CPFV

Corso di Perfezionamento in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2012-2013

LE ADR EPATICHE
Hepatic adverse drug reactions

Valentina Lucia Muciaccia

Keywords
Liver
DILI
Hepatoxic drugs

Abstract
INTRODUCTION: The drug-induced liver injury (DILI) is the most frequent cause of acute liver failure and liver transplantation in Western countries. The events range from a mild and asymptomatic increases in transaminases, which occur with a relatively high frequency and with a high number of drugs, up to fulminant liver failure. The purpose of this paper is to focus on the art's state of the knowledge of biological mechanisms, risk factors, and diagnostic elements of the hepatic adverse drugs reactions (ADR), through a systematic review of the literature.
MATERIALS AND METHODS: A systematic review of the literature was carried out using: the PubMed database.
RESULTS: The DILI are classified as intrinsic or idiosyncratic ADRs. The hepatic intrinsic ADRs occur with short latency and have a high incidence in people taking high doses of the drug; these ADRs are not associated with hypersensitivity events. Idiosyncratic ADRs, instead, occur only in a minority of susceptible individuals, they have variable latency and they are not related to the action's mechanism of the drug. The main mechanisms of DILI are: 1) the irreversible chemical modification of a protein that has an effect on its function; 2) formation of antigens; 3) irreversible chemical modification of DNA. Risk factors for DILI are childhood or advanced age, female sex, concomitant drug therapy, concomitant diseases, excessive alcohol consumption, malnutrition, underlying disease and genetic susceptibility. To establish a diagnosis of drug-induced liver injury is very difficult. Thus, after excluding other possible causes, it is important to identify a specific hepatic effect of one of the drugs taken by the patient. Some drugs that give hepatic ADRs are NSAIDs, troglitazone, acetaminophen, fluvastatin, isoniazid, flucloxacillin, ipilimumab, and pazopanib.
CONCLUSIONS: To accurately detect early signs of liver damage, we need clinical biomarkers that are able to distinguish the drug-induced hepatotoxicity from other forms of liver injury and can differentiate mild hepatic lesions from those clinically important.

Introduzione

Il danno epatico indotto da farmaci (DILI) è la causa più frequente di insufficienza epatica acuta (*acute liver failure,* ALF) e trapianto di fegato nei Paesi occidentali [1]. Le manifestazioni vanno da un lieve e asintomatico aumento delle transaminasi, che si verifica con una frequenza relativamente elevata e con un certo numero di farmaci, fino all'insufficienza epatica fulminante che, anche se rara, mette in pericolo di vita il paziente e può rendere necessario un trapianto di fegato.

Classificazione delle DILI

Le DILI sono classificate come reazioni avverse da farmaco (ADR) intrinseche oppure ADR idiosincrasiche.

Corrispondenza: Valentina Lucia Muciaccia
E-mail: valemuciaccia@yahoo.it

Le ADR epatiche di tipo intrinseco derivano da farmaci o da metaboliti che hanno indotto un danno diretto agli epatociti o ai colangiociti. Esse si verificano con breve latenza (entro pochi giorni dall'assunzione) ed hanno un'elevata incidenza nei soggetti che assumono dosi di farmaco elevate. Queste reazioni di solito non sono associate a manifestazioni di ipersensibilità, quindi la ripresa del trattamento non porta alla ricorrenza. Le DILI intrinseche sono solitamente rilevate nei test preclinici e comunque durante lo sviluppo dei farmaci; spesso esse inducono la cessazione anticipata degli studi, quindi comportano un limitato impatto clinico.
Le ADR idiosincrasiche, invece, si verificano solo in una minoranza di individui suscettibili, hanno latenza variabile e spesso prolungata (da diverse settimane fino ad un anno) e sono generalmente inaspettate, non correlate al meccanismo d'azione del farmaco. È un errore comune ritenere che le DILI idiosincrasiche non siano correlate alla dose di farmaco assunto: infatti, dati recenti suggeriscono che i farmaci soggetti ad esteso metabolismo epatico, se assunti in dosi giornaliere >50 mg, sembrano avere un maggiore rischio di indurre reazioni epatiche idiosincrasiche rispetto alle dosi più basse [2, 3]. La dipendenza delle DILI idiosincrasiche dalla sensibilità individuale ne rende difficile la rilevazione durante gli studi preclinici e clinici preregistrativi.
Il rischio di ALF associata a epatotossicità idiosincrasica è di solito inferiore a 1 per 10.000 pazienti esposti [4, 5], pertanto, nella maggior parte dei casi, il potenziale epatotossico di un farmaco può essere riconosciuto solo nella fase post-marketing. Difatti, le DILI idiosincrasiche gravi sono le cause isolate più frequenti che hanno portato al ritiro dal commercio, o all'imposizione di severe restrizioni d'uso, di farmaci già approvati. Più di 1000 farmaci e prodotti a base di erbe sono stati associati ad epatotossicità idiosincrasica e tra questi molti sono comunemente usati nella pratica clinica. Una determinata DILI può rientrare all'interno di uno spettro che va dalla chiara epatotossicità intrinseca a quella determinata dalla suscettibilità individuale [6].

Meccanismi di epatotossicità da farmaci

I principali meccanismi di epatotossicità indotta da farmaci sono:

1) *la modifica chimica irreversibile di una proteina che ha un profondo effetto sulla sua funzione*; difatti, la modifica selettiva della catena laterale di un amminoacido, ripetuta più volte nella struttura primaria di una singola proteina, induce un cambiamento del microambiente di quell'amminoacido nella struttura terziaria della proteina; tale variazione sembra essere la determinante cruciale, selettiva e vincolante che stabilisce quanto l'impatto del legame covalente influisca sulla funzione della proteina [7]. Poi, l'entità del legame ed il ruolo biochimico della proteina determinano, a loro volta, la tipologia e l'entità dell'insulto tossicologico indotto. Inoltre, le eventuali conseguenze patologiche saranno funzione sia dell'equilibrio tra il tasso di danneggiamento e il tasso di sostituzione delle proteine in oggetto, che della capacità di riparazione cellulare degli epatociti: se il danno indotto è superiore alla capacità sostitutiva e riparativa degli epatociti (e/o dei colangiociti) compaiono conseguenze patologiche clinicamente rilevanti.
2) *la formazione di antigeni derivanti dal legame tra il metabolita reattivo, che si comporta da aptene, e una proteina cellulare*; ciò comporta la formazione di autoanticorpi diretti contro quella proteina modificata e l'attivazione di una risposta immunitaria verso gli epatociti oppure verso i colangiociti.
3) *la modifica chimica irreversibile del DNA*, che da un lato può avere un profondo effetto sulla sua funzione, inducendo l'apoptosi cellulare negli epatociti che l'hanno subita, e dall'altro può determinare mutagenesi e cancerogenesi.

I predetti meccanismi molecolari sono alla base sia delle DILI intrinseche che di quelle idiosincrasiche; nel secondo caso però vi sono alcuni fattori individuali, in larga misura sconosciuti, che giocano un ruolo fondamentale non solo nel determinarne l'insorgenza, ma anche nel modularne l'intensità e l'entità.
I principali fattori di rischio per il danno epatico farmaco-indotto, sono: l'età infantile o avanzata, il sesso femminile, la terapia farmacologica concomitante, alcuni fattori ambientali quali il consumo eccessivo di alcol, che riduce le riserve di glutatione, o

la malnutrizione, la patologia di base, altri stati patologici concomitanti e, infine, la predisposizione genetica [8].

Anche se non sono ancora chiare tutte le cause che inducono le DILI idiosincrasiche umane, ce ne sono diverse note e, comunque, sono state proposte alcune ipotesi per cercare di spiegarle:

1) Un fattore di suscettibilità che spiega l'insorgenza delle DILI idiosincrasiche è l'attivazione metabolica che, nei soggetti polimorfi per un particolare citocromo, in cui le varianti alleliche comportano un'aumentata attività dell'enzima, porta alla formazione di una quantità di metaboliti tossici tale da indurre un danno epatico clinicamente rilevante.
2) Poche informazioni esistono sul ruolo dei trasportatori dei farmaci, siti sul lato basolaterale della membrana plasmatica delle cellule epatiche, nello sviluppo della colestasi farmaco-indotta; tuttavia è stato ipotizzato che un'aumentata espressione del trasportatore dei peptidi organici anionici e di altre proteine di trasporto, sempre deputate all'assorbimento dei farmaci all'interno dell'epatocita, potrebbe aumentare le concentrazioni di alcuni farmaci nelle cellule epatiche, predisponendo così il soggetto a reazioni di tipo colestatico.
3) C'è una crescente evidenza che i farmaci eliminati dal fegato nella bile sono quelli maggiormente candidati a indurre epatopatia colestatica nei pazienti suscettibili. La tappa limitante nella clearance sistemica dei farmaci lipofili, e dei loro metaboliti, è l'escrezione nella bile [33]. Questo processo è regolato da trasportatori canalicolari ATP-dipendenti, tra cui la pompa di estrusione nella bile dei sali biliari BSEP (codificata dal gene ABCB11), la proteina MRP2 (codificata dal gene ABCC2) che regola l'efflusso nella bile degli anioni organici coniugati e contribuisce al flusso dei sali biliari tramite il trasporto del glutatione [9], la proteina MDR1 (codificata dal gene ABCB1) che trasporta i cationi organici, la proteina BCRP (codificata dal gene ABCG2) che trasporta gli anioni organici e infine la proteina MDR3 (codificata dal gene ABCB4), un trasportatore dei fosfolipidi che regola il passaggio della fosfatidilcolina sulla superficie esterna canalicolare e nella bile. Studi condotti sui roditori, in merito ai meccanismi specifici che determinano la colestasi farmaco-indotta, indicano che alcuni farmaci possono inibire la secrezione della bile e il trasporto degli acidi biliari a diversi livelli. Ad esempio, rifampicina, ciclosporina A, rifamicina SV, bosentan, troglitazone, eritromicina e glibenclamide hanno tutti dimostrato di inibire BSEP nei ratti in maniera dose-dipendente [10]. La ciclosporina, un substrato di MDR1, è un farmaco che può causare danno epatico colestatico attraverso diversi meccanismi: a) inibizione competitiva dei trasportatori ATP-dipendenti [11-13]; b) inibizione del trasporto delle vescicole, contenenti i trasportatori, dal citosol alla membrana canalicolare degli epatociti [14-16]; c) compromissione della secrezione biliare attraverso l'aumento della fluidità di membrana a livello canalicolare [17]; d) riduzione dell'espressione di enzimi deputati alla sintesi del glutatione e di MRP2 (questo effetto è maggiore quando il farmaco viene somministrato in concomitanza con la rapamicina [18]). Pertanto, ci si potrebbe aspettare un deterioramento, a lungo termine, dei meccanismi di secrezione epatobiliare nei pazienti che assumono ciclosporina per lunghi periodi. Un'espressione alterata di MDR3 può portare allo sviluppo di colestasi colangiolitica e alle VBDS ("sindromi da scomparsa dei dotti biliari intraepatici", una patologia in cui vi è la perdita dei dotti biliari interlobulari in più del 50% degli spazi portali): infatti, l'incapacità di traslocare la fosfatidilcolina attraverso la membrana canalicolare si pensa possa causare danno all'epitelio dei dotti biliari, poichè la sua assenza nel doppio strato lipidico, a livello luminale, può indurre colangiopatia a seguito dell'esposizione dei colangiociti agli effetti tossici ed emulsionanti degli acidi biliari [19]. Uno studio effettuato su 110 tessuti epatici sani ha dimostrato una notevole variazione nell'espressione di queste proteine e si è visto che il 32% di essi esprimono bassi livelli di almeno una delle proteine di trasporto canalicolare; tale condizione potrebbe predisporre gli individui al danno colestatico [20]. Diversi polimorfismi comuni per i trasportatori canalicolari ABC sono stati osservati in individui sani grazie allo screening genetico sistematico, realizzato sulla regio-

ne codificante e sul promotore dei geni che li codificano [21-23]. Polimorfismi quali C1515Y in MRP2, V444A in BSEP e C3435T in MDR1 sono stati associati ad una ridotta espressione epatica di queste proteine [20, 24]. In un altro studio è stata osservata una notevole variabilità interindividuale nell'espressione delle proteine di trasporto ABC sulla membrana canalicolare, con il 15% -20% degli individui caratterizzati da un'espressione bassa o molto bassa di almeno una di queste proteine [20]. Due differenti polimorfismi a singolo nucleotide in BSEP, rispettivamente a livello dell'esone 13 e dell'esone 17 (p.V444A e p.M677V), sono stati osservati con frequenze superiori a 0,5% nelle diverse coorti di uno studio [20]. In un altro studio, gli individui con la variante p.V444A hanno dimostrato avere livelli di espressione di BSEP inferiori [25]; questa variante è ora considerata un fattore di rischio per la colestasi da farmaci perché si riscontra più frequentemente nei pazienti che vi incorrono rispetto ai controlli [25], così come nelle pazienti che presentano colestasi intraepatica durante la gravidanza [26, 27]. Nello stesso studio svizzero, dal sequenziamento a tutta lunghezza del gene codificante per BSEP e MDR3 è emersa una mutazione eterozigote (p.D676Y) in BSEP in un paziente in trattamento con fluvastatina, e un'altra mutazione eterozigote (p.I764L) in MDR3 in un paziente in trattamento con risperidone, che avevano un danno epatico colestatico [25]; se queste mutazioni siano collegate alla colestasi rimane incerto. Un recente studio sulla colestasi indotta dai contraccettivi ha rivelato un'associazione tra la predetta ADR e il polimorfismo p.V444A di BSEP, considerando tale variazione allelica come un fattore di suscettibilità [28].

4) È stato osservato che le varianti alleliche del recettore nucleare PXR, rs3814055 e C-25385T, sono più comuni nei pazienti che hanno sviluppato colestasi da flucloxacillina; inoltre, esperimenti genici hanno dimostrato che tali varianti alleliche hanno un'attività del promotore inferiore rispetto agli alleli non polimorfi [29].
5) Un'ulteriore causa di DILI idiosincrasica proposta è la correlazione tra l'assunzione del farmaco e un contestuale episodio infiammatorio anche modesto, ad esempio dovuto ad un'infezione virale o batterica concomitante; lo stato infiammatorio associato all'assunzione di un farmaco può far scatenare una DILI idiosincrasica [30, 31] in quanto l'esposizione ad un fattore di stress cellulare, quale l'infiammazione, può provocare uno spostamento della curva "dose-tossicità" (relativa alla tossicità epatica) a sinistra e quindi può determinare una reazione epatotossica alle dosi terapeutiche. Inoltre le citochine proinfiammatorie sono anche potenti inibitori dell'espressione dei citocromi e dei trasportatori biliari [32, 33]; una elevata concentrazione nel fegato di dette molecole, pertanto, è un evento secondario che abbassa la soglia di tossicità epatica [34].
6) In alcuni casi una ADR epatica idiosincrasica può determinarsi a causa di alterazioni di proteine endogene degli epatociti (o dei colangiociti) che favoriscono il legame covalente, o altre interazioni non covalenti, con farmaci e metaboliti reattivi, oppure che, a seguito di alterazioni strutturali dovute alla formazione di tali legami, le rendono più suscettibili alla perdita di funzione.

In conclusione, l'evidenza suggerisce che un danno epatico lieve e banale sia frequentemente associato a molte terapie farmacologiche, ma, nella maggior parte delle persone, il fegato si adatta all'insulto in maniera tale da non determinare alcuna lesione clinicamente significativa. Solo pochi individui suscettibili, il cui fegato non riesce ad adattarsi al danno cellulare, per differenti ragioni, sviluppano DILI idiosincrasiche gravi.

Diagnosi di epatotossicità da farmaci

Stabilire una diagnosi definitiva di danno epatico indotto da farmaci rimane, ad oggi, quasi impossibile nella maggior parte dei casi. Anche l'analisi istologica consente solo il riconoscimento del tipo e del grado di lesione, ma non indica che la lesione è correlata all'assunzione di un farmaco specifico [8]. L'unico mezzo per diagnosticare un danno epatico farmaco-indotto è la presenza di autoanticorpi specifici associati a reazioni di ipersensibilità a determinati farmaci; tuttavia nonostante i test di rilevamento di questi anticorpi possano avere un valore diagnostico, attualmente

il loro uso è limitato ai laboratori di ricerca. Va precisato che la presenza di detti autoanticorpi, in pazienti esposti ad alcuni farmaci, non sempre è associata ad un concomitante danno epatico.

Allo stato attuale, la diagnosi di danno epatico indotto da un farmaco si basa su prove indiziarie. Prima di tutto si effettua una rigorosa esclusione di altre eziologie possibili del danno in oggetto, quali: epatiti virali, malattie autoimmuni, epatiti alcoliche, colestasi indotta da sepsi, malattie metaboliche o emodinamiche oppure biliari; si verifica che il danno non sia indotto da formule di nutrizione parenterale troppo ricche di carboidrati o che presentano uno squilibrio nel rapporto tra acidi grassi omega 6 ed omega 3, nel primo caso, infatti, vi potrebbe essere una steatoepatite da eccesso di zuccheri e nel secondo una colestasi; infine ci si accerta che le alterazioni della funzionalità epatica non siano dovute a cause extra-epatiche quali: infarto del miocardio, insufficienza cardiaca congestizia, etc.

I segnali di DILI basati su anomalie dei test epatici standart potrebbero essere condizionati da malattie di base come epatite B e C, HIV e cancro, nonché dall'uso concomitante di farmaci epatotossici per trattare alcune di queste condizioni. Pertanto, in queste popolazioni speciali è giustificato un approccio diverso per la valutazione delle DILI ed è proposto un quadro di riferimento che tiene conto della malattia di base [35].

Quindi, escluse altre cause possibili, si cerca di individuare una firma clinica specifica di uno dei farmaci assunti dal paziente. La ricerca della firma clinica specifica di un farmaco può essere realizzata con modalità differenti:

a) Modello dei test di funzionalità epatica alterata

Sulla base dei valori ematici dell'alanina aminotransferasi (ALT) e della fosfatasi alcalina (AP), il danno epatico farmaco-indotto può essere epatite, colestasi oppure una condizione clinica in cui vi sono sia l'epatite che la colestasi. Tale schema di classificazione è stato realizzato dal CIOMS (*Council for International Organizations of Medical Sciences*) [36] ed è stato recentemente modificato dal Comitato di gestione delle epatotossicità farmaco-indotte della FDA [37]:

- se: ALT $\geq 3 \times$ ULN (valore soglia massimo) e (ALT/ULN) /(AP/ULN) ≥ 5, la condizione clinica conseguente al danno epatico sarà l'epatite;
- se: AP $\geq 2 \times$ ULN e (ALT/ULN) / (AP/ULN) ≤ 2, la condizione clinica conseguente al danno epatico sarà la colestasi;
- se: ALT $\geq 3 \times$ ULN e AP $\geq 2 \times$ ULN, con (ALT/ULN) / (AP/ULN) compreso tra 2 e 5, la condizione clinica conseguente al danno epatico è un mix tra epatite e colestasi.

A volte, le alterazioni asintomatiche dei test epatici si risolvono nonostante si continui ad assumere il farmaco; questo fenomeno è definito come adattamento. Sembra che il sottogruppo di soggetti in cui si manifesta una malattia epatica conclamata potrebbe non avere un adeguata capacità di adattamento [8]. Allo stato attuale, non si conoscono i meccanismi biologici alla base di tale fenomeno. Il grado dell'aumento dell'ALT di solito non riflette la gravità della malattia; in realtà, l'evidenza istologica delle lesioni è spesso più grave di quanto emerge dai segni clinici o dagli esami di laboratorio. L'epatite è più comunemente associata all'insufficienza epatica acuta. Quest'ultima è caratterizzata dalla presenza combinata di un prolungato tempo di protrombina (INR $\geq 1{,}5$) e di alterazioni mentali, a differenti gradi di severità. La contestuale presenza di coagulopatia ed encefalopatia, che occorre generalmente in un tempo inferiore a 26 settimane dall'esordio della malattia, in assenza di cirrosi preesistente, fa presagire un'infausta prognosi se non si procede al trapianto di fegato [38]. Un indice predittivo di mortalità, nel contesto di un'insufficienza epatica acuta da farmaci, è la presenza di ittero. Un'epatite farmaco-indotta accompagnata da un livello di bilirubina $>3 \times$ ULN, in assenza di ostruzione biliare e sindrome di Gilbert, è associata ad una mortalità di circa il 10% (con un range del 5-50%) [39].

I sintomi della colestasi acuta possono verificarsi anche settimane o mesi dopo l'inizio del trattamento, ma generalmente essa scompare rapidamente con la sospensione dell'agente terapeutico che l'ha determinata. Anche la colestasi cronica indotta da farmaci spesso si risolve in seguito alla sospensione del farmaco, ma in alcuni casi, se vi è una perdita significativa di dotti biliari interlobulari, può portare

a malattie croniche del fegato che possono progredire fino all'insufficienza epatica [40]. Inoltre per effettuare una corretta diagnosi di ostruzione biliare da farmaci, è necessario escludere la presenza di lesioni all'arteria epatica o ischemia all'epitelio dei dotti biliari, che causano danni simili. In presenza di lesioni colestatiche, le alterazioni dei test epatici tendono a risolversi nel corso di diversi mesi perché la rigenerazione dei colangiociti è più lenta rispetto a quella degli epatociti. Vi sono dei medicinali che, pur in assenza di epatotossicità, inducono iperbilirubinemia indiretta: rifampicina, probenecid e ribavirina riducono la captazione epatica della bilirubina, inducendo in tal modo un aumento della frazione di bilirubina non coniugata [41], mentre gli inibitori della proteasi, quale l'indinavir, inibiscono la coniugazione della bilirubina e possono, pertanto, causare anch'essi iperbilirubinemia indiretta, specialmente nei pazienti eterozigoti o omozigoti per il difetto genetico responsabile della sindrome di Gilbert [42].

b) *Valutazione della durata della latenza dell'epatotossicità fino alla manifestazione dei sintomi*
La latenza prolungata, tipica delle reazioni idiosincrasiche, può durare 1-8 settimane nella maggior parte delle reazioni immunomediate, o essere di più lunga durata (fino ad 1 anno) nelle reazioni non immunomediate e, selettivamente, in poche reazioni immuno-mediate, quali quelle indotte da nitrofurantoina [8]. Pertanto, quando si sospetta che vi sia una ADR epatica non è sufficiente considerare solo l'attuale regime terapeutico del paziente, bensì anche le terapie precedentemente assunte. I farmaci che provocano reazioni immuno-mediate, come sulfamidici, eritromicina e amoxicillina/acido clavulanico, possono causare un danno epatico 3-4 settimane dopo la cessazione della terapia.

c) *Valutazione della presenza o delll'assenza di reazioni d'ipersensibilità immuno-mediate*
Una reazione avversa immuno-mediata è caratterizzata dalla presenza di febbre, rush cutaneo, eosinofilia e positività a specifici autoanticorpi, tuttavia tali sintomi non sempre sono tutti manifesti in maniera contestuale. Un'ulteriore caratteristica delle reazioni immuno-mediate è la comparsa di una più rapida e grave sintomatologia quando il farmaco viene reintrodotto dopo un periodo di interruzione temporanea del trattamento [43]. Di contro, le reazioni non immuno-mediate sono caratterizzate dall'assenza dei segni suddetti. Sebbene il riconoscimento delle caratteristiche di ipersensibilità è clinicamente utile nella identificazione del farmaco responsabile, l'assenza di queste caratteristiche non fa necessariamente escludere un meccanismo allergico come causa di tossicità.

d) *Verifica della risposta del paziente alla sospensione del farmaco.*
Dopo il dechallenge, possono verificarsi ci sono tre importanti situazioni, alternative alla rapida risoluzione del danno:
1) dopo la sospensione del farmaco, il danno epatico può peggiorare per settimane prima di osservare dei miglioramenti,
2) la risoluzione del danno dopo il dechallenge potrebbe essere ritardata fino ad 1 anno, più frequentemente nel caso di reazioni di colestasi;
3) la riduzione dei livelli ematici delle transaminasi può essere indice di insufficienza epatica piuttosto che di risoluzione delle lesioni; in quest'ultimo caso, infatti, la riduzione di AST e ALT riflettono una situazione di riserva epatica limitata conseguente a una massiccia necrosi epatocellulare [8].

Modelli per la valutazione del nesso di causalità farmaco-DILI

Uno strumento per la valutazione formale del nesso di causalità tra danno epatico e farmaco è stato concepito nel 1990 da otto rinomati epatologi europei e statunitensi su iniziativa del CIOMS. Tale metodo di valutazione di causalità, detto RUCAM, è un sistema che attribuisce un punteggio in funzione di alcuni criteri, ed è predittivo del rischio di danno epatico indotto da farmaci [44]. Il sistema è composto da sette criteri ponderati tabulati (**Tabella 1**).

Il sistema RUCAM è stato convalidato utilizzando casi di epatite indotte da farmaci, positivi al rechallenge [45], e sembra essere superiore ad altri sistemi di valutazione della causalità [46].

Tabella 1 Scala RUCAM

Tipo di danno epatico	**Epatocellulare**		**Colestasi o danno misto**		**Punti**
Tempo di insorgenza di danno epatico	Prima esposizione	Seconda esposizione	Prima esposizione	Seconda esposizione	—
Tempo dall'assonzione del farmaco all'insorgenza della reazione	5-90 giorni	1-15 giorni	5-90 giorni	1-90 giorni	+2
	<5 o >90 giorni	>15 giorni	<5 o >90 giorni	>90 giorni	+1
Tempo dalla sospensione del farmaco all'insorgenza della reazione	≤15 giorni	≤15 giorni	≤30 giorni	≤30 giorni	+1
Fattori di rischio	Alcool		Alcool o gravidanza		+1
	Età ≥ 55 anni		Età ≥ 55 anni		+1
Andamento della reazione	Miglioramento >50% in 8 giorni		—		+3
	Miglioramento >50% in 30 giorni		Miglioramento >50% in 180 giorni		+2
	—		Miglioramento <50% in 180 giorni		+1
	Assenza di informazioni o nessun miglioramento		Assenza di informazioni o nessun miglioramento		+0
	Peggioramento o miglioramento <50% in 30 giorni		—		-1

- Terapie concomitanti:
  - Tempo di insorgenza incompatibile: +0
  - Tempo di insorgenza compatibile ma reazione sconosciuta: -1
  - Tempo di insorgenza compatibile e reazione nota: -2
  - Ruolo dimostrato nel caso: -3
  - Nessuna o informazione non disponibile: +0
- Cause diverse dal farmaco:
  - Escluse: +2
  - Da "Possibili" a "non indagate": da -2 a +1
  - Probabile: -3
- Informazioni precedenti sull'epatotossicità:
  - Reazioni sconosciuta: +0
  - Reazione presente il letteratura ma non riportata tra le caratteristiche del prodotto: +1
  - Reazione riportata tra le caratteristiche del prodotto: +2
- Risposta a rechallenge:
  - Positiva: +3
  - Compatibile: +1
  - Negativa: -2
  - Non disponibile o non interpretabile: +0
  - concentrazioni plasmatiche del farmaco epatotossico: +3
  - test di laboratorio ad alta specificità, sensibilità e predittività:
    - Positivo: +3
    - Negativo: -3
    - Non disponibile o non interpretabile: +0

Punteggio (somma): relazione col farmaco

- ≤0: esclusa
- 1-2: improbabile
- 3-5: possibile
- 6-8: probabile
- ≥8: altamente probabile

Farmaci epatotossici

FANS

I farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), inibitori delle cicloossigenasi, sono fortemente associati con l'epatotossicità. Diversi FANS sono stati ritirati dal commercio, o comunque hanno subito restrizioni d'uso considerevoli, proprio a seguito di gravi episodi di epatotossicità (es. bromfenac e nimesulide). Interessante è lo studio condotto da due centri di farmacovigilanza e farmacoepidemiologia [47], uno francese in collaborazione con l'università di Tolosa e l'altro spagnolo in collaborazione con l'università di Valladolid, con il quale sono state messe a confronto le percentuali di reazione avverse epatiche associate ai FANS in Francia e in Spagna. A tal fine sono stati utilizzati i dati raccolti nei database di farmacovigilanza spagnolo e francese dal 1982 al 2001; inoltre per valutare il rischio di danno epatico è stata applicata la metodologia "caso/non-caso", dove per 'casi' si intendono le ADR in cui vi sono danni epatici, mentre per 'non casi' o controlli, si intendono tutte le altre segnalazioni. Per esposizione si è considerata l'assunzione di almeno un FANS, mentre il rischio di

danno epatico è stato stimato, per ciascun farmaco presente nelle due banche dati, attraverso il calcolo dell'indice ROR (sia nei casi che nei non-casi).
Nel database spagnolo le segnalazioni di lesioni epatiche erano 2114 su un totale di 62.456, quindi il 3,38%, mentre risultavano pari a 27.372 su un totale di 200.046 le medesime segnalazioni nel database francese, quindi il 13,68%. Nonostante non vi fosse, nei database predetti, associazione tra danno epatico ed esposizione ad almeno un FANS, i ricercatori dello studio in oggetto hanno riscontrato una significativa associazione tra le lesioni al fegato e l'esposizione a droxicam, sulindac e nimesulide nella banca dati spagnola; inoltre hanno calcolato che il rischio era di poco superiore a 1 anche per diclofenac. In Francia, invece, il rischio era molto alto con clometacina e sulindac ed era di poco superiore a 1 per naprossene, diclofenac, piroxicam e tenoxicam. Tale rischio era più basso con altri farmaci quali: ibuprofene, ketoprofene, coxib e acido tiaprofenico. Il valore del ROR per l'aspirina era pari a 1,24 (IC 95% 1,00-1,54) in Spagna e a 0,50 (0,39-0,64) in Francia. Per quanto riguarda il paracetamolo, il valore di ROR era pari a 1,32 (1,07-1,62), in Spagna e a 2,32 (2,23-2,42) in Francia. Le differenze tra i due Paesi possono essere spiegate alla luce di alcune evidenze: 1) il differente tasso di segnalazione spontanea, sia in linea generale che in riferimento ad alcuni farmaci (in un contesto generale in cui la Francia ha un tasso di segnalazione di ADR decisamente superiore alla Spagna, la Spagna tuttavia ha un tasso di segnalazione di ADR associate a nimesulide superiore alla Francia: 56,3 vs 6,1 per milione di pazienti trattati [48,49]); 2) le differenze di suscettibilità individuale legate sia a fattori genetici che ambientali; 3) le differenti indicazioni d'uso dei FANS nei due Paesi: ad esempio, mentre alla fine degli anni '90 la nimesulide in Francia era indicata solo per l'osteoartrite, in Spagna l'indicazione era estesa anche al trattamento della febbre e della dismenorrea; 4) le differenti modalità di dispensazione dei vari FANS nei due Paesi.
Vi sono due ulteriori studi prospettici recenti che si proponevano di valutare il tasso d'incidenza delle lesioni epatiche indotte da farmaci nella popolazione, condotti rispettivamente in Catalogna (Spagna) e in Borgogna (Francia) [50, 51]: in Spagna, l'incidenza annuale era di 7,4 per milione di abitanti e i FANS erano i farmaci più frequentemente coinvolti (36% dei casi); in Francia, l'incidenza annuale era di 13,9 per 100.000 abitanti, cioè oltre 17 volte superiore a quello della Spagna, ma i FANS rappresentavano solo il 11,7% dei casi.
Il meccanismo che determina le lesioni epatiche sembra essere complesso e multifattoriale. La stessa inibizione degli enzimi COX (con cui tali farmaci esplicano la loro attività terapeutica) può essere coinvolta, poiché comporta una riduzione della produzione di prostaglandine citoprotettive; tuttavia la causa più probabile è la bioattivazione di metaboliti reattivi, la quale può avvenire sia tramite reazioni di ossidazione che attraverso reazioni di coniugazione [7].

Paracetamolo

La tossicità epatica del paracetamolo è essenzialmente dipendente dalla dose assunta: alle dosi terapeutiche il farmaco viene metabolizzato prevalentemente tramite glucuronazione e solfatazione, cui consegue la formazione di metaboliti inattivi rapidamente escreti con le urine. Tuttavia, una parte di farmaco subisce bioattivazione per ossidazione catalizzata dai CYP2E1, CYP1A2, e CYP3A4, con la conseguente formazione di un N-acetil-para-benzochinoneimmina (NAPQI) [52,53]. Il NAPQI è un elettrofilo reattivo che però viene rapidamente inattivato mediante una reazione spontanea con il glutatione epatico. Se si assume una dose tossica di paracetamolo (superiore ai 4 g/die), le riserve di glutatione endogeno non sono sufficienti ad inattivare tutto il metabolita reattivo prodotto, pertanto le molecole non disattivate tendono a formare addotti covalenti con i residui di lisina e cisteina delle proteine epatiche intossicando gli epatociti. Il trattamento standard per l'intossicazione da paracetamolo è la somministrazione di N-acetilcisteina, che sostituisce il glutatione epatico e disattiva il metabolita tossico; l'N-acetilcisteina è efficace se somministrata entro 16 ore dall'assunzione dell'overdose di paracetamolo.
Le lesioni epatiche sono sostenute in larga misura anche dall'attivazione delle cellule non parenchimatiche, cellule di Kupffer e cellule endoteliali, quindi viene indotto

anche un processo di necrosi massiva, accanto all'apoptosi. Inoltre l'ossido nitrico ha un duplice ruolo nelle ADR epatiche da paracetamolo. L'ossido nitrico indotto (iNOS) contribuisce alle lesioni del parenchima cellulare e determina disturbi microvascolari, mentre l'ossido di azoto costitutivo (cNOS) esercita un ruolo protettivo sulla microcircolazione del fegato e riduce in tal modo il danno epatico. In tale contesto, è interessante notare che la deplezione di glutatione può portare alla ridotta produzione di ossido nitrico costitutivo e di conseguenza indurre ipertensione [54].

Troglitazone

Questa molecola appartiene alla classe dei tiazolidinedioni (TZD), farmaci ampiamente utilizzati come ipoglicemizzanti nei pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2. Essi sono agonisti dei recettori nucleari per la proliferazione dei perossisomi (PPARγ), la cui attivazione regola la trascrizione di geni codificanti per proteine coinvolte nel metabolismo glucidico e lipidico. Il troglitazone è il primo agente terapeutico di questa classe; esso è stato ritirato dal commercio nel 2000, meno di tre anni dopo la sua commercializzazione, a causa della grave tossicità epatica ad esso associata e quando si sono rese disponibili molecole della stessa classe con efficacia simile e senza epatotossicità rilevante. In seguito è nettamente aumentato l'uso degli altri due TZD: il rosiglitazone e il pioglitazone. Questi due farmaci sembrano presentare, infatti, un minor rischio di epatotossicità rispetto al troglitazone; in particolare vi è uno studio [55] nel quale si è investigato il profilo delle reazioni avverse correlate ai TZD, segnalate al sistema di farmacovigilanza francese, da cui è emerso che il rischio di ADR epatica associato a questa classe di farmaci sembra essere simile al rischio associato altri agenti ipoglicemizzanti.
Il meccanismo di lesione epatica indotta dal troglitazone non è del tutto noto. Nei ratti il farmaco subisce bioattivazione ossidativa, formando vari metaboliti reattivi che vengono poi eliminati come tioetere e tioestere per coniugazione con il glutatione [56, 57]. Il troglitazone viene bioattivato anche negli epatociti umani dando luogo agli stessi metaboliti citotossici [58]. Un'associazione tra l'assunzione di troglitazone e l'epatotossicità, nei pazienti diabetici con doppio genotipo nullo del gene codificante per l'enzima glutatione S-transferasi, fornisce la prova indiretta di quanto l'equilibrio tra la bioattivazione e la bioinattivazione del farmaco (operata dal glutatione) giochi un ruolo importante nella patogenesi di detta ADR [59]. Tuttavia gli altri glitazoni, pur meno epatotossici e citotossici, formano comunque un legame covalente con le proteine dei microsomi epatici umani al pari del troglitazone [60]. Allo stato attuale, la rilevanza tossicologica dell'attivazione metabolica del troglitazone rimane una questione aperta. Infine, è importante notare che la eterogeneità dei quadri clinici dell'epatotossicità associata al troglitazone ha suggerito che questa potrebbe derivare da un certo bilancio di differenti meccanismi di tossicità, nonché da caratteristiche individuali dei pazienti [61]. Difatti tale farmaco e il suo principale metabolita (troglitazone solfato) sono eliminati nella bile e inibiscono in maniera competitiva la pompa canalicolare BSEP [10, 62]. Inoltre il troglitazone solfato e il troglitazone glucuronide (un altro importante metabolita) sono eliminati nella bile tramite il trasportatore canalicolare ATP-dipendente MRP2, una competizione tra detti metaboliti e la bilirubina coniugata a livello di MRP2 potrebbe causare iperbilirubinemia coniugata ed essere un importante fattore nella patogenesi della colestasi indotta dal troglitazone [63]. Infine il troglitazone è anche in grado di produrre tossicità mitocondriale agli epatociti a causa dell'aumentata produzione di specie reattive [64].

Fluvastatina

Le statine sono farmaci ben tollerati, ma i principali effetti avversi includono danni al fegato e ai muscoli. Sono stati osservati valori elevati dei livelli degli enzimi epatici (superiori più di tre volte il valore massimo di riferimento) durante gli studi clinici nello 0,1-3% dei pazienti e tale effetto si è visto essere dose-correlato [65-68]. In particolare sono stati osservati lievi aumenti dei livelli di ALT e, per questo motivo, tutte le statine sono controindicate nei pazienti con malattia epatica in atto e devono essere usate con cautela nei pazienti con una storia di malattia epatica cronica o negli alcolisti [69]. Nel foglietto illustrativo è, infatti, segnalato che le statine possono dare

epatite e aumento delle transaminasi, fino a più di tre volte il valore massimo di riferimento, come possibili reazioni avverse, con un'incidenza rispettivamente del 0,01% e del 1-2% [69]. L'esperienza di FV postmarketing suggerisce che tale aumento delle transaminasi è transitorio e asintomatico [66-68], è comune a tutte le statine e pare essere un effetto secondario alla riduzione delle LDL plasmatiche, per cui va considerato più un effetto farmacologico, legato al meccanismo d'azione del farmaco, che un effetto tossico [66]. È interessante notare che una metanalisi [70] condotta su 13 trials clinici randomizzati e controllati vs placebo su 4 differenti statine (fluvastatina, lovastatina, pravastatina e simvastatina), ha mostrato che la percentuale di pazienti che presentavano anomalie nella funzionalità epatica era bassa in entrambi i gruppi e il rischio di epatotossicità non era superiore nei pazienti che assumevano statine rispetto al placebo (OR 1,26; IC 95% 0,99-1,62). Inoltre, i dati sulle singole statine supportavano le osservazioni precedenti secondo cui la lovastatina, la pravastatina e la simvastatina, assunte a dosi basse o moderate, non sono associate ad un aumentato rischio di alterazione della funzionalità epatica, mentre la fluvastatina è stata associata ad un aumento significativo di probabilità di avere anomalie nella funzionalità epatica rispetto al placebo (fluvastatina 1,13% vs placebo 0,29%; OR 3,54; 1,1-11,6). Va sottolineato che le dosi utilizzate negli studi per lovastatina, pravastatina e simvastatina erano ≤40 mg, mentre la fluvastatina è stata valutata in due studi, di cui uno alla dose di 80 mg.

Vi è uno studio italiano, condotto dal centro interregionale di Farmacovigilanza (GIF), che si è posto lo scopo di indagare l'ipotesi che la fluvastatina possa causare gravi lesioni epatiche in misura maggiore rispetto alle altre statine [71]. Lo studio è partito quando, alla fine del 2004, un'analisi caso per caso condotta sul database del GIF (cui afferiscono le ADR spontanee dalla Lombardia, dal Veneto, dall'Emilia Romagna, dalla Sicilia e dal Friuli Venezia Giulia) ha rivelato un numero considerevole di ADR epatiche associate alla fluvastatina e tale segnale ha sollevato il problema della possibile maggior epatotossicità associata a questa molecola rispetto agli altri inibitori della HMG-CoA (idrossimetilglutarilcoemnzima A) reduttasi. Sono state trovate 178 segnalazioni di reazioni avverse epatiche correlate alle statine, con il numero più alto (69 segnalazioni) attribuite alla fluvastatina. Inoltre, quasi il 50% delle segnalazioni di reazioni epatiche correlate a fluvastatina erano gravi (33 segnalazioni). Delle 178 ADR epatiche correlate alle statine, 63 erano gravi e la maggior parte di queste ultime erano epatite (75%) o colestasi epatitica (13%). Bisogna considerare che il numero delle ADR in un database è influenzato sia dalla quantità di tempo trascorsa dall'immissione in commercio che dalla quantità delle prescrizioni di un dato farmaco. Il consumo nazionale di statine indicava che, durante i quattro anni esaminati nello studio, i farmaci più prescritti erano la atorvastatina e la simvastatina; mentre la pravastatina e la fluvastatina erano meno utilizzate, anche se il loro consumo aveva avuto un incremento nel periodo 2002/2004. Tre formulazioni a rilascio ritardato di fluvastatina 80 mg erano le principali responsabili delle ADR. Delle 33 segnazione gravi, in circa la metà era riportato l'uso di altri farmaci sospetti o solo concomitanti. Ventisette dei 33 pazienti erano di sesso femminile, e il dosaggio di fluvastatina era pari ad 80 mg/die nell'81% dei casi. Le altre statine, per le quali vi erano ADR epatiche, erano somministrate a dosi inferiori, data la loro diversa potenza. L'esordio precoce della reazione (a meno di 7 giorni dall'inizio del trattamento) in 12 pazienti potrebbe essere correlato ad un effetto tossico o ad una reazione immunoallergica; purtroppo, non si conosceva se questi pazienti erano stati precedentemente esposti al farmaco. La fluvastatina era stata sospesa in 28 dei 33 casi, e i sintomi relativi alle ADR erano migliorati in tutti i pazienti tranne uno. Altre informazioni, quali il consumo di alcol o le analisi del sangue, non sono solitamente inserite nei sistemi di segnalazione spontanea, anche se i medici avevano escluso la presenza di epatite virale facendo riferimento ai dati sierologici.

L'effetto caratteristico della fluvastatina sul fegato potrebbe essere dovuto al fatto che questa è la sola statina metabolizzata dal citocromo CYP2C9 e dati recenti [72], suggeriscono che il polimorfismo del CYP2C9 può influenzare la farmacocinetica della fluvastatina in volontari sani, con la conseguenza che i pazienti polimorfi sarebbero maggiormente esposti alle ADR epatiche. Tuttavia, le implicazioni cliniche di questa scoperta dovrebbero essere studiate in un più ampio gruppo di pazienti trattati con

fluvastatina. Nel febbraio del 2006, nel database delle ADR dell'OMS c'erano 2303 segnalazioni di ADR epatiche gravi e 9.748 segnalazioni di ADR epatiche non gravi associate alle statine, che sottolineavano la potenziale epatotossicità associata a questi farmaci; tra queste segnalazioni 968 riguardavano la fluvastatina e il 22% di esse erano reazioni avverse gravi; tale percentuale di reazioni gravi era simile però per tutte le statine. In assenza dei dati di consumo mondiale delle singole statine, e considerando i diversi schemi di prescrizione e i differenti tassi di segnalazione spontanea nei vari Paesi, è difficile mettere a confronto le ADR associate alle diverse statine; tuttavia un'analisi condotta sul database delle ADR dell'OMS, nel primo trimestre del 2001, ha evidenziato un più alto valore di IC per le epatiti, le epatiti colestatiche ed i danni epatocellulari indotti da fluvastatina rispetto alle medesime condizioni patologiche indotte da altre statine [73]. Inoltre anche un'analisi dell'FDA statunitense ha mostrato che le segnalazioni di epatite ed insufficienza epatica acuta da fluvastatina sono più alte rispetto alle altre statine (0,061 per milione di prescrizioni) [74].

Tamossifene

Il tamossifene è un farmaco antiestrogeno non steroideo utilizzato per il trattamento del tumore della mammella ormono-dipendente. Un importante problema di sicurezza si è presentato con la scoperta che questa molecola è genotossica ed epatocarcinogena nel ratto [75]; nonostante tali premesse, attualmente vi è una vasta esperienza di utilizzo nella specie umana, tale da poter affermare che il tamossifene non provoca tumori epatici nelle donne esposte. Il razionale a supporto di questa tesi è basato su considerazioni in merito ai tassi relativi di bioattivazione e bioinattivazione epatica: le principali vie di bioattivazione del tamossifene, che portano alla formazione di metaboliti genotossici, sono l'α-idrossilazione e la solfonazione di un estere solfato, quindi la formazione di un carbocatione reattivo capace di formare addotti stabili con il DNA cellulare [76]. Tale molecola viene poi inattivata tramite glucuronazione, trattandosi infatti di un elettrofilo hard non reagisce con il glutatione.
Da un confronto in vitro tra i tassi relativi di idrossilazione, solfonazione, e glucuronazione, condotto sia con gli enzimi umani che con quelli dei roditori, è emerso che i ratti hanno maggiore propensione per la solfonazione (che genera bioattivazione di metabolici genotossici e cancerogeni), mentre il fegato umano ha maggiore capacità di glucuronazione, ovvero di bioinattivazione [77, 78]. Da un'analisi del rischio dose-dipendente è emerso che vi è un fattore di sicurezza, relativo allo sviluppo di tumori epatici da tamossifene, 150.000 volte superiore per gli esseri umani se confrontato con i ratti.

Isoniazide

L'isoniazide (INH) è ancora il farmaco più utilizzato nel trattamento della tubercolosi. L'INH è usato in combinazione con altri due farmaci: la rifampicina e la pirazinamide, questo per ridurre la probabilità di indurre resistenza. L'INH causa due principali reazioni avverse: l'epatite e la neuropatia periferica; l'incidenza e la gravità di dette reazioni sono correlate alla dose assunta e alla durata della terapia. La tossicità epatica può manifestarsi anche diverse settimane dopo l'inizio dell'assunzione del farmaco. Nel 10-20% dei pazienti osservati, entro i primi due mesi di terapia si è riscontrato un asintomatico aumento delle transaminasi (inferiore a tre volte il valore soglia), mentre in meno dell'1% dei pazienti osservati si è manifestata un'epatite fatale, nei pazienti con ittero la mortalità è stata maggiore del 10% [79, 80]. L'INH, nei casi più gravi di ADR epatica, induce una tipica e diffusa necrosi massiva degli epatociti oppure un'epatite cronica, a malattia conclamata i sintomi sono anoressia, stanchezza, nausea e vomito, tuttavia l'ittero e le urine scure spesso sono la prima evidenza di danno [81]. La terapia di combinazione è un fattore di rischio per l'epatite, sebbene non vi siano studi che spiegano questa evidenza. Studi nel ratto [82] e nel coniglio [83], unitamente a studi in vitro, indicano che l'INH subisce acetilazione, catalizzata dall'enzima N-acetiltranseferasi, per dare N-acetilisoniazide. Questo viene poi idrolizzato ad acetilidrazina, la quale subisce bioattivazione da parte dei citocromi P450 dando luogo alla formazione di un acetil-radicale, una specie reattiva identificata dopo intrappolamento con il glutatione sotto forma di coniugato [82]. Come un tale inter-

medio reattivo induca un danno agli epatociti rimane da chiarire, così come non sono state ancora spiegate le ragioni per cui vi è un aumento di incidenza di epatotossicità quando si utilizza la terapia di combinazione. Inoltre non sono state ancora identificate le proteine bersaglio per il metabolita reattivo formato da INH. Infine ad oggi, non vi è alcuna convincente prova clinica o di laboratorio che suggerisca un meccanismo immunologico alla base di tali ADR.

Flucloxacillina

La flucloxacillina è un antibiotico beta-lattamico semisintetico che provoca danno epatico colestatico (VBDS) in circa 8 pazienti su 100.000. Il meccanismo non è noto, tuttavia piccole quantità di metaboliti (formatisi grazie all'attività di CYP3A4) in forma coniugata sono direttamente tossici per i colangiociti; non si conosce ancora se questi danneggiano l'epitelio duttale dopo la loro escrezione nella bile o se si formano nei colangiociti. Si ritiene che una risposta immuno-mediata determini successivamente lo sviluppo di VBDS [84]. Studi recenti supportano la tesi che tali ADR sono geneticamente determinate. Altri studi hanno identificato un polimorfismo del recettore nucleare PXR come fattore di rischio per le lesioni al fegato indotte da flucloxacillina. Flucloxacillina è un agonista del recettore nucleare PXR ed è stato osservato che le varianti alleliche di PXR, rs3814055 e C-25385T, sono più comuni nei pazienti che hanno sviluppato colestasi da questo farmaco; inoltre esperimenti genici hanno dimostrato che tali varianti alleliche hanno un'attività del promotore inferiore rispetto agli alleli non polimorfi [85], con la conseguenza di determinare ridotta espressione dei trasportatori epatici nei soggetti che ne sono portatori.

Ipilimumab

Ipilimumab è un anticorpo monoclonale interamente umano diretto contro l'antigene CTLA-4 che aumenta l'attivazione, la produzione e l'infiltrazione dei linfociti citotossici nella massa tumorale, causando la morte delle cellule maligne. È indicato come trattamento di seconda linea nel melanoma non operabile o metastatico. Negli studi clinici preregistrativi sono stati osservati numerosi casi di epatite immunoderivata, dovuta all'iperstimolazione dei linfociti T citotossici. Le predette reazioni avverse sono correlate al meccanismo d'azione del farmaco, sebbene poi la loro gravità ed il determinarsi di condizioni cliniche rilevanti siano legate a fattori di suscettibilità individuali. Nello studio MDX010-20 di fase III, un'insufficienza epatica ad esito fatale è stata riportata in <1% dei pazienti che hanno ricevuto ipilimumab 3 mg/kg in monoterapia, aumenti di AST e ALT di qualsiasi gravità sono stati riportati rispettivamente nell'1% e nel 2% dei pazienti, mentre non sono stati riportati aumenti gravi (grado 3 o 4) di AST o ALT. Inoltre il tempo all'insorgenza di un'epatotossicità immunocorrelata, da moderata a grave o fatale (grado 2-5) è risultato compreso tra 3 e 9 settimane dall'inizio del trattamento. Con le linee guida di gestione specificate nel protocollo, il tempo alla risoluzione è risultato essere compreso tra 0,7 e 2 settimane. Infine le biopsie epatiche di pazienti con epatotossicità immunocorrelata hanno mostrato presenza di infiammazione acuta (elevata infiltrazione di neutrofili, linfociti e macrofagi). Tali evidenze hanno portato all'introduzione, nell'RCP (Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto) del farmaco, di severe restrizioni d'uso e di linee guida apposite sul trattamento delle reazioni immunocorrelate, tra cui grande importanza rivestono le epatiti.

Pazopanib

Il pazopanib è un farmaco utilizzato come prima linea nel trattamento del carcinoma renale avanzato (recentemente è stata registrata un'ulteriore indicazione nel trattamento dei tumori di origine mesenchimale); esso appartiene alla classe degli inibitori multi-target delle protein-chinasi ed inibisce sia l'angiogenesi che la crescita del tumore.

Negli studi clinici preregistrativi sono stati osservati casi di insufficienza epatica con aumenti delle transaminasi sieriche (ALT, AST) e della bilirubina, nella maggioranza dei casi senza aumenti concomitanti della fosfatasi alcalina e senza sviluppo di epatiti ed epatotossicità clinicamente rilevante; tuttavia vi sono stati anche casi di insufficienza epatica fatale.

Tali evidenze unitamente alle caratteristiche farmacocinetiche del farmaco, metabolizzato prevalentemente dal CYP3A4 ed escreto in larga misura a livello epatico tramite trasporto attivo (glicoproteina P), hanno portato all'introduzione nell'RCP del farmaco di alcune importanti restrizioni d'uso ed avvertenze.

Prospettive future

Per identificare le DILI sono solitamente utilizzati un piccolo numero di test di laboratorio, indici della funzionalità epatica, ma la loro interpretazione può essere limitata e confusa da molteplici fattori. Occorrono, quindi, biomarcatori preclinici e clinici migliori, atti a rilevare con precisione i segnali precoci di danno epatico, capaci di distinguere l'epatotossicità farmaco-indotta da altre forme di danno epatico e in grado di differenziare le lesioni epatiche lievi da quelle clinicamente importanti. Una gamma di biomarcatori potenzialmente utili (i biomarcatori trascrizionali) stanno emergendo, anche se per ora la maggior parte di essi sono utilizzati solo nei laboratori di ricerca.
Alcuni genotipi possono essere considerati dei veri e propri biomarcatori; infatti l'identificazione di specifici polimorfismi genetici, che hanno un forte impatto sulle reazioni epatotossiche da farmaci, potrebbe aiutare a riconoscere sottopopolazioni umane suscettibili di DILI per un determinato farmaco e a ridurre i rischi associati, rendendo più favorevole il rapporto rischio/beneficio del farmaco.
Infine, la farmaco-sorveglianza post-marketing è attualmente limitata dalla scarsa quantità e qualità di informazioni disponibili per fare una diagnosi accurata, dalla mancanza di un gruppo di controllo e dalla rarità dei casi. La condivisione delle banche dati sanitarie multiple, che contengono diverse tipologie di dati dei pazienti, potrebbe essere di supporto per affrontare alcune di queste carenze.

Bibliografia

[1]. Russmann S, Kullak-Ublick GA, Grattagliano I. *Current concepts of mechanisms in drug-induced hepatotoxicity.* Curr Med Chem 2009; 16: 3041-53.
[2]. Lammert C, Einarsson S, Saha C, et al. *Relationship between daily dose of oral medications and idiosyncratic drug-induced liver injury: search for signals.* Hepatology 2008; 47: 2003-9.
[3]. Lammert C, Bjornsson E, Niklasson A, et al. *Oral medications with significant hepatic metabolism at higher risk for hepatic adverse events.* Hepatology 2010; 51: 615-20.
[4]. Kaplowitz N. *Drug-induced liver disorders: introduction and overview.* In: Kaplowitz N, DeLeve L, Eds. Drug induced liver disease. New York: Marcel Dekker. 2007: p 1-11.
[5]. Jain S, Kaplowitz N. *Clinical considerations of drug-induced hepatotoxicity*. In: McQueen CA, Ed. Comprehensive toxicology. New York: Elsevier Science and Technology. 2010: p 369-81.
[6]. Zimmerman H. *Drug-induced liver disease.* In: Zimmerman H, Ed. Hepatotoxicity, the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1999: p 428-33.
[7]. Park BK, Kitteringham NR, Maggs JL, Pirmohamed M, Williams DP. *The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity.* Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005; 45: 177-202.
[8]. Abboud G, Kaplowitz N. *Drug-Induced Liver Injury Drug Safety* 2007; 30: 277-294.
[9]. Trauner M, Meier PJ, Boyer JL. *Molecular pathogenesis of cholestasis.* N Engl J Med 1998; 339: 1217-27.
[10]. Fattinger K, Funk C, Pantze M, Weber C, et al. *The endothelin antagonist bosentan inhibits the canalicular bile salt export pump: a potential mechanism for hepatic adverse reactions.* Clin Pharmacol Ther 2001; 69: 223-231.
[11]. Bohme M, Buchler M, Muller M, Keppler D. *Differential inhibition by cyclosporins of primary-active ATP-dependent transporters in the hepatocyte canalicular membrane.* FEBS Lett 1993; 333: 193-196.
[12]. Kadmon M, Klunemann C, Bohme M, Ishikawa T, et al. *Inhibition by cyclosporin A of adenosine triphosphate-dependent transport from the hepatocyte into bile.* Gastroenterology 1993; 104: 1507-14.
[13]. Bohme M, Muller M, Leier I, Jedlitschky G, Keppler D. *Cholestasis caused by inhibition of the adenosine triphosphate-dependent bile salt transport in rat liver.* Gastroenterology 1994; 107: 255-65.
[14]. Roman ID, Monte MJ, Gonzalez-Buitrago JM, Esteller A, Jimenez R. *Inhibition of hepatocytary vesicular transport by cyclosporin A in the rat: relationship with cholestasis and hyperbilirubinemia.* Hepatology 1990; 12: 83-91.
[15]. Roman ID, Coleman R. *Disruption of canalicular function in isolated rat hepatocyte couplets caused by cyclosporin A.* Biochem Pharmacol 1994; 48: 2181-8.
[16]. Roman ID, Fernandez-Moreno MD, Fueyo JA, Roma MG, Coleman R. *Cyclosporin A induced internalization of the bile salt export pump in isolated rat hepatocyte couplets.* Toxicol Sci 2003; 71: 276-81.
[17]. Yasumiba S, Tazuma S, Ochi H, Chayama K, Kajiyama G. *Cyclosporin A reduces canalicular membrane fluidity and regulates transporter function in rats.* Biochem J 2001; 354: 591-6.
[18]. Bramow S, Ott P, Thomsen Nielsen F, Bangert K, et al. *Cholestasis and regulation of genes related to drug metabolism and biliary transport in rat liver following treatment with cyclosporine A and sirolimus (Rapamycin).* Pharmacol Toxicol 2001; 89: 133-9.
[19]. Mauad TH, van Nieuwkerk CM, Dingemans KP, Smit JJ, et al. *Mice with homozygous disruption of the mdr2 P-glycoprotein gene. A novel animal model for studies of nonsuppurative inflammatory cholangitis and hepatocarcinogenesis.* Am J Pathol 1994; 145: 1237-45.
[20]. Meier Y, Pauli-Magnus C, Zanger UM, Klein K, et al. *Interindividual variability of canalicular ATP-binding-cassette (ABC)-transporter expression in human liver.* Hepatology 2006; 44: 62-74.

[21]. Saito S, Iida A, Sekine A, Ogawa C, et al. *Three hundred twenty-six genetic variations in genes encoding nine members of ATP-binding cassette, subfamily B (ABCB/MDR/TAP), in the Japanese population.* J Hum Genet 2002; 47: 38-50.
[22]. Pauli-Magnus C, Meier PJ. *Pharmacogenetics of hepatocellular transporters.* Pharmacogenetics 2003; 13: 189-98.
[23]. Kroetz DL, Pauli-Magnus C, Hodges LM, Huang CC, et al. *Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene.* Pharmacogenetics 2003; 13: 481-94.
[24]. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, et al. *Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo.* Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 3473-8.
[25]. Lang C, Meier Y, Stieger B, Beuers U, et al. *Mutations and polymorphisms in the bile salt export pump and the multidrug resistance protein 3 associated with drug-induced liver injury.* Pharmacogenet Genomics 2007; 17: 47-60.
[26]. Pauli-Magnus C, Lang T, Meier Y, Zodan-Marin T, et al. *Sequence analysis of bile salt export pump (ABCB11) and multidrug resistance p-glycoprotein 3 (ABCB4, MDR3) in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy.* Pharmacogenetics 2004; 14: 91-102.
[27]. Dixon PH, van Mil SW, Chambers J, Strautnieks S, et al. *Contribution of variant alleles of ABCB11 to susceptibility to intrahepatic cholestasis of pregnancy.* Gut 2009; 58:537-44.
[28]. Meier Y, Zodan T, Lang C, Zimmermann R, et al. *Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the 1331T>C polymorphism in the bile salt export pump.* World J Gastroenterol 2008; 14: 38-45.
[29]. Andrews E, Armstrong M, Tugwood J, Swan D, et al. *A role for the pregnane X receptor in flucloxacillin-induced liver injury.* Hepatology 2010; 51: 1656-64.
[30]. Roth RA, Ganey PE. *Intrinsic versus idiosyncratic druginduced hepatotoxicity: two villains or one?* J Pharmacol Exp Ther 2010; 332: 692-7.
[31]. Tay VK, Wang AS, Leow KY, et al. *Mitochondrial permeability transition as a source of superoxide anion induced by the nitroaromatic drug nimesulide in vitro.* Free Radic Biol Med 2005; 39: 949-59.
[32]. Fardel O, Le Vee M. *Regulation of human hepatic drug transporter expression by pro-inflammatory cytokines.* Expert Opin Drug Metab Toxicol 2009; 5: 1469-81.
[33]. Trauner M, Arrese M, Lee H, Boyer JL, Karpen SJ. *Endotoxin downregulates rat hepatic NTCP gene expression via decreased activity of critical transcription factors.* J Clin Invest 1998; 101: 2092-100.
[34]. Pirmohamed M, Naisbitt DJ, Gordon F, Park BK. *The danger hypothesis- potential role in idiosyncratic drug reactions.* Toxicology 2002; 181-182: 55-63.
[35]. Gupta NK, Lewis JH. *The use of potentially hepatotoxic drugs in patients with liver disease.* Aliment Pharmacol Ther 2008; 28: 1021-41.
[36]. Benichou C. *Criteria of drug-induced liver disorders: report of an international consensus meeting.* J Hepatol 1990; 11: 272-6.
[37]. Navarro V. *Hepatic adverse event nomenclature document.* Available from URL: http://www.fda.gov/cder/livertox/ presentations2005/ Vic_Navarro.ppt.
[38]. Polson J, Lee WM. *AASLD position paper: the management of acute liver failure.* Hepatology 2005; 41: 1179-97.
[39]. Zimmerman H. *Drug-induced liver disease.* In: Schiff E, Ed. Schiff's diseases of the liver. Baltimore (MD): Lippincott- Raven Publishers, 1999; p 973-1064.
[40]. Moradpour D, Altorfer J, Flury R, Greminger P, et al. *Chlorpromazine-induced vanishing bile duct syndrome leading to biliary cirrhosis.* Hepatology 1994; 20: 1437-1441.
[41]. Carl L. *Bilirubin metabolism and the pathophysiology of jaudice.* In: Schiff E, Ed. Schiff's diseases of the liver. Philadelphia: LippincottWilliams & Wilkins, 1999.
[42]. Rotger M, Taffe P, Bleiber G, et al. *Gilbert syndrome and the development of antiretroviral therapy-associated hyperbilirubinemia.* J Infect Dis 2005; 192: 1381-6.
[43]. Gunawan B, Kaplowitz N. *Clinical perspectives on xenobiotic-induced hepatotoxicity.* Drug Metab Rev 2004; 36: 301-12.
[44]. Danan G, Benichou C. *Causality assessment of adverse reactions to drugs: I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries.* J Clin Epidemiol 1993; 46: 1323-30.
[45]. Benichou C, Danan G, Flahault A. *Causality assessment of adverse reactions to drugs: II. An original model for validation of drug causality assessment methods: case reports with positive rechallenge.* J Clin Epidemiol 1993; 46: 1331-6.
[46]. Lucena MI, Camargo R, Andrade RJ, et al. *Comparison of two clinical scales for causality assessment in hepatotoxicity.* Hepatology 2001; 33: 123-30.
[47]. Lapeyre-Mestre M, de Castro AM, Bareille MP, del Pozo JG, et al. *Non-steroidal anti-inflammatory drug-related hepatic damage in France and Spain: analysis from national spontaneous reporting systems.* Fundam Clin Pharmacol 2006; 20: 391-5.
[48]. Macia MA, Carvajal A, del Pozo JG. et al. *Hepatotoxicity associated with nimesulide: data from the Spanish Pharmacovigilance system.* Clin Pharmacol Ther 2002; 72: 596-7.
[49]. Agence Francaise de Securitè Sanitaire des Produits de Santè. Press release 22 March 2002. http://agmed.sante.gouv.fr/htm/10/filcoprs/020304c.htm
[50]. Sgro C, Clinard F, Ouazir K, et al. *Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study.* Hepatology 2002; 36: 451-5.
[51]. Ibanez L, Perez E, Vidal X, Laporte JR. *Prospective surveillance of acute serious liver disease unrelated to infectious, obstructive, or metabolic diseases: epidemiological and clinical features and exposure to drugs.* J. Hepatol 2002; 37: 592-600.
[52]. Raucy JL, Lasker JM, Lieber CS, Black M. *Acetaminophen activation by human liver cytochromes P450-IIE1 and P450IA2.* Arch Biochem Biophys 1989; 271: 270-83.
[53]. Thummel KE, Lee CA, Kunze KL, Nelson SD, Slattery JT. *Oxidation of acetaminophen to N-acetyl-p-aminobenzoquinoneimine by human CYP3A4.* Biochem Pharmacol 1993; 45: 1563-69.
[54]. Ito Y, Abril ER, Bethea NW, McCuskey RS. *Role of nitric oxide in hepatic microvascular injury elicited by acetaminophen in mice.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2004; 286: G60-67.
[55]. Berthet S, Olivier P, Montastruc JL, Lapeyre-Mestre M. *Drug safety of rosiglitazone and pioglitazone in France: a study using the French PharmacoVigilance database.* Clinical Pharmacology 2011; 11: 5.
[56]. Kassahun K, Pearson PG, Tang W, Mc-Intosh I, et al. *Studies on the metabolism of troglitazone to reactive intermediates in vitro and in vivo. Evidence for novel biotransformation pathways involving quinone methide formation and thiazolidinedione ring scission.* Chem Res Toxicol 2001; 14: 62-70.
[57]. Tettey JN, Maggs JL, Rapeport WG, Pirmohamed M, Park BK. *Enzyme induction dependent bioactivation of troglitazone and troglitazone quinone in vivo.* Chem Res Toxicol 2001; 14: 965-74.
[58]. Haskins JR, Rowse P, Rahbari R, de la Iglesia FA. *Thiazolidinedione toxicity to isolated hepatocytes revealed by coherent multiprobe fluorescence microscopy and correlated with multiparameter flow cytometry of peripheral leukocytes.* Arch Toxicol 2001; 75: 425-38.

[59]. Watanabe I, Tomita A, Shimizu M, Sugawara M, et al. *A study to survey susceptible genetic factors responsible for troglitazone associated hepatotoxicity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus.* Clin Pharmacol Ther 2003; 73: 435–55.
[60]. Jayyosi Z, Muc M, Gallagher M, Toutain H, Stevens J, Kelley M. *Covalent binding of troglitazone and other members of the thiazolidinedione family to human liver microsomes, implications for cases of idiosyncratic hepatotoxicity.* Proc N Am ISSX Meet, 9th, Nashville, 1999; 200: 24-28.
[61]. Smith MT. *Mechanisms of troglitazone hepatotoxicity.* Chem Res Toxicol 2003; 16: 679-87.
[62]. Funk C, Pantze M, Jehle L, Ponelle C, et al. *Troglitazone-induced intrahepatic cholestasis by an interference with the hepatobiliary export of bile acids in male and female rats. Correlation with the gender difference in troglitazone sulfate formation and the inhibition of the canalicular bile salt export pump (Bsep) by troglitazone and troglitazone sulfate.* Toxicology 2001; 167: 83-98.
[63]. Kostrubsky VE, Vore M, Kindt E, Burliegh J, et al. *The effect of troglitazone biliary excretion on metabolite distribution and cholestasis in transporter-deficient rats.* Drug Metab Dispos 2001; 29: 1561-1566.
[64]. Kleiner DE, Gaffey MJ, Sallie R, Tsokos M, et al. *Histopathologic changes associated with fialuridine hepatotoxicity.* Mod Pathol 1997; 10: 192-9.
[65]. Sniderman AD. *Is there value in liver function test and creatine phosphokinase monitoring with statin use?* Am J Cardiol 2004; 94 (9A): 30F-4F.
[66]. Gershovich OE, Lyman AE. *Liver function test abnormalities and pruritus in a patient treated with atorvastatin: case report and review of the literature.* Pharmacotherapy 2004; 24: 150-4.
[67]. Tolman KG. *The liver and lovastatin.* Am J Cardiol 2002; 89: 1374-80.
[68]. Kiortsis DN, Nikas S, Hatzidimou K, et al. *Lipid-lowering drugs and serum liver enzymes: the effects of body weight and baseline enzyme levels.* Fundam Clin Pharmacol 2003; 17: 491-4.
[69]. Repertorio Farmaceutico Italiano [CD ROM]. 14th ed. Milan: OEMF. 2005.
[70]. de Denus S, Spinler SA, Miller K, et al. *Statins and liver toxicity: a meta-analysis.* Pharmacotherapy 2004; 24: 584-91.
[71]. Gotto AM. *Safety and statin therapy: reconsidering the risks and benefits.* Arch Intern Med 2003; 163: 657-9.
[72]. Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, et al. *Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers.* Clin Pharmacol Ther 2003; 74: 186-94.
[73]. Restricted document, contact the UMC (www.who-umc.org) for details.
[74]. Davidson MH, Clark JA, Glass LM, et al. *Statin safety: an appraisal from the adverse event reporting system.* Am J Cardiol 2006; 97(8A):32C-43C.
[75]. Carthew P, Rich KJ, Martin EA, De Matteis F, et al. *DNA damage as assessed by 32P-postlabelling in three rat strains exposed to dietary tamoxifen: the relationship between cell proliferation and liver tumour formation.* Carcinogenesis 1995; 16: 1299-304.
[76]. Martin EA, Rich KJ, White IN, Woods KL, Powles TJ, Smith LL. *32P postlabelled DNA adducts in liver obtained from women treated with tamoxifen.* Carcinogenesis 1995; 16: 1651-54.
[77]. Boocock DJ, Maggs JL, White IN, Park BK. *Alpha-hydroxytamoxifen, a genotoxic metabolite of tamoxifen in the rat: identification and quantificationin vivo and in vitro.* Carcinogenesis 1999; 20: 153-60.
[78]. Boocock DJ, Maggs JL, Brown K, White INH, Park BK. *Major inter-species differences in the rates of O-sulphonation and O-glucuronylation of alpha-hydroxytamoxifen in vitro: a metabolic disparity protecting human liver from the formation of tamoxifen-DNA adducts.* Carcinogenesis 2000; 21: 1851-58.
[79]. Mitchell JR, Zimmerman HJ, Ishak KG, Thorgeirsson UP, Timbrell JA, et al. *Isoniazid liver injury: clinical spectrum, pathology, and probable pathogenesis.* Ann Intern Med 1976; 84: 181-92.
[80]. Zimmerman HJ. *Update of hepatotoxicity due to classes of drugs in common clinical use: non-steroidal drugs, antiinflammatory drugs, antibiotics, antihypertensives, and cardiac and psychotropic agents.* Semin Liver Dis 1990; 10: 322-38.
[81]. Zimmerman HJ, Ishak KG. *Morphologic spectrum of drug-induced hepatic disease.* Gastroenterol Clin North Am 1995; 24: 759-86.
[82]. Nelson SD, Mitchell JR, Timbrell JA, Snodgrass WR, Corcoran GB 3rd. *Isoniazid and iproniazid: activation of metabolites to toxic intermediates in man and rat.* Science 1976; 193: 901-3.
[83]. Sarich TC, Zhou T, Adams SP, Bain AI, Wall RA, Wright JM. *A model of isoniazid-induced hepatotoxicity in rabbits.* J Pharmacol Toxicol Methods 1995; 34: 109-16.
[84]. Davies MH, Harrison RF, Elias E, Hubscher SG. *Antibiotic-associated acute vanishing bile duct syndrome: a pattern associated with severe, prolonged, intrahepatic cholestasis.* J Hepatol 1994; 20: 112-16.
[85]. Andrews E, Armstrong M, Tugwood J, Swan D, Glaves P, Pirmohamed M, et al. *A role for the pregnane X receptor in flucloxacillin-induced liver injury.* Hepatology 2010; 51: 1656-664.