations and multiple possible drug causes. The treatment of all cases is withdrawal of the suspecting agent. If a DILD is caused by acetaminophen or in case of Amanita mushrooms intoxication, appropriate therapy should be administered. All patients can now be considered for NAC therapy, especially adults with early-stage of ALF (acute liver failure). Patients should be monitored for normalization of biochemical tests. In cases when it is recognized as lifesaving, Early liver transplantation is recommended in cases where it is recognized as a lifesaving procedure [25].

Prognosis

The prognosis is highly variable depending on the clinical presentation and degree of liver damage. In general, outcomes of idiosyncratic DILI are good, with about 10% reaching the ALF (coagulopathy and encephalopathy). The outcome of acute liver failure is determined by aetiology, the degree of hepatic encephalopathy, and complications such as infections. DILI developing to ALF carries a poor prognosis. Mortality rate of DILD is 9 to 12%. Only 20% to 25% of patients with acute

idiosyncratic fulminant hepatic failure survive 3 weeks without liver transplantation. The causes of death include cerebral oedema, sepsis, multiple organs insufficiency, cardiac and respiratory failure [13,15]. In cases with existing liver disease, increased morbidity and mortality have been reported. Prognosis is worse the longer a patient is exposed to hepatotoxin.

Mixed type of liver damage often progresses into a chronic form with cirrhosis. Immune type of damage (eosinophils and granulomas on biopsy) has a better prognosis. Pure hepatocellular necrosis in biopsy has a worse prognosis [14].

Categorisation of the Probability of DILD

According to the Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) assessment causality of probability to induce liver injury, drugs are classified in five categories of probability to induce DILD. This assessment is based on published data and is more precise for widely prolonged use of medicines than nearly approved drugs or herbal products [26].

Table 5 Categorisation of the probability of DILD

Category A. Medicines from this category are well known, well described, well reported to cause either direct or idiosyncratic liver injury. The number of described cases is more than 50

Category B. Known or highly likely drugs reported to cause idiosyncratic liver injury. The number of described cases is between 12 and 50 cases including small case series.

Category C. Probably linked drugs to induce idiosyncratic liver injury, reported uncommonly. The number of identified cases is less than 12 without significant case series.

Category D. Possible hepatotoxic drugs that rarely cause liver injury. The number of identified cases is less than 3.

Category E. Drugs with no evidence that has caused liver injury. Mostly inconclusive single case reports have been published.

Category E.* Agents with reported DILD in extensive clinical studies, but with insufficient supportive causality data. Hepatotoxicity is unproven, but suspected.

Category X. Medicines quite recently presented or seldom used in clinical practice with lack of data on risk for developing of DILD ("unknown" category).

A [HD], B [HD], C [HD] or D [HD] category: Medicines that induce liver damage in cases of overdose. Most common used agents from this category are aspirin, acetaminophen, naicin and vitamin A.

Liver disease associated with particular drugs

Amoxicillin-clavulanate

The incidence of DILD is 1.7 per 10,000 prescriptions. It is more common in the elderly with a concomitant therapy. It occurs more frequently in individuals who are

heterozygous for a mutant form of the gene for glutathione-S-transferase. The injury starts within 6 weeks of therapy with amoxicillin-clavulanate. Cholestatic type of damage is common and other forms are possible, as well.

Recovery period is 3-6 months. About 3% of injured finished with acute renal insufficiency or progression to cirrhosis [13].

Fluoroquinolones

The latency period is short (from 2 to 9 days). Common type of injury is immune damage. Prognosis is better than in case of DILD induced by amoxicillin-clavulanate. It is more common in people who are allergic to fluoroquinolones. Liver damage is a 'class effect' of fluoroquinolones [15].

Tyrosine kinase inhibitors

Liver damage occurs in the first 8 weeks after initiation of therapy. It can be manifested as a mild form - only an increase in transaminases, which passes spontaneously after discontinuation of medication. The severe form is presented as hepatocellular injury, and the incidence is 2-3% of total number of treated patients [13].

Direct-acting oral anticoagulants (DOACs)

Liver damage during administration of therapeutic doses of direct-acting oral anticoagulants has been reported in the past few years. Post marketed data reported rivaroxaban as the agent with the highest risk in the group. A pharmacological and chemical characteristic of direct-acting anticoagulants seems to be associated with drug-induced liver injury risk. Rivaroxaban, dabigatran and apixaban contain structural elements connected to metabolism and/or reactive metabolites connected to DILD occurrence in humans. Host factors seem to have influence on DILD occurrence. DILD induced by DOACs therapy of venous thromboembolism in surgical patients is reported more frequently than atrial fibrillation [27].

Herbal and Dietary supplement-induced liver injury

The increasing use of alternative medicines has led to many reports of toxicity. The spectrum of liver disease is wide. Herbal and Dietary supplements do not pass

preclinical and clinical toxicology safety testing or clinical trials for safety. A dietary supplement consists of vitamins, minerals, amino acids, enzymes, tissues extracts, metabolites, etc. Herbal and Dietary Supplements (HDS) are widely consumed and in most cases without medical observation. Some of these products have been reported to induce liver injury. First of all, body-building products, which contain anabolic steroids are associated with an initial cholestatic hepatitis followed by prolonged jaundice [28]. Pyrrolizidine alkaloids can induce sinusoidal obstruction syndrome [29]. In some cases, flavocoxid, has been associated with severe liver injury [30]. The same diagnostic approach for DILI is applicable to suspected HDS hepatotoxicity. Patients should stop using HDS products and be monitored until hepatotoxicity has been resolved.

Individual susceptibility is important for herbal-induced drug injury. Kava, anxiolytic agent is connected to hepatotoxicity in Caucasians with low expression of CYP2D6. Some herbs initiate immunoallergic liver injury (jin bu huan). Rarely, herbal medicines may trigger latent liver disease (dai-saiko-to, black cohosh). Herbal hepatotoxicity could be presented as acute hepatitis, steatosis, fibrosis to submassive and massive hepatic necrosis (chaparral leaf). Some herbal agents and dietary supplements implicated as causing toxic liver injury are presented in Table 6 [13].

Discussion/Conclusion

Clinical and laboratory findings in DILDs are not always in line with liver pathology. There are significant differences between categories. Histologic changes can be minor compared to biochemical findings. Liver enzymes are not synonym of liver damage. Some drugs, like estrogens, are associated with high levels of AT and mild cholestasis on biopsy can be recorded.

Drugs like methotrexate, arsenic can cause cirrhosis with minimal changes in laboratory tests. Model of liver tests is nonspecific and often mixed. Various forms of injury can be seen: steatohepatitis, cholestatic hepatitis, chronic hepatitis, minor nonspecific liver injury.

Most cases of drug-induced dysfunction are reversible. In general, discontinuation of hepatotoxin results in rapid reversal of signs and symptoms if the

Table 6 Herbal agents and dietary supplements implicated as causing toxic liver injury

Herbal remedy	Indication	Pattern of liver injury
Atractylis gummifera	Purgative, diuretic	Acute liver failure
Black cohosh	Menopausal symptoms	Acute liver failure, could trigger autoimmune hepatitis
Chinese herbal medicines	Multiple use	Liver injury, Acute hepatitis
Germander tea and capsules	Weight reduction, health tonic	Acute and chronic hepatitis, acute liver failure, hepatic fibrosis
"Green juice"	Dietary supplement	Granulomatous hepatitis
Herbalife®	Health supplement	Acute hepatitis, Cholestasis
Kava	Anxiety disorder	Diffuse hepatocellular necrosis, Cholestatic hepatitis
Kombucha	Health tonic	Acute hepatitis
LipoKinetix®	Slimming aid	Acute hepatitis, acute liver failure
Shark cartilage	Food supplement	Abnormal liver tests

injury is mild to moderate. A 50% reduction of hepatic-associated enzymes can be expected within 1 week if the injury is hepatocellular, but this degree of improvement may take 6 months or longer if the injury is cholestatic.

In most cases, management of drug-induced liver dysfunction is limited to supportive care, as therapeutic treatment is applicable in only a small number of situations.

Liver function testing before starting of the treatment and safety monitoring during the therapy with agents with known hepatotoxicity and in case treatment will extend

for longer than 2-4 week is recommended. Monitoring of the liver tests is strongly recommended in case of treatment with the following agents: methotrexate, isoniazid, retinoids, ketoconazole, anticancer drugs, and minocycline in prolonged time. Herbal and Dietary Supplements (HDS) are widely consumed and in most cases without medical observation. Some of these products have been reported to induce liver injury. Patients should stop using HDS products and they should be monitored until hepatotoxicity has been resolved.

References

- Sargee P, Steinberg JM, Lewis JH. Drug-Induced Liver Injury: Highlights from a Review of the 2015 Literature. *Drug Saf* 2016; 39:801-821.
- Chan M et al. Drug-induced liver injury: Interactions between drug properties and host factors. *J Hepatol* (2015). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.016>
- Bjornsson ES, Bergmann OM, Bjornsson HK, Kvaran RB, Olafsson S. Incidence, presentation, and outcomes in patients with drug-induced liver injury in the general population of Iceland. *Gastroenterology* 2013; 144:e1413.
- Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Aronson JK. Post-marketing withdrawal of 462 medicinal products because of adverse drug reactions: a systematic review of the world literature. *BMC Med* 2016; 14:10.
- Yoon E, Babar, Choudhary M, Kumar M, Piryopoulos N. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *J Clin Transl Hepatol* 2016; 4(2):131-142. Published online 2016 Jun 15. doi: 10.14218/JCTH.2015.00052
- Bjornsson ES. Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents. *Int J Mol Sci* 2016; 17:224.
- Bjornsson ES. Drug-induced liver injury: an overview over the most critical compounds. *Arch Toxicol* 2015; 89:327-334.
- Stephens C, Lopez-Navot MA, Ruiz-Cabello F, et al. HLA alleles influence the clinical signature of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity. *PLoS One* 2013; 8(7):e68111.
- S.deLencos A, Ghabril M, Rockey D, Gu J, Barnhart H, Fontana R, Kleiner D, Bonkovsky H. Amoxicillin-Clavulanate-Induced Liver Injury. *Dig Dis Sci* 2016; 61(8): 2406-2416. Published online 2016 Mar 22. doi: 10.1007/s10620-016-4121-6
- Stewart JD, Horvath R, Baruffini E, et al. Polymerase gamma gene POLG determines the risk of sodium valproate-induced liver toxicity. *Hepatology* 2010; 52(5):1791-1796.
- Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995; 333:1118-1127.
- Yoon L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced injury. *Clin Liver Dis* 2013; 17:507-518.
- Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, Navarro VJ, Lee WM, Fontana RJ. The Diagnosis and Management of Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Am J Gastroenterol* advance online publication, 17 June 2014; doi: 10.1038/sj.ajg.2014.131
- Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139(7):876-887.
- LiverTox. (accessed on 14 May 2017); Available online: <http://livertox.nlm.nih.gov>.
- Hinson JA. Mechanisms of acetaminophen-induced liver disease. In: Kaplowitz N, DeLeve LD, eds. *Drug-induced liver disease*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2013, pp. 305-330.
- Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2012; 02(05): 233-243
- Chitturi S, Farrell G. Drug-Induced Liver Disease. In Schiff E, Maddrey W, Sorrell M. *Schiff's Diseases of the Liver*, 11th ed. 2012, pp. 703-783
- Ortega-Alonso A, Stephens C, Lucena I, Andrade R. Case Characterization, Clinical Features and Risk Factors in Drug-Induced Liver Injury. *Int J Mol Sci* 2016;17(5):714; doi:10.3390/ijms17050714
- Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139(7):876-887.
- Kalb RE, Strober B, Weinstein G et al. Methotrexate and psoriasis: 2009 National Psoriasis Foundation Consensus Conference. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60:824-837.
- Berends MA, van Oijen MG, Snoek J et al. Reliability of the Rosenigk classification of liver damage after methotrexate treatment for psoriasis: a clinicopathologic study of 160 liver biopsy specimens. *Arch Dermatol* 2007; 143:1515-1519.
- Rockey DC, Seeff LB, Rochon J, et al. Causality assessment in drug induced liver injury using a structured expert opinion process: comparison to the Roussel-Uclaf causality assessment method. *Hepatology* 2010; 51(6):2117-2126.
- Stine J, Lewis J. Current and future directions in the treatment and prevention of drug-induced liver injury: a systematic review. *J Expert Review Gastroenterology & Hepatology* 2016; 10(4): 517-536.
- Giordano C, Rivas J, Zervos X. An Update on Treatment of Drug-Induced Liver Injury. *J Clin Transl Hepatol* 2014; 2(2):74-79.
- Bjornsson ES, Hoofnagle JH. Categorization of drugs implicated in causing liver injury: Critical assessment based on published case reports. *Hepatology* 2016; 63:590-603
- Raschi E, De Ponti F. Drug-induced liver injury: Towards early prediction and risk stratification. *World J Hepatol* 2017; 9(1):30-37.
- Eliankany AM, McPherson S, Masson S et al. Cholestasis secondary to anabolic steroid use in young men. *BMJ* 2012; 34: 4e468.
- Chojkier M. Hepatic sinusoidal-obstruction syndrome: toxicity of pyrolizidine alkaloids. *J Hepatol* 2003; 3:437-446.
- Chalasani N, Vuppalanchi R, Navarro VJ et al. Acute liver injury due to Flavoconid (Imbra), a medical food for osteoarthritis. A case series. *Ann Intern Med* 2013; 156:857-860.

PREVALENCE OF PROLONGED QTc INTERVAL IN PATIENTS TAKING PSYCHOPHARMACS

Zoran Jovanović¹, Vesela Radonjić², Ratomir Jelić³, Narcisa Petrović-Šubić³, Ivan Soldatović⁴, Vera Terzić¹, Sladjan Stojilković⁴, Dusan Djurić²

¹General hospital Sabac, Department of Psychiatry, Republic of Serbia

²Department of pharmacy, Faculty of medical sciences, Kragujevac, Republic of Serbia

³Hemofarm A.D. Vriac, Serbia,

⁴Society of external and internal export Medicom, Sabac, Republic of Serbia

ZASTUPLJENOST PRODUŽENOG QTc INTERVALA KOD PACIJENATA KOJI UZIMAJU PSIHOFARMAKE

Zoran Jovanović¹, Vesela Radonjić², Ratomir Jelić³, Narcisa Petrović-Šubić³, Ivan Soldatović⁴, Vera Terzić¹, Sladjan Stojilković⁴, Dušan Đurić²

¹Opšta bolnica Šabac, Škuzba psihijatrije, Republika Srbija

²Katedra za farmaciju, Fakultet medicinskih nauka, Kragujevac, Republika Srbija

³Hemofarm A.D, Republika Srbija

⁴Društvo za spoljnu i unutrašnju trgovinu Medicom d.o.o. Šabac, Republika Srbija

Received / Prilijen: 15. 08. 2016.

Accepted / Prihvaćen: 05. 12. 2016.

ABSTRACT

Apart from providing knowledge on the beneficial effects of drugs, practical psychopharmacotherapy also includes drug profiles of adverse effects, especially when medical comorbidity is present. The mechanism of action of many psychotropic drugs, mainly antipsychotics and antidepressants, is associated with prolongation of the QT interval and the occurrence of arrhythmias, specifically Torsade de pointes (TdP), which can be lethal. The aim of this pilot study was to confirm the prevalence of prolonged QTc interval in a sample of psychiatric patients taking psychopharmacs.

The present study included 41 patients who were already on psychopharmacs. The average value of the QTc interval in the observed sample was 413.8 ± 23.3 ms. The most frequent psychopharmacotherapy was the combination of typical and atypical antipsychotics (24.4%), followed by monotherapy with antipsychotics (22%) and combined antidepressant and atypical antipsychotic therapy (22%). The average value of the QTc interval for male patients was 412.1 ± 25.2 ms, whereas for female patients, it was 416.6 ± 20.4 ms. No difference between sexes was confirmed ($p=0.555$). The correlation between the QTc interval and age of patients was positive but not statistically significant ($p=0.072$). The highest average (419.3 ± 31.6 ms) and highest maximum (479 ms) values of the QTc interval were noted for patients undergoing combined therapy of antidepressants and atypical antipsychotics. Prolonged values of the QTc interval were observed for seven males and one female, and no patients exhibited pathological values.

This study confirmed previous research that found that prolongation of the QTc interval exists in patients in sample groups who take psychopharmacs, but not up to critical values.

Keywords: psychopharmacs, antidepressants, antipsychotics, prolonged QTc interval, Torsade de pointes

SAŽETAK

Racionalna psihofarmakoterapija podrazumeva osim dobrog poznavanja blagotvornih efekata lekova i njihov profil neželjenih dejstava, posebno kada postoji somatski komorbiditet. Mnogi psihotropni lekovi, prvenstveno antipsihotici i antidepresivi, povezani su sa produženjem QT intervala i nastankom aritmija tipa Torsade de pointes (TdP), što se može završiti letalno. Cilj ove pilot studije bio je da, kod posmatrane grupe psihijatrijskih pacijenata koji uzimaju psihofarmake, utvrdimo zastupljenost produženog QTc intervala.

U ispitivanje je uključeno 41 bolesnik, koji već koriste psihofarmake u terapiji. Naše istraživanje je pokazalo da je prosečna vrednost QTc intervala u posmatranom uzorku iznosila $413,8 \pm 23,3$ ms. Najčešće je primenjivana kombinacija tipičnog i atipičnog antipsihotika (24,4%), sledi monoterapija antipsihotikom i kombinovana terapija antidepresiv-atipični antipsihotik sa po 22%. Prosečna vrednost QTc intervala kod muškaraca iznosila je $412,1 \pm 25,2$ ms a kod žena $416,6 \pm 20,4$ ms i nije utvrđena razlika između polova ($p=0,555$). Korelacija QTc intervala i starosti pacijenata bila je pozitivna ali nije statistički značajna ($p=0,072$). Najviše prosečne ($419,3 \pm 31,6$ ms) kao i maksimalne (479ms) vrednosti QTc intervala uočene su kod pacijenata na kombinovanoj terapiji antidepresiv i atipični antipsihotik. Produžene vrednosti QTc intervala registrovane su kod sedam bolesnika i kod jedne bolesnice dok patoloških vrednosti u posmatranom uzorku nije bilo.

Ova studija potvrdila je prethodna saznanja da prolongacija QTc intervala postoji kod pacijenata u našem uzorku koji uzimaju psihofarmake, ali ne i do kritičnih vrednosti.

Ključne reči: psihofarmaci, antidepresivi, antipsihotici, produžen QTc interval, Torsade de pointes



INTRODUCTION

The complexity of mental disorders is apparent not only in their primary symptoms but also in the adverse effects of available pharmacotherapies. Oftentimes, the adverse symptoms are not noticed in a timely manner due to the patients' altered psychological functioning, negligence of their own health and ascribing iatrogenic symptoms to a disease itself (1-3). Although new psychopharmacs generally have fewer adverse effects, we are still not satisfied with the level of efficacy and safety (4). Furthermore, psychiatric patients are likely to abuse psychoactive substances and experience drug overdose, which makes the clinical picture more complex and significantly changes the bioavailability of psychotropic drugs (5, 6). Given the above complications, psychopharmacs are a cause of many adverse events and have the potential for interactions with drugs of other categories (4).

Although rare, iatrogenic cardiovascular disorders are amongst the most serious adverse events and mainly include heart rhythm disorders and sudden cardiac death (7, 8). Many psychopharmacs, especially antipsychotics and antidepressants, are associated with prolongation of the QT interval and the occurrence of arrhythmia, specifically the type *Torsade de pointes* (TdP), which can be lethal (9, 10). The QT interval on an electrocardiogram represents the time interval from the beginning of the Q wave to the end of the T wave, i.e., it corresponds to the start of activation (depolarization) and the end of recovery (repolarization) of the ventricles. Its physiological values are variable due to the influence of heart rate, age and sex, thus, as a more precise electrophysiological value, the corrected value QTc interval is used (11). Normal values of QTc interval for males reach up to 430 ms, borderline values range from 431 ms to 450 ms, and pathological values are >450 ms; whereas for females, normal values reach up to 450 ms, borderline values range from 451 ms to 470 ms and pathological values are >470 ms (12). Prolongation of the QTc value above 500 ms for both sexes is not always accompanied by arrhythmia, but it significantly increases the risk of TdP occurrence, in other words, sudden cardiac death (13).

The potential for prolongation of the QT interval by psychopharmacs was first noticed with phenothiazines, mostly with thioridazine (approximately 36 ms), and therefore, it was generally withdrawn from the market. However, thioridazine is still administered in some countries under specific circumstances (14). Subsequently, numerous studies confirmed that many other antipsychotics can variably prolong the QT interval, such as pimozide, chlorpromazine, haloperidol and droperidol; however, more recent drugs, such as sertindole, quetiapine, ziprasidone, risperidone, etc., can also prolong the QT interval (15, 16). In addition, the same effect was noticed with methadone (17), lithium and different antidepressants, including tri- and tetra-cyclic antidepressants and SSRI/SNRI [(es)citalopram, fluoxetine, venlafaxine, etc.] (16). Additional factors that can increase the risk of prolonged QT interval include

inborn prolongation of the QT interval, comorbid cardiac and other medical diseases, anorexia, electrolyte imbalance, simultaneous intake of other drugs that prolong QT interval or interact with psychopharmacs, age older than 65 years, female sex and positive familial anamnesis of sudden cardiac death (18, 19). For this reason, testing is required on the pro-arrhythmogenic potential of drugs, i.e., their influence on QT/QTc interval, during pre-clinical and clinical trials of these drugs (20, 21).

The aim of this pilot study was to confirm the prevalence of prolonged QTc interval in a group of psychiatric patients who take psychopharmacs.

PATIENTS AND METHODOLOGY

This cross-sectional study used data from 41 hospitalized patients in the psychiatric ward of the General Hospital in Sabac after obtaining informed consent. The sample involved patients of both sexes, aged 24 to 80 years old, who were already taking psychopharmacs. The patients were stratified into five groups depending on whether they took antidepressant monotherapy, atypical/typical antipsychotic therapy, combined therapy with antidepressant/antipsychotic or substitutional methadone therapy in the last seven days. The observed groups underwent additional therapy of benzodiazepine and/or psychostabilizers. All the patients underwent a standard 12-lead electrocardiogram (ECG). Only ECGs of technical quality that did not register disorders of conduction of the His bundle (block/chemiblock), ST segments or T waves were considered. The exclusion criteria for this study were patients who took neuropsychiatric drugs, which, according to the relevant references, can extend the QTc interval (22, 23). The basic psychiatric diagnoses of the participants were given in accordance with the International Classification of Disease – 10th revision (ICD-10).

The length of the QT interval depends on the patient's sex and heart rate. The value of the QTc interval is expressed in milliseconds (ms) and the obtained results, according to the valid international criteria (12), were classified into six intervals: normal values for men up to 430 ms, normal values for women up to 450 ms, borderline values for men up to 431-450 ms, borderline values for women up to 451-470 ms, pathological values for men >450 ms and pathological values for women >470 ms. For all patients, the corrected QT interval (QTc) was calculated according to Bazett's formula, in which the value of the QT interval (QT) is divided by the square root of the length between two consecutive R waves ($QTc = QT / \sqrt{RR}$). In order to determine the end of the T wave in unclear ECGs, the QT interval was calculated using the tangent method in cycles where the T wave was best defined.

The results are presented as arithmetic means +/- standard deviations or as a number (percentage). The t-test and ANOVA were used to test the significance of the differences in numerical observations, whereas the Chi square test



Table 1 The comparison of the QTc interval by sex of patients taking psychopharmacs

Sex	Arithmetic mean QTc	SD	Median	Minimum	Maximum
Male	412.1	25.2	413.0	360	462
Female	416.6	20.4	408.5	389	479

was used to examine the significance of differences among groups concerning nominal observations. Pearson correlation analysis was used to examine the correlation between two numerical variables. All the results were processed using SPSS 20.0 (IBM corporation) software package.

RESULTS

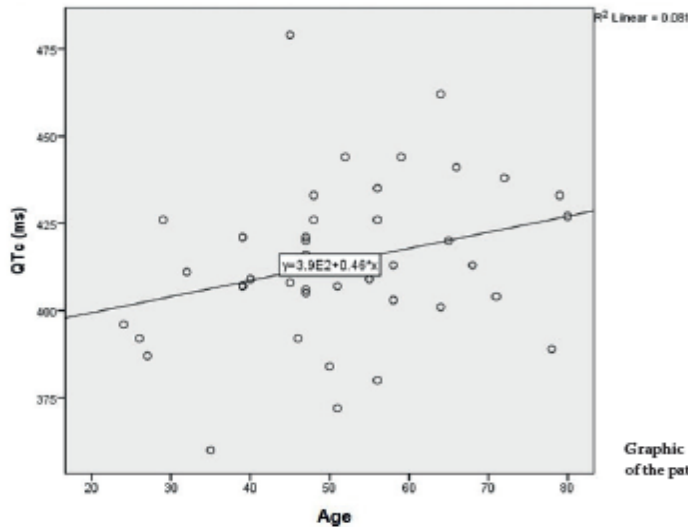
The observed group included 41 patients, consisting of 25 males (61%) and 16 (39%) females, with an average age of 51.3±14.4 years. The average age of male patients was 50.2 years, whereas the average age of female patients was 53.2 years; there was no statically significant difference in age between sexes (p=0.509). The average value of the QTc interval in the observed sample was 413.8±23.3 ms with a range of 360 ms to 479 ms. The most common diagnoses were various schizophrenic disorders in 48.7% of patients [i.e., schizophrenia (F20) 36.6%, schizoaffective disorder (F25) 7.3%, brief psychotic disorder (F23) 2.4% and unspecified psychosis (F29) 2.4%]. Other diagnoses were affective disorders in 36.6% of patients [i.e., recurrent depressive disorder (F33) 24.4%, single episode of depressive disorder (F32) 9.6%, and bipolar affective disorder (F31) 2.4%], chronic psychoorganic syndrome (F06) in 9.8% of patients, and dementia (F03) and opioid-related disorders (F11) in 2.4% of patients. Regarding pharmacotherapy, most pa-

tients were taking a combination of typical and atypical antipsychotics (24.4%), followed by monotherapy of antipsychotic (22%), combined therapy of antidepressant – atypical antipsychotic (22%), monotherapy of antidepressant (17.1%), typical antipsychotic (12.2%) and substitutional methadone therapy (2.4%).

In Table 1, the values of the QTc interval by patient sex are presented. The average value for males is 412.1±25.2 ms, whereas for females the average value is 416.6±20.4 ms. There was no statistically significant difference in QTc interval between sexes (t=0.596; p=0.555).

The correlation between QTc interval and age was weak to moderately positive but not statistically significant (r=0.284; p=0.072) (Graphic 1). The highest independent value of 479 ms for the QTc interval was recorded in a 46-year-old female patient.

The relationship between pharmacotherapy and the values of the QTc intervals were analysed. The average QTc values by medications are shown in Table 2. The highest average QTc interval (419.3±31.6 ms) and the overall maximal value (479 ms) were noted in the group of patients undergoing combined therapy of an antidepressant and an atypical antipsychotic. When excluding the one patient taking methadone therapy, there was no statistically significant difference between the duration of the QTc interval by administered therapy, regardless of whether it was monotherapy or a combination of psychopharmacs (F=0.522; p=0.720).



Graphic 1 The correlation between QTc interval and age of the patients taking psychopharmacs



Table 2 The comparison of the values of the QTc interval according to pharmacotherapeutic group

Th	Arithmetic mean QTc	SD	Median	Minimum	Maximum
Antidepressant	405.0	20.1	401.0	380	433
Typical antipsychotic	406.6	21.2	404.0	387	441
Atypical antipsychotic	416.0	10.3	413.0	407	435
Antidepressant + atypical antipsychotic	419.3	31.6	420.0	360	479
Typical antipsychotic + atypical antipsychotic	417.0	28.7	414.0	372	462
Methodone	411.0	.	411.0	411	411

Box-plot Diagram 1 shows the distribution of the QTc interval depending on the type of psychopharmacotherapy.

The measured values of the QTc interval were, in accordance with the valid international criteria (12), classified in six intervals: normal values for men up to 430 ms, normal values for women up to 450 ms, borderline values for men 431-450 ms, borderline values for women 451-470 ms, pathological values for men >450 ms and pathological values for women >470 ms. Prolonged values were noted for 7 male patients and one female patient, but there were no patients with pathological values. There was no statistically significant difference in QTc interval categories between sexes (p=0.120) (Table 3).

In addition, the correlation between the abovementioned QTc categories and administered psychotropic drugs was analysed. According to the statistical parameters, the sample was too small for such a large number of categories. When one patient undergoing methodone therapy was excluded, it was confirmed that there was no statistically significant difference between the observed QTc categories and the administered psychotropic drugs

Table 3 QTc interval categories by sex of the patients taking psychopharmacs

Values QTc		Normal	Higher	Total
Sex				
Male	N	18	7	25
	%	72.00%	28.00%	100.00%
Female	N	15	1	16
	%	93.80%	6.30%	100.00%

(p=0.310). The exact test was used for this analysis. On an individual basis, in one 46-year-old female patient who was administered clomipramine 150 mg in combination with atypical antipsychotic quetiapine 600 mg per day, the QTc interval was 479 ms. For the seven male patients with QT prolongation, a maximum QTc interval of 462 ms was recorded, and all of them were administered different drug categories. Four of these patients took combined therapy chlorpromazine in dosages from 50 to 150 mg. The relationship between pharmacotherapy and QTc interval values is shown in Table 4.

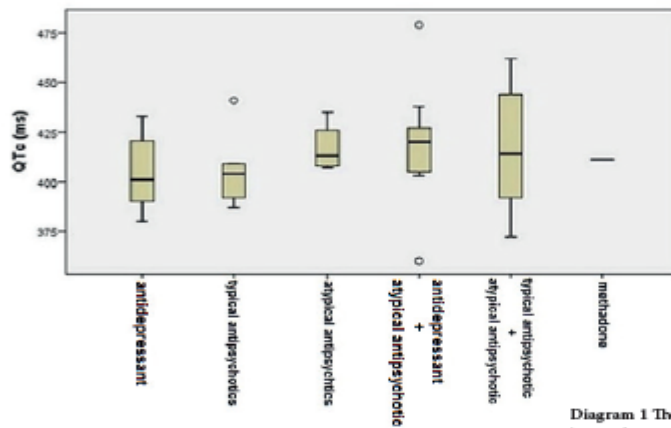
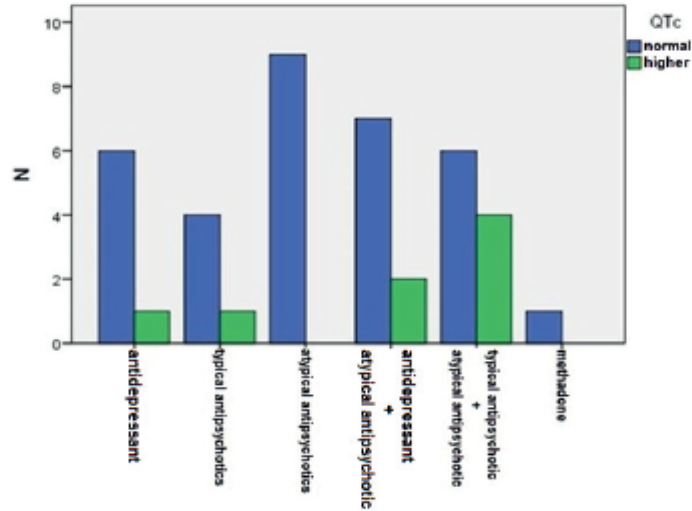


Diagram 1 The distribution of values of the QTc interval according to pharmacotherapeutic group



Diagram 2 QTc intervals according to pharmacotherapeutic groups



DISCUSSION

Diagram 2 shows that the prolonged value of the QTc interval was mostly present in patients taking combined therapy of typical and atypical antipsychotics, followed by combined therapy of antidepressant and atypical antipsychotic. However, QTc prolongation was less prominent in monotherapy using an antidepressant and an atypical antipsychotic.

In this pilot study, participants of both sexes were included equally. In addition, the geriatric population with mental problems was also present, since, in our society, they are often hospitalized at psychiatric wards, at least at the secondary level. The most common were patients who suffer from disorders of the schizophrenia spectrum (F20-F29), followed by affective disorders (F31-F33), chronic

Table 4 The comparison QTc interval categories according to the pharmacotherapeutic groups

QTc categories		Normal	Higher	Total
Th				
Antidepressant	N	6	1	7
	%	85.70%	14.30%	100.00%
Atypical antipsychotics	N	4	1	5
	%	80.00%	20.00%	100.00%
Atypical antipsychotics	N	9	0	9
	%	100.00%	0.00%	100.00%
Antidepressant+atypical antipsychotic	N	7	2	9
	%	77.80%	22.20%	100.00%
Typical antipsychotic +atypical antipsychotic	N	6	4	10
	%	60.00%	40.00%	100.00%
Methadone	N	1	0	1
	%	100.00%	0.00%	100.00%



psychoorganic syndrome (F06) and dementia (F03), which required hospital treatment due to the complexity of the clinical picture.

Our patients did not show prolongation of QTc interval above the critical value of 500 ms, which, according to all current recommendations, would be a reason to change pharmacotherapy (10). Nevertheless, there is no data on the values of the QTc interval in psychiatric patients before psychopharmacs were introduced. Therefore, it was not possible to calculate whether and to what extent there was prolongation of QTc interval, especially more than 60 ms, in comparison to a baseline value. Although there were no statistically significant differences, the average value of the QTc interval for male patients was lower than the average values for female patients (412.1 ± 25.23 ms vs. 416.6 ± 20.4 ms), which is in accordance with previous research. The shorter QTc for male patients compared to female patients can be explained by a quicker start of repolarization in male patients. This gender-specific difference decreases with age and is probably caused by the effects of testosterone on calcium current (25). Contrary to the abovementioned findings, in our sample, prolongation of the QTc interval was noted for seven male patients and one female patient. Comparing the age and the QTc values, a weak to average correlation between QTc interval and age of the patients was confirmed. Although a significant difference was not noted for ventricular repolarization by pharmacotherapeutic group, the highest value of QTc interval (419.3 ± 31.6 ms) was observed in patients who were taking a combination of antidepressants and atypical antipsychotics; slightly lower values of QTc intervals were observed for patients who were on monotherapy of an antidepressant or an antipsychotic. These results are equal to other published research (26), though many authors confirm a significantly higher risk of prolongation of QTc interval with psychopharmacs polytherapy (27). Although a statistically significant difference was not confirmed, an analysis of the relationship between administered monotherapy or combination of drugs and QTc categories led to almost identical results. In the 40% of patients taking a combination of typical and atypical antipsychotics, prolongation of the QTc interval was confirmed, as well as in the 22.2% of patients on a combination of an antidepressant and an atypical antipsychotic. This finding can be explained by the additive effect of these drugs on ventricular repolarization. To emphasize, the combinations of drugs with high potential for prolongation of QTc values should be avoided when possible, especially in patients with other known risk factors (18,19). Relevant research shows that the greatest negative effect is observed with phenothiazines (thioridazine 36 ms, pimozide 19 ms), followed by sertindole 30 ms, ziprasidone 15.9 ms, haloperidol 7.1 ms, quetiapine 5.7 ms and risperidone 3.6 ms (28,29). With regard to clozapine, the results of this study are conflicting, but its cardiotoxic potential is unquestionable (30). Among antidepressants, mainly the adverse effects of tricyclic and tetracyclic were recorded (clomipramine, maprotiline, nortriptyline, ami-

triptyline), as well as the dosage-additive potential of citalopram (18.5 ms in dosages of 60 mg/day) and escitalopram (10.7 ms in dosages of 30 mg/day) (31). The study also suggests clinically significant effect of recent drugs, such as venlafaxine, especially in dosages more than 300 mg per day, and bupropion. Furthermore, research thus far has also confirmed the adverse influence of methadone substitutional therapy on QTc values (32).

STUDY LIMITATIONS

The main drawback of the study was that the number of patients in the present study was rather small compared to the data from the available literature. Other limitations include the lack of more precise exclusion criteria according to cardiology and general practice guidelines, laboratory analyses and baseline values of the QTc interval before administration of psychopharmacs. With more strict exclusion criteria, it would be possible to avoid potential influence of other factors on repolarization of ventricles, not only those accounted for by physical examination in psychiatric practice, anamnesis of somatic diseases and patients not taking neuropsychiatric drugs. In addition, there are also deviations of basic values during drug administration. The question of a valid determination of QTc interval can be raised concerning this and concerning broader research that has been carried out so far. Namely, the international research carried out by Viskin and associates (33) showed that most medical doctors (25%), including many cardiologists, cannot precisely calculate QTc and cannot accurately identify prolonged QT. In addition, agitation of patients can influence electrolyte balance, i.e., cause hypokalemia, which would additionally change ventricular repolarization (34). Circadian changes and even consumption of certain foods, beverages and supplements can also influence values of QTc (35,36). Additionally, the complexity of the problem is caused by various recommendations concerning the time of recording the ECG, where most experts recommend recordings 12 hours after drug administration or 30 to 60 minutes after its peak blood concentration is achieved (37,38).

CONCLUSION

Prolongation of the QTc interval caused by psychopharmacs, mainly antipsychotics and antidepressants, is a relatively rare but severe event that can be lethal. Since administration of psychotropic drugs in daily practice is inevitable, an integrative approach to patients is necessary to avoid this kind of adverse event and to react effectively in such cases. This strategy means knowing the mechanisms of action of a drug and methods of individual assessment of all the mentioned risks and, if necessary, the ability to interpret electrolytes and ECGs. The balance among the risks and positive effects of psychopharmacs is a great



challenge, especially in our society where a psychiatrist is very often “a general practitioner” who also takes care of the general health of his/her patients.

Taking into consideration all the abovementioned limitations, this study showed that prolongation of the QTc interval exists in patients in our society who take psychopharmac, but it does not lead to critical, i.e., torsadogenic, values.

To decrease the incidence of psychotropic-related QT prolongation, it is necessary to conduct further and broader clinical and pre-clinical research.

REFERENCES

- Kang SH, Lee JI. Metabolic disturbances independent of body mass in patients with schizophrenia taking atypical antipsychotics. *Psychiatry Investig.* 2015; 12(2):242-8.
- Rouillon F, Van Ganse E, Vekhoff B, Arnaud R, Depret-Bixio L, Dillenschneider A. Vigilance level for cardiovascular risk factors in schizophrenic patients. *Encephale.* 2015;41(1):70-7.
- Cradock-O'Leary J, Young AS, Yano EM, Wang M, Lee ML. Use of general medical services by VA patients with psychiatric disorders. *Psychiatr Serv.* 2002;53(7):874-8.
- Jones ME, Campbell G, Patel D, Brunner E, Shatapathy CC, Murray-Thomas T, van Staa TP, Motosko S. Risk of Mortality (including Sudden Cardiac Death) and Major Cardiovascular Events in Users of Olanzapine and Other Antipsychotics: A Study with the General Practice Research Database. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2013;2013:647476.
- Tolliver BK, Anton RF. Assessment and treatment of mood disorders in the context of substance abuse. *Dialogues Clin Neurosci.* 2015;17(2):181-90.
- Mowry JB, Spyker DA, Cantilena LR Jr, McMillan N, Ford M. 2013 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System: 31th Annual Report. *Clin Toxicol.* 2014;52:1032-283.
- Weeke B, Jensen A, Folke F, Gislason GH, Olesen JB, Fosbøl EL, Wissenberg M, Lippert FK, Christensen EF, Nielsen SL, Holm E, Kanters JK, Poulsen HE, Køber L, Torp-Pedersen C. Antipsychotics and associated risk of out-of-hospital cardiac arrest. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(4):490-7.
- Nezafati MH, Vojdanparast M, Nezafati P. Antidepressants and cardiovascular adverse events: A narrative review. *ARYA Atheroscler.* 2015;11(5):295-304.
- Zemrak WR, George A, Kenna GA. Association of Antipsychotic and Antidepressant Drugs With Q-T interval Prolongation. *Am J Health Syst Pharm.* 2008;65(11):1029-1038.
- Hasnain M, Vieweg WV. QTc interval prolongation and torsade de pointes associated with second-generation antipsychotics and antidepressants: a comprehensive review. *CNS Drugs.* 2014;28(10):887-920.
- Postema PG, Wilde AA. The Measurement of the QT Interval. *Current Cardiology Reviews.* 2014;10(3):287-294.
- Committee for Proprietary Medicinal Products. The assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products, Committee for Proprietary Medicinal Products, London (1997).
- De Bruin ML, Langendijk PN, Koopmans RP, Wilde AA, Leufkens HG, Hoes AW. In-hospital cardiac arrest is associated with use of non-antiarrhythmic QTc-prolonging drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2007;63:216-223.
- Huffman JC, Stern TA. QTc Prolongation and the Use of Antipsychotics: A Case Discussion. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry.* 2003;5(6):278-281.
- Vieweg WV. New Generation Antipsychotic Drugs and QTc Interval Prolongation. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry.* 2003;5(5):205-215.
- Girardin FR, Gex-Fabry M, Berney P, Shah D, Gaspoz JM, Dayer P. Drug-induced long QT in adult psychiatric inpatients: the 5-year cross-sectional ECG Screening Outcome in Psychiatry study. *Am J Psychiatry.* 2013;170(12):1468-76.
- Wenzel-Seifert K, Wittmann M, Haen E. QTc Prolongation by Psychotropic Drugs and the Risk of Torsade de Pointes. *Dtsch Arztebl Int.* 2011; 108(41): 687-693.
- Alinejad S, Kazemi T, Zamani N, Hoffman RS, Mehrpour O. A systematic review of the cardiotoxicity of methadone. *EXCLI J.* 2015;14:577-600.
- Danielsson B, Collin J, Jonasdottir Bergman G, Borg N, Salmi P, Fastbom J. Antidepressants and antipsychotics classified with torsades de pointes arrhythmia risk and mortality in older adults - a Swedish nationwide study. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;81(4):773-83.
- Drew BJ, Ackerman MJ, Funk M, et al. Prevention of Torsade de Pointes in Hospital Settings: A Scientific Statement From the American Heart Association and the American College of Cardiology Foundation Endorsed by the American Association of Critical-Care Nurses and the International Society for Computerized Electrocardiology. *Circulation.* 2010;121(8):1047-1060.
- Anonymous (2005b). International Conference on Harmonisation; guidance on S7b Nonclinical evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals; availability. Notice. Fed Regist 70:61133-61134.
- Anonymous (2005a). International Conference on Harmonisation; guidance on E14 Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs; availability. Notice. Fed Regist 70: 61134-61135.
- CredibleMeds® QTDrugs Lists [cited 05 August 2014]. Available: <https://www.crediblemeds.org>. Accessed 5 June 2016.
- Schächtele S, Tümena T, Gaßmann KG, Fromm MF, Maas R. Co-Prescription of QT-Interval Prolonging Drugs: An Analysis in a Large Cohort of Geriatric Patients. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155649.



25. Vicente J, Johannesen L, Galeotti L, Strauss DG. Mechanisms of sex and age differences in ventricular repolarization in humans. *Am Heart J.* 2014;168(5):749-56).
26. Sumić JČ, Barić V, Bilić B, Herceg M, Sisek-Šprem M, Jukić V. QTc and psychopharmacs: are there any differences between monotherapy and polytherapy. *Annals of General Psychiatry.* 2007;6:13.
27. Sala M, Vicentini A, Brambilla P et al. QT interval prolongation related to psycho-active drug treatment: a comparison of monotherapy versus polytherapy. *Ann Gen Psychiatry.* 2005; 4:1.
28. Taylor DM. Antipsychotics and QT prolongation. *Acta Psychiatr Scand.* 2003;107(2):85-95.
29. Harrigan EP, Miceli JJ, Anziano R et al. A randomized evaluation of six antipsychotic agents on QTc, in the absence and presence of metabolic inhibition. *J Clin Psychopharmacol.* 2004; 24:62-9.
30. Curto M, Girardi N, Lionetto L, Ciavarella GM, Ferracuti S, Baldessarini RJ. Systematic Review of Clozapine Cardiotoxicity. *Curr Psychiatry Rep.* 2016;18(7):68.
31. Lam RW. Psychopharmacology for the Clinician. *J Psychiatry Neurosci.* 2013; 38(2): E5–E6.
32. Stringer J, Welsh Ch, Tommasello A. Methadone-associated Q-T Interval Prolongation and Torsades de Pointes. *Am J Health Syst Pharm.* 2009;66(9):825-833.
33. Viskin S, Rosovski U, Sands AJ, Chen E, Kistler PM, Kalman JM, Rodriguez Chavez L, Iturralde Torres B, Cruz FFE, Centurion OA, Fujiki A, Maury P, Chen X, Krahn AD, Roithinger F, Zhang L, Vincent GM, Zeltser D: Inaccurate electrocardiographic interpretation of long QT: The majority of physicians cannot recognize a long QT when they see one. *Heart Rhythm* 2005;2: 569-574.
34. M.Vega, C. Rianza, A. Chinchilla, I. Gobernado. HYPOKALEMIA, PSYCHOMOTOR AGITATION AND PROLONGING THE QTC. *European Psychiatry* 2011.
35. Molnar J, Zhang F, Weiss J, Ehlert FA, Rosenthal JE. Diurnal pattern of QTc interval: how long is prolonged? Possible relation to circadian triggers of cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(1):76–83.
36. Zitron E, Scholz E, Owen RW, Lück S, Kiesecker C, Thomas D, et al. QTc prolongation by grapefruit juice and its potential pharmacological basis: HERG channel blockade by flavonoids. *Circulation.* 2005;111:835–838.
37. Goldenberg I, Moss AJ, Zareba W. QT Interval: How to Measure It and What Is "Normal". *J Cardiovasc Electro-physiol.* 2006;17(3):333-6.
38. Ames D, Camm J, Cook P, Falkai P, Gury C, Hurley R, Johnson G, Piepho R, Vieweg V; Cardiac Safety in Schizophrenia Group. [Minimizing the risks associated with QTc prolongation in people with schizophrenia. A consensus statement by the Cardiac Safety in Schizophrenia Group]. *Encephale.* 2002; 28(6 Pt 1):552-62.

DINAMIKA PROMENE SERUMSKIH PARAMETARA JETRE KOD AKUTNIH TROVANJA KSENOBIOTICIMANarcisa Petrović Subić¹, Veljko Todorović²
¹Hemofarm A.D., Vršac,
²Vojnomedicinska akademija, Beograd**TREND OF THE LIVER SERUM PARAMETER CHANGES IN ACUTE INTOXICATION CAUSED BY XENOBIOTICS**Narcisa Petrović Subić¹, Veljko Todorović²
¹Hemofarm A.D., Vršac,
²Military Medical Academy, Belgrade, Serbia**SAŽETAK**

Biohemijski parametri jetrene funkcije i njenog oštećenja su dobro poznati i široko korišćeni ali bliži podaci o njihovoj dinamici kod akutnog trovanja ksenobiotika su rari. Ispitivanje je sprovedeno kao opservaciona klinička studija na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu tokom 2004. i 2005. godine, gde su lečeni bolesnici zbog akutnih trovanja različitim agensima, kod kojih se ispoljila i lezija jetre. Procena funkcionalnog stanja jetre je vršena na osnovu aktivnosti jetrih enzima u serumu: aminotransaminaza, gama glutamat transferaze, laktat dehidrogenaze. Praćeni su i bilirubin i protrombinsko vreme. Navedeni parametri su određivani prilikom prijema u kliniku, i na pet vizita tokom hospitalizacije. Ukupno je analizirano 79 bolesnika. Od ksenobiotika koji su izazvali hepatotoksičnost bili su zastupljeni lekovi, hemijska sredstva i sredstva zloupotrebe. Znaci direktne hepatotoksičnosti izazvane lekovima su se ispoljavali porastom aktivnosti transaminaza, produženim INR-om, povećanim vrednostima γ GT, LDH i bilirubina. Na holestatsko oštećenje ukazuje jasan porast bilirubina i održanje visokih vrednosti. Kod akutnih trovanja hemijskim sredstvima funkcionalno oštećenje se ispoljavalo porastom skoro svih parametara, i to u mnogo većoj meri nego kod lekova. U akutnim trovanjima supstancama zavisnosti nastaje oštećenje jetre kao posledica direktnog toksičnog delovanja na hepatocite. U bioluminalnom sindromu se registruje izrazito povišena aktivnost transaminaza. U zaključku, kod akutnih trovanja lekovi, supstance zavisnosti i otrovi imaju selektivni uticaj na vrednosti pojedinih biohemijskih markera hepatičkog oštećenja, na njihovu magnitudu i dinamiku tokom lečenja. Bliže poznavanje obrasca promene seranskih analiza koji su povezani sa morfološkim i funkcionalnim statusom jetre bi moglo da doprinese boljem lečenju akutno otrovanih pacijenata.

KLjučne reči: jetra, ksenobiotici, trovanje, krv, hemijska analiza, abnormalnosti

UVOD

Jetra ima značajnu, često i ključnu ulogu u biotransformaciji i eliminaciji toksičnih materija iz organizma, bilo da se radi o egzogenim supstancama ili o jedinjenjima koja se stvaraju kao produkti

ABSTRACT

Biochemical parameters of the liver function and its damage are well known and widely used but closer data about their dynamics during acute xenobiotic poisonings are rare. The investigation was conducted as an observational study at the Military Medical Academy in Belgrade during the years 2004 and 2005, where patients, who had also experienced the liver lesion, were treated for acute intoxication caused by different agents. The assessment of the liver functioning was carried out based on the activity of the liver serum enzymes including aminotransaminase, gamma glutamate transferase and lactate dehydrogenase. Bilirubin and prothrombin time were also monitored. The indicated parameters were determined at the admittance to the clinic and on five further visits during the stay. Seventy-nine patients were analyzed. The xenobiotics, which caused hepatotoxicity, included drugs, chemical agents and abuse agents. The symptoms of direct hepatotoxicity caused by medicines were manifested in the increase of transaminase activity, prolonged INR, elevated levels of γ GT, LDH and bilirubin. Cholestatic impairment was indicated by an obvious increase and maintenance of high levels of bilirubin. In the acute intoxication caused by chemical agents, the functional impairment was manifested by the increase of almost all parameters, to much larger extent compared to drugs. The acute intoxication by dependence-causing substances causes the liver impairment as a result of direct toxic effect on hepatocytes. Distinctly increased activity of transaminases is recorded in the biohumoral syndrome. In conclusion, in the acute intoxication, drug abusing substances and poisons have a selective effect on particular biochemical markers of the hepatic impairment, on their magnitude and trend throughout the stay. Closer familiarity with the pattern of changes of serum analyses, which are associated with the morphological and functional status of the liver, might contribute to better treatment of acutely intoxicated patients.

Key words: liver, xenobiotics, poisoning, blood, chemical analysis, abnormalities

metabolizma. Najmanje 600 lekova i hemijskih toksina i sve veći broj lekovitih biljnih preparata može da izazive oštećenje jetre (1-3). Okolnosti, mehanizam i tok hepatotoksičnog dejstva lekova i drugih hemijskih noksija je različit. Slučajno ili namerno predoziranje je

čest uzrok a ponekad tome doprinose i posebne kliničke okolnosti, kao u slučaju paracetamola kod pacijenata koji redovno konzumiraju alkohol (4, 5). Kod ogromne većine lekova koji izazivaju oštećenje jetre do istog dolazi na nepredvidljiv način, samo kod osetljivih pojedinaca (idiosinkrazija). Oštećenja mogu poticati od toksičnih metabolita koji deluju na čelijske proteine, dovodeći na taj način do nekroze ili koji formiraju antigenske komplekse koji stimulišu T-limfocite, dovodeći tako do imunološke reakcije koja izaziva hepatičko oštećenje. Hepatotoksično dejstvo ksenobiotika dovodi do raznovrsnih, nespecifičnih lezija koji podsećaju na mnoga druga oboljenja jetre.

Kliničke manifestacije oboljenja jetre koja su izazvana ksenobiotcima su isto tako različite kao i morfološke manifestacije oštećenja koje oni uzrokuju. Mnogi lekovi izazivaju asimptomatski porast vrednosti jetrenih enzima koji ne progredira uprkos kontinuiranoj upotrebi leka. Nasuprot tome, kod nekih pacijenata ovi biohemijski poremećaji se nastavljaju ili pogoršavaju, što može dovesti do klinički evidentnog i ponekad fatalnog oštećenja jetre (6, 7). Različiti ksenobiotici mogu dovesti do sledećih promena: asimptomatsko povećanje aminotransferaza (npr. statini), akutno hepatocelularno oštećenje (npr. izoniazid), akutna holestaza (amoksicilin sa klavulanskom kiselinom), hronična holestaza (hlorpromazin), granulomatozni hepatitis (karbamazepin), hronični autoimuni hepatitis (nitrofurantoin), veno-okluzivna bolest (toksični alkaloidi) (8).

Iako su biohemijskih parametri jetrene funkcije i njenog oštećenja veoma dobro poznati i dugo i široko korišćeni kako u istraživanjima tako i u kliničkoj praksi, iznenađuje odsustvo bližih podataka o njihovoj dinamici kod akutnog trovanja ksenobiotika. Podaci su uglavnom usmereni na pojedinačne lekove (9), supstance zavisnosti (10) i otrove (11), dok su podaci kod polivalentnih trovanja raritetni, pretežno usmereni na grupu srodnih supstanci (12, 13).

Međutim u rutinskoj praksi, u jedinicama intenzivne nege i urgentne medicine, inicijalno najčešće nije poznat identitet ksenobiotika. U tehnološki slabije opremljenim ustanovama definitivna identifikacija ksenobiotika često nije ni moguća. Zato je od značaja poznavanje dinamike i magnitude promene onih parametara koji su lako dostupni u rutinskom radu najširem krugu lekara. Praćenje ovih parametara tokom lečenja bi moglo da pomogne u proceni težine hepatičkog oštećenja i shoda lečenja te olakšati odluke u vezi izbora optimalnih terapijskih modaliteta.

Cilj našeg istraživanja je ispitivanje uticaja određenih ksenobiotika iz grupe lekova, industrijskih i prirodnih otrova i sredstava zloupotrebe na serumske parametre jetre kao i utvrđivanje stepena korelacije

između funkcionalnih oštećenja jetre i morfoloških promena u akutnim trovanjima ksenobiotcima.

BOLESNICI I METODE

Ispitivanje je dizajnirano kao opservaciona, retrospektivno-prospektivna klinička studija, i sprovedeno je u periodu od 01.01.2004. do 30.06.2005. godine. Ispitivanje je izvršeno na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu (Klinika za urgentnu i kliničku toksikologiju i farmakologiju Centra za kontrolu trovanja), gde su lečeni bolesnici zbog akutnih trovanja različitim agensima i kod kojih se, kao jedna od manifestacija trovanja, ispoljila i lezija jetre. Podaci iz istorija bolesti su preuzeti bez navođenja identiteta bolesnika. Kriterijumi za uključivanje ispitanika u studiju su bili: a) potvrda da se radi o akutnoj ekspoziciji ksenobiotcima, što je utvrđeno na osnovu pouzdanih anamnestičkih i/ili hetero anamnestičkih podataka, kliničke slike, a u slučajevima akutnih trovanja i dokazivanjem ksenobiotika u biološkom materijalu (krv ili urin), b) isključivanje drugih oboljenja, povreda ili patoloških stanja koja mogu da dovede do morfološkog i funkcionalnog oštećenja jetre, c) ispoljavanje morfoloških i funkcionalnih oštećenja jetre. Morfološka oštećenja su utvrđivana na osnovu pregleda ultrazvukom ili kompjuterizovanom tomografijom, kao i zaživotno urađenom biopsijom jetre ili patohistološkom analizom tkiva jetre na materijalu dobijenom u toku autopsije. Funkcionalna oštećenja su utvrđivana na osnovu povećane enzimske aktivnosti (transaminaze, gama glutamat transferaze (γ -GT)), hiperbilirubinemije i protrombinskog indeksa (PI, odnosno INR).

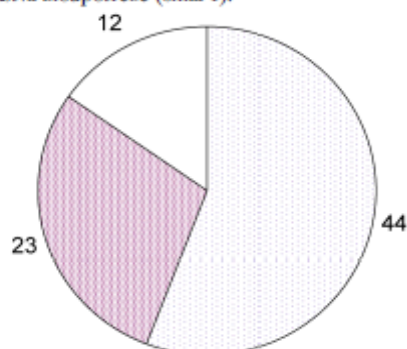
Procena funkcionalnog stanja jetre je vršena na osnovu aktivnosti jetrenih enzima u serumu aminotransaminaza (alanin aminotransferaza-ALT i aspartat aminotransferaza-AST), kao i γ -GT i laktat dehidrogenaze (LDH). Praćeni su i drugi biohemijski parametri, kao što su bilirubin i protrombinsko vreme (PT-INR). Navedeni parametri su određivani prilikom prijema u kliniku, zatim trećeg, petog, sedmog, desetog i petnaestog dana hospitalizacije. Kao referentne vrednosti za navedene parametre uzete su sledeće: ALT od 20 do 65 U/L, AST od 10 do 37 U/L, γ GT od 5 do 85 U/L, LDH od 100 do 220 U/L, ukupni bilirubin od 0 do 18 mmol/l i protrombinski indeks (INR) od 0,9 do 1,3.

Rezultati ispitivanja su obrađeni standardnim statističkim metodama i testovima (14). Vrednosti numeričkih parametara su prikazani kao srednja vrednost i standardna devijacija (SD). Testiranje hipoteze je vršeno korišćenjem t-testa za parametarske podatke i ² testa za neparametarske podatke. Kod poređenja tri i više grupa korišćena je jednofaktorska

analiza varijanse (one-way ANOVA). Granična verovatnoća u svim statističkim izračunavanjima je ustanovljena na $p = <0.05$.

REZULTATI

Ukupno je analizirano 79 bolesnika (46 muškaraca i 33 žene), prosečne starosti od $46 \pm 16,10$ godina (rang, 15 do 83 godina). Od ksenobiotika koji su izazvali hepatotoksičnost najviše su zastupljeni lekovi, potom otrovi i hemijska sredstva iz okruženja kao i različita sredstva zloupotrebe (slika 1).



Slika 1. Udeo trovanja lekovima ($n=44$), otrovima i hemijskim sredstvima iz okruženja ($n=23$) i supstancama zavisnosti ($n=12$).

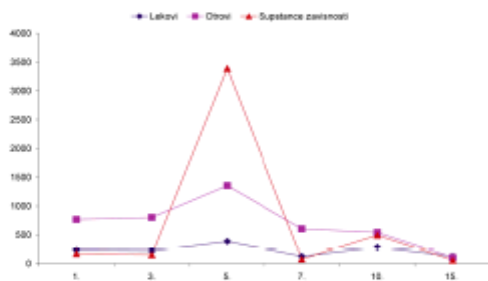
Lekovi koji su bili uzrok hepatotoksičnosti su bili: maprotilin (kod 8 bolesnika), bromazepam (4), hlorpromazin (4), karbamazepin (4), diazepam (3), diklofenak (2), klonazepam (2), klozapin (2), levopromazin (2), triheksifenidil (2), verapamil (2), fenobarbiton (1), gliklazid (1), haloperidol (1), ibuprofen (1), midazolam (1), paroksetin (1), salbutamol (1), tionidazin (1). Jedan bolesnik je bio akutno otrovan istovremeno sa tri leka, glibenklamid, maprotilin i karbamazepin. Prirodni i industrijski otrovi koji su bili uzrok hepatotoksičnosti su sledeći: koncentrovana sirćetna kiselina (kod 9 bolesnika), amanitin (3), ugljen monoksid (3), acetone (1), dimetoat (1), dinitroortokrezol (1), glifosfat (1), malatlon (1), olovo (1). Kod dva bolesnika je došlo do trovanja istovremeno sa dva otrova, dimetoatom i metiokarbom odnosno niki hlorid sulfatom i bornom kiselinom. Od supstanci koje izazivaju zavisnost registrovane su sledeće: heroin (kod 3 bolesnika), alkohol (2), ekstazi (2), heroin i alkohol (2), ekstazi i opijati (1), heroin i amfetamin (1) i heroin i kokain (1).

Biohemijski testovi kod trovanja lekovima

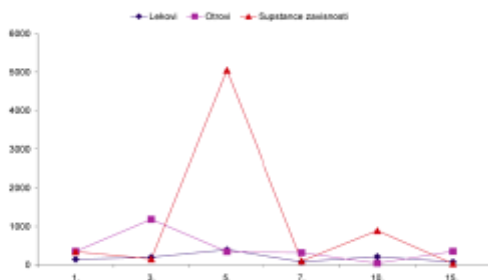
Aktivnost enzima AST u grupi bolesnika kod kojih se ispoljilo toksično oštećenje jetre u toku akutnih trovanja lekovima je povišena već prvog dana hospitalizacije i to nekoliko puta u odnosu na normalnu aktivnost, dostiže maksimum petog dana, a kasnije se približava normalnoj vrednosti ($F=0,39$

Dan	ALT	AST	gGT	Bilirubin	LDH	INR
RV	20-65	10-37	5-85	0-18	100-220	0,9-1,3
1.	230,9±530,3 (44)	144,1±187,1 (44)	28,0±14,3 (21)	33,3±60,0 (41)	465,1±258,0 (14)	1,25±0,43 (16)
3.	216,5±577,9 (26)	197,7±250,0 (26)	58,9±54,2 (10)	21,9±24,2 (18)	793,6±452,4 (11)	1,50±0,43 (4)
5.	386,2±1071,7 (31)	394,4±1324,6 (32)	86,5±36,5 (18)	50,7±88,2 (24)	1007,1±806,6 (12)	1,36±0,25 (11)
7.	126,4±108,9 (5)	79,4±35,2 (5)	47,7±36,8 (3)	16,3±1,5 (3)	861,8±270,4 (4)	1,23±0,11 (3)
10.	281,1±652,4 (19)	213,0±453,5 (20)	55,2±47,6 (13)	47,8±62,1 (16)	750,5±264,5 (6)	1,13±0,07 (9)
15.	127,6±212,7 (10)	75,5±43,5 (10)	49,8±49,1 (8)	35,0±57,8 (9)	1099,3±1317,1 (3)	1,36±0,51 (6)

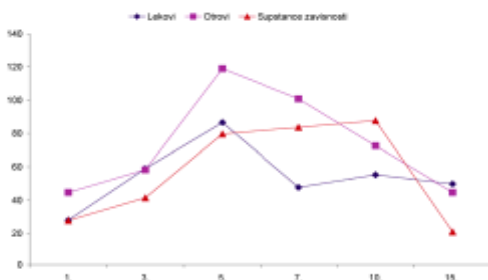
Tabela 1. Vrednosti biohemijskih parametara u toksičnom oštećenju jetre kod akutnih trovanja lekovima. Vrednosti predstavljaju srednju vrednost \pm standardnu devijaciju; RV-rang referentnih vrednosti; vrednosti aktivnosti enzima u U/L, vrednosti ukupnog bilirubina u mmol/L, INR-neimenovani broj; vrednosti u zagradama-broj bolesnika kod kojih je odredivan dati parametar



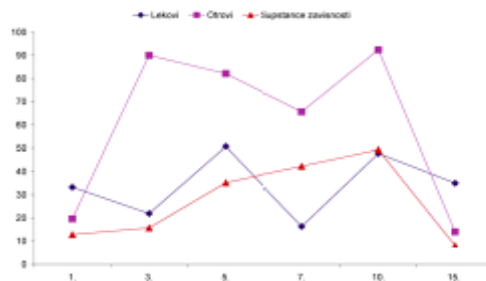
Slika 2. Srednje vrednosti ALT u U/L kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije.



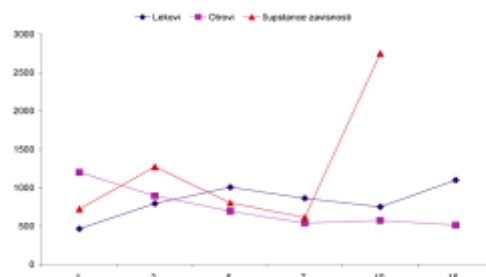
Slika 3. Srednje vrednosti AST u U/L kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije.



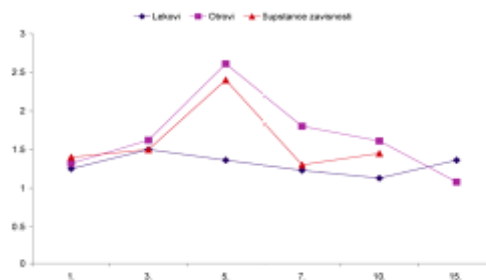
Slika 4. Srednje vrednosti γ GT u U/L kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije. Radi tehničke jasnoće, izostala vrednost u 7. danu kod trovanja supstancama zavisnosti je prikazana kao virtuelna veličina srednjih vrednosti prethodnog i potonjeg merenja.



Slika 5. Srednje vrednosti ukupnog bilirubina u mmol/L kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije. Radi tehničke jasnoće, izostala vrednost u 7. danu kod trovanja supstancama zavisnosti je prikazana kao virtuelna veličina srednjih vrednosti prethodnog i potonjeg merenja.



Slika 6. Srednje vrednosti LDH u U/L kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije. Vrednost u 15. danu kod trovanja supstancama zavisnosti nije određivana.



Slika 7. Srednje vrednosti INR kod akutnog trovanja lekovima, otrovima i supstancama zavisnosti, u 1., 3., 5., 7., 10. i 15. danu hospitalizacije. Vrednost u 15. danu kod trovanja supstancama zavisnosti nije određivana.

$p=0,88$) (tabela 1). Kod aktivnosti enzima AST kod bolesnika sa akutnim trovanjem lekovima zapaža se sličan trend kao i u slučaju enzima ALT, osim što je aktivnost enzima AST nešto niža za sve vreme praćenja ($F=0,63$ $p=0,71$). Kod aktivnosti enzima γ -GT kod bolesnika koji su lečeni zbog akutnog trovanja lekovima različitih grupa ispoljio se blagi porast aktivnosti sve vreme, sa postepenim početkom, nešto dužim platom i ne potpunim vraćanjem u granice normalnih vrednosti u posmatranom periodu ($F=0,76$ $p=0,61$). Aktivnost enzima LDH pokazuje umeren porast sve vreme posmatranja ($F=1,29$ $p=0,28$). Dinamika vrednosti ukupnog bilirubina u akutnim trovanjima lekovima je pokazala da je od prvog dana utvrđen povišen nivo ukupnog bilirubina, koji je dostizao je maksimum petog dana, sa tendencijom normalizacije ($F=0,68$ $p=0,67$). Vrednost protrombinskog vremena, izražavana kao PI, odnosno INR, nije odstupala od normalne vrednosti kod većine bolesnika koji su lečeni zbog akutnog trovanja lekovima ($F=1,45$ $p=0,23$). Odustvo statističke razlike u istovremenom poređenju vrednosti parametara u ispitivanim danima praćenja (1., 3., 5., 7., 15.), te njihov širok rang, ukazuje da se hepatotoksično oštećenje lekovima ne ispoljava po jasnom vremenskom progresivnom obrascu već radije prema nepravilnim fluktuacijama, iz dana u dan (slike 2-7).

Biohemijski testovi kod trovanja otrovima i hemijskim sredstvima iz okruženja

Aktivnost enzima ALT u akutnim trovanjima otrovima je prikazana u tabeli 2. Regstruje se lako povećana aktivnost koja je na početku, a od petog dana je ta aktivnost izrazita, sa dosta brzim padom i potpunom normalizacijom u toku 15 dana ($F=0,58$ $p=0,77$). Aktivnost AST je povećana od samog početka, maksimum postiže petog dana, a do petnaestog dana se normalizuje kod većine bolesnika ($F=1,09$ $p=0,38$). Aktivnost enzima γ GT počinje da raste od trećeg dana u trovanju sredstvima zlouporabe, dostiže maksimum petog dana, a postepeno se normalizuje do petnaestog dana hospitalizacije ($F=1,0$ $p=0,45$). Aktivnost enzima LDH u akutnim trovanjima sredstvima zlouporabe je bila u većine bolesnika povećana sve vreme praćenja ($F=0,77$ $p=0,61$). Vrednost ukupnog bilirubina u trovanju sredstvima zlouporabe su bile veće nego kod trovanja otrovima, ali tokom lečenja se registruju dva maksimuma, tako da je ovaj obrazac nepravilan ($F=1,10$ $p=0,39$). Vrednost PI (INR) u akutnim trovanjima sredstvima zlouporabe je svo vreme praćenja nešto iznad granice normale. Odustvo statističke razlike u istovremenom poređenju vrednosti parametara u ispitivanim danima praćenja, te njihov širok rang, ukazuje da se hepatotoksično oštećenje otrovima takođe ne ispoljava po jasnom vremenskom

Dan	ALT	AST	gGT	Bilirubin	LDH	INR
RV	20-65	10-37	5-85	0-18	100-220	0,9-1,3
1.	172,83±146,71 (12)	342,8±630,20 (12)	27,8±16,9 (4)	12,8±5,2 (8)	722,66±363,59 (3)	1,40±0,14 (2)
3.	152,37±85,29 (8)	152,4±131,10 (8)	41,5±3,5 (2)	15,7±7,2 (6)	1271,00±340,82 (3)	1,50 (1)
5.	3390,40±7219,30 (5)	5048,4±10960,99 (5)	79,7±36,1 (3)	35,2±35,8	803,00±117,38 (3)	2,40 (1)
7.	77,00 (1)	99,0 (1)	n.p. (0)	n.p. (0)	612,00 (1)	1,30 (1)
10.	494,00±777,67 (4)	889,5±1653,86 (4)	87,7±48,7 (3)	49,33±57,81 (3)	2749,33±4177,54 (3)	1,45±0,49 (2)
15.	60,00 (1)	30,0 (1)	21,0 (1)	8,0 (1)	n.p (0)	n.p. (0)

Tabela 2. Vrednosti biohemijskih parametara u toksičnom oštećenju jetre kod akutnih trovanja otrovima. vrednosti predstavljaju srednju vrednost standardnu devijaciju; RV-rang referentnih vrednosti; vrednosti aktivnosti enzima u U/L, vrednosti ukupnog bilirubina u mmol/L, INR-neimenovani broj; vrednosti u zagadama-broj bolesnika kod kojih je određivan dati parametar

progresivnom obrascu već radije prema nepravilnim dnevnim fluktuacijama (slike 2-7).

Biohemijski testovi kod trovanja supstancama zavisnosti

Vrednosti biohemijskih parametre jetre i INR kod akutnog trovanja supstancama zavisnosti su prikazana u tabeli 3. Slično kao i kod trovanja lekovima i otrovima, istovremeno poređenje vrednosti aktivnosti u ispitivanim danima enzima ALT ($F=1,02$ $p=0,43$), AST ($F=0,98$ $p=0,49$), γ GT ($F=2,32$ $p=0,15$) i LDH ($F=0,35$ $p=0,84$) kao i vrednosti ukupnog bilirubina ($F=1,55$ $p=0,23$) i INR ($F=2,13$ $p=0,35$) ukazuje da se njihove promene ne ispoljavaju po jasnom vremenskom progresivnom obrascu već radije prema dnevnim nepravilnim fluktuacijama (slike 2-7).

DISKUSIJA

U kliničkoj praksi, lekovi su najčešći uzrok toksičnog oštećenja jetre. To je bio slučaj i sa bolesnicima iz ove studije. Od lekova koji su bili uzrok akutnog trovanja, hepatotoksičnost su najčešće izazivali različiti psihofarmaci, a među slučajevima toksičnog oštećenja jetre kod primene terapijskih doza lekova, najčešći uzročnici toksičnog oštećenja jetre su

bili antineoplastični i antimikrobni lekovi i nesteroidna antiinflamatorna sredstva. Utvrđeno je da su lekovi uzročnici 15-20% svih slučajeva fulminantnog i subfulminantnog hepatitisa u Zapadnoevropskim zemljama (15, 16) i 10% od ukupnog broja slučajeva u Japanu (17). Hepatitis sa žuticom koji je uzrokovan lekovima ima mnogo veće šanse da poprimi fulminantni tok (20%) od virusnog hepatitisa sa žuticom (1%). Izgleda da su lekovi ređe uzročnici hroničnih bolesti jetre, jer se po podacima iz literature hronični hepatitis i ciroza registruju u manje od 1% od svih slučajeva (18, 19).

U najvećem broju slučajeva prekid ekspozicije dovodi do brzog povlačenja simptoma, a kompletan oporavak nastaje u toku 1-3 meseca. Ponekad, akutni hepatitis može da pređe u fulminantni oblik. Tok je tada veoma ozbiljan i završava se u oko 90% slučajeva smrtnim ishodom (15,17). U tom slučaju je neophodno uraditi hitnu transplantaciju jetre. Rizik od razvoja fulminantnog hepatitisa je veliki kada se nastavi sa primenom preparata ili ako se produži ekspozicija ksenobiotiku i posle pojave žutice (15). Tok toksičnog oštećenja jetre može da bude i podmukao, sa progresivnim razvojem hroničnog hepatitisa ili čak ciroze. Ovu vrstu hepatitisa mogu da izazovu organski rastvarači, neki teški metali, neki biljni preparati, sredstva zloupotrebe i neki ekscipijenti (20, 21).

Znaci direktne hepatotoksičnosti izazvane lekovima su se ispoljavali porastom aktivnosti transaminaza,

Dan	ALT	AST	gGT	Bilirubin	LDH	INR
RV	20-65	10-37	5-85	0-18	100-220	0,9-1,3
1.	767,8±1860,4 (23)	351,0±723,4 (7)	44,7±52,6 (12)	19,6±23,3 (20)	1200,2±1424,6 (13)	1,32±0,44 (13)
3.	801,4±1901,8 (7)	1182,4±1907,2 (15)	58,2±52,1 (10)	90,0±143,8 (5)	894,0±573,8 (5)	1,62±0,79 (5)
5.	1354,8±1974,7 (15)	342,6±528,8 (7)	119,0 (1)	82,1±103,7 (11)	694,0±453,1 (11)	2,61±2,09 (9)
7.	603,6±929,9 (7)	313,9±307,2 (8)	100,8±78,5 (4)	65,6±111,8 (7)	540,0±204,2 (7)	1,80±1,24 (6)
10.	540,6±670,6 (7)	43,1±26,6 (9)	72,6±42,4 (7)	92,4±157,4 (7)	573,4±293,4 (5)	1,61±0,93 (7)
15.	105,9±148,1 (9)	351,0±723,4 (7)	44,7±52,6 (12)	14,0±5,7 (6)	512,9±301,0 (7)	1,08±0,04 (5)

Tabela 3. Vrednosti biohemijskih parametara u toksičnom oštećenju jetre kod akutnih trovanja supstancama zavisnosti. vrednosti predstavljaju srednju vrednost standardnu devijaciju; RV-rang referentnih vrednosti; vrednosti aktivnosti enzima u U/L, vrednosti ukupnog bilirubina u mmol/L, INR-neimenovani broj; vrednosti u zagradama-broj bolesnika kod kojih je određivan dati parametar

delom i produženim INR-om, ali još i više povećanim vrednostima γ GT, LDH i bilirubina. Maksimalne vrednosti većine parametara su registrovane oko petog dana, a kasnije dolazi do postepene regresije. Na hepatocelularno oštećenje ukazuje porast aktivnosti ALT više puta preko gornje granice normalne vrednosti (22). U grupi bolesnika sa akutnim trovanjima lekovima nije bilo formi fulminantnog akutnog toksičnog hepatitisa. Jedno od mogućih objašnjenja je to što u našoj grupi bolesnika nije bilo akutnih trovanja paracetamolom, koja su česta u razvijenim zemljama. Na holestatsko oštećenje, posebno kod fenotiazina i nesteroidnih antiinflamatornih lekova, ukazuje jasan porast bilirubina i održanje visokih vrednosti. Uticaj lekova na metabolizam bilirubina se ispoljava na mnogim delovima njegovog metaboličkog puta, počev od mesta stvaranja, preuzimanja u hepatocitima, konjugacije pa do ekskrecije iz organizma. Poremećaj u transportnim sistemima jetre dovodi do smanjenja ekskrecije bilirubina i povećanog deponovanja žučnih soli u svim tkivima.

U grupi bolesnika koji su lečeni zbog akutnog trovanja otrovima, najčešće su od agenasa bili zastupljeni koncentrovana sirćetna kiselina, amanitin iz gljiva roda *Amanita phalloides* i organski rastvarači. U većini slučajeva se radilo o direktnom oštećenju jetre. Funkcionalno oštećenje se ispoljavalo porastom skoro svih parametara i to u mnogo većoj meri nego kod lekova. Kod jedne grupe bolesnika se radilo o oštećenju jetre sa znacima poremećene holestaze. Fulminantni toksični hepatitis izazivaju u akutnim trovanjima organski rastvarači koji se, na bilo koji način da uđu u organizam, nakon apsorpcije i ulaska u krv, vezuju za tkivo jetre u veoma visokom procentu (23), ali u našoj studiji nije bilo ovakvih slučajeva.

U akutnim trovanjima ili predoziranju supstancama zavisnosti, a u ovoj studiji najčešće se radilo o heroinu, nastaje oštećenje jetre kao posledica direktnog toksičnog delovanja na hepatocite. U bihumoralnom sindromu se registruje izrazito povišena aktivnost transaminaza, nešto manje izraženo povećanje aktivnosti enzima koji ukazuju na jako hepatocelularno oštećenje. U patogenezi nastajanja oštećenja jetre, pored direktnog delovanja ksenobiotika, jednim delom učestvuje i prolongirana hipoksija, kao posledica respiratorne insuficijencije, izazvane depresijom centra za disanje i opstrukcijom disajnih puteva. Navedeni poremećaji jetre su najizraženiji u toku prvih pet dana trovanja. U akutnom trovanju ili predoziranju kokainom, amfetaminom i njihovim analozima, česta su oštećenja jetre, koja su slična oštećenjima kao u slučaju trovanja acetaminofenom. Izrazito povećana enzimska aktivnost se ispoljava posle nekoliko sati, a znatno smanjenje te aktivnosti i normalizovanje ostalih funkcija jetre se dešava u toku nekoliko dana od trovanja (24).

Uzimajući u obzir vremenski tok promene parametara jetre, najkritičniji period trovanja su prvi

dani lečenja, od 3. do 7. dana, sa maksimumom za većinu parametara u 5. danu. Brži elevacija jetrih parametara je najčešće pokazatelj fudrojantnog toka i nepovljinog (fatalnog) ishoda (25). Ipak, holestazno oštećenje ima protrahovaniji tok, sa pojavom sekundarnog maksimuma oko 10. dana lečenja. U svim slučajevima, normalizacija biohemijskih parametara nastaje od 10. do 15. dana od prijema na bolničko lečenje, što je iskustvo i drugih autora (26). Kod akutnih trovanja, uz praćenje jetrih parametara bi trebalo analizirati i promene u drugim enzimskim sistemima koji se koriste za detekciju toksičnosti u ostalim organima, npr. kardijalnih enzima (troponin, kreatin kinaza MB izoezim). Međutim, u interpretaciji ovakvih analiza tokom reakcije akutne hepatotoksičnosti treba biti obazriv jer se nekada radi o lažno pozitivnim nalazima, a na šta ukazuje odsustvo kliničkih simptoma i znakova oštećenja drugog ciljnog organa (27).

Bliže poznavanje obrasca promene serumskih analita koji su povezani sa morfološkim i funkcionalnim statusom jetre bi moglo da doprinese boljem lečenju akutno otrovanih pacijenata. To bi pre svega pomoglo u diferencijaciji stanja i oboljenja koje često izazivaju poremećaje različitih parametara hepatograma kao što su lekovi koji se intenzivno metabolišu jetre npr. antiepileptici (28), patološki procesi samog hepatičkog parenhima (29) ali i bolesti drugih organa i tkiva koji se razmatraju u diferencijalnoj dijagnozi (30).

U zaključku, kod akutnih trovanja različiti lekovi, supstance zavisnosti i otrovi imaju selektivni uticaj na vrednosti pojedinih biohemijskih markera hepatičkog oštećenja, kao i na njihovu magnitudu i dinamiku tokom perioda lečenja. Bliže poznavanje obrasca promene serumskih analita koji su povezani sa morfološkim i funkcionalnim statusom jetre bi moglo da doprinese boljem lečenju akutno otrovanih pacijenata.

ZAHVALNOST

Autori se zahvaljuju upravi i osoblju Klinike za urgentnu i kliničku toksikologiju i farmakologiju Centra za kontrolu trovanja, Vojnomedicinske akademije u Beogradu, na svesrdnoj pomoći tokom sprovođenja studije.

LITERATURA

1. Lewis JH. Drug-induced liver disease. Gastroenterol Clin North Am 1995; 24: 739-1094.
2. Farrell GC. Drug-induced liver disease. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994.
3. Zimmerman HJ. Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. New York: Appleton-Century-Crofts, 1978.

4. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: Analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology* 1995; 22: 767-73.
5. Schiodt FV, Rochling FA, Casey DL, Lee WM. Acetaminophen toxicity in an urban county hospital. *N Engl J Med* 1997; 337: 1112-7.
6. Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med* 1993; 329: 1862-72.
7. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995; 333: 1118-27.
8. Larrey D, Pageaux GP. Hepatotoxicity of herbal remedies and mushrooms. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 183-8.
9. Luke DR, Rocci ML Jr, Schaible DH, Ferguson RK. Acute hepatotoxicity after excessively high doses of carbamazepine on two occasions. *Pharmacotherapy* 1986; 6: 108-11.
10. Silva MO, Roth D, Reddy KR, Fernandez JA, Albores-Saavedra J, Schiff ER. Hepatic dysfunction accompanying acute cocaine intoxication. *J Hepatol* 1991; 12: 312-5.
11. Tillmann HL, van Pelt FN, Martz W, Luecke T, Welp H, Dörries F, Veuskens A, Fischer M, Manns MP. Accidental intoxication with methylene dianiline p,p'-diaminodiphenylmethane: acute liver damage after presumed ecstasy consumption. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997; 35: 35-40.
12. Strahl S, Ehret V, Dahm HH, Maier KP. Necrotizing hepatitis after taking herbal remedies. *Dtsch Med Wochenschr* 1998; 123: 1410-4. [in German].
13. Berg P, Hahn EG. Hepatotoxic reactions induced by beta-lactamase inhibitors. *J Med Res* 2001; 6: 535-42.
14. Jevtović I, Dević R. Medicinska statistika: sa uvodom u multivarijacionu analizu. Beograd, Kraljevo: Autori i Komino-Trade, 1999.
15. Bernuau J, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure. In: Bircher J, Berhamou JP, McIntyre N, Rizzetto M, Rodes J, eds. *Oxford Textbook of clinical hepatology*. Vol 2. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999: 1341-72.
16. Presayre D, Larrey D, Biour M. Drug-induced liver injury. In: Bircher J, Berhamou JP, McIntyre N, Rizzetto M, Rodes J, eds. *Oxford Textbook of clinical hepatology*. Vol 2. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999: 1261-315.
17. Schiodt FV, Lee WM. Fulminant liver disease. *Clin Liver Dis* 2003; 7: 331-49.
18. Larrey D. Hépatites médicamenteuses: aspects épidémiologiques, cliniques, diagnostiques, et physiopathologiques en 1995. *Rev Med Int* 1995; 16: 752-8. [in French].
19. Jean-Pastor MJ, Jouglard J. Bilan des accidents hépatiques médicamenteux recueillis par la pharmacovigilance française. *Thérapie* 1984; 39: 493-500. [in French].
20. Larrey D. Hepatotoxicity of herbal medicine. *J Hepatol* 1997; 26 (Suppl 1): 47-51.
21. Negro F, Mondardini A, Palmas F. Hepatotoxicity of saccharin. *N Engl J Med* 1994; 331: 134-5.
22. Bagheri H, Michel F, Lapeyre-Mestre M. Detection and incidence of drug-induced liver injuries in hospital: a prospective analysis from laboratory signals. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 50: 479-84.
23. Wang PY, Kaneko T, Tsukada H, Nakano M, Nakajima T, Sato A. Time courses of hepatic injuries induced by chlorophorm and by carbon tetrachloride: comparison of biochemical and histopathological changes. *Arch Toxicol* 1997; 71: 638-45.
24. Wanless IR, Dore S, Gopidath N. Histopathology of cocaine hepatotoxicity: Report of four patients. *Gastroenterology* 1990; 98: 497-501.
25. Turgut M, Alhan CC, Gurgoze M, Kurt A, Dogan Y, Tekatli M, Akpolat N, Aygun AD. Carboxyatractyloside poisoning in humans. *Ann Trop Paediatr* 2005; 25: 125-34.
26. Daryani NE, Hosseini P, Bashashati M, Haidarali M, Sayyah A. Butachlor-induced acute toxic hepatitis. *Indian J Gastroenterol* 2007; 26: 135-6.
27. Unverir P, Soner BC, Dedeoglu E, Karcioğlu O, Boztok K, Tuncok Y. Renal and hepatic injury with elevated cardiac enzymes in *Amanita phalloides* poisoning: a case report. *Hum Exp Toxicol* 2007; 26: 757-61.
28. Milovanović JR, Janković SM. Naša iskustva u terapijskom monitoringu lekova. *Medicinski Časopis* 2006; 1-2: 19-23.
29. Mijailović Z, Gajović O, Nešić Lj, Čanović P. Savremena terapija HBeAg negativnog hronicnog hepatitisa B. *Medicinski Časopis* 2006; 1-2: 59-63.
30. Čanović P, Mijailović Ž, Gavrilović J, Gajović O. Epidemijaska pleurodinija - mogući imitator koronarne bolesti. *Medicinski Časopis* 2005; 1: 46-8.