



UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública.

**HEPATOTOXICIDAD IDIOSINCRÁSICA EN LA  
POBLACIÓN PEDIÁTRICA Y ANÁLISIS DE FACTORES  
INMUNOGENÉTICOS ASOCIADOS  
(HLA, CITOQUINAS Y GENOTIPO KIR).**

Tesis doctoral presentada por María José Salmerón Fernández para optar al  
Grado de Doctor en Medicina.

Dirigida por la Doctora Esther Ocete Hita

Granada 2016

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autora: María José Salmerón Fernández  
ISBN: 978-84-9163-108-8  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/44912>

A Esther, compañera y amiga.

## AUTORIZACIÓN PARA LA PRESENTACIÓN DE LA TESIS

**Dra. ESTHER OCETE HITA, PROFESORA ACREDITADA TITULAR DE PEDIATRÍA DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**CERTIFICA:** Que Dña. María José Salmerón Fernández, licenciada en Medicina y Cirugía ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación titulado **“HEPATOTOXICIDAD IDIOSINCRÁSICA EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA Y ANÁLISIS DE FACTORES INMUNOGENÉTICOS ASOCIADOS (HLA, CITOQUINAS Y GENOTIPO KIR)”**

Revisado el presente trabajo, considero que tiene la calidad científica necesaria para ser defendido ante el Tribunal que se designe al efecto, por lo que: **AUTORIZO** la presentación de dicho trabajo como Tesis, para su defensa y obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Granada.

Y para que conste y surta sus efectos en el expediente correspondiente, expido la presente certificación en Granada a 26 de septiembre de 2016.



Fdo. Esther Ocete Hita

El doctorando [ **María José Salmerón Fernández** ] y la directora de la tesis: [ **Esther Ocete Hita** ]

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Lugar y fecha:

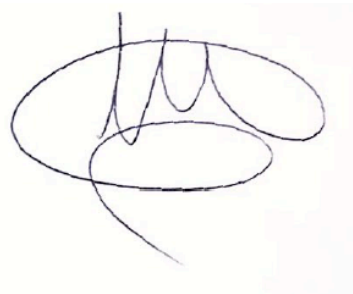
Granada a 28 de Septiembre de 2016

Director/es de la Tesis:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Esther Ocete Hita', written over a light blue grid background.

Firmado: Esther Ocete Hita

Doctorando :

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'María José Salmerón Fernández', written over a light pink grid background.

Firmado: María José  
Salmerón Fernández

*Cada vez que un médico no puede hacer el bien,  
debe evitar hacer el daño.*

*Hipócrates.*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mi directora de tesis, la *Dra. Esther Ocete Hita*, por su apoyo y confianza, por ser un estímulo constante y un ejemplo de trabajo y dedicación. Gracias por contagiarme de ese espíritu investigador del que surgen trabajos como éste.

A *mi madre, mi padre y mis hermanos* agradecerles TODO porque son mi vida y los que me acompañan en el camino hacia mis sueños y metas.

Dicen que las dificultades de la vida no lo son tanto cuando tienes un compañero con quien compartirlas y que te ayude a solucionarlas. Por eso, gracias a *todos mis compañeros, entre ellos*, gracias a la *Dra. Pilar Azcón* porque, como ya se le ha dicho en otra ocasión, *siento que nunca alguien que buscó tan poco protagonismo, dejó tanta huella*; gracias a las Dras Ana Abril y Catalina González por hacer que cada día me guste e ilusione más mi trabajo y, gracias, a la *Dra. Estefanía Martín* por ser una excelente compañera y mejor amiga.

Gracias a los miembros del *grupo de investigación CTS-227* dirigido por el Dr. Salmerón y dedicado al estudio de la hepatitis en adultos y niños, *al personal de Urgencias de Pediatría del Hospital Materno Infantil Virgen de las Nieves de Granada* y a todos los *padres y pacientes* sin cuya colaboración el desarrollo de este trabajo no habría sido posible.

Muchas gracias.

**Publicaciones y Comunicaciones Científicas relacionadas con la tesis:  
(ANEXO I)**

1. Esther Ocete-Hita, M.<sup>a</sup> José Salmerón-Fernández, Jose Manuel González Gómez, Emilia Urrutia Maldonado, María Salmerón Ruiz, Angela Ruiz-Extremera y Javier Salmerón. *"Hepatotoxicidad y consumo de productos de herboristería en la población pediátrica"*. Nutr Hosp. 2015;32(2):652-655 ISSN 0212-1611 **FI: 1.497; Q<sub>3</sub>**

2. Laura Trujillo Caballero, M.<sup>a</sup> José Salmerón Fernández, Jose Manuel González Gómez, Emilia Urrutia Maldonado, Margarita Camacho González-Auriol, Esther Ocete Hita. *"Hepatitis tóxicas por productos de herboristería"* 63 Congreso de la AEP, celebrado en Bilbao del 11 al 13 de junio de 2015.

3. M.<sup>a</sup> De Los Ángeles Carrasco Pardo, M.<sup>a</sup> Carmen Martínez Padilla, Ana Abril Molina, M.<sup>a</sup> José Salmerón Fernández, María Salmerón Ruiz, Esther Ocete Hita. *"Toxicidad hepática por ibuprofeno en la población pediátrica"* 63 Congreso de la AEP, celebrado en Bilbao del 11 al 13 de junio de 2015.

4. José María Gómez Luque, María José Salmerón Fernández, José Antonio Martín García, María Luisa Alés Palmer, Antonio Blanco Molina, Esther Ocete Hita. *"Hepatotoxicidad idiosincrática por fármacos usados para el sistema nervioso"* 64 Congreso de la AEP, celebrado en Valencia del 2 al 4 de junio de 2016.



# ÍNDICE

## ÍNDICE GENERAL

### I. INTRODUCCIÓN... 1

- I.1 Recuerdo Anatómico-Fisiológico... 4
  - I.1.1 Células en el hígado... 4
  - I.1.2 Metabolismo hepático de los xenobióticos... 7
    - I.1.2.1 Reacciones de fase I... 7
    - I.1.2.2 Reacciones de fase II... 7
    - I.1.2.3 Reacciones de fase III... 8
- I.2 Hepatotoxicidad. Definición y clasificación... 9
  - I.2.1 Clasificación fisiopatológica... 10
    - I.2.1.1 Toxicidad intrínseca o predecible... 10
    - I.2.1.2 Idiosincrásica o inesperada... 11
      - I.2.1.2.1 Idiosincrasia metabólica... 11
      - I.2.1.2.2 Idiosincrasia inmunoalérgica... 11
  - I.2.2 Clasificación Histopatológica... 12
    - I.2.2.1 Colestasis... 12
    - I.2.2.2 Apoptosis inducida por ácido biliar... 14
    - I.2.2.3 Neutrófilos y macrófagos en la hepatotoxicidad... 14
    - I.2.2.4 Toxicidad mitocondrial... 15
    - I.2.2.5 Mecanismos inmunológicos... 17
      - I.2.2.5.1 Sistema inmune innato... 17
      - I.2.2.5.2 Sistema inmune adaptativo... 18
        - I.2.2.5.2.1 Hipótesis del hapteno... 18
        - I.2.2.5.2.2 Variaciones genéticas de la inmunidad del huésped... 19
        - I.2.2.5.2.3 Autoinmune like DILI... 19
  - I.2.3 Clasificación Clínica... 20
- I.3 Factores de Riesgo... 23
- I.4 Diagnóstico... 27
  - I.4.1 Escalas clínicas de causalidad... 27
- I.5 Tratamiento... 28
- I.6 Sistemas de detección y registro... 29
- I.7 Epidemiología... 31
  - I.7.1 Epidemiología en pediatría... 32
- I.8 Respuesta inmune. Inmunidad innata y adquirida... 42

I.8.1	Linfocitos T... 44	
	I.8.1.1 Receptor de linfocitos T (TCR)... 45	
	I.8.1.2 Correceptores CD4 y CD8... 47	
	I.8.1.3 Unión Antígeno - Receptor de linfocitos T... 48	
I.8.2	Natural Killer... 49	
	I.8.2.1 Función citotóxica... 49	
	I.8.2.2 Función secretora... 50	
	I.8.2.3 Receptores NK específicos de antígenos HLA... 50	
I.8.2.3.1	Receptores NK tipo KIR... 50	
	I.8.2.4 Transducción de señales... 51	
I.8.2.4.1	Mecanismos de inhibición... 51	
I.8.2.4.2	Mecanismos de activación... 52	
I.8.2.4.3	Variabilidad en los receptores KIR: Haplotipos y Polimorfismos... 53	
I.8.3	Citoquinas... 54	
	I.8.3.1 Interleucina-10... 55	
	I.8.3.2 Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ )... 57	
	I.8.3.3 Factor de Crecimiento Transformante $\beta$ (TGF- $\beta$ )...57	
	I.8.3.4 Interleucina- 6 (IL-6)... 58	
	I.8.3.5 Interferón Gamma (IFN- $\gamma$ )... 58	
I.8.4	Complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)... 59	
	I.8.4.1 CMH I: estructura y organización genética... 60	
	I.8.4.2 CMH II: estructura y organización genética... 61	
	I.8.4.3 Función de las moléculas de clase I y clase II... 63	
	I.8.4.4 Procesamiento del antígeno en el CMH II... 64	
	I.8.4.5 Procesamiento del antígeno en el CMH I... 65	
	I.8.4.6 Polimorfismo y poligenia... 66	
	I.8.4.7 HLA y hepatotoxicidad... 67	

## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS... 69**

II.1	Hipótesis... 70
II.2	Objetivos... 70
	II.2.1 Principal... 70
	II.2.2 Secundarios... 70

<b>III.</b>	<b>METODOLOGÍA... 71</b>
III.1	Diseño... 72
III.2	Sujetos y ámbito de estudio... 72
III.2.1	Criterios de inclusión... 72
III.2.1.1	Establecimiento de causalidad... 74
III.2.2	Criterios de exclusión... 76
III.2.3	Controles... 77
<b>IV.</b>	<b>VARIABLES DEL ESTUDIO... 78</b>
IV.1	Análisis estadístico... 79
<b>V.</b>	<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS... 81</b>
V.1	Confidencialidad de los datos... 82
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS... 83</b>
VI.1	Características generales de los episodios de DILI... 85
VI.2	Estudio HLA... 88
VI.3	Análisis genotipo KIR... 102
VI.4	Investigación de polimorfismos de citoquinas... 109
<b>VII.</b>	<b>DISCUSIÓN... 114</b>
<b>VIII.</b>	<b>LIMITACIONES DEL ESTUDIO... 127</b>
VIII.1	Derivadas del diseño... 127
VIII.2	Derivadas del análisis de polimorfismos... 127
<b>IX.</b>	<b>CONCLUSIONES... 129</b>
IX.1	Conclusión final... 131
<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA... 132</b>
<b>XI.</b>	<b>ANEXOS... 146</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

- Figura 1.** Hepatocito.... 4
- Figura 2.** Distribución celular en el hígado... 5
- Figura 3.** Acino hepático.... 6
- Figura 4.** Proteínas transportadoras... 9
- Figura 5.** Hepatotoxicidad y fases de la biotransformación hepática.... 10
- Figura 6.** Interrelación de los distintos mecanismos de lesión mitocondrial por alteración del metabolismo oxidativo.... 17
- Figura 7.** Papel de la respuesta inmune en la hepatotoxicidad.... 18
- Figura 8.** 6 mecanismos de lesión hepática.... 20
- Figura 9.** Factores de riesgo de DILI...23
- Figura 10.** Estructura tridimensional del TCR.... 45
- Figura 11.** Organización de los genes de las cadenas  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  y  $\delta$  del RCT.... 46
- Figura 12.** Correceptores CD4 y CD8.... 47
- Figura 13.** Modificaciones en TCR tras unión al antígeno.... 48
- Figura 14.** Esquema representativo de los receptores implicados en la lisis natural (parte superior) y ADCC (parte inferior) de las células NK.... 49
- Figura 15.** La acción de las células NK resulta del equilibrio entre receptores con carácter activante e inhibidor.... 51
- Figura 16.** Estructura de los receptores KIR inhibidores y activadores.... 52
- Figura 17.** La ausencia de moléculas de histocompatibilidad hace que las células blanco pierdan la protección frente a la lisis por las células NK... 53
- Figura 18.** Representación de las diferentes organizaciones génicas en las regiones centroméricas y teloméricas de un haplotipo KIR.... 54
- Figura 19.** IL-10, su receptor y células del sistema inmunitario relacionadas con esta citocina... 56

- Figura 20.** Estructura tridimensional del CMH I.... 61
- Figura 21.** Estructura tridimensional del CMH II.... 62
- Figura 22.** Relación del CMH I y II con la membrana celular.... 63
- Figura 23.** Linfocito T y CHM II en célula presentadora de antígeno.... 64
- Figura 24.** Procesamiento y presentación antigénica en el CMH II.5.... 65
- Figura 25.** Procesamiento y presentación de antígeno en CMHI.... 66
- Figura 26.** Distribución de los alelos HLA-A en el total de la muestra.... 88
- Figura 27.** Alelos HLA-B en el total de la muestra.... 89
- Figura 28.** Alelos HLA-C en la muestra completa.... 89
- Figura 29.** Disposición de alelos HLA-DRB en el total de la muestra.... 90
- Figura 30.** Alelos HLA-DQA y HLA-DQB en la población de estudio.... 90
- Figura 31.** Alelos HLA-DPA y HLA-DPB en el total de la muestra.... 91
- Figura 32.** Distribución de HLA-A en casos y controles.... 92
- Figura 33.** HLA-B en casos y controles.... 93
- Figura 34.** Alelos HLA-C en casos y controles.... 94
- Figura 35.** Alelos HLA-DRB en casos y controles.... 96
- Figura 36.** Representación de los alelos HLA-DQA\* y HLA-DQB\* en casos y controles.... 97
- Figura 37.** Alelos HLA-DPA y HLA-DPB en casos y controles.... 100
- Figura 38.** Distribución de los genotipos KIR en el total de la muestra.... 102
- Figura 39.** Distribución de los genotipos KIR en casos y controles.... 103

## ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Tipo de lesión hepática (Biomarcadores).... 22
- Tabla 2.** Factores genéticos que contribuyen a la hepatotoxicidad.... 26
- Tabla 3.** HLA I y II asociados con la hepatotoxicidad.... 26
- Tabla 4.** Listado de medicamentos causantes de hepatotoxicidad en orden decreciente del trabajo de Ferrajolo et al.... 36
- Tabla 5.** Sustancias implicadas en hepatotoxicidad en menores de 18 años del DILIN Prospective Study.... 38
- Tabla 6.** Características generales de la población de estudio en la publicación “*Amoxicillin-Clavulanic Acid hepatotoxicity in Children*” de Ocete-Hita et al. 2012.... 40
- Tabla 7.** Citoquinas, quimiocinas y sus funciones.... 43
- Tabla 8.** Organización genética del HLA.... 60
- Tabla 9.** Datos demográficos, clínicos y parámetros de laboratorio de los pacientes que presentan un episodio de hepatotoxicidad.... 85
- Tabla 10.** Curso clínico de los episodios de DILI.... 86
- Tabla 11.** Tóxicos responsables del daño hepático.... 87
- Tabla 12.** Tabla de contingencia y regresión logística para HLA-C 0401.... 95
- Tabla 13.** Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DQA\*0102.... 98
- Tabla 14.** Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DQB0603.... 99
- Tabla 15.** Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DRB\*12.... 101
- Tabla 16.** Presencia de KIRs activadores e inhibidores en casos y controles.... 105
- Tabla 17.** Presencia de todos los KIRs en casos y controles.... 106
- Tabla 18.** Distribución haplotipos KIR en casos y controles.... 106

- Tabla 19.** Estudio de ligandos KIR en casos y controles.... 107
- Tabla 20.** Estudio KIR-ligando en casos y controles.... 107
- Tabla 21.** Distribución de homocigotos/heterocigotos para los alelos KIR2DL2/KIR2DL3 en casos y controles.... 108
- Tabla 22.** Distribución de homocigotos/heterocigotos para los alelos KIR3DL1/KIR3DDS1 en casos y controles.... 108
- Tabla 23.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos IL-10 en casos y controles.... 109
- Tabla 24.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos TNF-  $\alpha$  en casos y controles.... 110
- Tabla 25.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos TGF-  $\beta$  en casos y controles.... 111
- Tabla 26.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos IL-6 en casos y controles.... 112
- Tabla 27.** Tabla de contingencia de fenotipos IFN- $\gamma$  en casos y controles.... 113



## ÍNDICE DE ANEXOS

- I. Publicaciones y Comunicaciones Científicas asociadas a la tesis.... 147
- II. Evaluación de la causalidad de un fármaco en el daño hepático agudo. Escala de CIOMS.... 158
- III. Protocolo de recogida de datos de los casos sospechosos de DILI.... 159
- IV. Recogida de muestras de sangre para el protocolo de estudio de hepatopatías asociadas a medicamentos en pediatría.... 162
- V. Consentimiento informado para la donación de muestras biológicas a Biobanco.... 164

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>ABC</b>	Proteínas transportadoras ATP dependientes. (Adenosine Triphosphate-Binding-Cassette)
<b>AC</b>	Amoxicilina-Clavulánico.
<b>ADCC</b>	Citotoxicidad Celular Dependiente de Anticuerpos.
<b>ALT (GPT)</b>	Alanino Aminotransferasa.
<b>ANA</b>	Anticuerpos Antinucleares.
<b>APAP</b>	Ácido para-acetil aminofenol. (Acetaminofeno. Paracetamol)
<b>ASMA</b>	Anticuerpos Antimusculo Liso.
<b>AST (GOT)</b>	Aspartato Aminotransferasa.
<b>ATP</b>	Adenosín Trifosfato.
<b>AVP</b>	Ácido Valproico
<b>BSE</b>	Bomba Exportadora de Sales Biliares.
<b>BT</b>	Bilirrubina Total.
<b>CDR</b>	Regiones Determinantes de Complementariedad.
<b>CIOMS</b>	Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas. (Council for International Organizations of Medical Sciencies).
<b>CHM</b>	Hierbas medicinales chinas.
<b>CMH</b>	Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
<b>CYP</b>	Citocromo.
<b>DILI</b>	Lesión Hepática Inducida por Drogas. (Drug-Induced Liver Injury).
<b>DS</b>	Desviación estándar
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético.
<b>FA</b>	Fosfatasa Alcalina.
<b>FHA</b>	Fallo hepático Agudo.
<b>GPX1</b>	Glutation peroxidasa 1.
<b>GST</b>	Glutation S-transferasa.
<b>GWAS</b>	Estudio Amplio de Asociación Genómica. (Genome-wide association study).
<b>HLA</b>	Antígeno Leucocitario Humano. (Human Leucocyte Antigen).

<b>HTX</b>	Hepatotoxicidad
<b>H2O2</b>	Peróxido de hidrogeno.
<b>KIRs</b>	Receptores de Células Natural Killer similares al de las Inmunoglobulinas. (killer cell Ig-like receptors).
<b>IC</b>	Intervalo de confianza.
<b>IFN</b>	Interferón.
<b>IL</b>	Interleuquinas.
<b>ILTs</b>	Transcriptores similares al de las Inmunoglobulinas. (Immunoglobulin like transcripts).
<b>ITAM</b>	Motivos de Activación del Inmunoreceptor.
<b>ITIM</b>	Receptores de tirosina con motivo inhibitor. (Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs).
<b>LCR</b>	Complejo del Receptor de Leucócitos. (leukocyte receptor complex).
<b>LSN</b>	Límite Superior de la Normalidad.
<b>MDR1</b>	Proteína Resistente a Múltiples Drogas.
<b>MRP</b>	Proteínas Relacionadas con la Resistencia a Múltiples Fármacos.
<b>NAT</b>	N-Acetiltransferasa-AcetilCoA.
<b>NK</b>	Natural Killer.
<b>NO-HTX</b>	No hepatotoxicidad.
<b>OR</b>	Odds Ratio.
<b>PALF</b>	Fallo Hepático Agudo en Pediatría. (Pediatric Acute Liver Failure).
<b>PAMP</b>	Patrones Moleculares Asociados a Patógenos.
<b>PPTM</b>	Permeabilidad transitoria mitocondrial
<b>RAF</b>	Reacción Adversa a Fármacos.
<b>RAG</b>	Genes de Activación de la Recombinación.

<b>RER</b>	Retículo Endoplasmático Rugoso.
<b>ROS</b>	Especies Reactivas al Oxígeno.
<b>RUCAM</b>	Método de Evaluación de Roussel UCLAF. (Roussel Uclaf Assessment Method).
<b>SOD</b>	Superóxido Dismutasa.
<b>SSO</b>	Oligonucleótidos de Secuencia Específica.
<b>TADH</b>	Transtorno por Déficit de Atención e Hiperactividad.
<b>TCR</b>	Receptor de células T.
<b>TGF</b>	Factor de Crecimiento Transformante.
<b>TNF</b>	Factor de Necrosis Tumoral.
<b>ULN</b>	Límite Superior de la Normalidad. (Upper Limit of Normality)
<b>WM</b>	Medicina tradicional Occidental. (Western Medicine)

# I. INTRODUCCIÓN

## I. INTRODUCCIÓN

La infancia abarca un periodo caracterizado por el crecimiento y el desarrollo con un paulatino proceso de maduración de órganos y sistemas y la consiguiente variabilidad en la cinética y la respuesta a los fármacos. Esto convierte al niño en un sujeto especialmente vulnerable a los efectos adversos de los medicamentos por lo que los pediatras, farmacólogos clínicos, agencias reguladoras e industria farmacéutica reconocen la necesidad de evaluar adecuadamente los fármacos que van a ser utilizados en la infancia para controlar la seguridad, eficacia y calidad de los mismos. Sin embargo, la información con validez científica sobre la que se sustentan actualmente las prescripciones en niños es muy escasa, utilizándose la información disponible para la población adulta(1). Estudios recientes ponen de manifiesto la magnitud del empleo de fármacos en pediatría sin indicación en ficha técnica (generalmente debido a la ausencia de alternativas terapéuticas registradas) o su empleo de una forma distinta a la contemplada en la licencia de comercialización, alcanzando cifras de un 90% en neonatos ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos(2).

Los pediatras necesitan asegurar una mínima toxicidad farmacológica y que al mismo tiempo el niño no se vea privado de los posibles beneficios de los medicamentos que pueda necesitar(3).

Uno de los motivos más importantes de la retirada de fármacos del mercado es la toxicidad hepática. Ésta puede presentarse con manifestaciones clínicas y patológicas que evocan cualquier variedad de enfermedad hepática conocida, y cuya intensidad puede oscilar desde elevaciones asintomáticas de las enzimas hepáticas hasta insuficiencia hepática fulminante. La forma de presentación más común es un cuadro clínico que simula una hepatitis vírica aguda, con ictericia, náuseas, astenia y malestar o dolor abdominal. Dado que, a menudo, no se dispone de material histológico para etiquetar la lesión hepática, una conferencia internacional de consenso propuso una clasificación basada en el valor de la Alanina Aminotransferasa (ALT) sérica y de la Fosfatasa Alcalina (AP) expresadas en múltiplos del límite superior de la normalidad y la relación entre ambas, para el

diagnóstico de hepatotoxicidad. Esta clasificación, aunque refleja de forma imperfecta algunos patrones específicos, exhibe una buena correlación, en general, con la lesión hepática subyacente y es excelente a efectos pronósticos(4).

En la práctica clínica, el proceso de atribución de causalidad se sustenta en la sospecha de hepatotoxicidad junto con la pertinente exclusión de causas específicas, seguidos de la minuciosa búsqueda de exposición a tóxicos, una secuencia temporal compatible y el análisis del potencial hepatotóxico de los agentes identificados(5,6) (ANEXOII). La lista de fármacos capaces de producir hepatotoxicidad se incrementa constantemente y cualquier fármaco debe ser considerado potencial responsable.

La disponibilidad de marcadores moleculares de toxicidad hepática aplicables a la práctica clínica parece aún lejana. Por ello, el diagnóstico de hepatotoxicidad continúa siendo un desafío para el clínico(7,8).

Actualmente, la identificación de factores de susceptibilidad para la hepatotoxicidad idiosincrásica se orienta principalmente a la búsqueda de genes candidatos en estudios de asociación, comparando poblaciones de sujetos afectos con sujetos expuestos a los mismos fármacos que no desarrollan hepatotoxicidad, o controles sanos.

Los estudios genéticos y de biomarcadores podrían permitirnos avanzar en el conocimiento del mecanismo etiopatogénico del daño hepatotóxico e identificar a los niños susceptibles a la toxicidad de determinados fármacos.

## I.1 Recuerdo Anatómico-Fisiológico

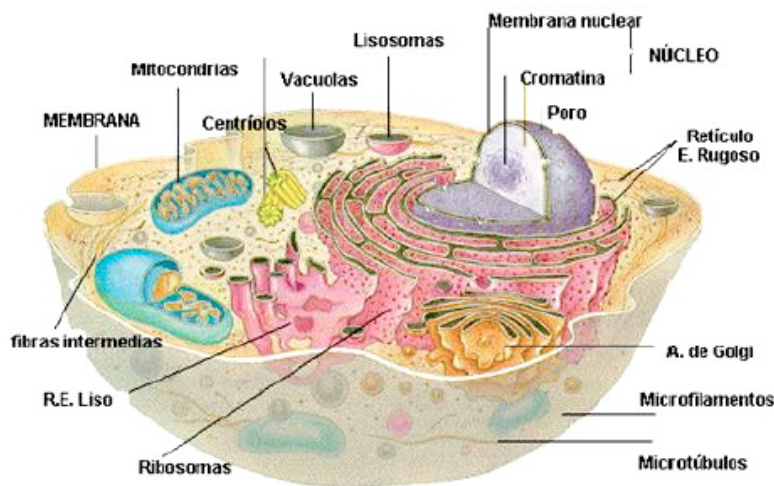
El hígado es el órgano sólido más grande del cuerpo humano e interviene en numerosas funciones esenciales incluyendo la producción de bilis, la regulación de las proteínas y la glucosa plasmática, y la biotransformación de fármacos y todas las toxinas en general. Es el órgano que primero se pone en contacto con los nutrientes y xenobióticos absorbidos por vía enteral, a través de la vena porta y, a través de la arteria hepática, le llegan otros productos del metabolismo y las sustancias que entran en el organismo por una vía distinta a la enteral.

### I.1.1 Células en el hígado.

En el hígado distinguimos 4 tipos principales de células:

- **Hepatocitos**

Verdaderos motores de la biosíntesis hepática y reacciones de biotransformación de las sustancias externas, por ello disponen de un prominente sistema de Golgi, Retículo endoplásmico rugoso y un número suficiente de mitocondrias para aportar las altas demandas energéticas que tiene el hepatocito.



**Figura 1.** *Hepatocito*



- **Células endoteliales**

Recubren los sinusoides y tienen como función principal la de establecer una barrera entre la sangre circulante y los hepatocitos

- **Células de Kupffer**

Representantes de los macrófagos con un papel primordial en el inicio de la respuesta inmune inicial frente a bacterias, virus y toxinas. También son los encargados de eliminar los productos derivados de la citolisis y de los eritrocitos envejecidos, recuperando el grupo Hem que posteriormente se transformará en bilirrubina.

- **Celulas de Ito o estrelladas**

Situadas en los espacios de Disse, acumulan grasas y vitamina A. También están relacionadas con la producción de colágeno y la evolución a fibrosis o cirrosis hepática.

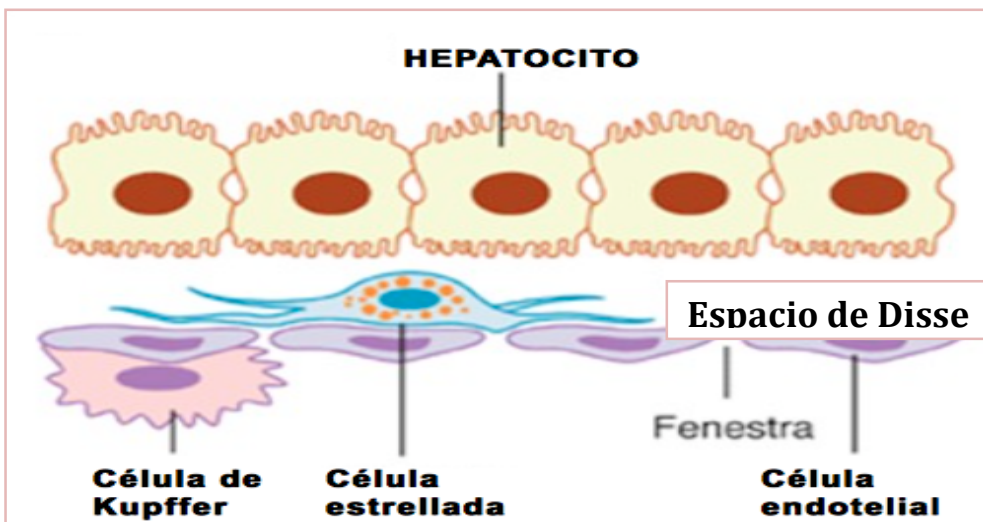
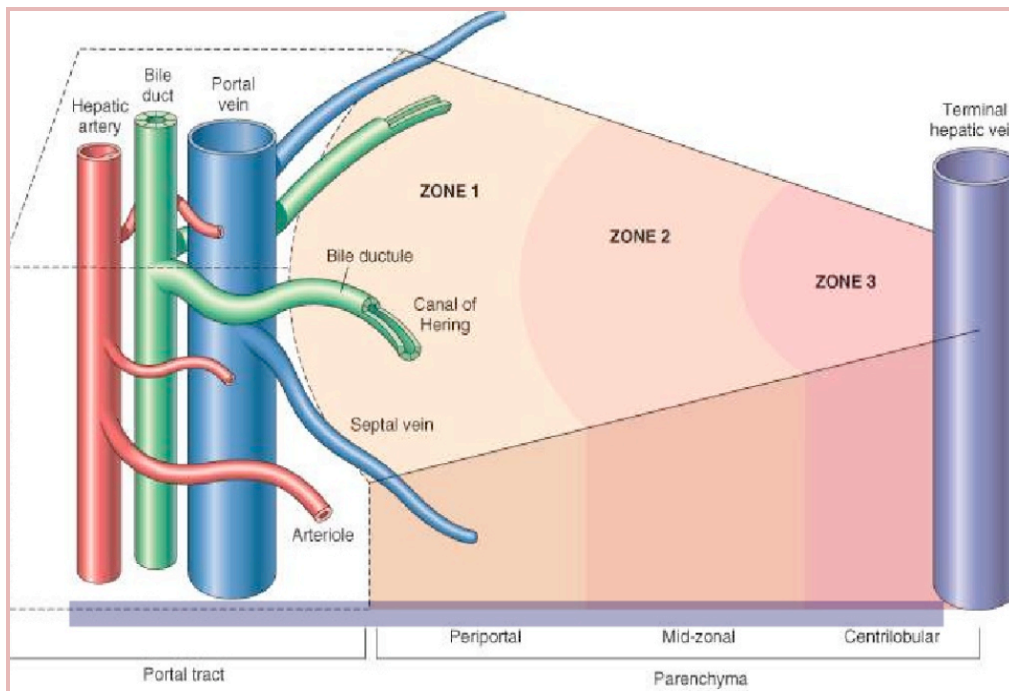


Figura 2. Distribución celular en el hígado.

El *acino* es la unidad anatomo-funcional; comprende el tejido irrigado por las ramas terminales de la arteria hepática y vena porta que se mezclan a través de una anastomosis senocapilar, garantizando así una irrigación uniforme desde toda la periferia del lobulillo hepático clásico hacia la vena central.

El parénquima se divide en tres zonas en función de la proximidad a las triadas portales(9).



**Figura 3.** *Acino hepático.*

Los hepatocitos de la zona 1 reciben un aporte más rico de oxígeno y nutrientes y disponen de una alta concentración de enzimas que intervienen en la respiración celular, por lo que se encargan principalmente de la síntesis de glucógeno y proteínas. Los hepatocitos de la zona 3, los más próximos a las venas centrolobulillares, reciben poco oxígeno. La producción energética se realiza predominantemente por vía glicolítica y contienen una mayor concentración de enzimas del sistema Citocromo P450 (CYP). Los hepatocitos de la zona 3 están más especializados en las reacciones de biotransformación y por tanto expuestos a la acción de los xenobióticos.

En resumen, las células alejadas de la fuente portal, zonas acinares 2 y 3 tienen un fenotipo enzimático específico que condiciona una respuesta diferente a la hipoxia y a la exposición a tóxicos.

### **I.1.2 Metabolismo hepático de los xenobióticos.**

En el hígado tiene lugar la biotransformación de fármacos y todas las toxinas que precisan ser metabolizadas por el huésped, tanto para conseguir su efecto farmacológico como para su posterior eliminación. Este proceso tiene lugar en diferentes 3 etapas:

#### **Reacciones de fase I**

En esta fase se transforma el sustrato mediante oxidación o demetilación por la acción de las enzimas que componen el sistema P450 o citocromo P450 (CYP). Las enzimas del sistema CYP están compuestas por una apoproteína y un grupo hemo. En el hígado se encuentran en la membrana citoplasmática, mitocondrial y en el retículo endoplasmático del hepatocito (10)· (11) La reacción más común catalizada por el CYP es una mono-oxigenación del sustrato. Previa transferencia de electrones de NADPH, el grupo Hem se une a un átomo de oxígeno, que posteriormente transfiere a la molécula metabolizada en forma de grupo hidroxilo.

Otras reacciones posibles en esta fase son O-, N- o S- desalquilación o deshalogenación. El resultado de las reacciones en esta fase es la generación de un grupo hidroxilo, que permite posteriormente a la sustancia en cuestión participar en la reacciones de Fase II (10,11).

Cada enzima está codificada por un gen que recibe la misma denominación, escrita en cursiva. Se conocen más de 300 componentes de esta superfamilia de genes. En el ser humano se han relacionado con el metabolismo de las drogas y hormonas, principalmente, las familias *CYP1*, *2* y *3*

#### **Reacciones de fase II**

Van dirigidas a completar el metabolismo de aquellas sustancias que tras la fase 1 no son lo suficientemente hidrófilas.

Son reacciones de conjugación con un grupo polar hidrosoluble como el ácido glucurónico, sulfato, acetato, glicina, glutatión o grupo metilo(9)· Estas reacciones son catalizadas por transferasas o conjugasas. Como consecuencia se produce

normalmente un descenso en la actividad farmacológica y un aumento en la excreción.

Dos de las familias más importantes de enzimas de fase II son: La glutation S-transferasa (GST) (12), (13) y la N-acetiltransferasa-acetilCoA (NAT) (14).

Las modificaciones en esta fase pueden ser las únicas requeridas en el metabolismo de algunas sustancias pero la mayoría precisan que las reacciones de fase 2 estén precedidas o seguidas por la oxidación de fase 1. Compuestos que precisan glucuronidación son por ejemplo: APAP, morfina, furosemda y bilirrubina (10,11).

### **Reacciones de fase III**

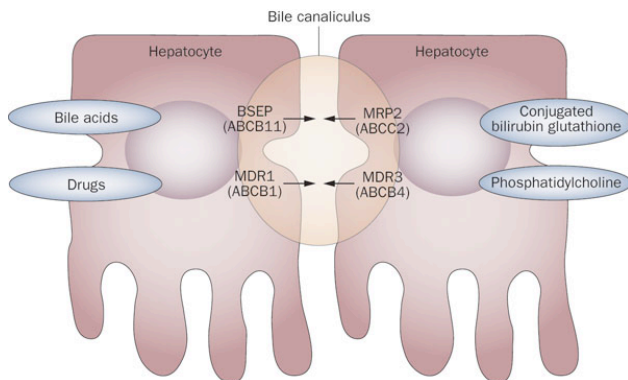
Dependientes de la acción de distintas familias de proteínas transportadoras que según su localización se diferencian en(12):

- Proteínas localizadas en la *membrana basolateral* (sinusoidal); importantes en la regulación de la exposición de fármacos y toxinas determinando la cantidad de fármaco y/o metabolitos que llegan a la membrana canalicular. Están representados por la superfamilia de polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (OATP) (15) que facilitan el transporte de sales biliares conjugadas, esteroides, glucurónidos y cationes orgánicos. Numerosos fármacos, como pravastatina, metotrexato, irinotecan o enalapril, son sustratos de estos transportadores(16).
- Transportadores de la membrana apical o canalicular, responsables del aclaramiento hepático de los fármacos, así como de la secreción de sales biliares y otros constituyentes de la bilis a través de la membrana canalicular del hepatocito a la bilis(17), (18). Son proteínas dependientes de ATP, denominadas ABC transportadoras o ATP-binding-cassette. Las más importantes son:
  - MDR1 (ABCB1 ó P-glicoproteína) es la proteína más estudiada, responsable de la excreción biliar de fármacos bipolares catiónicos, y expresada en la superficie luminal de los enterocitos, en la membrana canalicular de los hepatocitos y en la membrana apical luminal de las

[Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

células epiteliales ductales del páncreas y renales tubulares. (9)(19)

- MRP2 (ABCC2. Proteínas relacionadas con la resistencia a múltiples fármacos)(20)
- BSEP (ABCB11. Bile salt export pump), bomba de expulsión de sales biliares



**Figura 4.** Transportadores hepatobiliares.(19)

## I.2 Hepatotoxicidad. Definición y clasificación.

### Hepatotoxicidad.

Se considera reacción adversa hepática o hepatotóxica, toda lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos (xenobiótico) (21).

Al jugar el hígado un papel clave en el proceso de biotransformación que precisan los medicamentos y remedios naturales para ser eliminados del organismo, es con frecuencia un órgano diana de las posibles reacciones adversas que éstos pueden causar(9) . En este proceso intervienen una gran variedad de enzimas solubles que permiten que los fármacos liposolubles se transformen en moléculas hidrosolubles que pueden ser excretadas por la bilis o el riñón.

Se acepta, desde un punto de vista mecanístico, que variaciones en la bioactivación, detoxificación, transporte de los fármacos, así como una inadecuada respuesta del sistema inmune innato y adquirido, una vez que la lesión se ha producido, y de los mecanismos de reparación y regeneración tisular, serían responsables de la aparición de DILI.

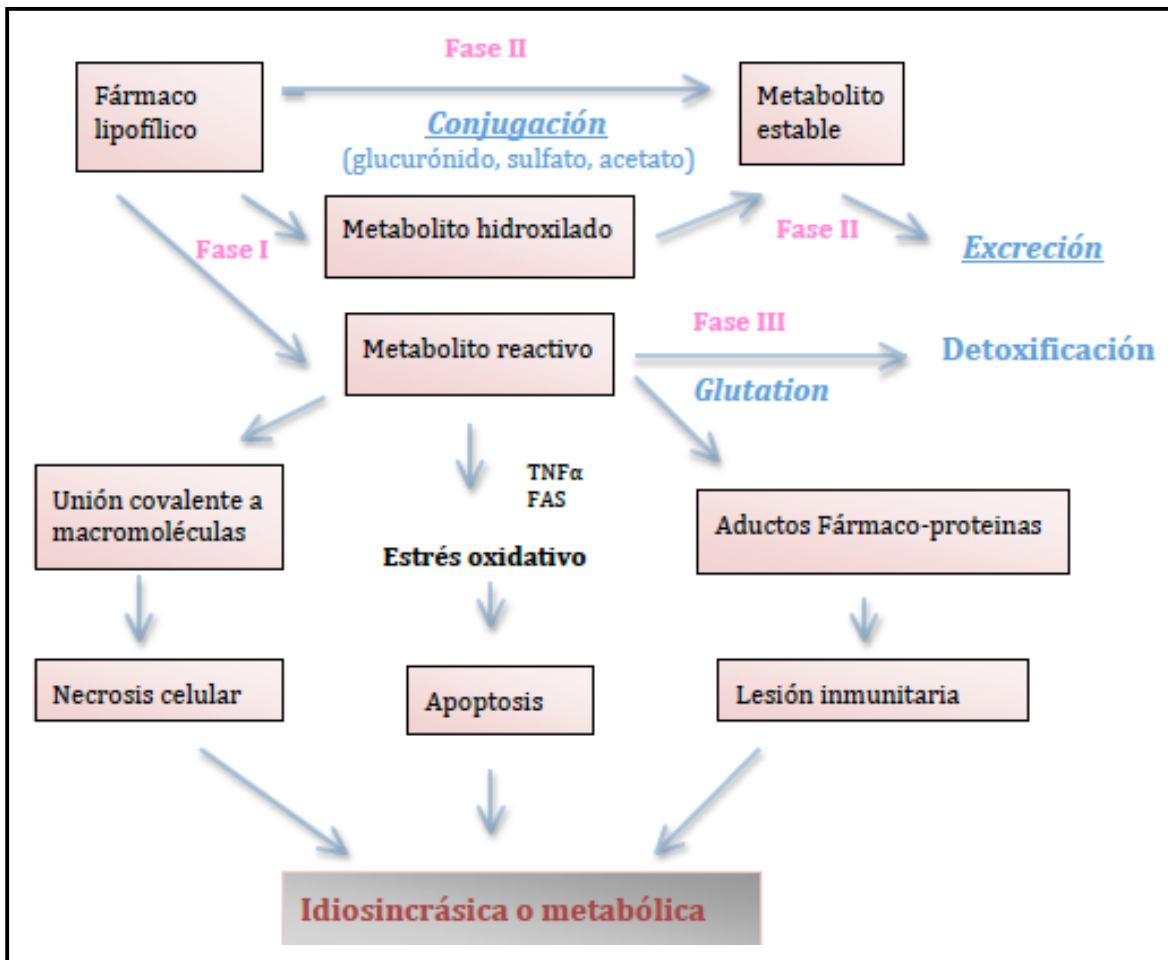


Figura 5. Adaptado de Hepatotoxicidad y fases de la biotransformación hepática(9).

### I.2.1 Clasificación fisiopatológica

Los mecanismos de daño hepático pueden dividirse en dos grupos(22,23) :

- Toxicidad intrínseca o predecible(24) (25) (por ejemplo el paracetamol a dosis supratrapéuticas)
- Toxicidad idiosincrásica o inesperada(25) (26), que a su vez puede ser metabólica o debida a un mecanismo inmunoalérgico de hipersensibilidad.

#### I.2.1.1 Toxicidad intrínseca o predecible.

Producen lesión hepática de forma previsible, dependiente de la dosis y reproducible en casi todas las especies de mamíferos. El periodo de latencia es corto y consistente. Salvo el paracetamol o acetaminofeno (Ácido para-acetil aminofenol. APAP), hay pocas sustancias, de uso habitual en la clínica, con estas características. La administración de 4 gr/día de APAP, dosis máxima

[Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

recomendada, produce una elevación de la alanino-aminotransferasa (ALT) tres veces mayor del límite superior de la normalidad (LSN) en el 44 % de voluntarios sanos(24) (25). Sin embargo a dosis bajas se ha demostrado seguro y no relacionado con daño hepático clínicamente relevante.

### **I.2.1.2 Idiosincrática o inesperada(26)**

Este tipo de reacciones son impredecibles, específicas de especie y no existe relación constante entre la dosis, vía de administración o duración del tratamiento y la aparición o severidad de la reacción.

Se distinguen dos tipos de mecanismos para estas reacciones(27) :

#### **I.2.1.2.1 Idiosincrasia metabólica**

Está condicionada por un metabolismo alterado del fármaco, que puede provocar la ausencia de metabolismo de un precursor determinado o bien la génesis de una mayor cantidad de metabolitos tóxicos en el paciente frente a otros individuos. El daño se debe a la acción directa del fármaco o de su metabolito tóxico sobre la diana hepatocitaria(28). En una idiosincrasia metabólica, el periodo de latencia varía de semanas a meses, y la recurrencia tras la reexposición puede variar de días a semanas tras la misma. Los signos de hipersensibilidad están ausentes.

#### **I.2.1.2.2 Idiosincrasia inmunoalérgica**

Se debe a una respuesta inmune contra el hepatocito. El periodo de latencia entre el consumo del fármaco y la aparición de los síntomas va de una a cinco semanas aproximadamente, y la recurrencia tras la reexposición al fármaco es precoz. Entre los signos clínicos de hipersensibilidad están el rash, eosinofilia, fiebre, artritis, artralgias, adenopatía y leucocitosis.

La lesión hepática más frecuente es la necrosis, generalmente centrolobulillar acompañada de un infiltrado inflamatorio que puede contener eosinófilos y/o granulomas. La presencia de anticuerpos en suero es frecuente.

En general se postula que el fármaco es transformado mediante los citocromos, oxidasas, peroxidasas y sintetetasas en un metabolito reactivo, el cual se une bien a la enzima que lo generó o bien a otra proteína plasmática

formando un **neoantígeno** que actúa como diana a la respuesta inmune (el neoantígeno será reconocido por los linfocitos T y B, a través del receptor específico y asociados a moléculas de clase II, induciendo una respuesta inmune que sería la responsable de la reacción hepatotóxica idiosincrásica. Dicha respuesta se caracteriza por la producción de anticuerpos que reconocen bien a la proteína nativa, a la modificada o a otras proteínas celulares.

Son fármacos ejemplo de este tipo de toxicidad el diclofenaco,  $\alpha$ -metildopa, hidralacina, nitrofurantoina, estatinas o agentes anti-TNF- $\alpha$ (29).

Sin embargo, la mayoría de las veces no existe una clara distinción entre un mecanismo metabólico y una reacción de hipersensibilidad ya que ambos suelen estar implicados al mismo tiempo aunque con variable intensidad.(30)

### **I.2.2 Clasificación Histopatológica.**

El espectro de presentación de esta patología es muy amplio tanto en sintomatología como en severidad. Puede manifestarse como una elevación asintomática de transaminasas hasta un fallo hepático agudo. Además puede imitar casi cualquier desorden hepático tanto crónico como agudo, siendo la hepatitis aguda (similar a la viral) la manifestación más frecuente(31).

Dado que de forma rutinaria no se suele realizar una biopsia hepática ante la sospecha de DILI, los marcadores bioquímicos de daño hepatocelular son los utilizados para definir el daño hepático(32).

#### **I.2.2.1 Colestasis**

La colestasis inducida por fármacos se caracteriza por la alteración del flujo biliar y retención de ácidos biliares con efecto citotóxico, responsables de daño hepático agudo y crónico, con resultado final de fibrosis biliar y cirrosis(19).

En algunos casos, la colestasis resulta de la inhibición del transporte de la bilirrubina o sales biliares sin datos de inflamación o necrosis, denominada en este caso *colestasis simple*. Con mayor frecuencia, la colestasis está asociada a lesión de colangiocitos en mayor o menor grado, provocada por la excreción en la bilis de metabolitos tóxicos resultantes de la biotransformación hepática(33).



Sin embargo, la lesión idiosincrática de tipo colestático se ha relacionado de forma más generalizada con mecanismos inmunoalérgicos, causantes del daño en el epitelio biliar y asociados a síntomas de alergia(34)

Los síntomas asociados a colestasis son: ictericia, prurito y elevación de FA. El aumento de FA consume grupos fosfato con la consiguiente disminución de la concentración de ATP. Una disminución prolongada de ATP en los colangiocitos puede producir una ductopenia progresiva o “*Vanishing bile duct syndrome*” que aparecen en el 1% de los pacientes con DILI colestásica.

La mayoría de las drogas que causan colestasis son sustrato de alguna de las diferentes proteínas transportadoras (ATPdependientes) localizadas en la superficie canalicular del hepatocito(19) (Figura 4).

La BSEP (bile salt export pump) o ABCB11 puede ser inhibida directa o indirectamente por ciclosporina, rifampicina y estradiol (19).

Variaciones en los genes que codifican estas proteínas transportadoras pueden ser responsables(35), no solo de enfermedad hepática progresiva, sino también de la susceptibilidad de algunos individuos a presentar un transporte alterado de determinadas drogas y por ello una mayor predisposición a sufrir daño hepático progresivo relacionado con el uso frecuente de estas sustancias.

En un estudio realizado sobre 36 pacientes con lesión inducida por fármacos, 23 con colestasis y 13 con afectación hepatocelular, se han identificado cuatro mutaciones diferentes en genes codificantes de la familia de transportadores, una de ellas asociada con expresión reducida de BSEP(35) (36).

Estos datos sugieren que la presencia de determinados polimorfismos en los péptidos transportadores puede tener efectos farmacodinámicos en las sustancias que son sustratos de ellos y favorecer la aparición de DILI de tipo colestático.

Otro hecho a considerar es la posible interacción entre distintos fármacos que comparten la misma proteína transportadora, siendo probable que al unirse uno al receptor proteico, modifique la capacidad de excreción del otro aumentando su capacidad de producir lesión hepática.

### **I.2.2.2 Apoptosis inducida por ácido biliar**

La retención de los componentes de la bilis dentro del hepatocito durante la colestasis está asociada con apoptosis celular(37). Entre los complejos y multifactoriales mecanismos de apoptosis hepatocítica relacionada con colestasis, es conocida la especial hepatotoxicidad de los ácidos biliares hidrofóbicos, como los ácidos glico-quenodesoxicólico (GCDC) y desoxicólico, y como estos se acumulan en el hígado en enfermedades hepáticas colestáticas.

La hepatotoxicidad intrínseca de moléculas hidrofóbicas es evidente en los niños que tienen una mutación en la BSEP de la membrana canalicular. La incapacidad para secretar ácidos biliares en la bilis provoca, en estos pacientes, lesión hepática, cirrosis y muerte por insuficiencia hepática(38).

La apoptosis ocurre por dos posibles vías, mediante la activación del receptor de muerte celular *Fas* o por alteración mitocondrial que comentaremos más adelante.

### **I.2.2.3 Neutrófilos y Macrófagos en Hepatotoxicidad**

En algunos casos se produce una reacción inflamatoria con reclutamiento de macrófagos y neutrófilos en los sinusoides hepáticos(39).

Ésto puede agravar la lesión hepática inicial por la acción de los mediadores tóxicos liberados por éstos en el proceso.

En cultivos in vitro se han identificado las proteasas como los mediadores críticos de daño celular y se ha demostrado el papel protector de los inhibidores de éstas frente a la hepatotoxicidad provocada por los neutrófilos(40). La activación de éstos y las células de Kupffer puede ser de forma directa o mediante la activación del complemento. Las células de Kupffer liberan mediadores citotóxicos como sustancias reactivas del oxígeno (ROS) y proinflamatorios como citoquinas y quimiocinas. El factor C5a y algunas citoquinas preparan y activan los neutrófilos para su reclutamiento a nivel vascular intrahepático. Si son estimulados quimiotácticamente, los neutrófilos se extravasan y adhieren a los hepatocitos e inducen muerte celular necrótica mediante la liberación de ROS y proteasas. Las moléculas de adhesión de neutrófilos (integrinas  $\beta 2$ , especialmente CD11b/CD18)

e ICAM-1 en las células endoteliales y hepatocitos son esenciales para la migración de los neutrófilos desde el sinusoides, extravasación y para la producción de ROS.

Las citoquinas pueden inducir la formación de moléculas de adhesión hepática y quimioquinas que a su vez están también moduladas por el estrés oxidativo.

#### **I.2.2.4 Toxicidad mitocondrial**

Los mecanismos conocidos de toxicidad mitocondrial son: Depleción de DNA mitocondrial, inhibición de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos e inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial(41).

La mitocondria es la principal fuente de producción de energía en forma de ATP vía fosforilación oxidativa. Sin embargo, la cadena respiratoria mitocondrial produce también el anión superóxido ( $O_2^-$ ), un radical libre altamente reactivo y citotóxico formado por la reducción parcial del oxígeno. La eliminación de este radical es efectuada por la enzima mitocondrial superóxido dismutasa (*SOD*). Esta enzima está codificada por el gen *SOD2*, que contribuye a reducir el estrés oxidativo transformando el anión superóxido en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y  $O_2$ . La *catalasa* y *glutathión peroxidasa 1 (GPX1)* forman parte del sistema antioxidante de defensa celular y catalizan la reducción de peróxido de hidrógeno a agua(42). Si los *mecanismos de defensa antioxidante* se ven comprometidos y/o se produce un incremento en el estrés oxidativo mitocondrial, que puede ser inducido por ciertos fármacos como diclofenaco, amiodarona, valproico o análogos de nucleósido, ésta se constituye en un regulador crítico de la muerte celular mediante la oxidación de grupos sulfidrilos proteicos o la activación de vías de señalización mitocondrial de muerte celular. Así pues, la disfunción mitocondrial y el daño oxidativo se encuentran íntimamente involucrados en la patogénesis de DILI y la respuesta celular al estrés químico juega un papel determinante en la aparición del daño.

La mayoría de los análogos nucleósidos, inhibidores de la transcriptasa inversa, han demostrado su capacidad para inhibir la DNA polimerasa gamma, enzima encargada de la replicación y reparación del DNA mitocondrial por lo que se produce una depleción de éste y, de forma indirecta, de las funciones mitocondriales. La fialuridina, un análogo de nucleósido propuesto para el

tratamiento de la hepatitis B crónica, puede causar esteatosis microvesicular y fallo hepático agudo(43).

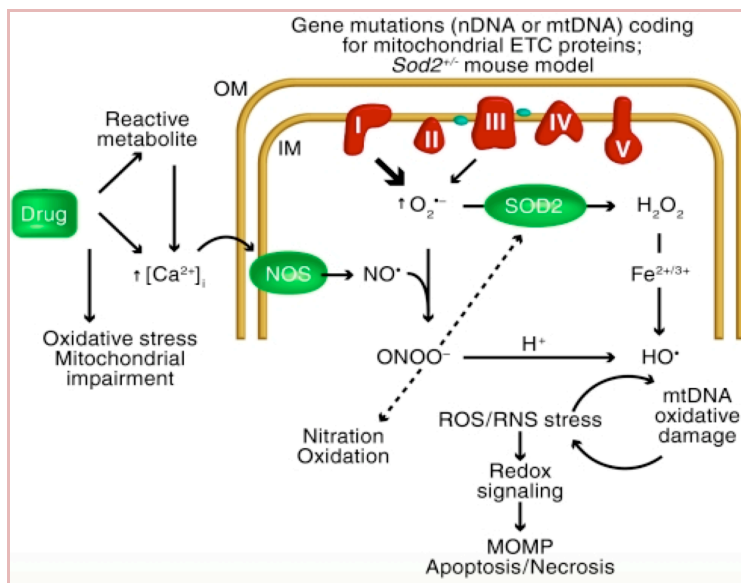
El VPA puede producir lesión hepática por alteración mitocondrial por distintos mecanismos:

- Disminución del DNA mitocondrial en pacientes portadores de mutaciones en el gen *POLG*, que codifica la DNA polimerasa gamma(44).
- Inhibición directa tanto de la oxidación de ácidos grasos, relacionada con esteatosis microvesicular, como de la cadena respiratoria con la consiguiente reducción de la fosforilación oxidativa. La disminución de ATP intracelular puede ser causa de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) responsables de daño y muerte celular(19).

La esteatosis hepática microvesicular, asociada al tratamiento con VPA así como con tetraciclinas, amiodarona y varios antivirales análogos de nucleósidos(19) (45) es una forma poco frecuente pero característica de DILI. Se define por el acúmulo de microvesículas de grasa en el hepatocito y reducción en el número de mitocondrias. Este tipo de lesión puede evolucionar a esteatosis macrovesicular con necrosis focal, fibrosis y proliferación de conductos biliares.

La mitocondria tiene también un importante papel en la apoptosis celular o muerte programada celular hepática. La apertura del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (PPTM), permite la liberación de citocromo C que a su vez puede activar a otros factores proapoptóticos (46). (47). Este mismo mecanismo puede causar muerte celular directa, dependiendo del número de mitocondrias afectadas. Si la apertura del poro transicional ocurre en la totalidad, o la mayoría, de las mitocondrias del hepatocito, se produce una depleción de ATP suficiente para causar muerte celular; en cambio, si solo son algunas mitocondrias las afectadas, las restantes conservan su capacidad para producir energía y así evitar la muerte celular aguda(41).

En un estudio realizado en pacientes españoles se ha encontrado asociación entre polimorfismos de los genes *SOD2* y *GPX1*, ambos con papel protector frente al estrés oxidativo mitocondrial, y la susceptibilidad a desarrollar DILI(47).



**Figura 6.** Interrelación de los distintos mecanismos de lesión mitocondrial por alteración del metabolismo oxidativo. (41)

### 1.2.2.5 Mecanismos inmunológicos

Los mecanismos inmunes implicados en la etiopatogénesis de DILI incluyen alteraciones tanto a nivel del sistema inmune innato como adaptativo.

#### 1.2.2.5.1 Sistema Inmune Innato:

El sistema inmune innato se constituye como un modulador esencial de la extensión e intensidad del daño hepático una vez iniciado por diferentes mecanismos(28).

El estrés celular origina señales que estimulan en el organismo la participación de células del sistema inmune innato, particularmente células de Kupffer y Natural killer (NK). La respuesta del sistema inmune determina la activación simultánea de 2 cascadas: una proinflamatoria, con la producción de citoquinas como TNF (Factor de Necrosis Tumoral), INF $\gamma$ , FasL (Fas ligando), que es contrabalanceada por la activación de interleuquina (IL)-10, IL-6 y ciertas prostaglandinas que juegan un papel hepatoprotector. Del balance en la producción de estos mediadores dependerá que la lesión inflamatoria inicial se resuelva (“adaptación”) o bien progrese a un daño hepático manifiesto.

Cuando la respuesta de citoquinas antiinflamatorias es baja, el umbral

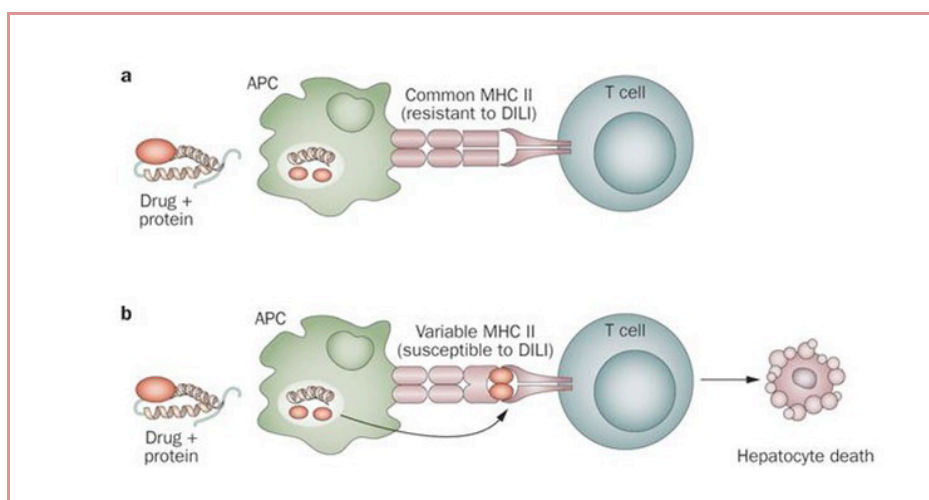
para la aparición de daño hepático disminuye, y a la inversa(48).

Estos hallazgos sugieren la importancia que podría tener la existencia de variantes alélicas defectivas de determinadas citoquinas inmunorreguladoras en la susceptibilidad a presentar DILI, probablemente como consecuencia de la incapacidad de adaptarse una vez iniciada la cascada de eventos que conducen a la lesión hepática “Hipótesis de la señal de peligro”.

### 1.2.2.5.2 Sistema inmune adaptativo:

#### 1.2.2.5.2.1 Hipótesis del hapteno(19).

Los fármacos (xenobióticos en general), habitualmente moléculas de tamaño insuficiente para actuar como antígenos, se comportan como haptenos que al unirse a proteínas hepáticas, como las enzimas del sistema CYP, forman aductos Xe-CYP con capacidad para desencadenar una respuesta del sistema inmunológico. Estos aductos pueden ser fagocitados por los macrófagos (APC) que posteriormente presentan la molécula externa, o fragmentos de ésta, a las células T helper mediante las moléculas de clase II del complejo mayor de compatibilidad (MHC II). Dependiendo del genotipo HLA del huésped se puede producir una activación intensa de células T que condiciona un daño del hepatocito (Figura 7), o la no activación del sistema adaptivo inmune que permite una adecuada tolerancia al fármaco.



**Figura 7.** Papel de la respuesta inmune en la hepatotoxicidad(19).

#### ***1.2.2.5.2 Variaciones genéticas de la inmunidad del huésped***

La asociación entre DILI y determinados genotipos HLA se ha establecido para varias sustancias por mecanismos diferentes a los descritos en el apartado anterior. Teniendo en cuenta los datos conocidos, las variaciones genéticas en la inmunidad del huésped pueden jugar un papel crítico en la patogénesis de DILI(19). Los mecanismos que subyacen en la diferente expresión de lesión de la hepatotoxicidad por un fármaco determinado se desconocen actualmente aunque determinados alelos HLA clase II parecen influenciar la probabilidad de que la hepatotoxicidad se exprese en forma colestásica/mixta(49). Son ejemplo de esto la relación entre el haplotipo HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602 y una mayor susceptibilidad a DILI colestásica por la amoxicilina-clavulánico (AC) (49,50) y el alelo HLA- B\*5701 que predispone, con un riesgo hasta 80 veces mayor, a DILI con el uso de flucloxacilina(51). (Tabla 3)

Numerosos estudios sobre estas asociaciones se han realizado en la población adulta recientemente. Una amplia exposición de este tema se desarrollará posteriormente ya que es la base del objetivo de este trabajo.

#### ***1.2.2.5.2.3 Autoimmune like DILI***

Algunas moléculas pueden causar una lesión hepática de tipo autoinmune indistinguible de la hepatitis autoinmune espontánea caracterizada por infiltración de células plasmáticas, aumento de inmunoglobulinas y presencia de autoanticuerpos, ANA y ASMA. Este mecanismo se ha asociado a fármacos como la metildopa, nitrofurantoina y minociclina(43).

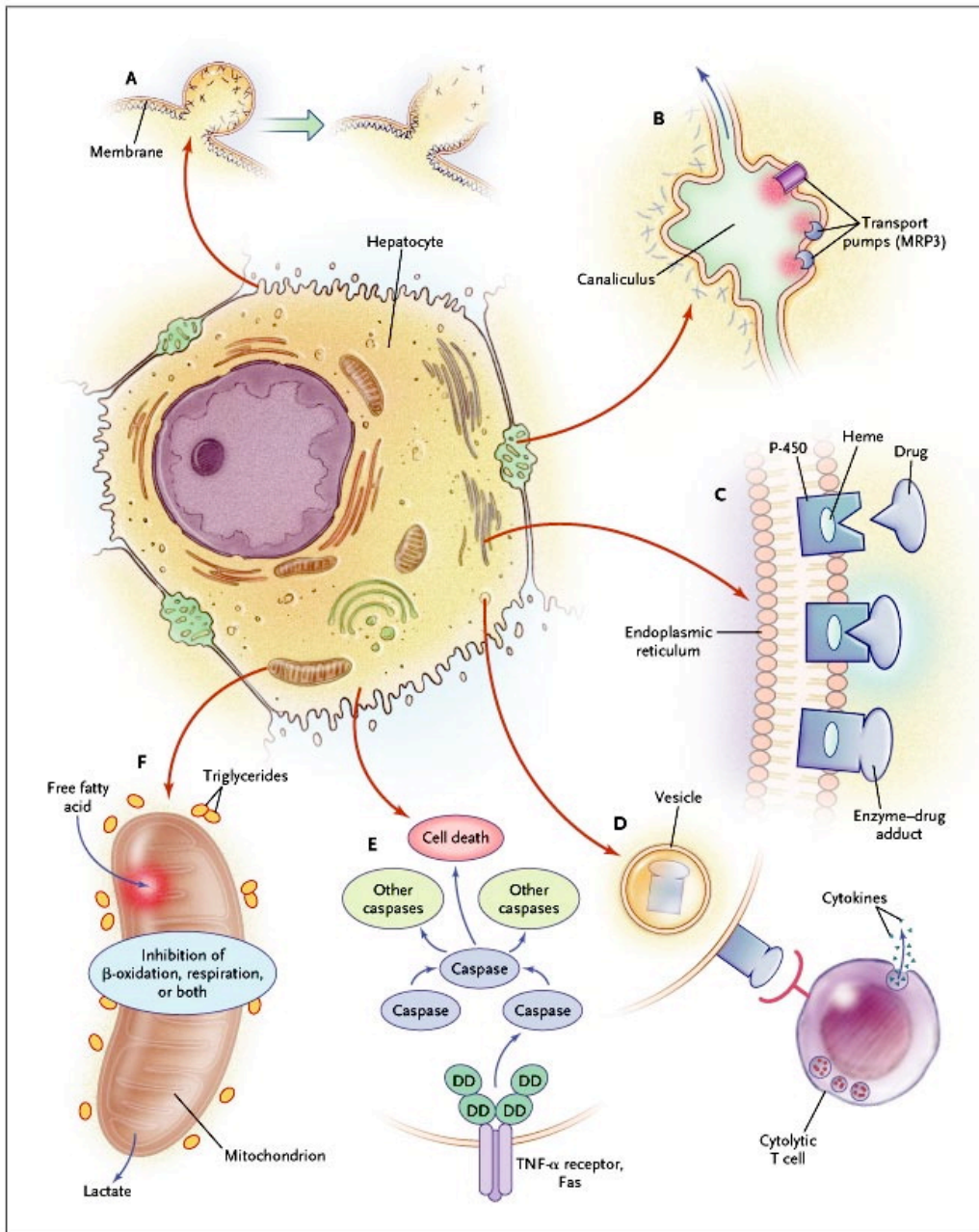


Figura 8. 6 mecanismos de lesión hepática(10).



### **I.2.3 Clasificación clínica**

Las manifestaciones clínicas asociadas a DILI no son específicas, remediando prácticamente todas las enfermedades hepáticas debidas a otras etiologías. No hay un patrón clínico, ni histopatológico o analítico, que nos ayude para establecer el diagnóstico etiológico.

Los síntomas clínicos que presenta el paciente con DILI incluyen malestar general, anorexia, náuseas y vómitos. En algunas ocasiones el paciente puede presentar síntomas de hipersensibilidad como rash cutáneo, fiebre y eosinofilia, aunque esta forma de presentación es poco frecuente y habitualmente asociada a DILI de tipo colestático (9), (28). La forma más frecuente de presentación es similar a una hepatitis aguda; icterica o anicterica(52).

El curso clínico es variable pudiendo producir desde elevaciones subclínicas transitorias de transaminasas, enfermedad crónica o fallo hepático fulminante. Dada la falta de especificidad de los hallazgos anatomo-patológicos, como ya hemos comentado, la biopsia hepática no es necesaria para poder establecer el diagnóstico de DILI, reservándose para aquellos casos de mala evolución o con etiología no aclarada, en los que es preciso excluir otras enfermedades y llegar a un diagnóstico específico(32).

Ante la diversidad de términos para definir las reacciones adversas a fármacos y por ello la imposibilidad de comparar los datos existentes en los distintos registros de farmacovigilancia y farmaindustria, se constituyó en 1986 The Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) (53,54), un grupo de trabajo formado por expertos. En 1989 CIOMS publicó el consenso alcanzado para denominar las lesiones hepáticas provocadas por fármacos y los criterios diagnósticos necesarios para cada tipo de lesión (ANEXO II). Para evitar la variabilidad de datos obtenidos en los diferentes registros, el comité de expertos de la CIOMS decidió basar el diagnóstico de lesión hepática en una serie reducida de valores bioquímicos, disponibles en la mayoría de los centros.

De esta forma se estableció que el diagnóstico de lesión hepatotóxica debe establecerse si se produce una de las siguientes condiciones(55), (56):

- Aumento de ALT superior a dos veces el límite superior de la normalidad. ( $>2N \times LSN$ )
- Aumento de la bilirrubina directa  $> 2N \times LSN$ .
- Elevación, de forma simultánea, de la AST, FA y BT, siempre que en alguno de ellos el valor sea  $> 2N \times LSN$ .

De forma consensuada se decidió también que incrementos aislados de AST, FA o BT, aun alcanzando valores superiores a 2N o incrementos de ALT entre N y 2N, deben ser considerados solo como hallazgos analíticos anormales y no necesariamente indicadores de lesión hepática.

Desde ese momento los tipos clínicos de DILI quedaron definidos en tres: *lesión hepatocelular, colestática o mixta*, según los criterios que se recogen en la Tabla 1. La proporción entre el valor de ALT y de FA, expresado como R es un indicador útil para distinguir los distintos tipos de lesión.

Tipo de lesión	Criterios
<i>L. hepatocelular</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ALT <math>&gt; 2 N</math> o</li> <li>- <math>R \geq 5</math></li> </ul>
<i>L. colestática</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FA <math>&gt; 2 N</math> o</li> <li>- <math>R \leq 2</math></li> </ul>
<i>L. mixta</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elevación ALT <math>&gt; 2 N</math> y</li> <li>- Elevación FA y</li> <li>- <math>2 &lt; R &lt; 5</math></li> </ul>

**Tabla 1.** Tipo de lesión hepática

En 2011 un Grupo de Trabajo Internacional de Expertos constituido por clínicos y científicos, realizaron una revisión de los criterios diagnósticos de DILI, estableciendo el valor de ALT en  $>5$  veces el LSN para el diagnóstico de esta patología (32). En este mismo año, en el trabajo publicado por Molleston et al. con resultados del DILIN Prospective Study, se establece el mismo umbral para el diagnóstico de DILI en pediatría(57) ( $> 5$  veces el LSN de ALT o AST o  $> 5$  veces el

LSN del valor basal previo a la droga). Sin embargo, en una revisión posterior de una serie de casos, realizada por Mansi et al. (2015) se establece un nivel > de 3 veces el LSN para el diagnóstico en niños(44). Esto muestra la necesidad de unificar criterios a nivel internacional para la población pediátrica.

Desde el punto de vista evolutivo, CIOMS definió como lesión hepática aguda aquella en la que las alteraciones analíticas tienen una duración inferior a 3 meses y lesión crónica si duran más de 3 meses.

En 2011 se publica una nueva propuesta del DILI working group que establece como lesión hepática aguda la de duración inferior a 3 meses en los casos de lesión hepatocelular o mixta y 6 meses en las formas colestáticas. Si las alteraciones hepáticas duran más de lo referido, se usa el término de lesión persistente y cuando superan el año se denomina lesión hepatotóxica crónica.

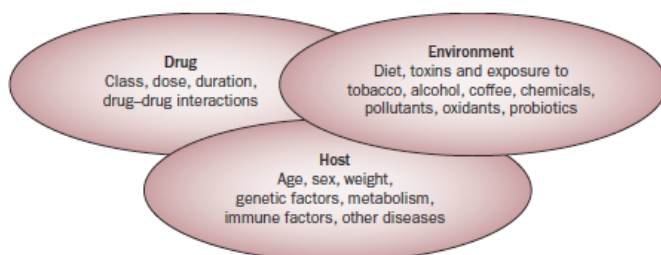
Otras definiciones estandarizadas y consensuadas por CIOMS incluyen:

- Lesión hepática grave: Si hay en orden ascendente de gravedad ictericia, actividad de protrombina <50 % y encefalopatía hepática.
- Lesión hepática fulminante: Si aparecen de forma rápida, días o pocas semanas, signos encefalopatía y alteraciones graves de coagulación.

En ausencia de datos histológicos se deben evitar los términos hepatitis, necrosis hepática, enfermedad crónica hepática y cirrosis(55) (58).

### I.3 Factores de riesgo

La lesión hepática asociada a fármacos se considera una enfermedad compleja, multifactorial, en la que la susceptibilidad del individuo a padecerla depende de la combinación de factores ambientales, propiedades del fármaco y características genéticas o adquiridas del individuo(31,59).



**Figura 9.** Factores de riesgo potenciales involucrados en la patogénesis de DILI(19).

Determinadas características del huésped favorecen un desequilibrio entre la generación de tóxicos durante el metabolismo farmacológico y la velocidad a la que pueden ser inactivados. Entre ellas podemos destacar:

\* **Edad:** se relaciona mayor riesgo de hepatotoxicidad a mayor edad aunque en algunos estudios no ha podido ser demostrado(60,61). Ciertas características como una disminución de la función renal, menos volumen de distribución o alteraciones en el metabolismo oxidativo junto a una prescripción más frecuente, el uso concomitante de múltiples fármacos y los efectos indirectos de enfermedades intercurrentes, a priori, podrían predisponer a la toxicidad(62). La toxicidad hepática de la isoniacida(63) se incrementa linealmente con la edad. Sin embargo el riesgo de hepatotoxicidad por ácido valproico es mayor en menores de 10 años(64). Esto reflejaría que la influencia de la edad es fármaco dependiente. El fenotipo tóxico también podría relacionarse con este factor, siendo la colestasis característica en mayores de 60 años(61).

\* **Sexo:** se ha comprobado un mayor riesgo en mujeres para fármacos como el diclofenaco, tetraciclinas y nitrofurantoina pero no para DILI en general(65,66). Además, según el registro español, un 89% de los casos de evolución fulminante se dieron en mujeres en las que también es más frecuente la lesión hepatocelular(60,67,68).

\* **Enfermedad hepática previa:** no se ha asociado con un incremento del riesgo de DILI para la mayoría de los fármacos, constituyendo una excepción los pacientes con hepatopatía crónica que son tratados con metotrexate y los pacientes con hepatitis B y C crónica(69), especialmente si están coinfectados por VIH(70).

\* **Comorbilidad:** la diabetes puede influir en el riesgo de mortalidad y cronicidad de DILI pero no se ha establecido un mayor riesgo para presentarla(71). También se ha relatado un mayor riesgo de DILI en

pacientes con psoriasis tratados con metrotexate que los que lo son por artritis crónica(72) aunque puede estar limitado por factores de confusión.

\* **Interacción farmacológica:** teóricamente algunos fármacos y xenobióticos pueden modular el potencial hepatotóxico de otras drogas por inducción o inhibición de su metabolismo a través del CYP 450 o por competición a nivel de los transportadores de membrana(73). El ejemplo más conocido es el efecto negativo que el alcoholismo crónico (inductor de CYP2E1) ejerce en la toxicidad por paracetamol(59). Sin embargo la evidencia para las reacciones hepatotóxicas en general, es insuficiente.

\* **Genética(74):** los factores genéticos determinan la actividad de las vías de metabolización de fármacos, la efectividad de los factores protectores del huesped y la regulación de la respuesta inmune.

Los estudios genéticos, tanto dirigidos a genes involucrados en el metabolismo de los xenobióticos (Fases I-III) como los amplios, sin una relación sospechada a priori (Genome-wide association study or GWAS) (4), (75) han mostrado en adultos asociaciones significativas en casos de DILI como se ha comentado en la etiopatogenia.

➤ Genética asociada al metabolismo de los tóxicos.

La existencia de polimorfismo genético de los CYP u otras enzimas relacionadas con el sistema de detoxificación hepático, provocan una variabilidad individual en el metabolismo de los fármacos que puede conducir a la aparición de DILI por disminución o incremento de la actividad del enzima. En la tabla 2 se enumeran los polimorfismos más conocidos y los fármacos con los que se relacionan(74).

Polimorfismo enzimático	Fármaco
- Deficiencia en CYP2D6	• Perhexilina
- Deficiencia en CYP2C19	• Tetrabramato
- Deficiencia en NAT2	• Sulfamidas, dihidralacina
- Deficiencia en sulfoxidación	• Clorpromacina
- Deficiencia en glutatión sintetasa	• Acetaminophen
- Deficiencia en GSTasab tipo T	• ¿Tacrina?
- Deficiencia en detoxificación de metabolitos reactivos.	• Halotano, fenitoína, amineptino, sulfamidas, carbamacepina

**Tabla 2.** Polimorfismos enzimáticos y HTX(74) (Adaptada de Larrey et al.)

➤ Otros determinantes genéticos.

Los GWAS realizados sobre grupos de pacientes con DILI inducida por un fármaco específico como flucloxacilina(51), amoxicilina-clavulánico(76), ximelagatran, lapatinib(77) o lumiracoxib(78) han identificado determinados polimorfismos del HLA I y II asociados significativamente(79). Éstos se muestran en la tabla 3.

Fármaco	Alelo HLA
Flucloxacilina	B*57:01 A*02:01
Amoxicilina-Clavulánico	DRB1*15:01-DQB1*06:02
Lumiracoxib	DRB1*15:01-DQB1*06:02
Lapatinib	DRB1*07:01-DQA1*02:01
Ximegalatran	DRB1*07:01-DQA1*02:01
Ticlopidina	A*33:03
Terbinafina	A*33:01
Fenofibrate	A*33:01
Ticlopidina	A*33:01

**Tabla 3.** HLA I y II asociados con la hepatotoxicidad. Adaptada de Ortega-Alonso 2016(31)

También se ha descrito la implicación de determinados polimorfismos de citoquinas como la IL-10 (IL-10-627, IL10-1082G/A, bajo productor de IL-10) (80,81) y de los receptores asociados a antígenos de las células NK (KIR) en el desarrollo de DILI. Se postula que podrían provocar una mayor extensión e intensidad de las lesiones una vez desencadenadas por cualquier mecanismo; “Hipótesis de la señal de peligro” iniciándose una respuesta inflamatoria que no se ve frenada por alteraciones a este nivel.

Tanto la asociación con los polimorfismos de HLA como IL-10 y KIR se desarrollaran más extensamente con la descripción de la respuesta inmune.

## **I.4 Diagnóstico**

Una vez establecido el diagnóstico de lesión hepática es primordial conocer la etiología. El principal requisito para establecer el origen hepatotóxico es pensar en él, ya que la amplia variedad de agentes capaces de producir un cuadro clínico indiferenciable de DILI, dificultan y, en muchas ocasiones, nos llevan a establecer diagnósticos etiológicos erróneos. Solo si tenemos un nivel adecuado de sospecha y realizamos una historia clínica detallada, en la que consten todos los preparados, farmacológicos o naturales, así como los datos de posible exposición a tóxicos ambientales y su relación temporal con el cuadro clínico del paciente, podremos establecer un diagnóstico cierto de DILI(9) (10)(5)

Siempre hay que descartar cualquier enfermedad capaz de producir alteraciones hepáticas como infecciones por virus hepatotropos VHB, VHA, VHC, CMV, VEB; enfermedades metabólicas como la enfermedad de Wilson, o el déficit de  $\alpha$ -1 antitripsina; enfermedades autoinmunes, etc (Anexo III)

### **I.4.1 Escalas clínicas de causalidad**

El diagnóstico de DILI debe ser valorado mediante escalas clínicas que de forma objetiva establezcan la causalidad o no del fármaco sospechoso. Se debe realizar un estudio secuencial desde de la sospecha clínica inicial, datos de anamnesis sobre ingesta de posibles hepatotoxinas, su relación temporal con la [Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

enfermedad y el descarte de otras etiologías posibles.

Una de las escalas más utilizadas es la propuesta por CIOMS(53,54) (ANEXO II) también denominada RUCAM (Roussel Uclaf Assessment Method). Dicha escala se basa en un sistema de puntuación estandarizado según diferentes criterios: cronológicos, evolutivos, factores de riesgo, fármacos concomitantes, exclusión de causas no farmacológicas, información previa de hepatotoxicidad del fármaco y reexposición.

Finalmente el resultado se traslada a distintas categorías según la puntuación obtenida(53):

- Definida o altamente probable (> 8 puntos)
- Probable (6-8 puntos)
- Posible (3-5 puntos)
- Improbable (< 2 puntos)
- Excluida (< o igual 0 puntos).

En la práctica clínica se puede utilizar un método más simple, desarrollado y probado por María y Victorino (M&V) (82) o la más reciente, the Digestive Disease Week-Japan (DDW-J) scale,

Las tres escalas han sido analizadas y comparadas en un reciente estudio de Fontana et al sin definirse una evidente superioridad de ninguna de ellas. Se defiende la necesidad de desarrollar una escala informatizada con una base de datos que permita la incorporación de nuevos criterios de susceptibilidad (genética) y que pueda aplicarse clínicamente de una forma sencilla(83).

## **I.5 Tratamiento**

Salvo en el caso de la intoxicación por paracetamol, en el que el tratamiento con N-acetil-cisteína contrarresta sus efectos lesivos, para el resto de tóxicos ingeridos de forma aguda o crónica no existe tratamiento específico.

El tratamiento principal consiste en el cese, lo antes posible, de la administración del xenobiótico, por lo que el diagnóstico precoz es indispensable.



El uso de corticoides no está indicado de forma generalizada, utilizándose sólo en el caso de lesión hepática grave en el contexto de una reacción de hipersensibilidad multisistémica.

El único tratamiento posible en casos de fracaso hepático severo es el trasplante hepático(9).

## **I.6 Sistemas de detección y registro**

Los avances evidentes que han experimentado la biología celular, molecular y biotecnología han permitido el desarrollo de un número creciente de nuevos fármacos con una eficacia cada vez mayor, pero de forma paralela una mayor probabilidad de RAF, tanto por las características de las nuevas moléculas como por el uso combinado con otros fármacos.

Existe cada vez una mayor sensibilización sobre la seguridad del paciente y la necesidad de establecer estrategias eficaces para disminuir, en lo posible, los efectos adversos ocasionados por la asistencia sanitaria, incluyendo por su frecuencia y gravedad los relacionados con el tratamiento farmacológico. Por otro lado la implantación, cada vez más extensa en la población, de las llamadas “medicinas alternativas”, sin los controles estrictos a los que están sometidos los fármacos tradicionales, supone un mayor riesgo de exposición a posibles hepatotoxinas(84).(85,86)

No existe en la actualidad métodos sensibles para detectar en la fase de desarrollo de los medicamentos, la probabilidad de hepatotoxicidad idiosincrática. Los ensayos clínicos realizados en un número limitado de pacientes sanos, sin factores de riesgo conocidos y durante un corto periodo de tiempo, no permiten prever lo que ocurrirá cuando el medicamento sea comercializado y administrado a la población general(87).

La única forma de acercarnos a la verdadera dimensión del problema es mediante el análisis conjunto de los casos aparecidos en una población y tiempo determinados, con la ayuda de distintos tipos de registro.

Cada estrategia o método para recoger los casos, tiene diferentes características con ventajas e inconvenientes. Los más utilizados son:

- Programas de notificación espontánea

Son sistemas “pasivos” en los que de forma voluntaria o obligatoria se declaran las sospechas de RAF. En España funciona desde 1983 el *Programa de Notificación Espontánea de Reacciones Adversas*, también denominado “tarjeta amarilla” siendo el eje fundamental del Sistema Español de Farmacovigilancia(87).

Los datos obtenidos por los centros nacionales de al menos 95 países, entre ellos España, se envían a VigiBase, la base de datos del Centro de Monitorización de Uppsala, dependiente de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta base de datos se creó en 1968 y contiene los datos obtenidos de más de 4 millones de RAF en los últimos 40 años(1). (88).

Estos sistemas han permitido conocer nuevos riesgos y describir determinados síndromes asociados a fármacos, sin embargo está demostrado que las cifras registradas son muy inferiores a las reales, estimándose que la notificación no alcanza más del 10%, en el mejor de los casos, cuando se comparan con los datos obtenidos en los escasos estudios prospectivos existentes(89).

- Sistemas de registro intensivo de DILI

Son sistemas diseñados para aumentar la capacidad de detección de RAF mediante la búsqueda activa, habitualmente en pacientes ingresados, y creando una red de profesionales motivados. Mediante este sistema se consiguen cifras de incidencia más elevadas, aunque no totalmente representativas de la población general.

Ejemplos de este sistema de detección son:

- ✓ SPANISH DILI REGISTRY (Grupo español para el estudio de las hepatopatías asociadas a medicamentos)  
<http://www.spanishdili.uma.es/index.php/es/>: el registro español de HTX se creó en 1994 creándose una red multidisciplinar al que se han ido incorporando progresivamente numerosas Unidades Clínicas de Hospitales

de todo el territorio nacional participando activamente en la identificación de casos y en la recolección de muestras de sangre de sujetos afectos(67,83).

✓ Proyecto PAIDOSHAM (Grupo español de trabajo sobre la hepatotoxicidad en la infancia) <http://www.paidosham.es> : constituye una red activa de especialistas motivados en la detección y comunicación de incidencias de hepatopatías tóxicas con la creación de un registro en la edad pediátrica activo desde 2008(84,90).

✓ DILIN (Drug-Induced-Liver Injury Network. EEUU): estudio observacional, prospectivo, puesto en marcha en 2003 con el objetivo de crear un registro de los episodios de DILI en niños y adultos y una base de muestras para posteriores estudios clínicos y mecanicistas de esta patología. Se desarrolla por un acuerdo de cooperación entre el Instituto Nacional de Salud, nueve centros clínicos y un centro coordinador en EEUU(57,91).

- Registros intensivos selectivos

Consisten en registros limitados al ámbito asistencial, generalmente hospitalario, en determinados grupos de pacientes o servicios diana, con riesgo elevado de hepatotoxicidad. Se establecen una o varias señales de alerta en los resultados analíticos realizados a los pacientes de los servicios diana y en los casos que se activan las alertas las historias y los pacientes son revisados de forma específica para valorar la presencia o no de DILI. Son válidos para mejorar y aumentar la detección de casos, pero solo en su ámbito asistencial y en los servicios clínicos diana(52).

## **I.7 Epidemiología**

Las reacciones hepatotóxicas son consideradas entre las más frecuentes y graves de las reacciones adversas a fármacos (RAF) siendo un motivo creciente de interés su detección y reconocimiento(52,87).

En España, a través del “Programa de Notificación Espontánea de Reacciones Adversas”, la declaración de RAF graves, incluida DILI(87)es menor del 10% a pesar de ser un sistema relativamente sencillo. Las cifras de incidencia de hepatotoxicidad obtenidas en el Centro Coordinador del Registro Español de

Hepatotoxicidad durante el periodo de 1998 a 2003 fueron de  $34,2 \pm 10,7$  casos por  $10^6$  habitantes por año, siendo la tasa de reacciones que requirieron hospitalización aproximadamente la mitad(67).

Un estudio multicéntrico, prospectivo, realizado por el grupo de trabajo "*Acute Liver Failure Study Group*", con el objetivo de conocer la etiología del fallo hepático agudo (FHA), muestra que actualmente la toxicidad hepática es la causa más frecuente de FHA, si se suman los casos relacionados con intoxicación por paracetamol (39%), con los de las reacciones de naturaleza idiosincrásica (13%). No obstante, todavía una proporción substancial de casos de insuficiencia hepática aguda grave permanece sin etiología conocida tras una evaluación diagnóstica exhaustiva(92).

### **I.7.1 Epidemiología en Pediatría**

La escasez de estudios fiables acerca de la verdadera incidencia de RAF en la población adulta, se hace aún más evidente en el niño.

A pesar de que los niños son grandes consumidores de fármacos, hasta el 20% de los medicamentos vendidos están destinados a pacientes menores de 18 años, no existe en muchas ocasiones información científica suficiente que apoye las prescripciones en el paciente pediátrico. Diversas aportaciones científicas ponen de manifiesto el frecuente uso de medicamentos sin indicación pediátrica, uso a dosis diferentes a las recomendadas, por vías no establecidas y/o para indicaciones no incluidas en ficha técnica. En algunas unidades de cuidados intensivos neonatales se han descrito hasta un 90% de uso de fármacos fuera de indicación en ficha técnica, debido principalmente a la falta de alternativas terapéuticas registradas. Porcentajes parecidos, aunque algo menores, han sido reportadas en salas de hospitalización pediátrica(93,94).

Es evidente la necesidad de evaluar adecuadamente los medicamentos que pueden ser utilizados en la infancia para controlar la seguridad, eficacia y calidad de los mismos(3). Sin embargo la investigación de fármacos en pediatría supone un coste 3-4 veces mayor que en adultos y además, hay una cierta reticencia o temor a realizar ensayos clínicos en niños por motivos éticos (95,96).

Estas circunstancias nos obligan a usar fármacos en pediatría cuya información se basa en los estudios en adultos a pesar de que las diferencias anatómicas, fisiológicas e inmunológicas que presenta el niño, considerando su estado de maduración progresiva, le predisponen de forma diferente a la hepatotoxicidad.

Además hemos de tener en cuenta la necesidad de adaptar la galénica de algunos medicamentos a formas más adecuadas para el niño sin los correspondientes estudios de seguridad y bioequivalencia de estas formas de administración.

Las principales diferencias entre el niño y el adulto las podemos resumir en:

- Anatómico-Fisiológicas

El recién nacido tiene aproximadamente un 20% de los hepatocitos del adulto, continuando el crecimiento y maduración fisiológica durante los primeros años de vida.

La funcionalidad hepática también se va modificando en función al número y grado de actividad de sus enzimas. Al nacimiento la expresión de la isoenzima CYP450 representa el 50% del valor adulto aunque en el primer mes sufre un rápido incremento. Otras vías metabólicas como la *glucuronoconjugación* presentan una inmadurez relativa (síndrome del hombre gris por cloranfenicol y, por el contrario, otras se encuentran hipertrofiadas, existiendo, por ejemplo, un predominio de reacciones detoxificantes por sulfatación de toxinas(44).

La expresión fenotípica de la farmacogenética es progresiva estableciéndose la definitiva de cada niño alrededor de los 3 años. Previamente suelen ser acetiladores lentos, lo que puede suponer un factor protector frente a la hepatotoxicidad por isoniazida y, en cambio, aumentar la susceptibilidad a los efectos neurotóxicos.

- Farmacocinéticas

El RN y lactante tienen una menor capacidad de absorción oral, en cambio, la absorción a nivel cutáneo es mayor que a otras edades, dándose casos de intoxicación con fármacos de uso tópico como

salicilatos o signos de hipercorticismo por cremas con esteroides.

En los primeros meses de vida hay un aumento del volumen de distribución, debido al mayor contenido hídrico global y extracelular, junto a un aumento de la fracción libre del medicamento lo que, unido a una disminución de la capacidad de eliminación, determina la necesidad de aumentar el intervalo posológico y, en ocasiones, la dosis inicial de carga de determinados fármacos(56).

#### - Farmacodinámicas

Son difíciles de prever y muy importantes. Algunos medicamentos pueden tener un efecto aparentemente paradójico en el niño como la repuesta sedante por anfetaminas y la hiperexcitación por antihistamínicos. Otros efectos son exclusivos de determinada etapa madurativa, como la posibilidad de cierre del DAP por antiinflamatorios no esteroideos o la posibilidad de alterar, de forma temporal o definitiva, el crecimiento por el uso de esteroides o quinolonas.

Con respecto a la incidencia en pediatría, se han reportado cifras de 15,1 por 1000 reacciones adversas a fármacos en niños, representando hasta un 2% de los pacientes pediátricos ingresados, similar a lo observado en adultos. Del total de RAF observadas en niños un porcentaje alrededor de 1 %, cursan con afectación hepática de gravedad variable(1). (21). El análisis etiológico de los casos de fallo hepático agudo en niños, realizado mediante un estudio prospectivo multicéntrico por el Pediatric Acute Liver Failure Study Group (PALF), encontró la lesión hepatotóxica como responsable del 5% de los casos. Hay que destacar un alto porcentaje de causa indeterminada, hasta el 49 % de los casos y en menores de 3 años del 54 %(97)

En la literatura existen escasas referencias bibliográficas sobre las reacciones hepatotóxicas en la infancia, limitándose habitualmente a casos aislados o pequeñas series(27,97-100).

El estudio más amplio tanto en número de casos como en extensión de la población estudiada es el llevado a cabo por *Ferrajolo et al.* en el que se analiza de forma

retrospectiva los datos existentes en VigiBase sobre RAF en menores de 18 años, en el periodo comprendido entre Enero de 2000 y Diciembre de 2006. Se recogen un total de 6147 reacciones hepatotóxicas frente a 226.266 RAF sin alteración hepática (sin considerar las RAF relacionadas con vacunas) (1). El porcentaje de reacciones hepatotóxicas con respecto al total de RAF es del 2.7%. En la **tabla 4** se recoge el listado de medicamentos causantes de hepatotoxicidad, en orden decreciente, según el número de casos. Los autores calculan la proporción de odd ratio para cada medicamento (ROR) entre casos con hepatotoxicidad y no-casos o controles con RAF no hepatotóxicas(1).

FÁRMACO	HTX	RAF NO HTX	ROR (95% CI)
Isotretinoína	420	12.051	1,3 (1,1-1,5)
Paracetamol	347	4.049	3,4 (3,1-3,8)
Ácido Valproico	280	3.065	2,2 (1,9-2,6)
Carbamazepina	140	2.271	2,1 (1,8-2,5)
Metotrexato	134	1.873	2,5 (2,1-3,0)
Minociclina	117	959	3,5 (2,9-4,3)
Lamotrigina	112	3.005	1,3 (1,1-1,6)
Zidovudina	106	2.446	1,2 (1,0-1,5)
Pemolina†	104	282	14,4 (11,5-18,2)
Ceftriaxona	104	1.695	2,6 (2,1-3,2)
Metilfenidato	96	4.199	0,7 (0,6-0,9) *
Bosentan	85	353	7,3 (5,7-9,2)
Ciclosporina	71	117	1,6 (1,3-2,1)
Atomoxetina	64	1.624	1,3 (1,0-1,6)
Azitromicina	63	2.932	0,8 (0,6-1,0) *
Olanzapina	62	845	2,3 (1,7-2,9)
Eritromicina	60	1.196	2,3 (1,8-3,1)
Infliximab	60	2.083	0,9 (0,7-1,1)*
Risperidona	59	2.611	0,7 (0,5-0,9)*
Fenitoina	57	1.222	2,0 (1,5-2,6)
Voriconazol	52	270	6,7 (5,0-9,1)
Topiramato	51	1.356	1,1 (0,9-1,5)*
Trimetoprim/Sulfametox	48	3.064	0,9 (0,7-1,2)*
Isoniazida	47	140	14,0 (9,9-19,7)
Vincristina	46	1.119	1,5 (1,1-2,0)
Lamivudina	45	764	1,7 (1,3-2,3)
Etinilestradiol/levonorge	43	928	1,5 (1,1-2,1)
Oxcarbazepina	43	1.205	1,1 (0,8-1,5)*
Gemtuzumab	42	241	6,7 (4,8-9,4)
Fluconazol	42	409	3,6 (2,6-5,0)
Mercaptopurina	41	252	6,0 (4,3-8,4)
Fenobarbital	41	594	3,9 (2,8-5,4)
Amoxicilina/clavulánico	31	1.309	0,8 (0,6-1,2)*
Tioguanina	37	240	6,2 (4,4-8,8)
Rifampicina	37	243	5,1 (3,6-7,3)
Nevirapina	37	1.487	0,8 (0,6-1,1)*
Citarabina	36	885	1,5 (1,1-2,2)
Clozapina	36	1.646	0,7 (0,5-0,9)*
Claritromicina	35	1.081	1,0 (0,7-1,4)*
Interferon beta	30	497	2,3 (1,6-3,3)
Ácido Acetil Salicílico	30	1.070	0,9 (0,6-1,3)*

**Tabla 4:** Listado de medicamentos causantes de hepatotoxicidad en orden decreciente(1).



El siguiente estudio en volumen de pacientes es el publicado por *Yun Zhu et al.* en 2015 donde estudiaron retrospectivamente 69 casos de niños ingresados por DILI entre Enero de 2009 y Diciembre de 2011. Se analizan las causas, clínica, datos de laboratorio, características patológicas y evolución de niños hasta los 14 años y comparan las diferencias entre los episodios causados por fármacos de la medicina tradicional occidental (WMs) y los debidos a hierbas medicinales chinas (CHM). Los antibióticos constituyen los fármacos más frecuentemente implicados en DILI pero los episodios son más severos y con mayor tendencia a la colestasis, aunque más agudos y autolimitados, cuando en la etiología están implicadas las hierbas medicinales. Se recogen 15 casos de DILI por CHM siendo las más frecuentes la *Ephedra sínica* y *Polygonum multiflorum*(101).

*Molleston et al* publicaron en 2011 los resultados(57) obtenidos en pacientes de 2 a 18 años de edad, con sospecha de hepatotoxicidad del Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) Prospective Study(57). En el periodo comprendido entre septiembre de 2004 y 2009, 30 niños cumplieron los criterios de hepatotoxicidad. Los antimicrobianos, en conjunto, fueron los fármacos más frecuentemente implicados con 15 casos, seguido de anti-epilépticos con 8, fármacos para TDAH, 4 y psicoanalépticos con 3. En la **tabla 5** se enumeran los fármacos más frecuentemente implicados de forma individual. En 6 casos se consideraron implicadas más de una sustancia.

Grupo Terapéutico	Fármaco	Nº casos
Antibacterianos (15)	Minociclina	4
	Isoniazida	3
	Azitromicina	3
	Amoxicilina	2
	Oxacilina	1
	Levofloxacino	1
	Sulfametoxazol	1
Antiepilépticos (8)	Lamotrigina	3
	Ácido Valproico	2
	Fenobarbital	1
	Fenitoina	1
	Carbamazepina	1
Psicoanalépticos y Antipsicóticos (7)	Atomoxetina	3
	Metilfenidato	1
	Fluoxetina	1
	Amitriptilina	1
	Perfenazina	1
Otros (7)	Ac. Fólico/Nicotinamida/Zinc	1
	Nicotinamida	1
	Daunorubicina	1
	Vincristina	1
	Metildopa	1
	Drospiridona/etinil estradiol	1
	Hidroxicut	1

**Tabla 5.** Sustancias implicadas en hepatotoxicidad en menores de 18 años. DILIN Prospective Study

En 2012 nuestro grupo publicó los resultados del estudio pediátrico con mayor tamaño muestral en España. Se trata de un estudio observacional prospectivo realizado desde Enero del 2008 a Diciembre de 2011 donde participan 8 hospitales españoles. Se reclutan un total de 36 reacciones hepatotóxicas en 33 niños que quedan incluidos en el registro español de hepatotoxicidad en la población pediátrica activo desde el 2008(84).

Al igual que en los estudios previos, los antibióticos son los agentes más frecuentemente implicados. A nivel individual la Amoxicilina/clavulánico es responsable del mayor número de casos (31.4%). La lesión más frecuente fue de tipo hepatotóxico (55.5%) y el mecanismo etiológico hasta en un 94% fue de tipo idiosincrásico metabólico. En un sólo caso, desencadenado por Isoniacida, la evolución fue fulminante con fallecimiento del paciente tras trasplante hepático. Además se describen 3 episodios de reexposición accidental a los fármacos (anís verde, ibuprofeno y meropenen) en los que la elevación de las enzimas hepáticas es mayor y más precoz.

Caso	Sexo	Edad meses	Fármaco	Días Tto.	Vía administ.	Indicación terapeut.
1	Hombre	61	Ibuprofeno	4	Oral	Fiebre
2	Mujer	11	Rifampicina	14	Intravenosa	Meningitis neumo
3	Mujer	26	Meropenen	7	Intravenosa	SIRS
4	Mujer	28	Meropenen	3	Intravenosa	Sepsis
5	Mujer	36	Metotrexate	1	Intravenosa	Leucemia linfoblástica
6	Hombre	1,5	Amiodarona	6	Intravenosa	Taquimio- cardiopt.
7	Hombre	6	Meropenen	28	Intravenosa	Sepsis
8	Hombre	2	Meropenen	15	Intravenosa	Sepsis
9	Mujer	1,6	Voriconazol	13	Intravenosa	Neumo Cándida
10	Mujer	36	Zonisamida	9	Oral	Convulsiones
11	Mujer	2	Voriconazol	14	Intravenosa	Sepsis <i>Candida</i>
12	Hombre	1	Cloxacilina	4	Intravenosa	Sepsis Aureus
13	Mujer	120	Amoxicilina	5	Oral	Amigdalitis
14	Hombre	180	TMT-SMX	60	Oral	Ataxia- telang.
15	Mujer	168	Aciclovir	14	Intravenosa	Encefalitis
16	Mujer	60	Isoniacida	60	Oral	Tuberc. pulmonar

17	Mujer	36	Isoniacida	14	Oral	Meningitis Tuberc.
18	Hombre	96	Isoniacida	90	Oral	Tuberc. Pulm
19	Mujer	36	Ibuprofeno	11	Oral	Sinovitis cadera
20	Mujer	36	Ibuprofeno	15	Oral	Sinovitis cadera
21	Mujer	18	Metotrexate	115	Oral	Art. idiop juv.
22	Mujer	1	Propiltiouracilo	10	Oral	Hipertiroidismo
23	Mujer	84	Amoxicilina-clavulánico	10	Oral	Amigdalitis
24	Hombre	60	Amoxicilina-clavulánico	7	Oral	IRVB
25	Hombre	108	Amoxicilina-clavulánico	5	Oral	Bronquitis
26	Mujer	12	Amoxicilina-clavulánico	7	Oral	Infección resp.
27	Hombre	6	Amoxicilina-clavulánico	6	Oral	Infección resp.
28	Hombre	8	Amoxicilina-clavulánico	5	Oral	Adenoflem
29	Hombre	11	Amoxicilina-clavulánico	10	Oral	Amigdalitis pult.
30	Hombre	192	Amoxicilina-clavulánico	3	Oral	Amigdalitis
31	Hombre	60	Amoxicilina-clavulánico	10	Oral	Mastoiditis
32	Hombre	7	Amoxicilina-clavulánico	7	Oral	Infección resp.
33	Hombre	120	Amoxicilina-clavulánico	7	Oral	Infección resp.
34	Hombre		Anís verde	2	Oral	Vómitos
35	Hombre		Anís verde	2	Oral	Vómitos
36	Hombre	2	Cola de caballo	20	Oral	Aerocolia

**Tabla 6.** Características generales de la población de estudio.

Del Grupo de Trabajo Español sobre Hepatotoxicidad en la Infancia también hay que destacar las siguientes publicaciones:

- *“Amoxicilin-Clavulanic Acid Hepatotoxicity in Children”*, publicado en 2012, donde se determina la importancia de la hepatotoxicidad por Amoxicilina/Clavulánico en la población pediátrica, caracterizando los episodios identificados y los posibles factores de susceptibilidad del huésped(90).
- *“Hepatotoxicidad y consumo de productos de herboristería en la población pediátrica”*, publicado en 2015, donde se presentan 4 episodios de hepatotoxicidad por productos naturales en tres niños, analizándose sus características epidemiológicas y clínicas(102).

Todos los casos proceden del Registro Español de Hepatotoxicidad en la Población Pediátrica.

En la mayoría de las publicaciones se manifiesta la necesidad de seguir completando las bases de datos activas con información rigurosa y prospectiva, manteniendo el estímulo en la red de profesionales implicados en la detección y comunicación de incidencias de hepatopatía tóxica. El análisis de estos casos permite una mayor calidad y rigor de la información y el banco de muestras recogidas, continuar investigando entre otros, posibles factores individuales de susceptibilidad como los determinantes genéticos.

## I.8 Respuesta Inmune.

### Inmunidad innata y adquirida.

El sistema inmune define la capacidad de defensa del organismo frente a agentes patógenos extraños a él, es decir, frente a la infección. Existe una **inmunidad innata** o inespecífica que actúa como primera línea de defensa frente a los microorganismos patógenos, y responde de forma rápida e inespecífica antes del desarrollo de las respuestas más versátiles del **sistema inmunitario adaptativo**.

El *sistema inmunitario innato* incluye *factores solubles* como las proteínas de fase aguda, citoquinas, quimiocinas y el complemento, así como *componentes celulares* como los neutrófilos, monocitos/macrófagos y los linfocitos citolíticos naturales(103) (NK, natural killer). El *sistema inmune específico o adaptativo (adquirido)* está compuesto por los linfocitos T y B y sus moléculas efectoras. (Tabla 7)

Factor	Fuente	Función
IL-1	Macrófagos	Su efecto coestimulador sobre los linfocitos T potencia la presentación de antígenos, respuesta de fase aguda, fiebre.
IL-2	Linfocitos T	Factor de crecimiento principal de linfocitos T; factor de crecimiento de linfocitos B y NK, se requiere para la función y la supervivencia de los linfocitos T reguladores.
IL-3	Linfocitos T	Factor de crecimiento de mastocitos; factor estimulante de múltiples colonias.
IL-4	Linfocitos T	Factor de crecimiento de linfocitos T; potencia la síntesis de IgE; potencia la diferenciación de linfocitos B; crecimiento de mastocitos.
IL-5	Linfocitos T	Potencia la diferenciación de eosinófilos; potencia la síntesis de inmunoglobulinas; potencia la síntesis de IgA
IL-6	Linfocitos T, macrófagos, fibroblastos, endotelio	Potencia la síntesis de inmunoglobulinas, actividad antiviral, induce la respuesta de fase aguda, fiebre, efectos hematopoyéticos.
IL-7	Células estromales	Potencia el crecimiento de células pre-T.
IL-8	Linfocitos T, macrófagos y epitelio	Proteína activadora de neutrófilos; factor quimiotáctico de linfocitos T y de neutrófilos.
IL-9	Linfocitos T	Actúa con la IL-4 e induce la producción de IgE, crecimiento de mastocitos.

IL-10	Linfocitos T y macrófagos	Inhibidor de la síntesis de citoquinas; suprime la función de los macrófagos; potencia el crecimiento de linfocitos B; inhibe la producción de IL-12; suprime la inflamación en la superficie de la mucosa.
IL-12	Macrófagos y neutrófilos	Factor estimulante de linfocitos NK; factor de maduración de linfocitos citotóxicos; potencia la síntesis de IFN- $\gamma$ ; inhibe la síntesis de IL-4.
IL-13	Linfocitos T	Potencia la síntesis de IgE; potencia el crecimiento de linfocitos B; inhibe la activación de los macrófagos; produce hiperreactividad de las vías respiratorias.
IL-17	Linfocitos T	Induce la síntesis de IL-1 $\beta$ y de IL-6, importantes en las infecciones fúngicas.
IL-18	Macrófagos	Potencia la síntesis de IFN- $\gamma$ .
IFN- $\gamma$	Linfocitos T	Activación de los macrófagos; inhibe la síntesis de IgE; actividad antiviral.
TGF- $\beta$	Linfocitos T	Inhibe la proliferación y la activación de los linfocitos T y B; induce los linfocitos T reguladores.
RANTES	Linfocitos T	Quimiocina para monocitos, linfocitos T y eosinófilos.
MIP-1 $\alpha$	Células mononucleares, endotelio.	Quimiocina para linfocitos T; potencia la diferenciación de linfocitos T CD4+.
Eotaxinas 1, 2 y 3	Epitelio, endotelio, eosinófilos, fibroblastos, macrófagos.	Quimiocina para eosinófilos, basófilos y linfocitos Th2.
IP-10	Monocitos, macrófagos, endotelio.	Quimiocina para linfocitos T activados, monocitos y linfocitos NK.
<b>IFN, Interferón; NK, Natural Killer; RANTES, regulated on activation, normal T expressed and secreted, Th2, Thelper2.</b>		

**Tabla 7.** Citoquinas, quimiocinas y sus funciones(104).

El reconocimiento de los patógenos por el **sistema inmune innato**(105) está facilitado por receptores en los macrófagos, células NK y neutrófilos que reconocen unidades del patógeno denominadas **patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)**. Este reconocimiento conduce a la producción de citoquinas y quimiocinas que inician la inflamación y reclutan células inflamatorias, inducen una respuesta de fase aguda y activan el **sistema inmune adaptativo**(103).

El *sistema inmune adquirido* se caracteriza fundamentalmente por *la especificidad de antígeno y el desarrollo de la memoria inmunológica*(106) producida por la expansión y maduración de linfocitos T y linfocitos B específicos de antígeno.

La inmunidad específica se divide en humoral y celular:

- *La inmunidad humoral* es mediada por los *linfocitos B* que producen anticuerpos (inmunoglobulinas) que neutralizan las toxinas liberadas por los patógenos, opsonizan microorganismos para facilitar su captación por las células fagocíticas, activan el complemento produciendo la citólisis del patógeno, y dirigen las células NK para matar las células infectadas a través de la citotoxicidad mediada por anticuerpos.
- *La inmunidad celular* depende de los linfocitos T(107) que destruyen las células infectadas por virus(105) y células cancerosas, activan los macrófagos para matar los patógenos intracelulares , y administran las señales necesarias para la síntesis de anticuerpos por los linfocitos B y la formación de células B de memoria.

### **1.8.1 Linfocitos T**

Existen dos tipos de células T: las células T citotóxicas (TCD8+) o Tc que destruyen células diana infectadas, y las células T helper (TCD4+) o TH1 y TH2 que activan principalmente macrófagos y células B.

Las células efectoras poseen una vida limitada por lo que una vez eliminado el antígeno, experimentan muerte celular programada o apoptosis. Algunas de éstas, *células de memoria*(106), persisten constituyendo una memoria inmunológica que garantiza una respuesta más rápida y efectiva en un segundo encuentro con el germen patógeno.

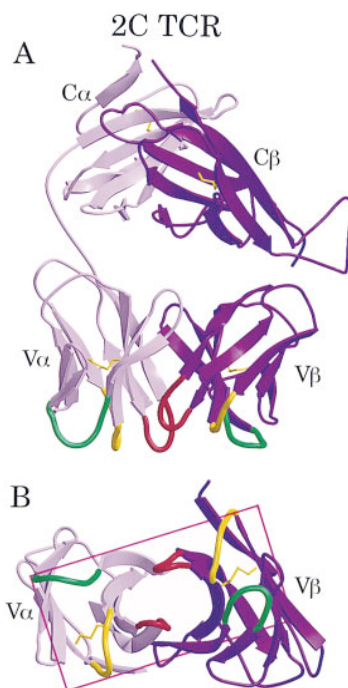


Los linfocitos T tienen en su membrana celular un receptor (TCR) encargado de reconocer el antígeno asociado al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) de las Células Presentadoras de antígeno (APC).

### I.8.1.1 Estructura y genética del Receptor de las células T (TCR)

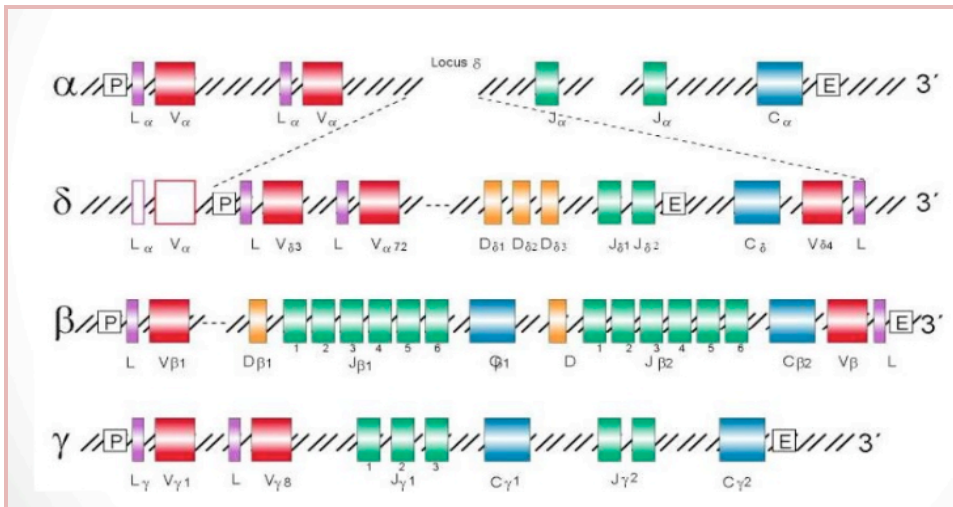
Cada receptor está formado por dos cadenas polipeptídicas distintas denominadas *cadena*  $\alpha$  y  $\beta$  ( $\gamma$  y  $\delta$  en forma alternativa) que están unidas entre sí por puentes disulfuro. Éstas son las responsables del reconocimiento antigénico de los linfocitos T.

El TCR es monovalente (tiene un solo sitio de unión al antígeno) y nunca se secreta, a diferencia que las inmunoglobulinas.



**Figura 10.** Estructura tridimensional del TCR.

Los genes del receptor se organizan en diferentes segmentos genéticos; V, J, D y C. Éstos se producen por sucesivos reordenamientos de ADN que juntan los ADN que codifican las regiones V (variable) y C (constante) del receptor. Los segmentos genéticos J están separados de los genes de la región C por ADN no codificante, y se unen a ellos por procesamiento del ARN después de la transcripción, y no por recombinación de ADN.



**Figura 11.** Organización de los genes de las cadenas  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  y  $\delta$  del RCT.

La recombinación VDJ se produce entre segmentos génicos localizados en el mismo cromosoma y es la responsable de la *diversidad estructural de los receptores*, y por tanto, de la *especificidad* de éstos.

Cuando los dominios V (variables) de las dos cadenas se emparejan, las regiones hipervariables de cada dominio se unen creando un solo sitio hipervariable en el extremo que constituye el sitio de unión al antígeno. Hay tres regiones hipervariables que determinan la *especificidad* del receptor hacia el antígeno y forman una superficie complementaria a él llamadas **regiones determinantes de complementariedad** o CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

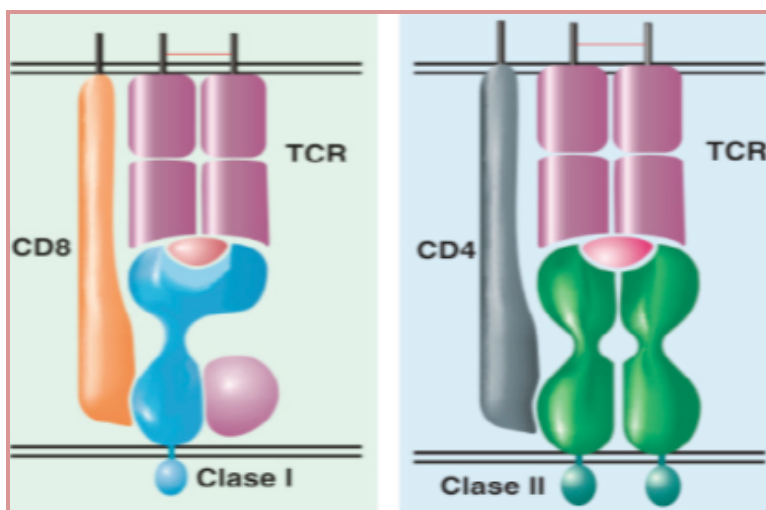
La diversidad estructural de los receptores T se debe enteramente a la diversidad combinatorial y de unión generada durante el proceso de **reordenamiento génico** mediante un complejo de enzimas codificadas por los genes RAG1 y RAG2 (genes de activación de la recombinación).

### I.8.1.2 Correceptores CD4 y CD8

Como ya se ha comentado previamente, las células T se dividen en dos tipos principales que difieren en la clase de molécula de MHC que reconocen cuando éste les presenta el péptido antigénico en la superficie celular.

- Linfocitos T CD4: reconocen CMH de clase II - péptido, y están especializadas en activar otras células inmunitarias efectoras, células B o macrófagos, para que actúen contra los antígenos que han capturado(108).
- Linfocitos T CD8 reconocen complejos de MHC de clase I - péptido, y se activan para destruir células que exhiben péptidos extraños derivados de agentes patógenos citosólicos.

CD4 y CD8 se asocian en la superficie de la célula T con componentes del receptor T durante el reconocimiento antigénico denominándose por esto correceptores(109,110).



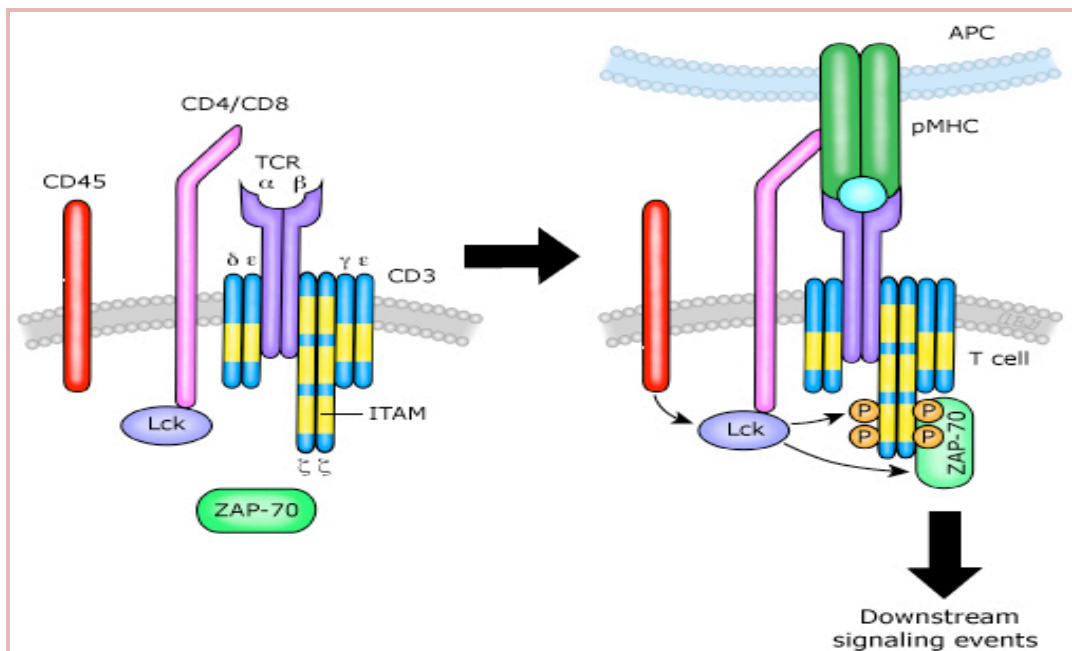
**Figura 12.** Correceptores CD4 y CD8

Durante la maduración de los linfocitos T tiene lugar un proceso de **selección positiva** que asegura que todas las células T maduras implicadas en la respuesta inmune adaptativa tengan receptores funcionales capaces de responder a los péptidos presentados por moléculas de MHC propio en las células presentadoras de antígeno y una **selección negativa** que asegura la tolerancia al eliminarse las células autorreactivas.

### I.8.1.3 Unión Antígeno - Receptor de linfocitos T.

Al unirse el antígeno específico al receptor, éste experimenta un cambio conformacional que activa un proceso de señalización intracelular bien por apertura de un canal iónico en la célula o activando proteínas y enzimas de señalización intracelular(111,112).

La señalización desde el complejo del receptor de las células T depende de una secuencia de aminoácidos llamada **motivos de activación del inmunoreceptor (ITAM)** (111,113) que están presentes en las cadenas accesorias implicadas en la señalización desde el receptor.



**Figura 13.** Modificaciones en TCR tras unión al antígeno(111).  
Graphic 62164 Version 4.0 Uptodate

Una vez que se ha iniciado la cascada de señales se producirá la activación de los factores de transcripción (NFκB, NFAT, AP-1 y Junos) que actuarán en los cromosomas de las células T, iniciándose una nueva transcripción génica que termina en la diferenciación, proliferación y acciones efectoras de las células T(107).

### 1.8.2 Natural killer.

Las células NK constituyen la tercera estirpe de células de tipo linfoide que participan tanto en la inmunidad innata como en los mecanismos de defensa adquirida. Su función esencial es identificar y destruir células tumorales o infectadas, fundamentalmente por virus (células blanco).

Además, por su capacidad secretora, tanto de citoquinas como quimiocinas, interviene en la regulación del sistema inmune(114).

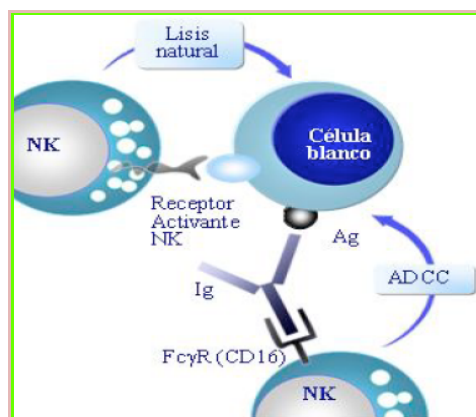
Carecen de TCR y, en su mayoría, expresan en la superficie las moléculas Fc γ R-III (CD16) y CD56 que, junto con otros marcadores, definen este grupo celular.

#### 1.8.2.1 Función citotóxica.

Para ejercer esta acción se requiere el reconocimiento de las células blanco a través de diferentes tipos de receptores de membrana más la acción de ciertas citoquinas y moléculas de adherencia facilitadoras de la interacción celular(115).

Los receptores pueden ser de **activación** o actuar como **activadores o inhibidores** según el ligando presente en la célula diana y el balance neto entre señales activadoras e inhibidoras(116). Éstos tienen como ligando moléculas de HLA I.

La lisis se realiza de manera directa, *lisis natural*, sin necesidad de un periodo de sensibilización previa, o bien mediante la participación de anticuerpos, *citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o ADCC*, que implica la presencia de anticuerpos que son reconocidos por su extremo Fc por los receptores CD16 de las células NK.



**Figura 14.** Esquema representativo de los receptores implicados en la lisis natural (parte superior) y ADCC (parte inferior) de las células NK. Tomada de M. López-Botet-J.Peña

### I.8.2.2 Función secretora

La función secretora se activa por distintos estímulos como la interacción con las células blanco, la acción de IL-2 (117) e IL-12 o por activación directa, por ejemplo por anticuerpos frente a las moléculas CD16, CD69 o CD80. Entre las sustancias sintetizadas y secretadas destacan **citoquinas** como el TNF-alfa, IFN-gamma, IL-3, GM-CSF y M-CSF y **quimiocinas** tales como MIP-1alfa, MIP-1beta y RANTES de gran importancia en los fenómenos inflamatorios.

### I.8.2.3 Receptores NK específicos de antígenos HLA.

Son un grupo heterogéneo de glicoproteínas que pertenecen a distintas familias de moléculas y se expresan en células NK y en ciertos linfocitos T(118).

- Receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas:
  - KIRs (*killer cell Ig-like receptors*). Receptores de antígenos HLA-I.
  - ILTs (*immunoglobulin like transcripts*).
- Receptores tipo lecitina:
  - CD94/NKG2.

#### I.8.2.3.1 Receptores NK tipo KIR.

Son receptores implicados en la inhibición de la lisis celular al interactuar específicamente con determinadas moléculas HLA de clase I de la célula diana.

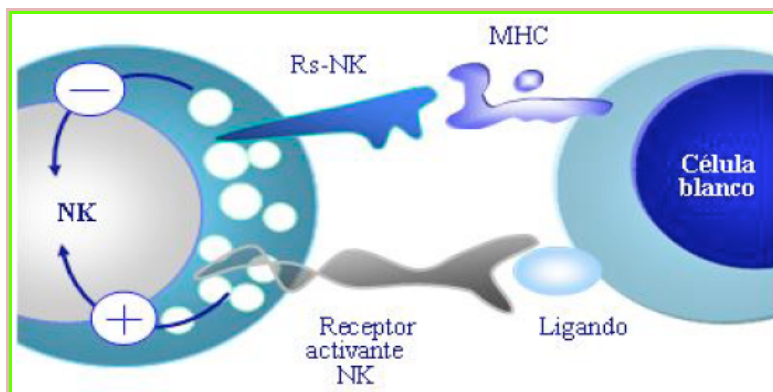
Para su denominación, según el número de dominios presentes en la molécula del receptor, a la palabra KIR, se añaden los sufijos 2D y 3D que indican el número de los dominios de inmunoglobulina que poseen y la letra L (*long*) o S (*short*) según que la cola citoplasmática de estas moléculas sea larga o corta respectivamente. Son los receptores que presentan la mayor variabilidad y diversidad genética de las células NK(119). Los genes que codifican estos receptores se encuentran agrupados en una región denominada *leukocyte receptor complex* (LRC) en la región cromosómica 19q13.4(120).

La distribución de estos receptores en las células NK no es homogénea y cada clon NK puede expresar uno o varios tipos de estos receptores. Se aprecian claras

diferencias en la expresión de cada receptor cuando se estudian distintos individuos y hay indicios de que el repertorio de receptores está regulado, durante el desarrollo, por factores genéticos(121,122).

#### 1.8.2.4 Transducción de señales.

Tanto los receptores KIR, ILT como el homodímero de CD94 con distintos miembros de la familia de NKG2(123), pueden ejercer acciones inhibitoras como activadoras dependiendo de la cola citoplasmática de dichas moléculas y de las cinasas con las que se asocien(124,125).



**Figura 15.** la acción de las células NK resulta del equilibrio entre receptores con carácter activante e inhibitor.

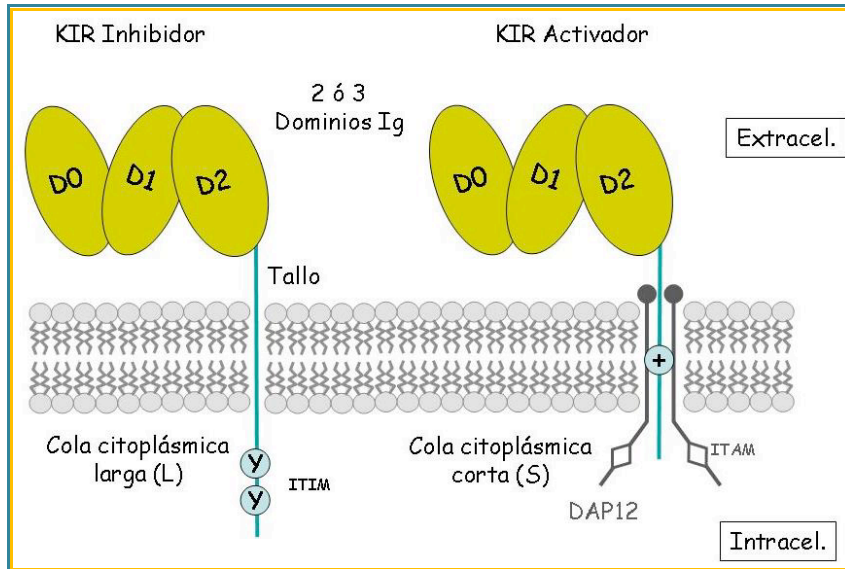
Tomada de M. López-Botet-J.Peña

##### 1.8.2.4.1 Mecanismos de inhibición.

Los receptores inhibidores se caracterizan por poseer en sus dominios intracitoplasmáticos uno o dos motivos inhibidores de tirosina denominados **ITIM (immunoreceptor tyrosine- based inhibitory motifs)** que tienen la propiedad de unirse al dominio SH2 que contiene las tirosin fosfatasa, SHP-1 y SHP-2, y así producir inhibición de la citotoxicidad.

Esta acción inhibitora previene de la destrucción de las células normales del huésped que expresan moléculas de histocompatibilidad reconocidas por estos receptores. Cuando una célula deja de expresar estas moléculas puede ser destruida por células NK al no ser frenada su actividad.

Los receptores de este grupo son KIR2DL (KIR2DL1, 2, 3 y 5), KIR3DL(126) (KIR3DL1, 2, 3), ILT-2, NKG2A y NKG2B.

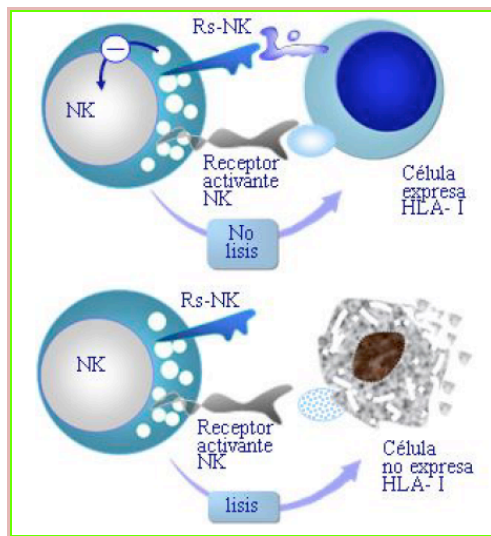


**Figura 16.** Estructura de los receptores KIR inhibidores y activadores.

#### **1.8.2.4.2 Mecanismos de activación.**

Los receptores activadores son homólogos a los anteriores diferenciándose sólo en los dominios intracelulares. Presentan el motivo activador (ITAM) que tiene la propiedad de asociarse a homo o heterodímeros de CD3 $\xi$  y/o Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$  u homodímeros de DAP-12 o DAP-10. Estos receptores son KIR2DS (KIR2DS1, 2, 3, 4 y 5; KIR3DS1). El receptor KIR2DL4 tiene capacidad inhibitoria y activadora al poseer un tallo intracitoplasmático con un residuo mediante el que interacciona con Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$  y un motivo ITIM inhibitorio.





**Figura 17.** La ausencia de moléculas de histocompatibilidad hace que las células diana pierdan la protección frente a la lisis por las células NK. Tomada de M. López-Botet-J.Peña.

#### 1.8.2.4.3 Variabilidad en los receptores KIR

##### ➤ Variabilidad en el contenido genético: haplotipos.

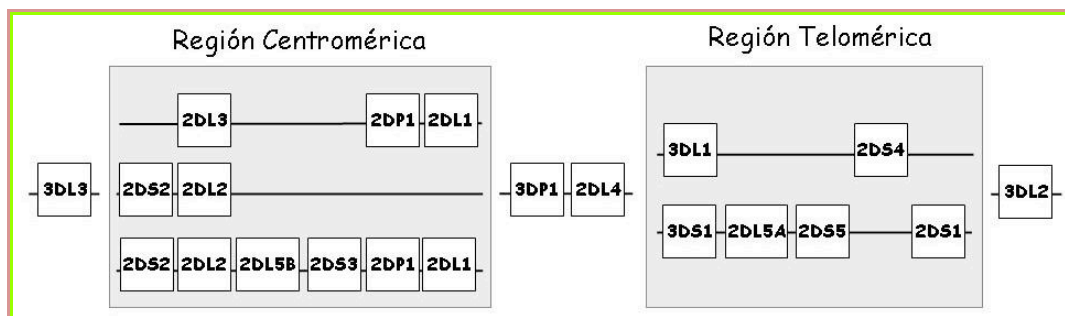
El primer nivel en la variabilidad genética de los KIR reside en el diferente número de genes y copias de los mismos que pueden expresarse en cada individuo(122,127). Esta variabilidad es consecuencia de la estructura del LCR y está relacionada con la elevada homología de los genes KIR en gran parte de sus secuencias nucleotídicas (80-90%). Esta circunstancia convierte esta región en una zona muy susceptible de presentar recombinaciones no homólogas durante la meiosis que genera fenómenos de duplicación, delección y conversión génica(121).

El conjunto de genes codificados en la línea germinal, en cada individuo, en cada uno de los cromosomas homólogos, conforman el haplotipo KIR.

Se han identificado al menos 30 haplotipos diferentes clasificados en dos grandes grupos, haplotipos A y B. Los haplotipos A constan de 9 genes (*KIR3DL3-2DL3-2DP1-2DL1-3DP1-2DL4- 3DL1-2DS4 3DL2*) (128) presentando un perfil claramente inhibitorio, ya que de estos sólo *KIR2DS4* es potencialmente activador(129). La variabilidad entre distintos haplotipos A se consigue gracias

a diferentes combinaciones de polimorfismos alélicos de los loci que incluye. Cualquier variación por exceso respecto a esta dotación génica de los haplotipos A se considera un haplotipo B que tiene una mayor heterogeneidad génica y puede incluir regiones centroméricas y teloméricas de haplotipos A. Esto se debe a que muchos de los haplotipos B se generan por procesos de recombinación a nivel de la región intergénica entre *KIR3DP1* y *KIR2DL4*. En los haplotipos B hay una mayor presencia de receptores activadores, con una importante variabilidad en el número de genes de estos receptores que pueden estar representados en los distintos haplotipos(130).

Existen 4 genes constituyentes del “esqueleto” de los haplotipos KIR, *framework*, presentes en todos los haplotipos al principio y final de la región centromérica y telomérica; *KIR3DL3*, *3DP1*, *2DL4*, y *3DL2*(131,132).



**Figura 18.** Representación de las diferentes organizaciones génicas en las regiones centroméricas y teloméricas de un haplotipo KIR.

➤ **Variabilidad alélica: polimorfismos.**

Esta familia de receptores presenta una extensa variabilidad polimórfica que da lugar a la aparición de múltiples variantes alélicas para cada gen(133). Estas modificaciones pueden influir en la expresión de los receptores, en la unión a los ligandos y en su funcionalidad(119,121).

**1.8.3 Citoquinas**

Las citoquinas son una serie de factores solubles, no antígeno específicos, que se sintetizan fundamentalmente por los linfocitos(134) en respuesta a estímulos antigénicos o inflamatorios. Actúan uniéndose a receptores específicos de la misma célula que las produce (acción autocrina), de células cercanas (acción paracrina) o de células distantes (acción endocrina).

Bajo este término se incluyen las interleuquinas (IL), linfoquinas, interferones y monoquinas.

Sus funciones son variadas pudiendo actuar como (Tabla 7):

- Mediadores de la inmunidad natural.
- Reguladores de la activación, proliferación y diferenciación de linfocitos T y B.
- Mediadores del proceso inflamatorio.
- Estimuladores de colonias.

### **I.8.3.1 Interleucina 10**

Es una citoquina producida por diferentes células del sistema inmunitario, células epiteliales, queratinocitos de la piel y ciertas células tumorales.

Sus funciones principales son disminuir y regular la respuesta inflamatoria producida por las células dendríticas y los macrófagos, así como reducir las respuestas adaptativas de las células T CD4+ que conlleva una inhibición de la maduración de dichas células y con ello una reducción de las citoquinas proinflamatorias interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), IL-4 e IL-5(80).

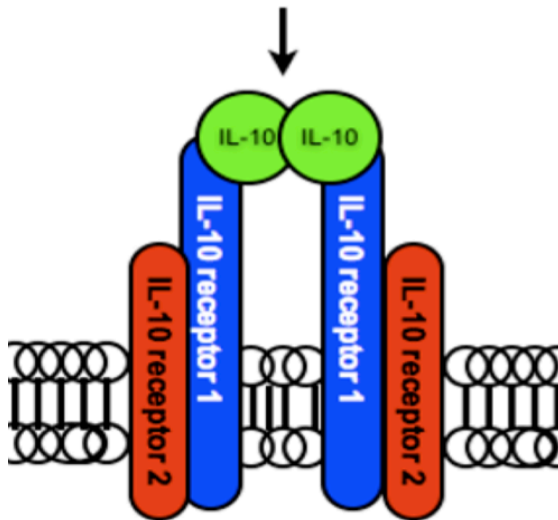
También inhibe la producción de otros mediadores inflamatorios como la IL-1 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) producidos por los macrófagos(135).

Su acción no siempre es inhibitoria ya que también promueve la activación de las células B y estimula la proliferación de células NK(136).

La IL-10 actúa específicamente a través del receptor de IL-10, activando una cadena de señales intracitoplasmáticas que, en la mayoría de los casos, culmina con la disminución de la actividad de algunos de los genes implicados en la respuesta inmune.<sup>88</sup>

**IL-10 secretada por:**

- Células T helper 2 (Th2).
- Células T reguladoras.
- Monocitos.
- Algunas células dendríticas.
- Algunos macrófagos activados.
- Algunos granulocitos.



**Figura 19.** IL-10, su receptor y células del sistema inmunitario relacionadas con esta citocina. (Tomada de Enrique Iañez Pareja)

**Inhibe:**

- Células dendríticas.
- Macrófagos.
- Linfocitos CD4<sup>+</sup>

**Estimula:**

- Células NK
- Células B.

Los factores genéticos influyen considerablemente en la producción de citocinas(137) y un número importante de polimorfismos parecen controlar el nivel de secreción de la IL-10. Se han confirmado tres polimorfismos bialélicos en la región promotora génica: -1082G/A, -819C/T y -592C/A. Con la combinación de estos tres sitios podemos encontrar los siguientes polimorfismos genéticos, correspondiendo cada uno de ellos a un fenotipo relacionado con una producción de IL-10 alta, intermedia o baja:

- GCC/GCC, productor alto.
- GCC/ACC, productor intermedio.
- GCC/ATA, productor intermedio.
- ACC/ACC, productor bajo.
- ACC/ATA, productor bajo.
- ATA/ATA, productor bajo.

Una disminución en la producción de esta interleuquina (haplotipo bajo productor de IL10) se ha implicado en un aumento de la actividad inflamatoria(23) que provoca una evolución más grave (mayor extensión e intensidad) de una lesión hepática asociada a fármacos una vez iniciada por distintos mecanismos(81); “hipótesis de la señal de daño (Danger signal Hypothesis)”. Ésto se ha podido demostrar en la toxicidad hepática producida por paracetamol(28) y diclofenaco (IL-10-627)(80)

### **I.8.3.2 Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )**

El TNF-  $\alpha$  es una citoquina *proinflamatoria* y mediadora de la respuesta inmunitaria innata, implicada principalmente en respuestas celulares o Th1. Ejerce su efecto sobre células tumorales e inflamatorias(138). Presenta características de citoquina fibrogénica

Existe un polimorfismo bialélico(139,140) en el promotor del gen del TNF- $\alpha$ : - 308A/G cuya combinación determina los genotipos y fenotipos siguientes:

- G/G, bajo productor
- G/A, alto productor
- A/A, alto productor.

### **I.8.3.3 Factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ )**

El TGF- $\beta$  es una citoquina *antiinflamatoria* e inmunosupresora, que participa principalmente en respuestas inmunitarias celulares o Th1.

Esta citocina es secretada principalmente por monocitos, fibroblastos y células endoteliales. Induce la proliferación de monocitos y la diferenciación celular. Es una citocina fibrogénica. Aumenta la producción de proteínas de la matriz extracelular y sus receptores, e inhibe la síntesis de enzimas de degradación proteolítica.

Destacamos dos polimorfismos confirmados en la región promotora génica: TGF- $\beta$  codón 10 T/C y codón 25 C/G(141).

Se transmiten en haplotipo, es decir, van juntos.

Respecto a los fenotipos y haplotipos de estas citoquinas no existen datos concluyentes en la literatura siendo escasos los estudios dedicados al respecto.

Posibles haplotipos (genotipo) y Fenotipos:

- TT GG, TC GG; productor alto (High)
- TC GC, CC GG, TT GC; intermedio (Intermediate)
- CC GC, CC CC, TT CC, TC CC; bajo (Low)

#### **1.8.3.4 Interleuquina 6 (IL-6)**

La IL-6 es una citocina *proinflamatoria* que se ha relacionado principalmente con la respuesta humoral o Th2, con implicación en varias funciones celulares. También puede presentar actividad antiinflamatoria. Puede ser secretada por distintas células como los linfocitos T, monocitos y fibroblastos. Induce la diferenciación de eosinófilos y la producción de IgA. Estimula el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal que se ha asociado con obesidad central, hipertensión y resistencia a la insulina. Se ha relacionado con la patogénesis de la enfermedad coronaria(142).

La IL-6 presenta una serie de polimorfismos bialélicos en la región promotora génica de entre los que destacamos: -174G/C

Genotipos y Fenotipos:

- GG, alto productor.
- GC, alto productor.
- CC, bajo productor.

#### **1.8.3.5 Interferón gamma (IFN-γ)**

El IFN-γ es una citocina *proinflamatoria e inmunorreguladora*, implicada principalmente en respuestas celulares o Th1. Pertenece a los interferones tipo II. Esta citocina es secretada principalmente por linfocitos Th, Tc, NK y células dendríticas. Es una citocina quimiotáctica para monocitos y aumenta en ellos la expresión de HLA clase I. Su función más importante es la activación de los macrófagos, tanto en las respuestas inmunitarias innatas como en las adquiridas(141).

De esta citoquina destacamos el polimorfismo bialélico en la región intron 1: +874T/A.

Genotipos y Fenotipos:

- TT, productor alto.
- TA, productor intermedio
- AA, productor bajo.

**I.8.4 Complejo Mayor de Histocompatibilidad.**

Las moléculas HLA constituyen un elemento clave en el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Son una secuencia de glucoproteínas presentes en la superficie de la membrana celular codificadas por un complejo de genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6.

En el MHC humano se diferencian tres regiones, de clase I, clase II y clase III que codifican diferentes glucoproteínas de membrana específicas:

- **Genes de clase I (MHC-I):** determinan glucoproteínas de membrana que aparecen en casi todas las células nucleadas y sirven para presentar antígenos peptídicos de células propias alteradas a los linfocitos T citotóxicos ( $T_C$ ).
- **Genes de clase II (MHC-II):** determinan glucoproteínas de membrana de células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas, linfocitos B), y que sirven para presentar antígenos peptídicos a linfocitos T coadyuvantes (colaboradores;  $T_H$ ).
- **Genes de clase III (MHC-III):** no todos ellos tienen que ver, aparentemente, con el sistema inmune, pero entre los que sí tienen papeles inmunológicos cabe citar los genes de proteínas del complemento, y el del factor de necrosis tumoral (TNF).

Complejo HLA							
Clase MHC	MHC-II			MHC-III	MHC-I		
Región	DP	DQ	DR	C4, C2, BF, etc.	B	C	A
Productos génicos	DP (ab)	DQ (ab)	DR (ab)	Proteínas del complemento, TNFa, TNFb.	HLA-B	HLA-C	HLA-A
Ubicación	←Hacia centrómero ←			Brazo corto del Cr 6.	→Hacia telómero →→		

**Tabla 8.** Organización genética del HLA. (Tomada de Enrique Iañez Pareja)

El conjunto de genes HLA de clase I y clase II tienen tres importantes propiedades:

- El **polimorfismo**, es decir, la existencia de un gran número de alelos para cada uno de estos genes.
- La **codominancia** o expresión de los dos alelos de un mismo gen.
- **Ligamiento** de los genes en el brazo pequeño del cromosoma 6.

Las moléculas de clase I aparecen en todas las células somáticas nucleadas y las de clase II en aquellas que funcionan habitualmente o pueden funcionar eventualmente como células presentadoras de antígenos.

#### I.8.4.1 Moléculas de clase I

##### Estructura.

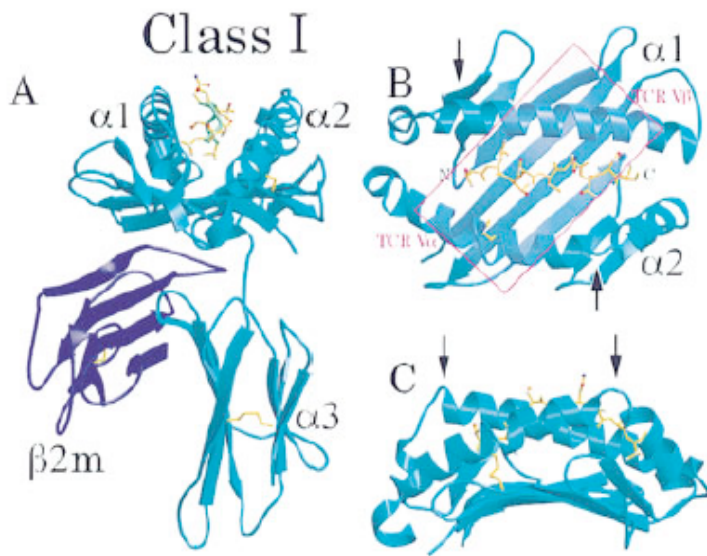
Las moléculas de clase I son heterodímeros glucoproteicos constituidos por una cadena pesada o  $\alpha$  que se asocia no covalentemente a una ligera o  $\beta$ (143)

- La cadena pesada  $\alpha$  presenta una porción extracelular, con 3 dominios ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$ ) siendo los dos primeros los de mayor polimorfismo, otra transmembrana y una última intracitoplasmática.

- La cadena ligera  $\beta$ , llamada  $\beta 2$ -microglobulina, está constituida por un solo dominio, no presenta polimorfismo y su localización es extracelular, íntimamente asociada a la cadena pesada.

En el extremo aminoterminal existe un surco formado por la interacción espacial entre los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ (144) donde se albergan los fragmentos de antígenos proteicos procesados para ser reconocidos por el sistema inmune específico(145).





**Figura 20.** Estructura tridimensional del CMH I(144). En las figuras B y C se marcan con flechas los puntos de mayor contacto con el antígeno.

### Organización genética.

La región de clase I contiene los tres loci clásicos, HLA A, B y C, cada uno de los cuales codifica para una cadena alfa diferente.

Todos los genes presentan una organización similar. Comprenden 8 exones separados por sus correspondientes intrones. El primer exón codifica para el péptido líder; y el segundo, tercero y cuarto, para los dominios  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ , y  $\alpha 3$  de la cadena pesada. La región transmembrana es codificada por el quinto exón y la región intracitoplasmática por los exones 6, 7 y 8(145). (146)

El gen de la  $\beta 2$ -microglobulina contiene cuatro exones. El primero codifica para el péptido líder y los tres siguientes codifican para la molécula completa.

### Polimorfismo de la cadena alfa.

Todas las moléculas clásicas HLA de clase I (HLA A, B y C), presentan un alto grado de polimorfismo en cada uno de los tres loci, entendiéndose por tal las distintas variaciones en secuencia que puede presentar un gen dentro de la población(146). Este polimorfismo obedece a cambios de la secuencia en los exones 2 y 3, lo que se va a traducir en variaciones en la secuencia de aminoácidos en los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  de la cadena pesada.

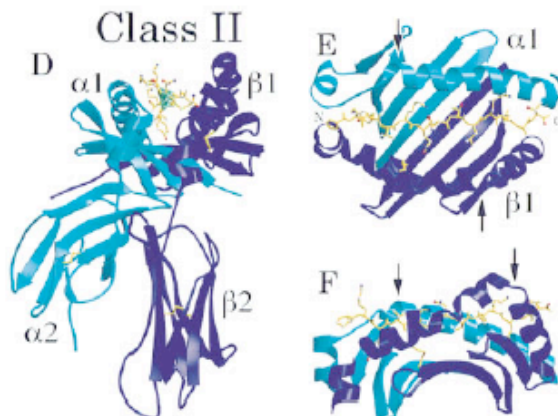
### I.8.4.2 Moléculas de clase II

#### Estructura.

Son glucoproteínas de membrana heterodiméricas que resultan de la asociación no covalente de dos cadenas llamadas alfa y beta, codificadas ambas dentro de la región de HLA D.

Las dos cadenas presentan una porción extracelular, transmembrana e intracitoplasmática(147). En ambos casos la porción extracelular está constituida por dos dominios llamados  $\alpha 1$ -  $\alpha 2$  y  $\beta 1$ -  $\beta 2$ .

Desde el punto de vista cristalográfico y tridimensional, la asociación de las dos cadenas forma también un surco en el extremo aminoterminal de la molécula, de configuración más abierta que en CHM I, pero con la misma función de albergar pequeños péptidos antigénicos(144).



**Figura 21.** Estructura tridimensional del CMH II. Marcados con flechas en la figura F aparecen las zonas de unión antigénica(144).

#### Organización genética.

Es mucho más compleja que la de clase I, ya que cada uno de los tres loci (DR, DP y DQ) contiene dos genes, A y B, que codifican para las cadenas alfa y beta respectivamente. Además, la subregión DR puede contener genes adicionales responsables de la subdivisión de los genes DR en cuatro grupos: DR1, DR8, DR52 y DR53.

Los genes A y B de los tres loci presentan una estructura similar. Los genes A poseen exones que codifican para el péptido líder, dominio  $\alpha 1$ , dominio  $\alpha 2$ , región transmembrana y porción intracitoplasmática.

### Polimorfismo de las moléculas de clase II:

Las moléculas de clase II presentan polimorfismo en sus dos cadenas. La más polimórfica para los tres loci es la  $\beta$ , y dentro de ésta, la región  $\beta 1$  de la molécula, codificada por el exon II.

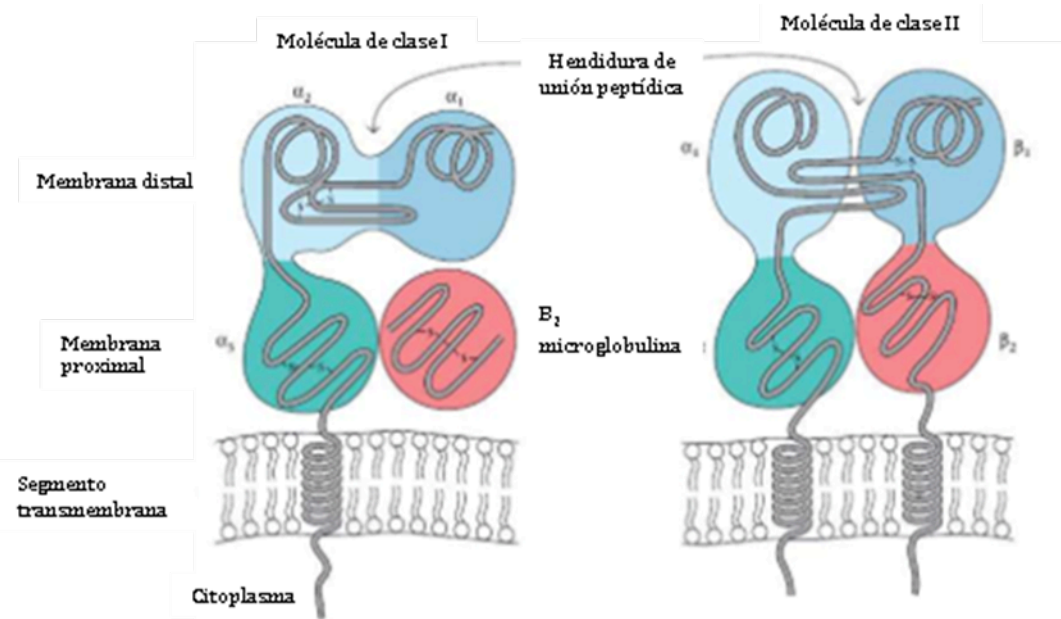


Figura 22. Relación del CMH I y II con la membrana celular.

#### 1.8.4.3 Función de las moléculas de clase I y II

Los linfocitos T identifican al antígeno una vez ha sido procesado en pequeños fragmentos peptídicos y asociado a las moléculas de clase I y clase II. Las células T CD8+ reconocen al antígeno presentado por las moléculas de clase I, mientras que las T CD4+ lo hacen asociadas a las moléculas de clase II. A este proceso se le conoce con el nombre de **restricción por el MHC**.

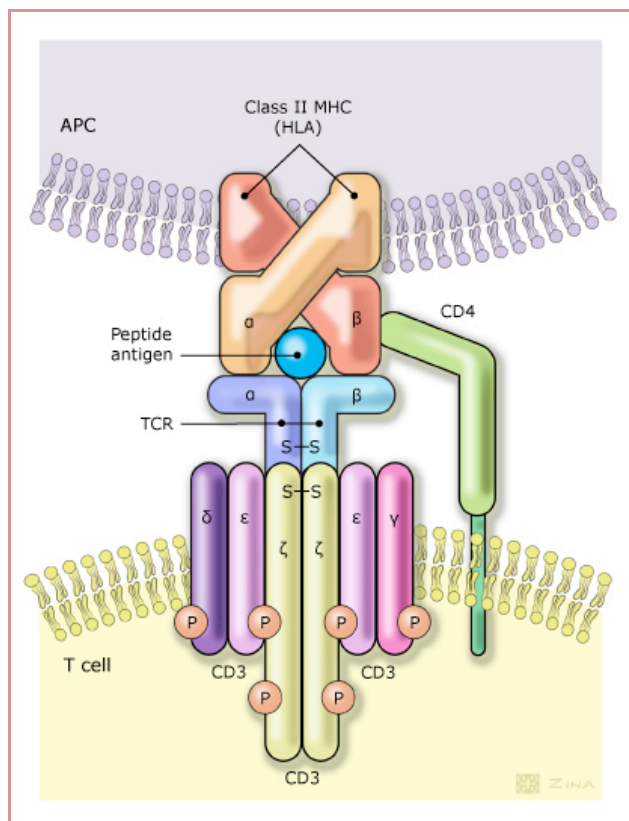
Se ha demostrado que un solo sitio de unión en el MHC puede unir péptidos(146) con alta afinidad y a la vez conservar la capacidad de unir una gran variedad de péptidos distintos.

La unión al ligando peptídico, que pasa a ser parte integral de la estructura molecular del MHC, estabiliza la molécula.

Las moléculas de MHC son altamente polimórficas en ciertos sitios del surco de unión al péptido. Se ha demostrado que los péptidos que se unen a una variante alélica determinada de MHC tienen los mismos o similares aminoácidos en dos o

tres posiciones específicas de la secuencia peptídica, llamados **residuos de anclaje**.

Las cavidades de unión de las moléculas de MHC de clase II son más permisivas a la unión de los aminoácidos, haciendo más difícil definir residuos de anclaje y predecir qué péptidos serán capaces de unir determinadas moléculas de MHC de clase II(147), (148).



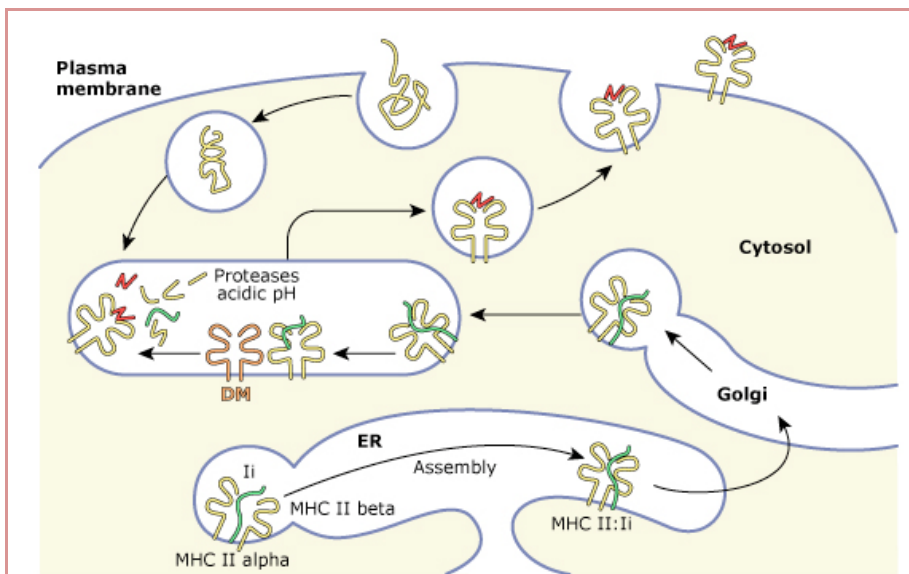
**Figura 23.** Interacción entre linfocito T y CHMII en célula presentadora de antígeno(145).  
Graphic 53512 Version 3.0

#### 1.8.4.4 Procesamiento del antígeno y ensamblaje al CMH II(147)

Después de la síntesis y asociación de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  en el retículo endoplasmático rugoso (RER), el heterodímero se asocia rápidamente con un tercer polipéptido llamado cadena invariante (li o CD74). La cadena li tiene la función de evitar una carga prematura del antígeno en la molécula de clase II. Durante el transporte de las moléculas de clase II a la membrana plasmática se produce su empaquetamiento en vesículas secretoras dentro del aparato Golgi. Estas vesículas, en el tránsito a la membrana, se van a fusionar con vacuolas

digestivas (fusión de endosoma y lisosoma) formadas tras los procesos de fagocitosis y pinocitosis, y que son los contenedores de antígenos exógenos. La bajada de pH del endosoma provoca la liberación de la cadena invariante y hace posible que las moléculas de clase II puedan captar los péptidos derivados de la digestión intracelular de los antígenos exógenos. Finalmente, se produce la expresión de las moléculas del MHC de clase II con el antígeno en la superficie celular, por fusión de las vacuolas con la membrana plasmática, donde serán reconocidos por los linfocitos T CD4+(147).

De esa manera, las moléculas de clase II unen péptidos de proteínas que se degradan en vesículas endocíticas, y por tanto, capturan péptidos de agentes patógenos que penetran en el sistema vesicular de macrófagos o péptidos antigénicos específicos internalizados por los receptores de las células de B.

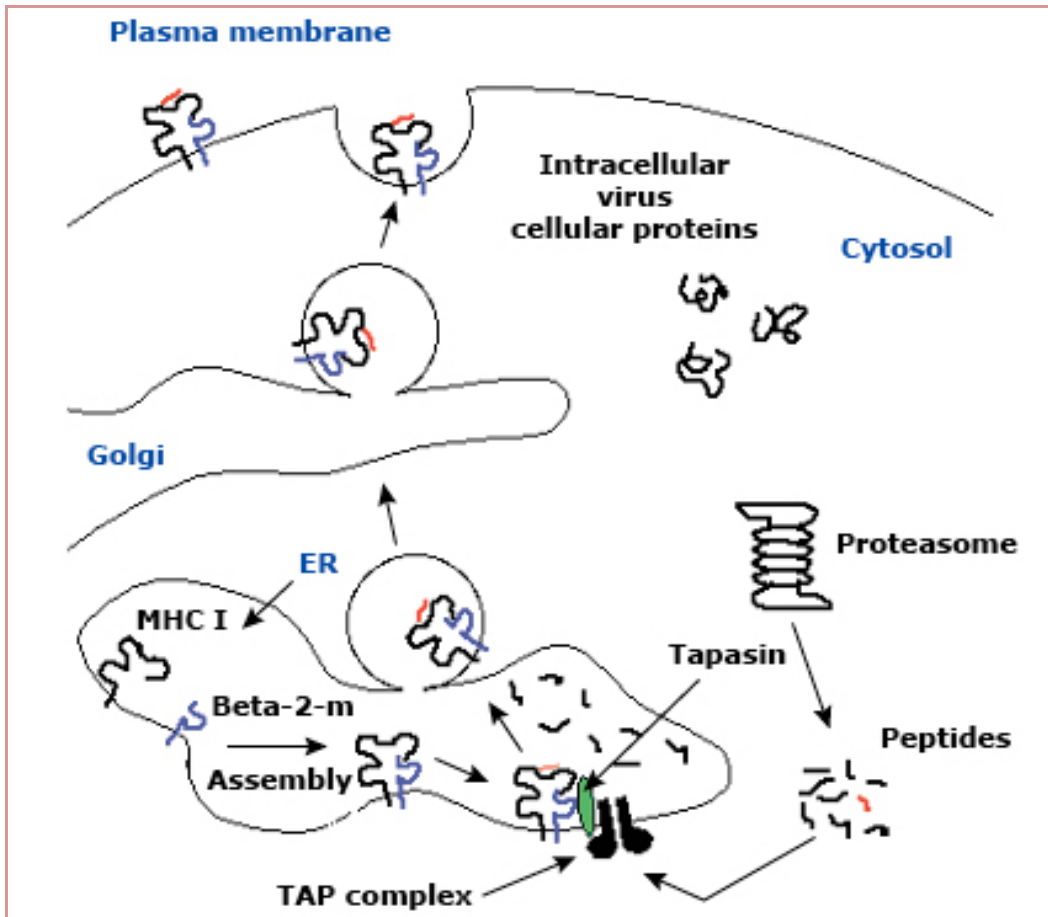


**Figura 24.** Procesamiento y presentación antigénica en el CMH II.  
Gráfico 65035 Versión 3.0 uptodate

#### I.8.4.5 Procesamiento del antígeno y asociación al CMH I(149)

La síntesis de la cadena pesada  $\alpha$  y de la  $\beta_2m$ , así como su ensamblaje para formar una molécula de clase I, tiene lugar en el RER. Es en este compartimento donde se une también al péptido antigénico. En este caso los antígenos no son degradados en endosomas, sino en una estructura proteica citoplasmática llamada *proteosoma*.

Las moléculas de clase I unen péptidos de proteínas degradadas en el citoplasma de la célula y también péptidos derivados de proteínas de membrana y secretadas. Degradados los antígenos, sus fragmentos deben pasar desde el citoplasma al RER para ser cargados en las moléculas HLA de clase I.



**Figura 25.** Procesamiento y presentación de antígeno en CMHI.  
Gráfico 76821 Up to date. Versión 4.0

#### 1.8.4.6 Polimorfismo y poligenia.

Las dos propiedades del CMH que hacen difícil que los agentes patógenos escapen a la respuesta inmunitaria son:

- La **poligenia**: existen diversos genes de CMH de clase I y II que codifican proteínas con diferentes espectros de especificidad de unión.
- El **polimorfismo**: existen múltiples alelos para cada gen.

Los genes variantes individuales de un solo locus genético se denominan alelos. Existen más de 200 alelos en algunos loci del CMH, y cada alelo presenta una

[Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

frecuencia relativamente elevada en la población(150). Por ello, la posibilidad de que el locus del CMH correspondiente en ambos cromosomas de un individuo codifique el mismo alelo es reducida. La mayoría de los individuos son heterocigóticos para dichos loci. Ambos alelos se expresan en la célula, por lo cual se dice que la expresión es **codominante**.

*Polimorfismo y poligenia* se combinan para producir la diversidad de moléculas del CMH que posee un individuo. Además, procesos de recombinación génica pueden crear nuevos alelos, con lo que aumenta la diversidad molecular del CMH.

En las moléculas de clase-I el *polimorfismo* afecta a los aminoácidos que determinan la especificidad antigénica, presentes en los puntos de anclaje al antígeno. Esto permite identificar péptidos en una proteína que puede unir la molécula del CMH apropiada.

En el CMH II, es más difícil predecir que péptidos se unirán a ésta porque presentan una mayor flexibilidad en la unión al péptido determinada por la estructura más abierta de la hendidura de unión y la mayor longitud de los péptidos que se unen a ella. Los péptidos que se unen a moléculas DR lo hacen a más de un alelo con mayor frecuencia que los unidos a DQ.

El polimorfismo de las moléculas de CMH garantiza un número suficiente de moléculas distintas en un individuo que asegure la respuesta inmune ante la mayoría de agentes externos. Si una proteína carece de péptidos con un motivo apropiado para unir alguna de las moléculas de CMH expresadas en las células del individuo, éste no podrá responder al antígeno; esto es muy infrecuente.

#### **1.8.4.7 HLA y hepatotoxicidad.**

La individualidad de la respuesta inmune podría explicar por qué la hepatotoxicidad ocurre en algunos y no en otros sujetos.

Al ser la expresión de las moléculas de HLA genéticamente polimórfica puede existir una relación entre *el haplotipo HLA particular del sujeto y su propensión al desarrollo de reacciones hepatotóxicas inmunoalérgicas*.

Se han realizado estudios de fenotipo HLA en pacientes que han desarrollado reacciones de hipersensibilidad debidas a fármacos, encontrándose una asociación significativa (Genome-wide association study or GWAs).

Los primeros trabajos intentaban relacionar la hepatitis causada por la anestesia

[Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

con halotano con el HLA del paciente(151,152). Los resultados fueron contradictorios. Eade et al. no encuentran asociación estadística entre la hepatotoxicidad por halotano y ningún alelo del HLA(151) mientras que el grupo de Otsuka et al(152) determinan una asociación significativa entre el haplotipo Aw24-Bw52-DR2 y el desarrollo de hepatitis icterica tras la anestesia con este fármaco. Los estudios no son comparables porque la población es diferente y en el segundo, además de las moléculas de HLA I, también se estudian las de tipo II (DR) que desde el punto de vista de fisiología del sistema inmune son cruciales en el desencadenamiento de la respuesta inmune.

Posteriormente se intentan establecer otras asociaciones como hepatotoxicidad por nitrofurantoína y el *HLA B8*, metotrexato y *HLA-A3*, antidepresivos tricíclicos y diclofenaco y *HLA-A11*(153) o clorpromacina y *HLA-DR6* (153)no estableciéndose una significación estadística probablemente por la dificultad de conseguir un número adecuado de pacientes.

Estudios más recientes han demostrado una asociación significativa entre la hepatotoxicidad por amoxicilina-clavulánico y el haplotipo *HLA-DRB1\*1501*(50). Estos datos apoyarían la hipótesis de que el fenotipo HLA del huesped pueda predisponer al desarrollo de reacciones inmunoalérgicas a fármacos al ser reconocidos como neoantígenos determinados productos de su metabolización (Hipótesis del hapteno). Dada la especificidad de unión a determinados haplotipos de HLA, esta predisposición sería hacia un tipo determinado de fármaco. Este campo de estudio ha sido muy desarrollado en los últimos años con diferentes trabajos que buscan una asociación significativa entre un determinado haplotipo de HLA y un tóxico específico(51,76-79)

Algunas de las relaciones más significativas son las mostradas en la **tabla 3** que se comentaron entre los factores de riesgo genéticos para el desarrollo de DILI.



## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### II.1 HIPÓTESIS

El hecho de que la mayor parte de las reacciones hepáticas tóxicas por fármacos sean de tipo idiosincrásico hace pensar que, posiblemente, existan factores genéticos que puedan explicar, al menos parcialmente, el desarrollo y tipo de lesión hepática ante un determinado fármaco.

### II.2 OBJETIVOS

#### II.2.1 Principal

Determinar la posible influencia de los factores inmunogenéticos (HLA, polimorfismos de citoquinas y genotipo KIR) en la lesión hepática idiosincrásica inducida por fármacos en la población pediátrica.

#### II.2.2 Secundarios

- Identificar el medicamento-tóxico responsable.
- Caracterizar clínico-patológicamente la lesión hepática.
- Definir el curso clínico de los episodios hepatotóxicos. (gravedad y tiempo de resolución)

## **III.METODOLOGÍA**

## III.METODOLOGÍA

### III.1 Diseño

Estudio multicéntrico analítico, observacional, tipo casos y controles donde han participado nueve hospitales españoles. (Hospital Universitario Materno infantil Virgen de la Nieves de Granada, Hospital La Paz de Madrid, Hospital Torrecárdenas de Almería, Hospital Clínico de Santiago de Compostela, Hospital Materno Infantil de Málaga, Hospital Universitario San Cecilio de Granada, Hospital Ciudad de Jaén , Hospital materno infantil de Badajoz, Hospital Universitario Virgen del Mar de Cádiz).

Los casos pertenecen al Registro Español de hepatotoxicidad en la población pediátrica activo desde 2008.

### III.2 Sujetos y ámbito de estudio

#### III.2.1 Criterios de inclusión.

- Niños con edad comprendida de 0 a 15 años.
- Sospecha de toxicidad hepática por la presencia de alguno de los siguientes datos:
  - a. > 76 U/L de GPT.
  - b. > 0,6 mg/dl de bilirrubina conjugada.
  - c. > 80 U/L de GOT, > 2 mg/dL de bilirrubina total y >516 U/L de la fosfatasa alcalina (simultáneamente).

Todos los casos son notificados mediante un protocolo (ANEXO III) estructurado que recoge información de los pacientes como:

- Características demográficas.
- Historia médica actual y antecedentes.
- Enfermedades intercurrentes.
- Exposición a otros fármacos.
- Sintomatología y signos clínicos (Especial interés en los relacionados con hipersensibilidad)

[Hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica y análisis de factores inmunogenéticos asociados \(HLA, citoquinas y genotipo KIR\)](#)

El formulario incluye una investigación sobre el uso de fármacos consumidos por el paciente en los tres meses previos a la hospitalización o consulta y además sobre el posible uso de otro tipo de sustancias con fines terapéuticos como plantas medicinales. Para cada medicamento se recoge, a través del propio paciente o sus familiares, información sobre:

- Fecha de inicio y final del tratamiento.
- Dosis.
- Indicación.
- Intervalo de tiempo desde el contacto con el tóxico e inicio de la sintomatología.

Para descartar posibles causas alternativas, en todos los pacientes se obtiene una historia clínica detallada en lo que respecta a antecedentes de patología biliar o hepática, así como información sobre factores de riesgo asociados a enfermedad hepática como adicción a drogas, consumo de alcohol, antecedentes de transfusión de hemoderivados o cirugía en los 6 meses previos al episodio que motiva su inclusión en el estudio.

Previo al diagnóstico de hepatotoxicidad se determinan en todos los pacientes:

- Marcadores serológicos de hepatitis aguda viral.
- Ceruloplasmina sérica.
- Batería de autoanticuerpos relacionados con patologías hepáticas de origen autoinmune.
- Ecografía hepatobiliar.

Las reacciones se han clasificado en:

a. Lesión hepatocelular: incremento aislado de ALT 2 veces superior al límite de la normalidad o actividad de ALT/FA expresada en múltiplos del límite superior de la normalidad > a 5 ULN.

b. Lesión colestásica: incremento aislado de FA > a 2 veces el valor normal o ALT/FA < a 2 ULN.

c. Lesión mixta: ALT elevada, incremento de FA y ALT/FA > a 2 ULN pero <5

ULN.

### III.2.1.1 Establecimiento de causalidad:

El diagnóstico de DILI ha sido primero evaluado por los médicos a cargo de los pacientes y posteriormente por el coordinador del estudio multicéntrico.

Los criterios de evaluación incluyen:

- Una secuencia temporal adecuada desde la administración del fármaco hasta el inicio de los síntomas.
- Un curso clínico no coincidente con los efectos de otra enfermedad concomitante, otro fármaco u otra terapia no farmacológica.
- Mejoría con la retirada del fármaco.
- Antecedente de hepatotoxicidad con ese fármaco.

Se han incluido aquellos casos que cumplieran los criterios clínicos y además cuya evaluación de causalidad al fármaco(s) haya sido estimada como *posible, probable o definida* por la *escala de CIOMS/RUCAM*(53,54). Esta escala contiene una serie de cuestiones preseleccionadas que son puntuadas según la información disponible trasladándose la puntuación total a una de las categorías de sospecha (ANEXO II).

Con el protocolo estructurado de recogida de datos (ANEXO III) se establece la relación cronológica, las variables demográficas y se excluyen causas alternativas o concomitantes.

Se ha definido el mecanismo de lesión clasificándola en intrínseca o idiosincrásica y ésta en inmunoalérgica o metabólica.

También se evalúa el tiempo de resolución del cuadro tras la supresión del tratamiento para clasificar los casos en resueltos o crónicos.

Una vez establecido el diagnóstico de hepatotoxicidad se tomaron dos muestras de sangre de cada paciente, y se almacenaron alícuotas de suero (estudio inmunológico) y sangre total (estudio inmunogenético) a -20°C y se remitieron al centro coordinador en Granada a través de la red de Biobanco. (ANEXO IV)

En el centro coordinador se procesaron las muestras y se realizaron las siguientes determinaciones inmunogenéticas:

### 1. Tipaje HLA.

Genotipado de HLA clase I y II.

Se genotipan los loci:

- HLA -A \*, B \* y CW \* de clase I.
- HLA - DRB1 \*, DQB1 \*\* DP de clase II.

El genotipaje se llevó a cabo mediante el kit *LABType SSO*<sup>®</sup> (One Lambda, Canoga Park, CA). El ADN se amplificó por PCR usando cebadores específicos, seguido de hibridación con oligodesoxinucleótidos específicos y microesferas de ficoeritrina (PE) con fluorescencia. La intensidad de fluorescencia se determinó con el sistema “*Bio-Plex*<sup>®</sup> 200 systems” (Luminex xMAP™). La asignación de alelo HLA se realizó con el software de HLA -Tools.

### 2. Identificación y análisis de los polimorfismos genéticos de las citoquinas IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-6 e IFN- $\gamma$ .

Los polimorfismos de citoquinas se obtuvieron a partir del ADN procedente de las muestras de sangre total extraída (recogida con EDTA) mediante el Kit “High Pure PCR Template Preparation” (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Las concentraciones séricas de citoquinas fueron analizadas utilizando la bandeja de genotipificación de citoquinas (One Lambda, Inc.) por PCR-SSP, siguiendo el protocolo del fabricante.

Después del proceso de PCR, los fragmentos de ADN amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa y se visualizaron por tinción con bromuro de etidio y exposición a la luz ultravioleta.

La interpretación de los resultados de PCR -SSP se basa en la presencia o ausencia de un fragmento de ADN amplificado específico.

Los polimorfismos estudiados han sido:

- TNF -  $\alpha$  (-308G / A).
- TGF -  $\beta$ 1 (-10T / A; 25C / G).
- IL10 (-1082G / A; -819T / C; -592 C / A).
- IL6 (-174G / C).
- IFN- $\gamma$  (+ 874T / A).

### 3. Tipaje KIR.

Se utilizó el kit de genotipado LABType SSO® (Oligonucleótidos de secuencia específica) para 14 genes y 2 pseudogenes KIR. De éstos, 8 genes tienen función inhibidora (2DL1, 2DL2 , 2DL3 , 2DL4 , 2DL5 , 3DL1 , 3DL2 , y 3DL3 ) y 6 activadora ( 2DS1, 2DS2 , 2DS3 , 2DS4 , 2DS5 y 3DS1 ).

Para la hibridación se utilizaron sondas de oligonucleótidos y amplificación por PCR de los exones 3, 4, 5, 7, 8 y 9 del cromosoma 19.

Se obtuvieron datos cuantitativos mediante el sistema *Luminex - 200* (Luminex Corporation, Austin, TX), y el análisis de éstos se realizó mediante el software v2.3, *Luminex 100™*, según las instrucciones del fabricante.

Todos los análisis se han llevado a cabo en la UCT [Laboratorios de Investigación del Complejo Hospitalario Universitario de Granada (ibs.GRANADA)].

#### **III.2.2 Criterios de exclusión.**

- No cumplir los criterios de causalidad.
- A pesar de cumplir los criterios de causalidad, presentar una enfermedad hepática concomitante (vírica, alcohólica, metabólica, por depósito o autoinmune) o cualquier otra enfermedad no hepática que pueda cursar con alteración del perfil hepático.
- Presentar el episodio durante tratamiento quimioterápico.
- No firmar el consentimiento informado.



### **III.2.3 Controles.**

Como grupo control se seleccionaron, al azar, pacientes con edad comprendida entre los 0 y 15 años, sin antecedente conocido de hepatopatía, que acudieron a la Unidad de Urgencias de Pediatría del Hospital Materno Infantil de Granada por procesos en los que no había sospecha de DILI.

La recogida de controles se realizó durante el primer trimestre del 2015.

## **IV. VARIABLES DEL ESTUDIO**

## IV. VARIABLES DEL ESTUDIO.

- **Datos demográficos y curso clínico:** edad, raza, sexo, daño hepatocelular y lesión colestásico o mixta .
- **Datos de laboratorio:** ALT, AST, Fosfatasa alcalina.
- **Evolución clínica:** curso fulminante, trasplante, muerte; daño severo; cronicidad.
- **Presentación clínica** Días desde el comienzo de exposición al tóxico e inicio de los síntomas. (Mediana, DS), Total de días de consumo del tóxico.
- **Resolución clínica,** Días desde inicio del cuadro a bilirrubina total <2.5 mg/dl y días desde inicio del cuadro a ALT< ULN.
- **Signos y síntomas:** ictericia, dolor abdominal, nauseas, vómitos, anorexia/astenia.
- **Tóxicos responsables del daño hepático:** antimicrobianos, fármacos para el TADH y otros.
- **Genotipo HLA.**
- **Polimorfismos de los genes que codifican la IL-10, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , IL-6 e IFN $\gamma$ .**
- **Genotipo KIR.**

### IV.1 Análisis estadístico.

La gestión y análisis de los datos se ha realizado con el programa SPSS19.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

- **Técnicas de Estadística Descriptiva:** Distribución de frecuencias y porcentaje para las variables cualitativas y estadísticos de tendencia central, dispersión y posición para las variables cuantitativas.
- **Técnicas de Estadística Inferencial:** el criterio para considerar la existencia de significación estadística fue un valor de  $P \leq 0.05$ .

Las variables dependientes en este estudio fueron HTX/No-HTX.

Se expresan como números absolutos en porcentajes las variables cualitativas y como valores medios  $\pm$  DS las cuantitativas.

La comparación entre grupos se realizó mediante la prueba de “*chi-cuadrado*” para las variables cualitativas y “*t de Student*” para variables cuantitativas.

El efecto independiente de cada factor se determinó usando un *modelo de regresión logística*.

# **V. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

## V. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se ha llevado a cabo de acuerdo con la última versión de la Declaración de Helsinki.

Todos los casos y controles han firmado el consentimiento informado para la donación de muestras a la red de BIOBANCO (ANEXOV).

El proyecto cuenta con la aprobación del Comité de Ética Provincial de cada una de las ciudades de los hospitales participantes

### **V.1 Confidencialidad de los datos:**

En todas las fases del estudio se respetó lo establecido por la Ley de Protección de Datos. Se ha mantenido la confidencialidad de todos los datos de carácter personal, quedando anonimizados en la base de datos central, que, además, está protegida por una contraseña que sólo es conocida por el personal autorizado implicado en el estudio.

## **VI. RESULTADOS**

## VI. RESULTADOS

Se analizan como *casos* 30 pacientes que cumplen los criterios de inclusión descritos previamente y recogidos en el Registro Español de Hepatotoxicidad por fármacos y productos de herboristería en la Población Pediátrica. La inclusión del primer niño en este registro se realizó en 2008. Actualmente incluye 83 reacciones hepatotóxicas en pediatría. Como *muestra control* se incluyen 62 niños, sin antecedente conocido de hepatopatía, que acudieron a la Unidad de Urgencias de Pediatría del Hospital Materno Infantil de Granada durante el primer trimestre de 2015 por procesos en los que no había sospecha de DILI.

El total de la muestra está constituida por 92 niños.



## VI.1 Características generales de los episodios de DILI.

Los datos clínicos y demográficos de los casos, los principales valores de laboratorio que presentan y la evolución clínica quedan resumidos en la tabla 9.

<b>Datos clínicos y demográficos</b>	
Edad (media +/- DS)	7.2 ± 4.1
Raza (blanca/negra/otra)	27 / 1 / 2
Sexo (masculino/femenino)	11 / 19
Daño hepatocelular, n (%)	20 (66.6)
Lesión colestásica y mixta, n (%)	10 (33.3%)
<b>Parámetros de laboratorio. Principales valores</b>	
ALT (×LSN)	16
AST (×LSN)	13
Fosfatasa Alcalina (×LSN)	7
<b>Evolución clínica</b>	
Curso fulminante, tx hepático, muerte, n (%)	2 (6.6)
Daño severo, n (%)	5 (16.6)
Cronicidad, n (%)	1 (3.3)

**Tabla 9:** Datos demográficos, clínicos y parámetros de laboratorio de los pacientes que presentan un episodio de hepatotoxicidad (n = 30). Los valores son expresados como múltiplos del LSN.

En el grupo control la edad media fue de 8.1 años ± 5.3 , estuvo formado por 33 niños y 29 niñas y todos los fueron de raza blanca.

En la tabla 10 se muestran las principales características clínicas de los episodios registrados, el tiempo transcurrido desde la exposición al fármaco y el inicio de la sintomatología, la duración de los episodios y los signos y síntomas más frecuentes.

<b>Presentación clínica</b>	
Días desde el comienzo de exposición al tóxico e inicio de los síntomas. (Mediana, DS)	9 ±7
Total de días de consumo del tóxico.	5 ±6
<b>Resolución Clínica</b>	
Días desde inicio del cuadro a bilirrubina total <2.5	22 ±14
Días desde inicio del cuadro a ALT <ULN**.	42 ±15
<b>Signos y síntomas</b>	
Ictericia.	3 (10%)
Dolor abdominal.	22 (73.3%)
Nauseas, vómitos.	24 (80%)
Anorexia, astenia.	18 (60%)

**Tabla 10:** *Curso clínico de los episodios de DILI.*

*\*Para casos con pico de bilirrubina total >2.5 mg/dl*

*\*\* Para casos con pico de ALT >5 veces ULN*

Los fármacos implicados en los episodios de DILI se enumeran en la tabla 11 divididos por grupos terapéuticos y en orden decreciente según el número de casos en los que están implicados.

<b>Antimicrobianos.</b>	
Amoxicilina/ácido clavulánico	9
Isoniazida	4
Voriconazol	2
Meropenem	2
Amoxicilina	1
Sufametoxazol	1
Cloxacilina	1
Pirazinamida	1
Aciclovir	1
<b>Fármacos para el tratamiento de TADH.</b>	
Olanzapina	1
Metilfenidato	1
Gabapentina	1
<b>Otros.</b>	
Ibuprofeno	2
Propiltiuracilo	1
Amiodarona	1
Anís	1

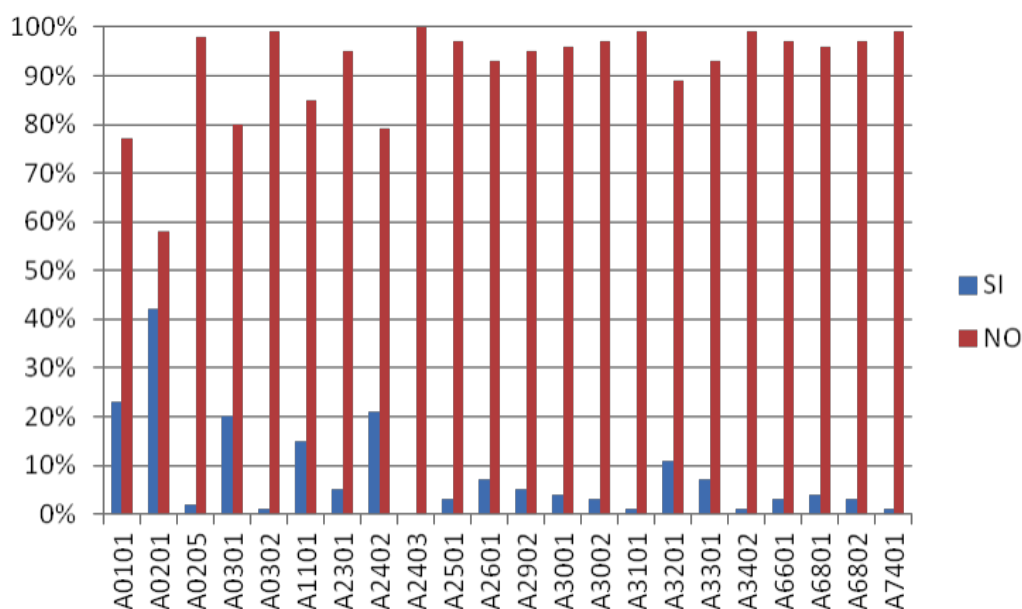
**Tabla 11:** *Tóxicos responsables del daño hepático.*

## VI.2 Estudio HLA

### Descripción en el total de la muestra.

#### HLA I

- **HLA-A;** hay 22 alelos en el total de la muestra. El más abundante en nuestra población es el A0201 (58%), seguido del A0101 (28%), y A2402 (21%). Todos los demás están por debajo del 20%.



**Figura 26.** Distribución de los alelos HLA-A en el total de la muestra.

- **HLA-B;** se describen 36 alelos diferentes que aparecen en % muy bajos. El B5101 aparece en un 19% siendo el más frecuente.

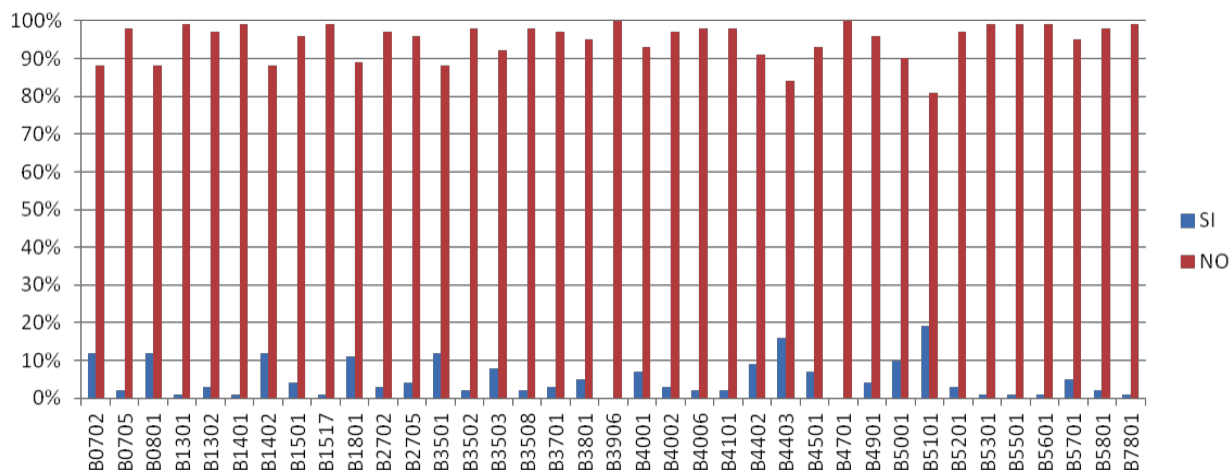


Figura 27. Alelos HLA-B en el total de la muestra.

- **HLA-C;** se diferencian 21 alelos de los que el más frecuente es el C0401 (27%) seguido de C0701 (25%) y C0602 (23%). El resto aparecen por debajo del 20%.

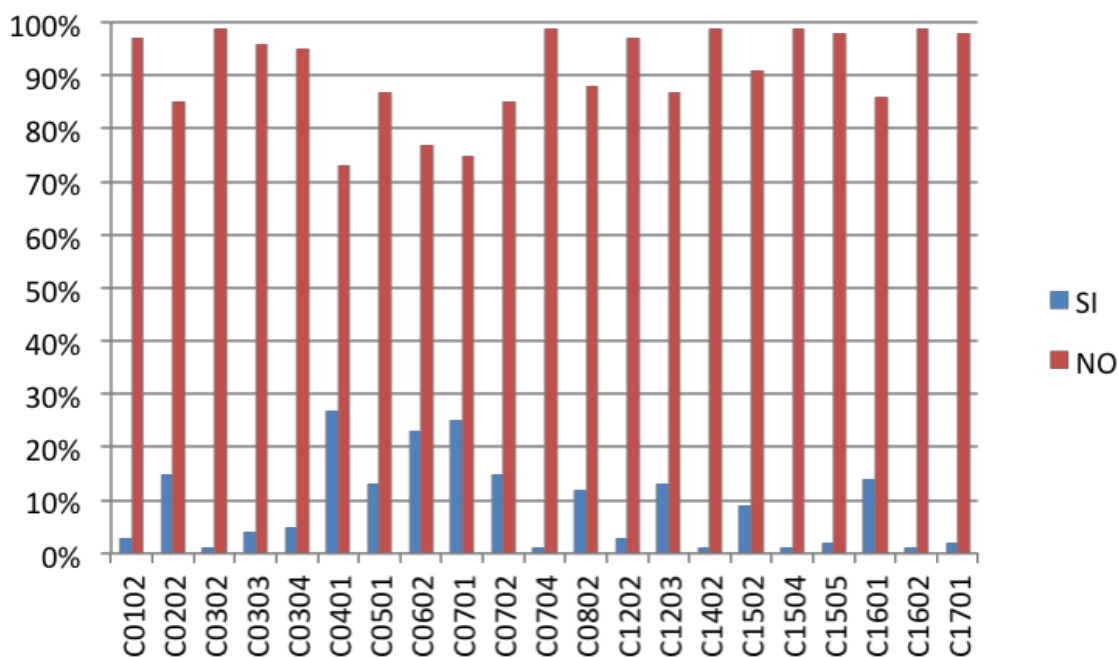
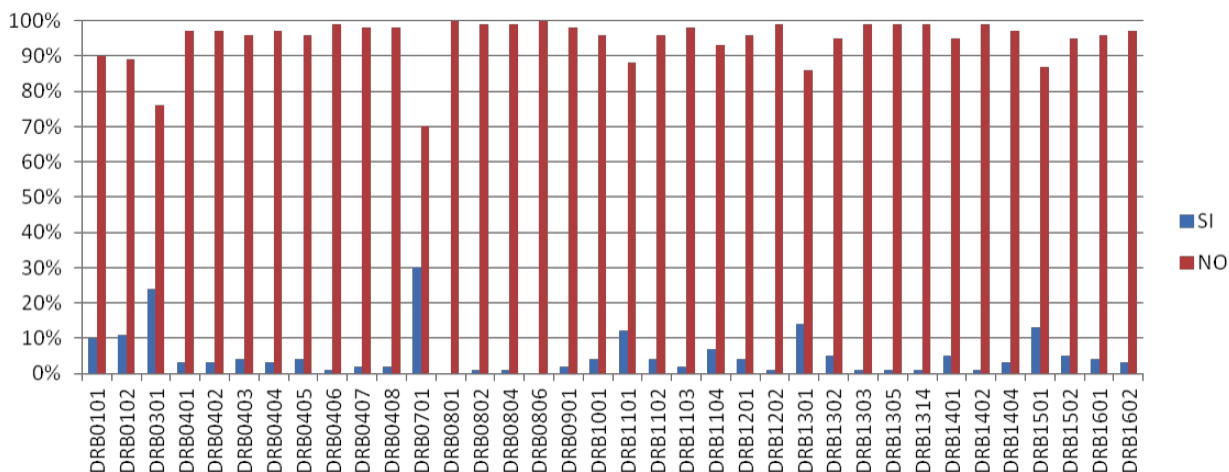


Figura 28. Alelos HLA-C en la muestra completa.

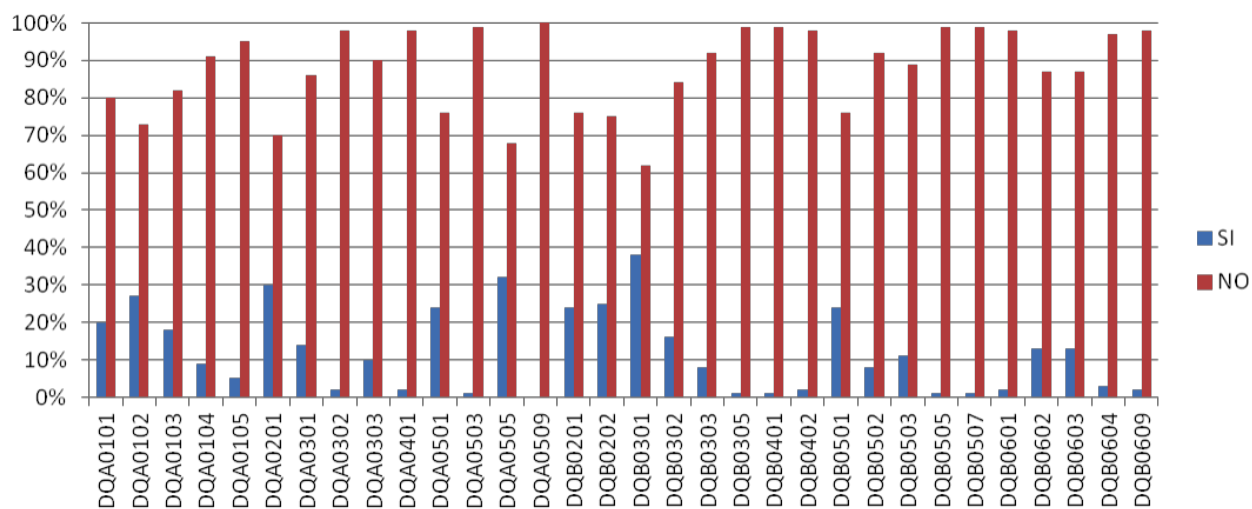
**HLA II:**

- **HLA DRB;** de los 36 alelos identificados, los más frecuentes son HLA DRB\*0701 (30%) y HLA DRB\*0301 (24%)



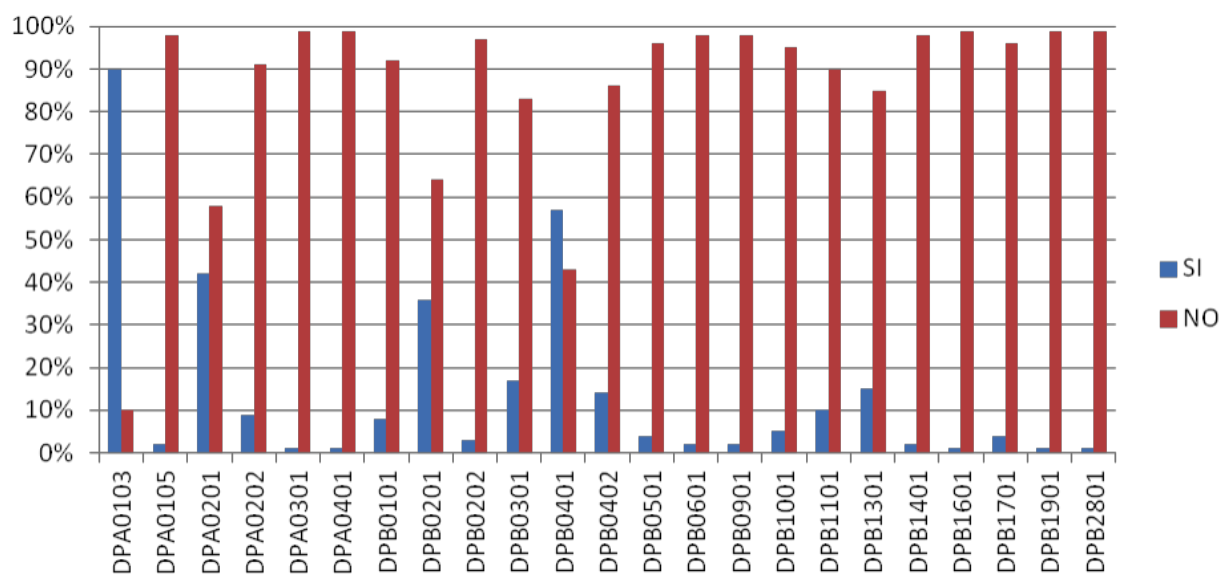
**Figura 29:** Disposición de alelos HLA-DRB en el total de la muestra.

- **HLADQB;** hay 18 alelos apareciendo con mayor frecuencia el HLA DQB\*0301 (38%), HLA DQB\*0202 (25%), HLA DQB\*0202 (25%), HLA DQB\*0501 (24%) y HLA DQB\*0201 (24%).
- **HLA DQA;** de los 11 alelos que hay, los más frecuentes son el HLA DQA\*0505 (32%), HLA DQA\*0201 (30%), HLA DQA\*0102 (27%) y HLA DQA\*0501 (24%).



**Figura 30.** Alelos HLA-DQA y HLA-DQB en la población de estudio.

- **HLA-DPA:** hay 6 alelos. Destacar que los HLA-DPA son los que aparecen en mayor % estando el **HLA-DPA\*0103** presente en un 90% de los niños. El HLA-DPA\*0201 aparece en un 42%.
- **HLA-DPB:** tiene 17 alelos. El HLA-DPB\*0401 aparece en un 57% de los niños y el HLA-DPB\*0201 en el 36%; son los más frecuentes.



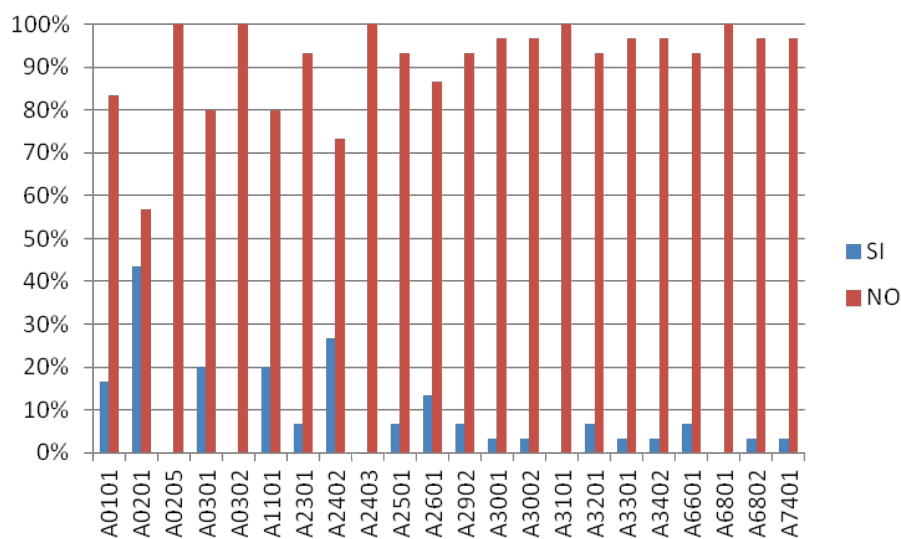
**Figura 31.** Alelos HLA-DPA y HLA-DPB en el total de la muestra.

## Análisis en casos y controles.

### HLA I

- **HLA-A y HLA-B.** No existen diferencias significativas entre ningún alelo HLA-A ni HLA-B entre casos y controles. (Fig. 32 y 33)

Casos:



Controles:

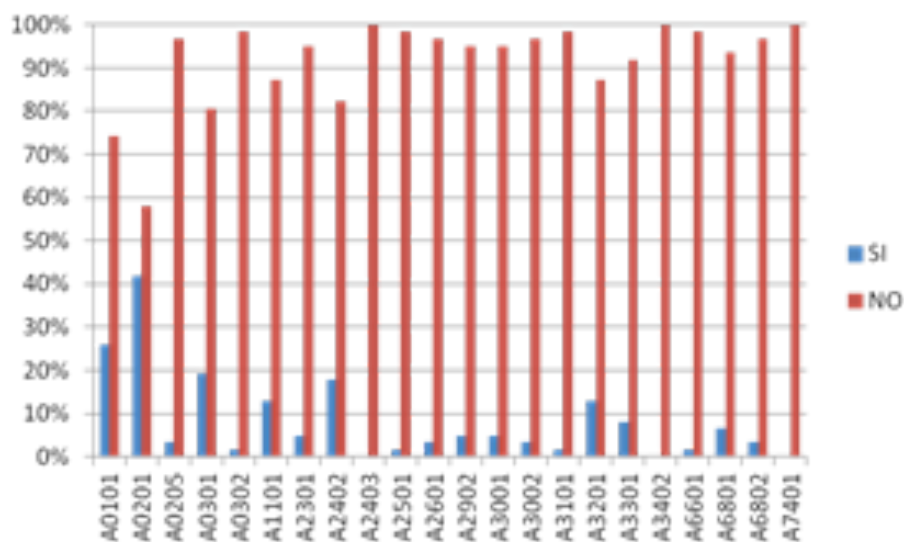
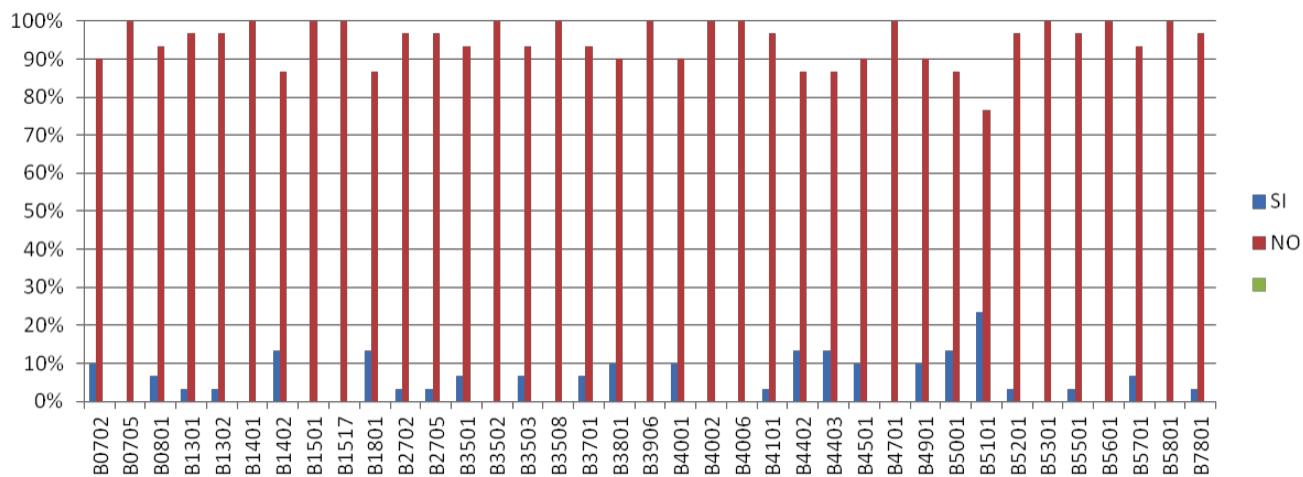


Figura 32. Distribución de HLA-A en casos y controles.



Casos:



Controles:

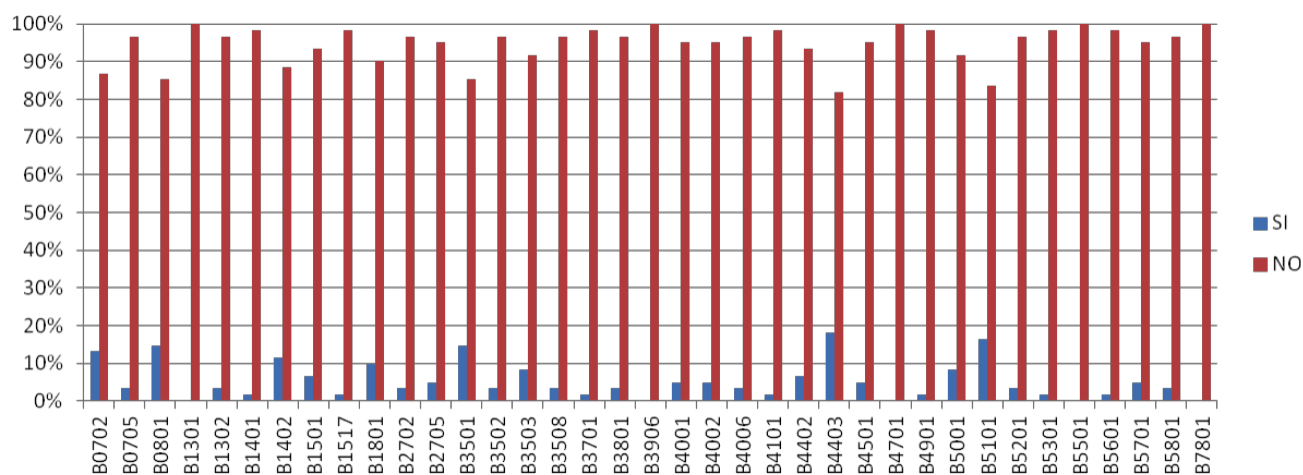
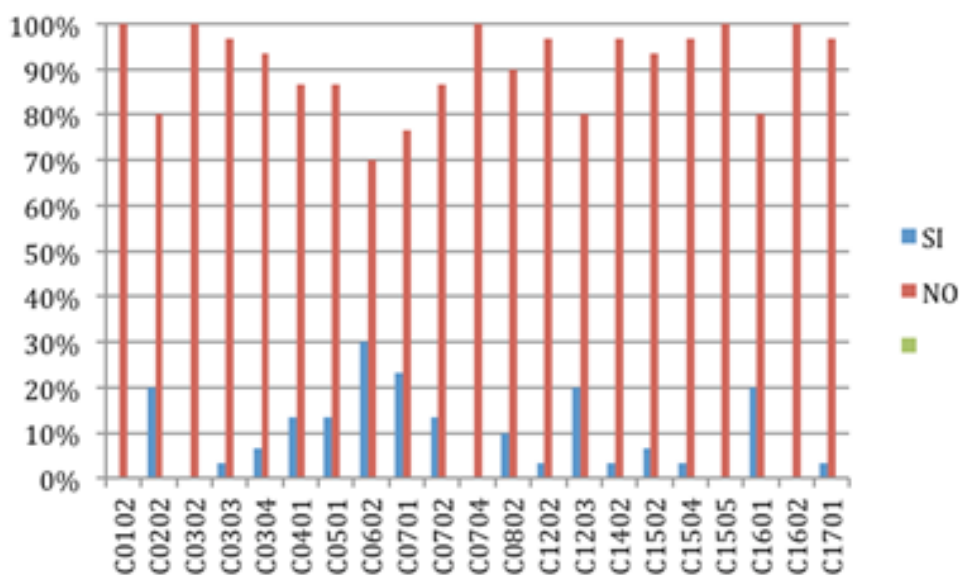


Figura 33. HLA-B en casos y controles.

• HLA-C.

Casos:



Controles:

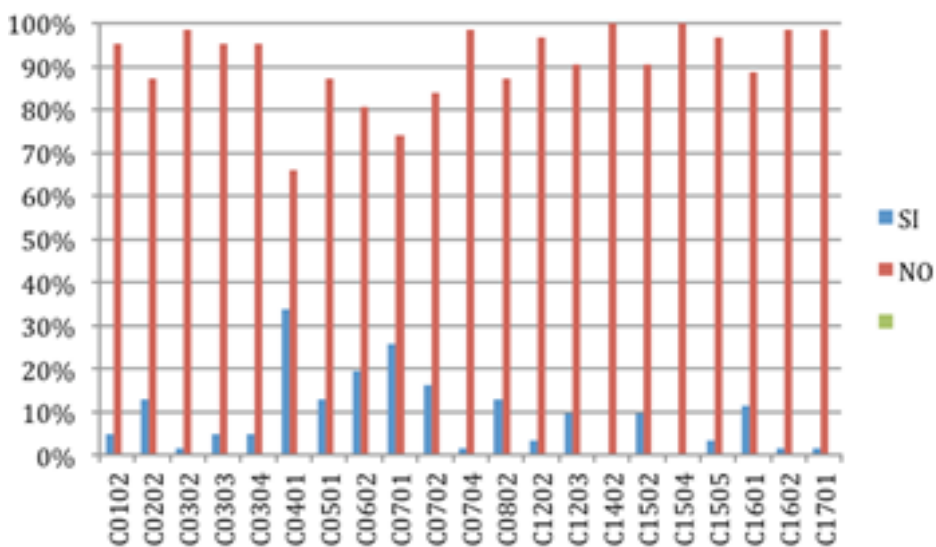


Figura 34: Alelos HLA-C en casos y controles.

- ✓ **HLA-C0401.** El 84% de los sujetos que presentan este alelo son *controles*. Los sujetos con este alelo tienen menos probabilidad de tener hepatotoxicidad [OR= 0,3, p= 0,045 y un IC= (0,09-0,097)]. El HLA-C0401 actúa, por tanto, como factor protector.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
C0401	NO	Recuento	41	26	67
		% dentro de C0401	61,2%	38,8%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	66,1%	86,7%	72,8%
	SI	Recuento	21	4	25
		% dentro de C0401	84,0%	16,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	33,9%	13,3%	27,2%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de C0401	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Variables en la ecuación

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup>	C0401(1)	-1,203	,600	4,013	1	,045	,300	,093	,974
	Constante	-,455	,251	3,301	1	,069	,634		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: C0401.

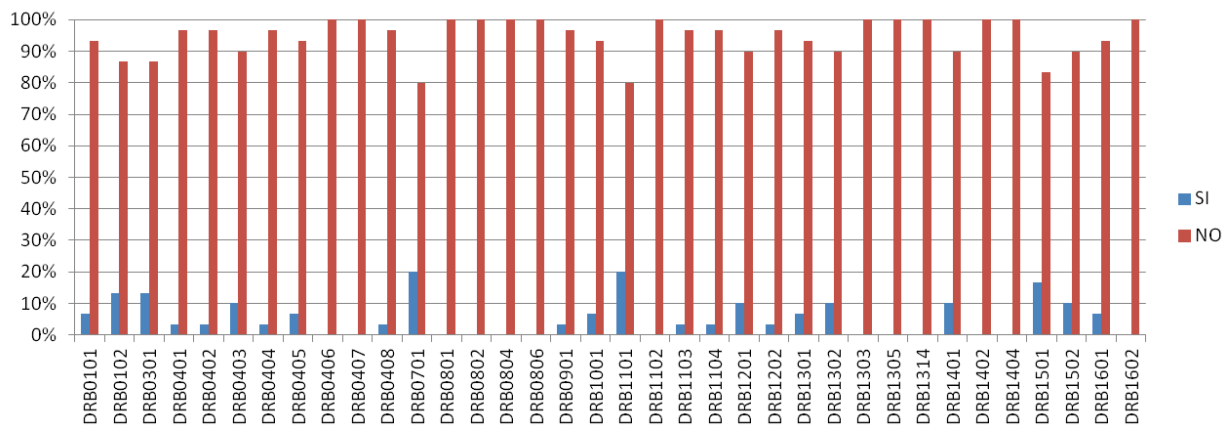
**Tabla 12.** *Tabla de contingencia y regresión logística para HLA-C 0401.*

El resto de HLA-C no fueron distintos entre casos y controles (Fig. 34)

## HLA II

- **HLA-DRB\***. No existen diferencias significativas para ninguno de sus alelos entre casos y controles.

### Casos



### Controles

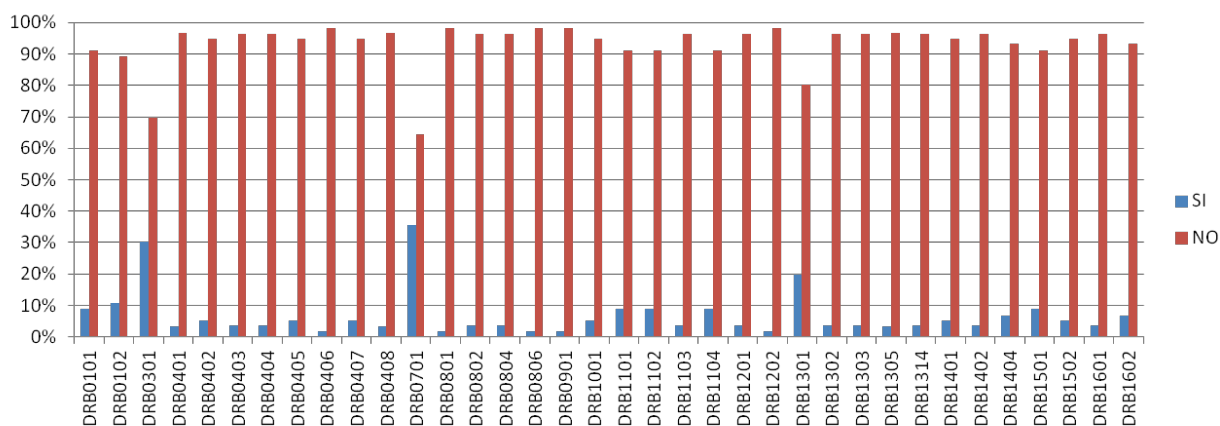
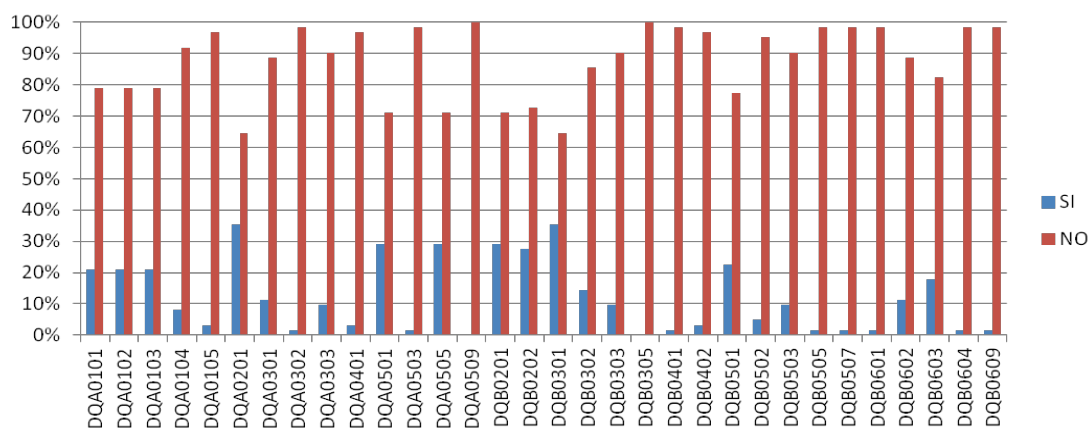


Figura 35. Alelos HLA-DRB en casos y controles.

• HLA-DQA\* y DQB\*

Casos:



Controles:

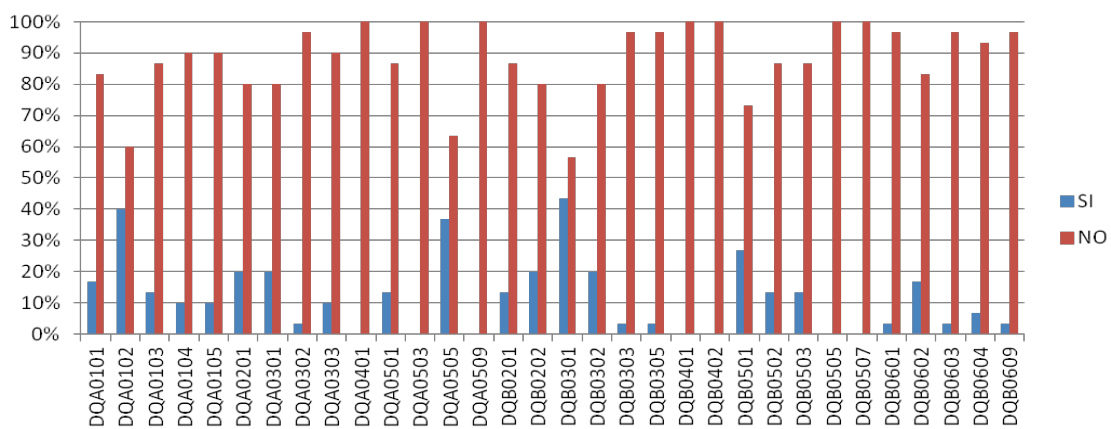


Figura 36. Representación de los alelos HLA-DQA\* y HLA-DQB\* en casos y controles.

- ✓ **HLA-DQA\*0102.** Este alelo está presente en el 40% de los casos frente al 21% en los controles. Los sujetos con el **HLA-DQA\*0102 tienen 2,5 veces más probabilidad de DILI.** [OR= 2,51; p= 0,058; IC (0,9-6,5)]. Este alelo podría predisponer a la población a padecer hepatotoxicidad. De nuevo la significación estadística no se alcanza por el escaso tamaño de la muestra.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
DQA0102	NO	Recuento	49	18	67
		% dentro de DQA0102	73,1%	26,9%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	79,0%	60,0%	72,8%
	SI	Recuento	13	12	25
		% dentro de DQA0102	52,0%	48,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	21,0%	40,0%	27,2%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de DQA0102	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Variables en la ecuación

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> DQA0102(1)	,921	,486	3,594	1	,058	2,513	,969	6,514
Constante	-1,001	,276	13,202	1	,000	,367		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: DQA0102.

**Tabla13.** Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DQA\*0102.

- ✓ **HLA-DQB\*0603.** El 91% de los positivos pertenecen al grupo control. De esta manera, los niños que presentan HLA-DQB\*0603 tienen menos riesgo de hepatotoxicidad. Este alelo es beneficioso para los niños pudiendo considerarse un **factor protector** frente al daño hepático por drogas [OR= 0,16; p= 0,087; IC= (0,2-1,3)].

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
DQB0603	NO	Recuento	51	29	80
		% dentro de DQB0603	63,8%	36,3%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	82,3%	96,7%	87,0%
	SI	Recuento	11	1	12
		% dentro de DQB0603	91,7%	8,3%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	17,7%	3,3%	13,0%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de DQB0603	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Variables en la ecuación

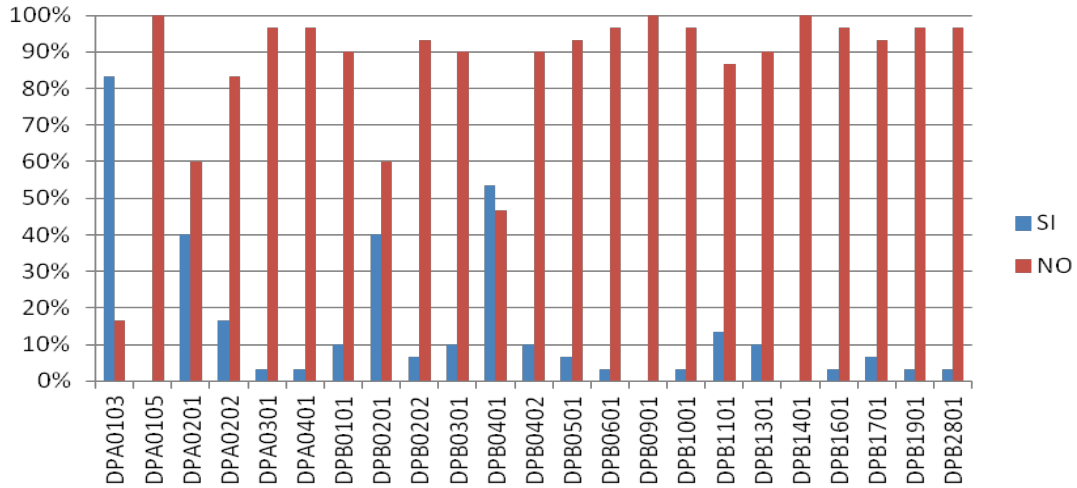
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup>	DQB0603(1)	-1,833	1,070	2,936	1	,087	,160	,020	1,302
	Constante	-,565	,233	5,892	1	,015	,569		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: DQB0603.

**Tabla 14.** Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DQB0603

- **HLA-DPA\* y DPB\***. No existen diferencias estadísticamente significativas entre pacientes y controles.

Casos:



Controles:

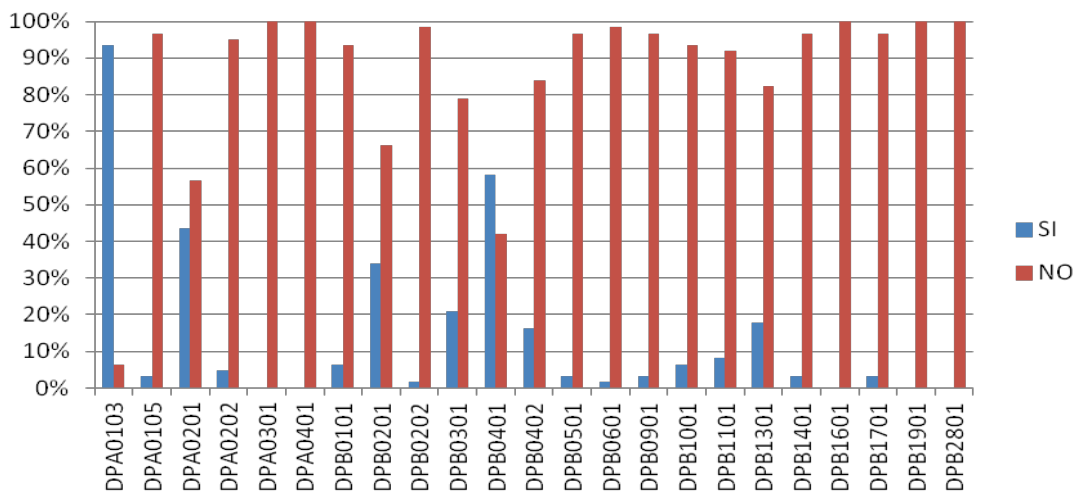


Figura 37. Alelos HLA-DPA y HLA-DPB en casos y controles.



- Al realizar el análisis de los alelos con dos dígitos hay que destacar que el 80% de los sujetos que tienen el **HLA-DRB\*12** son casos. Sólo hay 5 niños que lo presentan siendo 4 de ellos pacientes. Los niños con el HLA-DRB\*12 tienen 9,3 veces más probabilidad de tener hepatotoxicidad. Este alelo podría considerarse factor de riesgo para DILI, el pequeño tamaño de la muestra hace que no se alcance significación estadística [OR: 9.3, p= 0.050, IC (1-88.053)].

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
DRB12	NO	Recuento	61	26	87
		% dentro de DRB12	70,1%	29,9%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	98,4%	86,7%	94,6%
	SI	Recuento	1	4	5
		% dentro de DRB12	20,0%	80,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	1,6%	13,3%	5,4%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de DRB12	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Variables en la ecuación

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup>	DRB12(1)	2,239	1,142	3,842	1	,050	9,385	1,000	88,053
	Constante	-,853	,234	13,257	1	,000	,426		

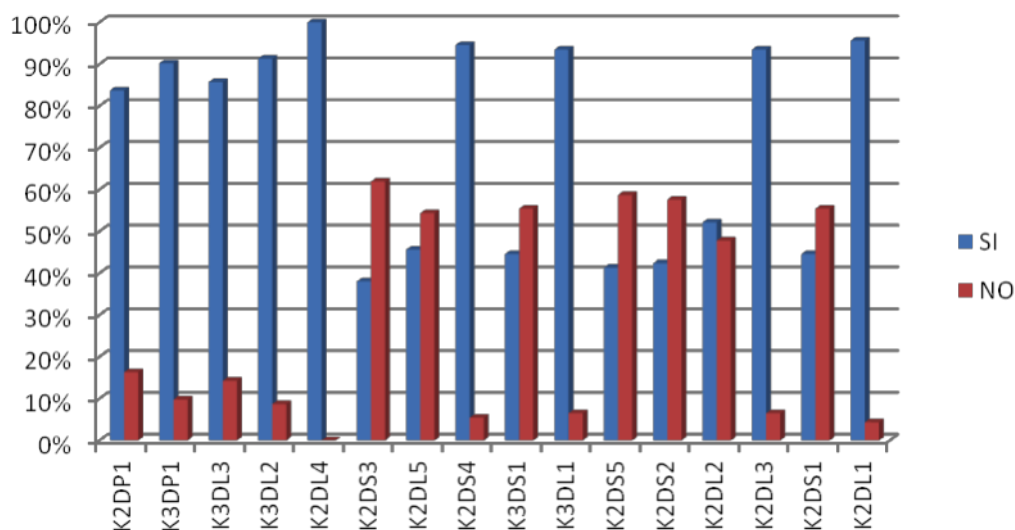
a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: DRB12.

**Tabla 15.** *Tabla de contingencia y regresión logística de HLA-DRB\*12*

### VI.3 Análisis genotipo KIR.

#### Descripción en el total de la muestra.

La genotipificación se realizó en el total de la muestra (n= 92) para 14 genes y 2 pseudogenes KIR.

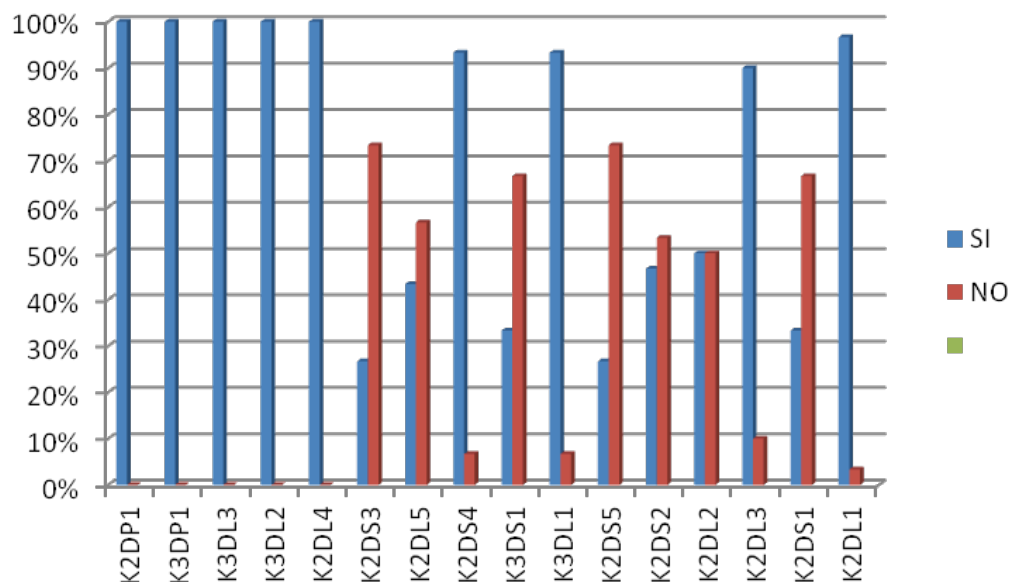


**Figura 38.** Distribución de los genotipos KIR en el total de la muestra.

- El **KIR K2DL4** lo tienen el 100% de los sujetos.
- El KIR menos presente es el **K2DS3** con un 38%.

### Análisis en casos y controles.

Casos:



Controles:

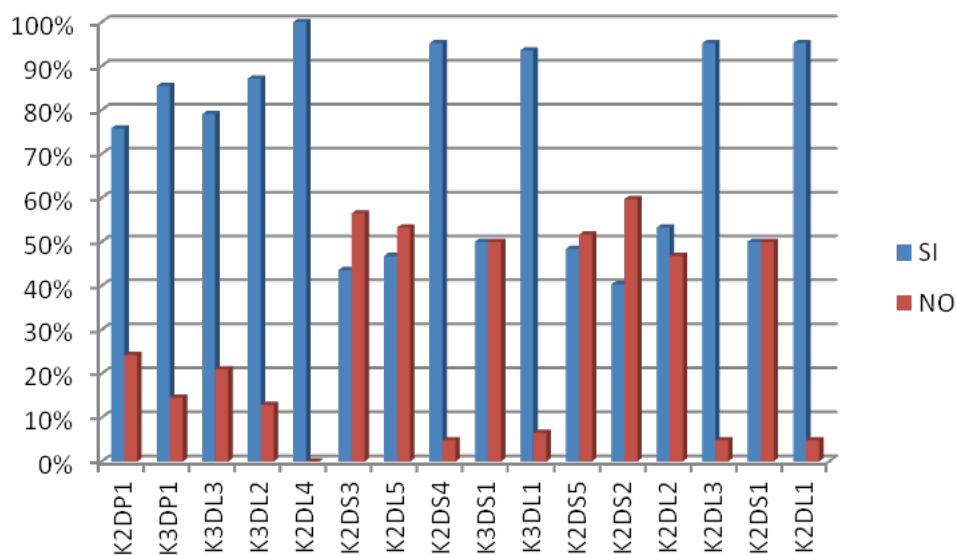


Figura 39. Distribución de los KIRs en casos y controles.

- ✓ **K2DP1.** Está presente en el 100% de los casos y sólo en el 75,8% de los controles.
- ✓ **K3DP1.** Es positivo en el 100% de los casos y en el 85,5% de los controles.
- ✓ **K3DL3:** También positivo en todos los casos y únicamente en el 79% de controles.
- ✓ **K3DL2:** se comportó de forma parecida siendo positivo en todos los controles y en un 87% de controles.

Merece la pena destacar que los KIRs **K2DP1, K3DP1, K3DL3, K3DL2 y K2DL4** aparecen en el 100% de los niños con DILI.

- ✓ **K2DS5.** El 78.9% de los sujetos que tienen este alelo son controles. (48.4% de los controles lo presentan). Podemos decir que el niño que tiene este **KirK2DS5** tiene menos probabilidad de tener HTX. Se puede considerar un **factor protector**. [OR= 0,4, p= 0,051, IC (0,1-1,003)]
- En nuestra población, hay niños que presentan *todos* los KIRs activadores, y otros *todos* los KIRs inhibidores pero no se han encontrado diferencias significativas entre casos y controles. (p= 0.42 para los activadores y p= 0.72 para los inhibidores) Tabla 16.
- Dos niños poseen todos los KIRs (Activadores e Inhibidores) y ambos son casos pero no se alcanza significación estadística (p= 0.1) Tabla 17.
- Al estudiar los haplotipos KIRs, destacar que el 80,8% de los niños con haplotipo BB son controles, a pesar de no existir significación estadística (p= 0.2) Tabla 18.
- Se buscaron también diferencias con los alelos por separado (AA+AB vs BB y pacientes BB+AB vs AA) no encontrándose ninguna diferencia entre grupos. (p= 0.08 y p= 0.2 respectivamente) Tabla 18.

- Al estudiar los ligandos, inicialmente por separado y, posteriormente, Kirs-ligando, no encontramos diferencias entre grupos ( $p= 0.3$  y  $p= 0.7$  respectivamente) Tablas 19 y 20.
- En los casos en los que dos alelos KIRs eran del mismo gen, se hizo el estudio comparando niños homocigóticos para alguno de los alelos y heterocigóticos. Este fue el caso de los alelos KIR2DL2/KIR2DL3 y KIR3DL1/KIR3DDS1. No se encontraron diferencias entre grupos ( $p= 0.55$  y  $p= 0.28$ ) Tablas 21 y 22.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
KIR Activadores	NO	Recuento	52	27	79
		% dentro de KIR Activadores	65,8%	34,2%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	83,9%	90,0%	85,9%
	SI	Recuento	10	3	13
		% dentro de KIR Activadores	76,9%	23,1%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	16,1%	10,0%	14,1%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de KIR Activadores	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
KIR Inhibidores	NO	Recuento	52	26	78
		% dentro de KIR Inhibidores	66,7%	33,3%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	83,9%	86,7%	84,8%
	SI	Recuento	10	4	14
		% dentro de KIR Inhibidores	71,4%	28,6%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	16,1%	13,3%	15,2%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de KIR Inhibidores	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tabla 16:** Presencia de KIRs activadores e inhibidores en casos y controles.

**Tabla de contingencia TodosKIR \* Tipo\_Muestra**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
TodosKIR	NO	Recuento	62	28	90
		% dentro de TodosKIR	68,9%	31,1%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	93,3%	97,8%
	SI	Recuento	0	2	2
		% dentro de TodosKIR	,0%	100,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	,0%	6,7%	2,2%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de TodosKIR	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tabla 17.** Presencia de todos los KIRs en casos y controles.

**Tabla de contingencia**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
HAP_Bx	AA	Recuento	14	10	24
		% dentro de HAP_Bx	58,3%	41,7%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	22,6%	33,3%	26,1%
	AB	Recuento	27	15	42
		% dentro de HAP_Bx	64,3%	35,7%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	43,5%	50,0%	45,7%
	BB	Recuento	21	5	26
		% dentro de HAP_Bx	80,8%	19,2%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	33,9%	16,7%	28,3%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de HAP_Bx	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tabla 18.** Distribución haplotipos KIR en casos y controles.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Cw_lig	C1C1	Recuento	13	10	23
		% dentro de Cw_lig	56,5%	43,5%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	21,0%	33,3%	25,0%
	C1C2	Recuento	37	13	50
		% dentro de Cw_lig	74,0%	26,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	59,7%	43,3%	54,3%
	C2C2	Recuento	12	7	19
		% dentro de Cw_lig	63,2%	36,8%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	19,4%	23,3%	20,7%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de Cw_lig	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla 19. Estudio de ligandos KIR en casos y controles.

Tabla de contingencia hxBw4\_lig \* Tipo\_Muestra

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
hxBw4_lig	NO	Recuento	14	6	20
		% dentro de hxBw4_lig	70,0%	30,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	22,6%	20,0%	21,7%
	SI	Recuento	48	24	72
		% dentro de hxBw4_lig	66,7%	33,3%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	77,4%	80,0%	78,3%
	Total	Recuento	62	30	92
		% dentro de hxBw4_lig	67,4%	32,6%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 20. Estudio KIR-ligando en casos y controles.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Poblaciones_DL2DL3	2DL2/2DL2	Recuento	3	3	6
		% dentro de Poblaciones_DL2DL3	50,0%	50,0%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	4,8%	10,0%	6,5%
	2DL2/2DL3	Recuento	30	12	42
		% dentro de Poblaciones_DL2DL3	71,4%	28,6%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	48,4%	40,0%	45,7%
	2DL3/2DL3	Recuento	29	15	44
		% dentro de Poblaciones_DL2DL3	65,9%	34,1%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	46,8%	50,0%	47,8%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de Poblaciones_DL2DL3	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tabla 21.** Distribución de homocigotos/heterocigotos para los alelos KIR2DL2/KIR2DL3 en casos y controles.

Tabla de contingencia

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Poblaciones_3DL1_3DS1	3DL1/3DL1	Recuento	31	20	51
		% dentro de Poblaciones_3DL1_3DS1	60,8%	39,2%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	50,0%	66,7%	55,4%
	3DL1/3DS1	Recuento	27	8	35
		% dentro de Poblaciones_3DL1_3DS1	77,1%	22,9%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	43,5%	26,7%	38,0%
	3DS1/3DS1	Recuento	4	2	6
		% dentro de Poblaciones_3DL1_3DS1	66,7%	33,3%	100,0%
		% dentro de Tipo_Muestra	6,5%	6,7%	6,5%
Total	Recuento	62	30	92	
	% dentro de Poblaciones_3DL1_3DS1	67,4%	32,6%	100,0%	
	% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tabla 22.** Distribución de homocigotos/heterocigotos para los alelos KIR3DL1/KIR3DDS1 en casos y controles.



## VI.4 Investigación de polimorfismos de citoquinas.

### Análisis en casos y controles.

- **IL10.**

Los genotipos más frecuentes en los casos son ACC/ATA (23.3%) y ATA/ATA (20%), ambos, fenotipo bajo productor y en los controles los más frecuente son GCC/ACC (29%) y GCC/ATA (24.2%), de fenotipo intermedio. Por lo tanto, entre los casos un 53% tienen *fenotipo bajo productor*, y entre los controles el 53% presentan *fenotipo intermedio* (p= 0.1).

Tabla de contingencia

GENOTIPO			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
PoblalL10	GCC/GCC_H	Recuento	8	5	13
		% dentro de Tipo_Muestra	12,9%	16,7%	14,1%
	GCC/ACC_I	Recuento	18	5	23
		% dentro de Tipo_Muestra	29,0%	16,7%	25,0%
	GCC/ATA_I	Recuento	15	4	19
		% dentro de Tipo_Muestra	24,2%	13,3%	20,7%
	ACC/ACC_L	Recuento	7	3	10
		% dentro de Tipo_Muestra	11,3%	10,0%	10,9%
	ACC/ATA_L	Recuento	8	7	15
		% dentro de Tipo_Muestra	12,9%	23,3%	16,3%
	ATA/ATA_L	Recuento	6	6	12
		% dentro de Tipo_Muestra	9,7%	20,0%	13,0%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla de contingencia

FENOTIPO			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
PoblalL10_Fenotipo	Hight	Recuento	8	5	13
		% dentro de Tipo_Muestra	12,9%	16,7%	14,1%
	Intermediate	Recuento	33	9	42
		% dentro de Tipo_Muestra	53,2%	30,0%	45,7%
	Low	Recuento	21	16	37
		% dentro de Tipo_Muestra	33,9%	53,3%	40,2%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla 23.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos IL-10 en casos y controles.

• **TNF- $\alpha$ .**

El Genotipo más frecuente, GG, que se corresponde con fenotipo bajo productor, aparece en un 79% de los controles y 76.7% de los casos.

No hay diferencias entre ambos grupos con  $p= 0.7$  en el estudio de genotipo y  $p= 0.8$  en fenotipo.

**Tabla de contingencia**

GENOTIPO			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Pobl_Genotipo_TNF	GG_Low	Recuento	49	23	72
		% dentro de Tipo_Muestra	79,0%	76,7%	78,3%
	GA_Hight	Recuento	12	7	19
		% dentro de Tipo_Muestra	19,4%	23,3%	20,7%
	AA_Hight	Recuento	1	0	1
		% dentro de Tipo_Muestra	1,6%	,0%	1,1%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla de contingencia**

FENOTIPO			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Pobl_Fenotipo_TNF	Hight	Recuento	13	7	20
		% dentro de Tipo_Muestra	21,0%	23,3%	21,7%
	Low	Recuento	49	23	72
		% dentro de Tipo_Muestra	79,0%	76,7%	78,3%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla 24.** *Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos TNF- $\alpha$  en casos y controles.*

• **TGF- $\beta$**

De los 9 posibles haplotipos que existen, en nuestra población, sólo encontramos 5. Los más frecuentes, tanto en casos como en controles, son *TT GG* y *TC GG*.

**Tabla de contingencia**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Pobla_TGF	TT GG	Recuento	25	15	40
		% dentro de Tipo_Muestra	40,3%	50,0%	43,5%
	TC GG	Recuento	23	11	34
		% dentro de Tipo_Muestra	37,1%	36,7%	37,0%
	TC GC	Recuento	4	1	5
		% dentro de Tipo_Muestra	6,5%	3,3%	5,4%
	CC GG	Recuento	6	1	7
		% dentro de Tipo_Muestra	9,7%	3,3%	7,6%
	CC GC	Recuento	4	2	6
		% dentro de Tipo_Muestra	6,5%	6,7%	6,5%
Total	Recuento		62	30	92
	% dentro de Tipo_Muestra		100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla de contingencia Pobla\_Fenotipos\_TGF\* Tipo\_Muestra**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Pobla_Fenotipos_TGF	High	Recuento	48	26	74
		% dentro de Tipo_Muestra	77,4%	86,7%	80,4%
	Intermediate	Recuento	10	2	12
		% dentro de Tipo_Muestra	16,1%	6,7%	13,0%
	Low	Recuento	4	2	6
		% dentro de Tipo_Muestra	6,5%	6,7%	6,5%
Total	Recuento		62	30	92
	% dentro de Tipo_Muestra		100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla 25.** *Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos TGF- $\beta$  en casos y controles.*

• **IL-6**

Los genotipos más frecuentes son GG (48.4% controles y 46.7% casos) y GC (38.7% controles y 46.7% casos). Ambos son fenotipo alto productor por lo que el 87.1% de los controles y el 93.3% de los casos, lo son.

**Tabla de contingencia**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Poblac_IL6	GG	Recuento	30	14	44
		% dentro de Tipo_Muestra	48,4%	46,7%	47,8%
	GC	Recuento	24	14	38
		% dentro de Tipo_Muestra	38,7%	46,7%	41,3%
	CC	Recuento	8	2	10
		% dentro de Tipo_Muestra	12,9%	6,7%	10,9%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla de contingencia**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Poblac_Fenotipo_IL6	Hight	Recuento	54	28	82
		% dentro de Tipo_Muestra	87,1%	93,3%	89,1%
	Low	Recuento	8	2	10
		% dentro de Tipo_Muestra	12,9%	6,7%	10,9%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla 26.** Tabla de contingencia de genotipos y fenotipos IL-6 en casos y controles.

• **IFN- $\gamma$**

Tanto en casos como controles el *genotipo TA* y el *fenotipo productor intermedio* son los más frecuentes con un 50% y 63.3% respectivamente. No existen diferencias entre grupos

**Tabla de contingencia Poblac\_IFN \* Tipo\_Muestra**

			Tipo_Muestra		Total
			Control	Paciente	
Poblac_IFN	TT_Hight	Recuento	12	3	15
		% dentro de Tipo_Muestra	19,4%	10,0%	16,3%
	TA_Intermediate	Recuento	31	19	50
		% dentro de Tipo_Muestra	50,0%	63,3%	54,3%
	AA_Low	Recuento	19	8	27
		% dentro de Tipo_Muestra	30,6%	26,7%	29,3%
Total		Recuento	62	30	92
		% dentro de Tipo_Muestra	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla 27.** Tabla de contingencia de fenotipos IFN- $\gamma$  en casos y controles.

Por tanto, los datos muestran que no existen diferencias cuando se comparan el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), la interleuquina 6 (IL6) y el interferón gamma (IFN-  $\gamma$ ) entre casos y controles.

## **VII. DISCUSIÓN**

## VII. DISCUSIÓN

Muy pocos de los fármacos comercializados en la actualidad son capaces de producir lesión hepática directa comportándose como sustancias con hepatotoxicidad intrínseca; un ejemplo representativo de ellos es el paracetamol. La inmensa mayoría de los medicamentos disponibles para la práctica médica habitual sólo ocasionan reacciones hepatotóxicas de forma infrecuente, impredecible y en personas con especial susceptibilidad que reciben dosis correctas(154). Este tipo de reacciones, consideradas idiosincrásicas, dependen de la singularidad del huésped y de otros mecanismos aun parcialmente conocidos. Lo más aceptado es que son el resultado de la interrelación entre factores derivados de la toxicidad potencial del fármaco, factores ambientales y genéticos (8,155). En todos los casos analizados en este trabajo, los pacientes recibieron tratamiento con dosis en rango terapéutico y podemos considerar, por tanto, que todas fueron reacciones hepatotóxicas idiosincráticas.

Las enfermedades hepáticas de la infancia tienen como causa más frecuente las infecciones virales y no las tóxico-medicamentosas como ocurre en el adulto (56). El hígado del niño, en teoría, está más protegido que el de los adultos frente a hepatotoxinas debido a la mayor cantidad de glutatión (principal componente de las vías detoxificantes) e hipertrofia de algunas vías metabólicas como la sulfatación que pueden compensar el déficit madurativo de otras vías como la glucuronoconjugación. Sin embargo hay determinadas sustancias cuya probabilidad de producir lesión hepatotóxica disminuye con la edad como es el caso de: Ac. valproico, paracetamol, ciclosporina y vincristina(1,57).

El desconocimiento de la incidencia real de la hepatotoxicidad, especialmente en niños, es debido a varias causas. En primer lugar, la mayoría de los datos disponibles hoy día son de naturaleza retrospectiva y derivan de las observaciones de casos aislados o de pequeñas series publicadas en la literatura, de la comunicación espontánea de incidencias a las agencias estatales de farmacovigilancia y de alguna información adicional obtenida de programas de vigilancia postcomercialización o de monitorización de poblaciones específicas.

En segundo lugar, existe una infranotificación de casos por parte del personal sanitario en probable relación con el bajo índice de sospecha del personal facultativo que atiende niños. Por último, hay que tener en cuenta que, al no disponer de marcadores específicos de hepatotoxicidad, obtener un diagnóstico etiológico de certeza puede llegar a ser sumamente difícil. Todo lo expuesto explica que la notificación de casos de hepatotoxicidad no supere en la práctica el 10% de las que realmente acontecen(74).

Las principales razones que explican la dificultad diagnóstica de la hepatotoxicidad, especialmente en la infancia, son: características clínicas inespecíficas, ausencia de marcadores bioquímicos, la propia enfermedad para la que se prescribe el fármaco sospechoso que también puede producir alteraciones hepáticas, toma de varios fármacos hepatotóxicos (ejemplo: combinación de fármacos antipiréticos paracetamol/ibuprofeno), ingesta de compuestos que se consideran seguros como los productos de herboristería y dificultad en el análisis de los medicamentos ingeridos por olvido o no prescripción facultativa. Además, la hepatitis fulminante o subfulminante puede no dejar tiempo de evolución cronológica, no permitiendo una valoración correcta de los fármacos ingeridos.

En adultos, los fármacos han alcanzado el primer puesto como causa de fallo hepático fulminante tanto en Estados Unidos como en Europa(156,157). En pediatría hasta un 50% de los casos son de etiología indeterminada, siendo la causa metabólica la que más frecuentemente produce fallo hepático agudo(158,159). Sin duda, los pediatras, debemos hacer mayor hincapié en el diagnóstico de hepatotoxicidad por drogas.

Un error frecuente que contribuye a la infravaloración de la hepatotoxicidad en la infancia, es la creencia de que es precisa la confirmación anatomo-patológica mediante biopsia hepática cuando realmente no existen criterios histológicos específicos de lesión hepatotóxica (160,161). Las lesiones debidas a fármacos pueden simular cualquier enfermedad hepática conocida. Este hecho hace que la biopsia hepática rara vez proporcione el diagnóstico definitivo y por lo tanto no es imprescindible para la evaluación de causalidad en hepatotoxicidad. Las indicaciones para su realización están restringidas a los casos en los que la etiología tóxica es menos probable y deban excluirse otras causas alternativas,



cuando el fármaco sospechoso no haya sido previamente imputado en reacciones hepatotóxicas (con el fin de caracterizar el patrón de lesión que produce) y con fines pronósticos (por ejemplo evaluar la fibrosis residual o la presencia de ductopenia).

Entre los criterios considerados como más indicativos de hepatotoxicidad se encuentran la identificación de manifestaciones de hipersensibilidad y la demostración de una rápida mejoría, clínica y analítica, tras la retirada de la sustancia responsable como ha ocurrido en casi todos nuestros pacientes, excluyendo una forma crónica de la enfermedad y dos evoluciones a fallo hepático con necesidad de trasplante. (162).

Las interacciones entre fármacos pueden predisponer a la hepatotoxicidad, es más, un estudio poblacional de tipo caso-control demostró que la combinación de dos o más fármacos con potencial hepatotóxico aumentaba el riesgo de hepatotoxicidad por un factor de 6(65). En nuestra serie, uno de los casos de evolución a trasplante hepático recibía concomitantemente ibuprofeno y paracetamol. Las dosis de paracetamol fueron dosis terapéuticas no pudiendo descartar que el desenlace esté provocado por la administración simultánea de ambos fármacos en un paciente predispuesto.

Pese a las diferencias teóricas entre el funcionamiento hepático del niño con respecto al adulto, en nuestro estudio hemos encontrado que los anti-infecciosos en general y los antibióticos en particular, son los grupos terapéuticos más frecuentemente incriminados en hepatotoxicidad, como ocurre también en adultos(67,163-166). En las dos series infantiles con mayor número de casos publicadas, los antibióticos son también la causa más frecuente de DILI(1,57).

El motivo por el que este grupo terapéutico es el más frecuentemente relacionado con la hepatotoxicidad es, probablemente, el amplio y generalizado uso de los antibióticos en la práctica médica habitual, tanto en los adultos como en los niños. En éstos, el consumo de antibióticos es mayor incluso, según consta en algunas series documentadas, en las que el número de niños menores de 2 años que han recibido tratamiento antibiótico llega al 46% (167). En algunas sociedades, con diferente cultura sanitaria, donde el empleo de antibióticos está mucho menos

generalizado, la causa más frecuente de hepatotoxicidad son los remedios naturales empleados en la medicina tradicional(168).

La asociación Amoxicilina-Clavulánico (AC) ha sido el fármaco que con más frecuencia (9 casos), se ha asociado a DILI en nuestro estudio. Previamente, ya había sido descrito por nuestro grupo este hecho(90). En todos los casos, tanto las dosis recibidas como la duración del tratamiento se ajustan a las recomendaciones de las guías de práctica clínica para las patologías que motivaron la indicación, comportándose como reacciones idiosincráticas. En el trabajo de Molleston et al, con datos obtenidos del estudio prospectivo DILIN, no se refiere ningún caso de hepatotoxicidad por Amoxicilina-Clavulánico, probablemente, como comentan los propios autores, por tratarse de una población procedente de centros con atención muy especializada y, por tanto, no representativa de la población general(57).

De los dos componentes de la Amoxicilina-Clavulánico, el Clavulánico es considerado el responsable de las reacciones hepatotóxicas en la mayoría de los casos, aunque los mecanismos fisiopatogénicos no están totalmente definidos (169). En los casos analizados sólo se ha detectado un caso de DILI imputable a amoxicilina sola, a pesar de que el consumo de ésta debe ser muy superior al de la combinación.

La mayoría de las indicaciones para la prescripción de AC han estado relacionadas con enfermedades respiratorias, en principio no asociadas con enfermedad hepática, por lo que no deben existir factores de confusión en la relación encontrada en nuestros casos entre AC y lesión hepática. Si debemos reseñar que, aunque no era objetivo del estudio cuestionar las indicaciones establecidas por los facultativos responsables, la elección de Amoxicilina-Clavulánico frente a amoxicilina no estaba estrictamente indicada en 7 de los casos. Estas circunstancias nos recuerdan que la principal medida preventiva que debemos considerar los clínicos es evitar la prescripción innecesaria de medicamentos y, en caso de ser necesarios, elegir los más indicados y con menores efectos secundarios (170-172)

El consumo de remedios naturales está muy extendido y va aumentando en los últimos años. La consideración general, basada principalmente en conceptos

tradicionales, les otorga una serie de beneficios y les exime de efectos nocivos. Sin embargo, numerosas aportaciones en la bibliografía, alertan del potencial hepatotóxico de estas sustancias (173-175). Uno de los casos presentados fue por anís estrellado. Nuestro grupo ha publicado las características clínico/epidemiológicas de los casos incluidos en el registro causados por productos de herboristería (102).

El ibuprofeno es un derivado del ácido propiónico, con efectos anti-inflamatorios, considerado como causa rara de hepatotoxicidad. En adultos solo se ha relacionado con lesión hepatotóxica en pacientes con hepatitis C (176,177). En niños sólo hemos encontrado una referencia con un caso de una niña de 9 años que presentó un síndrome colestático de mala evolución, de etiología inmune y asociado inicialmente a síndrome de Stevens-Johnson. (178). Sin embargo, en nuestra serie, un niño de 5 años y una niña de 3 tuvieron un cuadro compatible con hepatotoxicidad por ibuprofeno. La paciente de 3 años, tras una primera exposición ya sintomática, pero no correctamente diagnosticada, recibió una nueva pauta de tratamiento que de nuevo provocó un aumento, aun mayor, de transaminasas, lo que confirmó la causalidad de este fármaco.

El trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDHA) es frecuente, afectando a alrededor del 3-7% de los niños en edad escolar (179). El abordaje terapéutico de este trastorno debe ser multidisciplinario integrando terapias cognitivo-conductuales así como terapias farmacológicas (180). El conocimiento de las bases neuroquímicas y genéticas del TDHA es clave para la optimización del tratamiento farmacológico. En este sentido, datos recientes confirman la existencia de una asociación entre alteraciones genéticas (gen DAT1, que codifica el receptor D4) y dicha enfermedad (9,181). Ya en 1937 Bradley publicó el beneficio del uso de fármacos psicoactivos en el tratamiento de este trastorno, extendiéndose su empleo a partir de los años 50 con la aparición en el mercado de dextroanfetamina, pemolina y metilfenidato (182). La presencia de hepatotoxicidad y otros efectos adversos producidos por dextroanfetamina y pemolina obligaron a las autoridades sanitarias a proceder a la retirada del mercado de estos fármacos. El potencial hepatotóxico de estas sustancias está bien documentado(52,87). Sin embargo, sólo existen, en nuestro conocimiento, tres casos publicados de daño hepático atribuido

a metilfenidato, de los cuales sólo uno fue descrito en paciente de edad escolar(67,89,92).

Los síntomas asociados a DILI varían desde elevaciones asintomáticas de enzimas hepáticas hasta formas fulminantes con evolución rápida a insuficiencia hepática aguda(164). La forma clínica más común es un cuadro similar a la hepatitis viral aguda con astenia, náuseas y/o vómitos y dolor abdominal, con o sin ictericia(52). En nuestra población de estudio la manifestación más frecuente fue como un cuadro inespecífico de síntomas gastrointestinales, asociado a ictericia en solo tres ocasiones.

El diagnóstico de causalidad, tras la adecuada sospecha clínica, se debe establecer con la ayuda de escalas diagnósticas que valoran una serie de datos objetivos mediante una puntuación numérica y establecen distintas categorías de probabilidad. De todas las desarrolladas por distintos grupos son la escala de CIOMS/RUCAM(53) y la de María y Victorino(82) las más utilizadas. Ambas valoran los datos existentes en 6 apartados, mediante un sistema de puntuación final, con el que se establecen diferentes categorías de sospecha. Ninguna de las escalas referidas está validada para la población infantil.

Hemos utilizado la escala de CIOMS/RUCAM (ANEXO II) por ser el procedimiento establecido en consenso internacional y haber demostrado, en varios estudios realizados en adultos, una mayor capacidad para diferenciar las distintas categorías de sospecha y mayor consistencia con el juicio clínico realizado por los hepatólogos (83,183) Además el grupo de trabajo de expertos en lesión hepática inducida por drogas, en su revisión de la terminología y criterios diagnósticos de DILI, aconseja el empleo de esta escala CIOMS/RUCAM (32).

Otra escala ideada para valorar de forma sencilla las RAF es la de Naranjo (184). Sin embargo, esta escala ha demostrado tener una sensibilidad baja con valor predictivo negativo inferior al 30% y capacidad limitada para distinguir entre causabilidad posible y probable(83).

Las puntuaciones obtenidas en la escala de CIOMS en los casos reportados han permitido clasificar la causalidad del fármaco sospechoso, como definidos o altamente probables en la mitad de los pacientes, probables en 12 pacientes y posibles en los restantes 7 casos.

El método seguido en el presente proyecto, que podría calificarse de registro intensivo, creemos que es un sistema útil para aumentar la sensibilidad en la detección de reacciones hepatotóxicas y por otro lado no supone una sobrecarga excesiva de trabajo que limite su implantación en un periodo de tiempo limitado.

El sistema de farmacovigilancia, notificación espontánea y voluntaria tiene sin duda ventajas y hemos de considerarlo como un logro para mejorar la seguridad en el uso del medicamento pero su gran inconveniente es la poca sensibilidad para detectar RAF, sobre todo las formas leves, que pueden ser potencialmente peligrosas en el futuro. Ambos sistemas pueden, y deben, ser complementarios al tener objetivos distintos. Los sistemas de farmacovigilancia, como el de la “*tarjeta amarilla*”, pretenden detectar los casos graves de RAF en la población general, mientras que los sistemas intensivos, como el seguido en nuestro estudio, intentan conocer la incidencia real de reacciones adversas hepatotóxicas en el área de influencia de los centros colaboradores. La mejor capacidad de detección del sistema empleado, similar al del Registro Español de Hepatotoxicidad, se manifiesta en datos como que la notificación de RAF con participación hepática de la totalidad del estado español según datos de VigiBase (2000-2006) fue de 143 casos, mientras que el Grupo de Estudio de Hepatopatías Asociadas a Medicamentos, encontraron 461 casos de DILI durante sus primeros 10 años, con datos de 32 unidades colaboradoras de 9 comunidades autónomas, lo que significa una incidencia 2 veces mayor con una cobertura poblacional muy inferior.

El descubrimiento del genoma humano marcó la pauta para el desarrollo de la farmacogenética y la farmacogenómica que han dado resultados prometedores e invitan al clínico a prescribir una medicina individualizada con la finalidad de optimizar la respuesta al tratamiento y reducir los efectos adversos que se pudieran presentar (75,185).

El presente estudio, según la bibliografía publicada sobre el tema, representa la primera investigación sobre el análisis de los factores inmunogenéticos (HLA, polimorfismos de citoquinas y genotipos kirs) en la hepatotoxicidad idiosincrásica en la población pediátrica.

En la literatura médica existen escasas referencias bibliográficas al daño hepático tóxico en la población pediátrica y, casi todas, referidas a casos anecdóticos o pequeñas series (57,84,90,102,186,187).

La patogénesis de la hepatotoxicidad en niños es un proceso complejo en el que hay que tener en cuenta la posible interacción del potencial tóxico de la droga y los factores genéticos y ambientales que determinan la susceptibilidad a la hepatotoxicidad idiosincrásica(28) en el niño.

La realización de estudios genéticos en hepatotoxicidad en adultos ha presentado una serie de dificultades y desafíos, entre otros, el hecho de que los fármacos utilizados representan un grupo muy heterogéneo y diverso en relación con las propiedades químicas, efectos terapéuticos o dianas biológicas. De esta manera, la mayoría de las asociaciones genéticas en DILI se han establecido en poblaciones que han utilizado fármacos concretos, presumiblemente bajo la hipótesis de que estas asociaciones van a ser específicas para cada fármaco. Aunque es una asunción válida, también es cierto que la susceptibilidad genética podría ser común a un grupo diverso de fármacos o a todos los fármacos en general.

La “firma” con la que un fármaco induce hepatotoxicidad (período de latencia y tipo de lesión relativamente constantes) debe ser contemplada con cautela, ya que con frecuencia dichas manifestaciones varían de un sujeto a otro. Además, las formas más graves de hepatotoxicidad son, por fortuna, relativamente infrecuentes(61). Dado que la ocurrencia de hepatotoxicidad es baja y poco diagnosticada en la población pediátrica, nuestra capacidad para identificar un número suficiente de casos producidos por un mismo fármaco o grupo de fármacos se ve limitada. Por este motivo, en el presente estudio, se han intentado buscar marcadores genéticos que pudieran ser comunes a todos los fármacos que producen hepatotoxicidad idiosincrásica en niños.

Se han descrito en adultos diversas asociaciones de alelos HLA con la probabilidad de hepatotoxicidad por determinados fármacos (51,78,188-192). Actualmente existe controversia respecto a si variaciones genéticas en moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA II) determinarían cierta

predisposición a las reacciones adversas hepáticas debido al papel que desempeña en la respuesta inmunológica.

En este trabajo no hemos encontrado diferencias entre ningún HLA clase I, A o B, al comparar el grupo de enfermos con el grupo control. Sin embargo el HLA-C0401 fue más frecuente en el grupo control pudiendo ejercer un papel protector frente al daño hepático.

Con respecto a los HLA de clase II la asociación DRB1\*07 y DQA1\*02 ha sido descrita previamente en enfermos con elevación de transaminasas en tratamiento con ximelagatrán (188). De igual forma, esta asociación, previamente se ha relacionado con la hepatitis autoinmune (193) y la hepatotoxicidad durante el tratamiento antituberculoso aunque la literatura no es uniforme (194).

En el presente trabajo, la presencia del *HLA-DQA\*0102* fue mayor en el grupo de niños con hepatotoxicidad actuando posiblemente como un factor de riesgo para el desarrollo de DILI y el *HLA-DQA\*0603* fue más frecuente en el grupo control pudiendo actuar como factor protector.

Otro hallazgo ha sido el incremento del riesgo de DILI en 9,3 veces, cuando el HLA DRB\*12 es positivo. En nuestra muestra lo presentan 5 niños, siendo 4 de ellos casos.

Estas asociaciones no han sido descritas previamente en la literatura. Los hallazgos encontrados ponen de manifiesto que algunos fármacos pueden originar un daño hepático por activación del sistema inmune adaptativo.

Probablemente, en la mayoría de los casos, los derivados tóxicos formados durante el metabolismo hepático del fármaco nativo, se unan covalentemente a constituyentes hepáticos provocando un daño directo.

Puede ocurrir que, en algunos niños, predomine una respuesta inmune frente a neoantígenos formados a través de la interacción de intermediarios tóxicos con las proteínas hepáticas. En este último supuesto los antígenos de histocompatibilidad (HLA), pueden estar implicados directamente en la presentación antigénica. Las proteínas haptinizadas serían procesadas por las células presentadoras de antígenos y presentadas a las células T CD4+ o T helper, lo que desencadenaría una

respuesta inmune celular (activación de linfocitos T CD4+ y CD8+ citotóxicos) y humoral (activación de los linfocitos B con producción de anticuerpos).

Teniendo en cuenta que algunos determinantes genéticos pueden tener sólo pequeños efectos clínicos creemos que son necesarios grandes tamaños muestrales para descubrir más asociaciones genéticas. En cualquier caso también deben ser reproducidas las asociaciones encontradas para confirmar su significación real.

En el mecanismo de la hepatotoxicidad puede estar implicada la lesión directa de los hepatocitos y la activación de las vías inflamatorias como hemos comentado. Se ha sugerido la existencia de distintas etapas durante el desarrollo de la lesión considerándose que los eventos iniciales sean específicos de cada tóxico, es decir, que la droga y/o sus metabolitos causen directamente el estrés celular, activen la respuesta inmune y/o afecten directamente la función mitocondrial y los eventos posteriores sean menos específicos; común a todos los fármacos (21,195).

La evidencia reciente demuestra que el equilibrio entre los mediadores pro-y anti-inflamatorios puede determinar la susceptibilidad y gravedad de la lesión hepática en hepatotoxicidad por acetaminofeno experimental (28). Es plausible que la activación de la inmunidad innata del hígado y la inflamación resultante pueda también desempeñar un papel importante en la hepatotoxicidad idiosincrásica(28). En consecuencia, los genes que codifican la IL-10, IL-6, el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), el Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- $\beta$ ) o el Interferón Gamma (IFN- $\gamma$ ), todos ellos implicados en la respuesta inflamatoria, son candidatos para el estudio de la susceptibilidad al daño hepático secundario a tóxicos.

La IL-10 es un potente antiinflamatorio e inmunorregulador. Es un factor inhibidor de la síntesis de citoquinas como el TNF- $\alpha$ , el IFN- $\gamma$  e IL-8 (75,185,196) y, actuando sobre los macrófagos, suprime su función y disminuye la producción de IL-12.

Los modelos animales de hepatotoxicidad por paracetamol proporcionan datos que serían aplicables a la toxicidad idiosincrásica. El ratón knockout para IFN $\gamma$ , Fas o FasL es resistente a la toxicidad por paracetamol, mientras que los animales



knockout para IL-10 e IL-6 presentan una susceptibilidad aumentada al daño hepático. Estos modelos ponen de manifiesto un hecho esencial, y es que en respuesta a la administración de dosis subtóxicas de paracetamol se pone en marcha una estimulación de la expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias. Cuando la respuesta de citoquinas antiinflamatorias se encuentra disminuida, el umbral para la aparición de daño hepático disminuye y a la inversa. Estos hallazgos sugieren la importancia que podría tener la existencia de variantes alélicas defectivas de determinadas citoquinas inmunorreguladoras en la susceptibilidad a presentar DILI, probablemente como consecuencia de la incapacidad de adaptarse una vez iniciada la cascada de eventos que conducen a la lesión hepática. La IL-10 tiene una acción inmunosupresora, antiinflamatoria y antifibrótica(48,81). Curiosamente, los polimorfismos bajo productores de IL-4 e IL-10 no se han demostrado(81) más frecuentes en los pacientes con DILI que en la población control(81). Sin embargo hay un estudio(81) en el que un polimorfismo bajo productor de IL-10 se asoció de forma significativa a la ausencia de eosinófilos en sangre periférica y a evolución grave o fulminante, lo que sugiere que una vez iniciada la lesión, una respuesta Th2 disminuida podría favorecer la progresión de la inflamación y la necrosis hepática.

En nuestro estudio, de los niños con DILI, un 53% tienen fenotipo Low, es decir la tendencia es a producir poca IL10. El 53% de los Controles presentaron un fenotipo intermedio, con lo que tienden a producir más IL10 que los niños enfermos. Estos hallazgos no alcanzaron significación estadística. Estos hallazgos nos sugieren que el mediador implicado en el daño hepático por tóxicos en niños es, fundamentalmente la IL-10, pues no hubo diferencias entre grupos cuando se analizaron TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-6 e IFN- $\gamma$ .

En cuanto a las determinaciones de KIRs, creemos de interés resaltar que todos los casos son positivos para el KIR3DL2 y KIR3DL3 que actúan como inhibidores de las células NK. Cuando se analiza el KIR 2DS5, se observa que el 78.9% de los pacientes positivos pertenecen al grupo control. Además, el 80,8 % de los pacientes con haplotipo BB también pertenecen al grupo control. Tanto el KIR2DS5 como el haplotipo BB implican tendencia a la activación de las NK . Pese a que estos resultados no alcanzaron significación estadística parecen indicar una

mayor capacidad de actuación de las células NK en el grupo control o, dicho de otra manera, una mayor inhibición de NK en niños con DILI.

No existen estudios previos relacionando los genotipos KIR con la lesión hepática por fármacos en adultos ni en niños por tanto, serán necesarios nuevos estudios que corroboren estos hallazgos.

Algunos grupos han propuesto modelos de combinaciones específicas KIR-HLA que determinan la tendencia activadora o inhibidora de las células NK y que, además, determinen la susceptibilidad o resistencia o modifiquen el curso clínico de ciertas patologías (197). Está descrita la asociación de los KIR y sus ligandos en el receptor del trasplante hepático y progresión de la fibrosis hepática (198).

Sin embargo, es necesario continuar investigando en el papel exacto de los KIRs y sus ligandos en la hepatotoxicidad. Este proyecto no será sencillo pues es importante mencionar que no existen modelos de ratones que permitan el estudio de estos sistemas de interacción por la ausencia del sistema KIR en el ratón. Muchas de las preguntas pendientes deberán ser contestadas mediante estudios *in vitro* con células humanas o de primates superiores.

## **VIII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

## VIII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

### VIII.1 Derivadas del diseño.

La principal limitación deriva del escaso tamaño muestral debido a que, en primer lugar, la frecuencia global de hepatotoxicidad no es elevada y, en segundo lugar, que hemos utilizado estrictos criterios de inclusión para limitar al máximo la presencia de otros posibles factores que podrían ser causantes de DILI.

Otra limitación inherente a los estudios de casos y controles es que no se pueden estimar de manera directa las medidas de incidencia o prevalencia que tradicionalmente se obtienen en los estudios de cohortes o transversales.

### VIII.2 Derivadas del análisis de los polimorfismos.

Las revisiones recientes indican que del 70-95% de las asociaciones recientes que se publican no se confirman en los estudios posteriores. La mayor parte de los diseños de los estudios son de casos y controles, por lo que además de los sesgos conocidos de este tipo de estudios, en el caso de las asociaciones genéticas, se deben de tener en cuenta consideraciones adicionales como que las variantes genéticas difieren en las poblaciones en función de la raza (estratificación de la población). Uno de los problemas más importantes de estos tipos de asociaciones es el gran número de polimorfismos genéticos que pueden estar relacionados con el riesgo de enfermedad, el desarrollo de técnicas con capacidad de detectarlos en una gran cantidad de personas y su aplicabilidad práctica.

En concreto, las conclusiones de nuestro trabajo deben de interpretarse con cautela y confirmarse en estudios más amplios estratificados según etnias.

## **IX. CONCLUSIONES**

## IX. CONCLUSIONES

El análisis y discusión crítica del conjunto de observaciones y resultados contenidos en esta memoria nos ha permitido formular las siguientes conclusiones:

➤ **Objetivo principal:**

1. No hemos encontrado diferencias entre ningún alelo *HLA-A* o *HLA-B* relacionadas con hepatotoxicidad. Tampoco existen alelos *HLA-DRB\** que condicionen o protejan frente a reacciones hepatotóxicas en niños.
2. Los alelos *HLA-C0401* y *HLA-DQB0603* pueden ejercer un mecanismo hepato-protector en la población pediátrica.
3. Los alelos *HLA-DQA0102* y *HLA-DRB\*12* son más frecuentes en niños enfermos pudiendo estar relacionados con el daño hepático inducido por un compuesto farmacológico o producto de herboristería.
4. Los polimorfismos *bajo productores de IL-10* tienden a ser más frecuentes en el grupo de niños que han sufrido un episodio de DILI.
5. Los polimorfismos genéticos de *TNF- $\alpha$* , *TGF- $\beta$*  e *IL-6*, *IFN- $\gamma$*  no están relacionados con el riesgo de desarrollar daño hepático.
6. Los KIRs inhibidores, KIR3DL2 y KIR3DL3, están presentes en todos los niños que han sufrido un episodio de DILI. El KIR K2DS5 y el haplotipo BB, ambos activadores de NK se presenta con más frecuencia en el grupo control. Estos dos hechos sugieren que la ausencia de función de las NK favorece el DILI.

➤ **Objetivos secundarios:**

7. Los antibióticos sistémicos son el grupo farmacológico que más frecuentemente causa reacción hepatotóxica en el niño. La asociación Amoxicilina-Clavulánico es el fármaco con mayor incidencia de hepatotoxicidad en los casos de nuestro estudio.

8. La hepatotoxicidad idiosincrásica puede ocurrir con medicamentos de uso muy extendido como puede ser el ibuprofeno. Un diagnóstico erróneo de DILI puede impedir o retrasar el diagnóstico etiológico correcto y, por consiguiente, también su prevención en futuras administraciones del fármaco.
9. La administración de productos comerciales o de herbolario puede asociarse a alteraciones hepáticas en el niño. Es necesaria una regulación más estricta que impida la libre administración a estas edades.
10. El tipo de DILI más frecuente en pediatría es el hepatotóxico.
11. Las manifestaciones clínicas del daño hepático por drogas son absolutamente inespecíficas, las más frecuentes han sido las náuseas y vómitos.
12. Un 16% de los casos de DILI pueden ser severos y hasta un 2% de los mismos pueden conducir a trasplante hepático o éxitus del paciente.

### **IX.1. Conclusión final.**

La hepatotoxicidad idiosincrásica debida a fármacos es un reto para los clínicos debido a sus inespecíficas manifestaciones clínicas, a que carece de marcadores específicos, que se trata de un diagnóstico de exclusión y que es pobre el conocimiento del mecanismo implicado en el daño hepático.

El registro de hepatopatías asociadas a medicamentos en la infancia ha demostrado ser un instrumento útil para mejorar la detección de casos de hepatotoxicidad y acercarnos a la realidad epidemiológica del DILI en pediatría.

Creemos que se debe profundizar en la relación entre el genotipo y la susceptibilidad o resistencia individual a desarrollar enfermedad hepática idiosincrásica debida a fármacos o productos de herboristería en la población pediátrica promoviendo nuevos estudios que ayuden a identificar todos los posibles factores genéticos implicados en la hepatotoxicidad en la infancia.

## **X. BIBLIOGRAFÍA**



**X. BIBLIOGRAFÍA**

- (1) Ferrajolo C, Capuano A, Verhamme KM, Schuemie M, Rossi F, Stricker BH, et al. Drug-induced hepatic injury in children: a case/non-case study of suspected adverse drug reactions in VigiBase. *Br J Clin Pharmacol* 2010 Nov;70(5):721-728.
- (2) Giri S, Nieber K, Bader A. Hepatotoxicity and hepatic metabolism of available drugs: current problems and possible solutions in preclinical stages. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2010 Aug;6(8):895-917.
- (3) Planchamp F, Nguyen KA, Vial T, Nasri S, Javouhey E, Gillet Y, et al. Active drug monitoring of adverse drug reactions in pediatric emergency department]. *Arch Pediatr* 2009 Feb;16(2):106-111.
- (4) Andrade RJ, Robles M, Ulzurrún E, Lucena MI. Drug-induced liver injury: insights from genetic studies. *Pharmacogenomics* 2009 Sep;10(9):1467-1487.
- (5) Andrade RJ, Camargo R, Lucena MI, Gonzalez-Grande R. Causality assessment in drug-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Saf* 2004 Jul;3(4):329-344.
- (6) Andrade RJ, Robles M, Fernandez-Castaner A, Lopez-Ortega S, Lopez-Vega MC, Lucena MI. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists. *World J Gastroenterol* 2007 Jan 21;13(3):329-340.
- (7) Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Bjornsson E, Day CP, Serrano J, et al. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-induced liver injury: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 2010 Aug;52(2):730-742.
- (8) Chalasani N, Bjornsson E. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury. *Gastroenterology* 2010 Jun;138(7):2246-2259.
- (9) Pineiro-Carrero VM, Pineiro EO. Liver. *Pediatrics* 2004 Apr;113(4 Suppl):1097-1106.
- (10) Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2003 Jul 31;349(5):474-485.
- (11) Lee WM. Drug-induced Acute Liver Failure. *Clin Liver Dis* 2013 11;17(4):575-586.
- (12) Simon T, Becquemont L, Mary-Krause M, de Waziers I, Beaune P, Funck-Brentano C, et al. Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity. *Clin Pharmacol Ther* 2000 Apr;67(4):432-437.
- (13) Lucena MI, Andrade RJ, Martínez C, Ulzurrún E, García-Martin E, Borraz Y, et al. Glutathione S-transferase m1 and t1 null genotypes increase susceptibility to idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology* 2008 Aug;48(2):588-596.
- (14) Agundez JA, Golka K, Martínez C, Selinski S, Blaszkewicz M, García-Martin E. Unraveling ambiguous NAT2 genotyping data. *Clin Chem* 2008 Aug;54(8):1390-1394.
- (15) Nies AT, Schwab M, Keppler D. Interplay of conjugating enzymes with OATP uptake transporters and ABCC/MRP efflux pumps in the elimination of drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008 May;4(5):545-568.
- (16) Ho RH, Tirona RG, Leake BF, Glaeser H, Lee W, Lemke CJ, et al. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology* 2006 May;130(6):1793-1806.

- (17) Stapelbroek JM, van Erpecum KJ, Klomp LW, Houwen RH. Liver disease associated with canalicular transport defects: current and future therapies. *J Hepatol* 2010 Feb;52(2):258-271.
- (18) Pauli-Magnus C, Meier PJ. Hepatobiliary transporters and drug-induced cholestasis. *Hepatology* 2006 Oct;44(4):778-787.
- (19) Tujios S, Fontana RJ. Mechanisms of drug-induced liver injury: from bedside to bench. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011 Apr;8(4):202-211.
- (20) Nies AT, Keppler D. The apical conjugate efflux pump ABCB2 (MRP2). *Pflugers Arch* 2007 Feb;453(5):643-659.
- (21) Russmann S, Kullak-Ublick GA, Grattagliano I. Current concepts of mechanisms in drug-induced hepatotoxicity. *Curr Med Chem* 2009;16(23):3041-3053.
- (22) Sarges P, Steinberg JM, Lewis JH. Drug-Induced Liver Injury: Highlights from a Review of the 2015 Literature. *Drug Saf* 2016 May 3.
- (23) Roth RA, Ganey PE. Intrinsic versus Idiosyncratic Drug-Induced Hepatotoxicity—Two Villains or One? *J Pharmacol Exp Ther* 2010 Mar;332(3):692-697.
- (24) Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-related Hepatotoxicity. *Clin Liver Dis* 2013 11;17(4):587-607.
- (25) Gunawan BK, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease. *Clin Liver Dis* 2007 Aug;11(3):459-75, v.
- (26) Fontana RJ. Pathogenesis of idiosyncratic drug-induced liver injury and clinical perspectives. *Gastroenterology* 2014 Apr;146(4):914-928.
- (27) Navarro VJ, Senior JR. Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2006 Feb 16;354(7):731-739.
- (28) Kaplowitz N. Idiosyncratic drug hepatotoxicity. *Nat Rev Drug Discov* 2005 Jun;4(6):489-499.
- (29) deLemos AS, Foureau DM, Jacobs C, Ahrens W, Russo MW, Bonkovsky HL. Drug-induced liver injury with autoimmune features. *Semin Liver Dis* 2014 May;34(2):194-204.
- (30) Njoku DB. Drug-induced hepatotoxicity: metabolic, genetic and immunological basis. *Int J Mol Sci* 2014 Apr 22;15(4):6990-7003.
- (31) Ortega-Alonso A, Stephens C, Lucena MI, Andrade RJ. Case Characterization, Clinical Features and Risk Factors in Drug-Induced Liver Injury. *Int J Mol Sci* 2016 May 12;17(5):10.3390/ijms17050714.
- (32) Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, et al. Case Definition and Phenotype Standardization in Drug-Induced Liver Injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011 May 4.
- (33) Iverson SL, Uetrecht JP. Identification of a reactive metabolite of terbinafine: insights into terbinafine-induced hepatotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2001 Feb;14(2):175-181.
- (34) Herrero-Herrero JI, Garcia-Aparicio J. Corticosteroid therapy in a case of severe cholestatic hepatitis associated with amoxicillin-clavulanate. *J Med Toxicol* 2010 Dec;6(4):420-423.

- (35) Au A, Aziz Baba A, Goh AS, Wahid Fadilah SA, Teh A, Rosline H, et al. Association of genotypes and haplotypes of multi-drug transporter genes ABCB1 and ABCG2 with clinical response to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia patients. *Biomed Pharmacother* 2014 Apr;68(3):343-349.
- (36) Lang C, Meier Y, Stieger B, Beuers U, Lang T, Kerb R, 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 Jan;17(1):47-60.
- (37) Patel T, Roberts LR, Jones BA, Gores GJ. Dysregulation of apoptosis as a mechanism of liver disease: an overview. *Semin Liver Dis* 1998;18(2):105-114.
- (38) Strautnieks SS, Bull LN, Knisely AS, Kocoshis SA, Dahl N, Arnell H, et al. A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Genet* 1998 Nov;20(3):233-238.
- (39) Laskin DL, Laskin JD. Role of macrophages and inflammatory mediators in chemically induced toxicity. *Toxicology* 2001 Mar 7;160(1-3):111-118.
- (40) Jaeschke H, Smith CW. Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury. *J Leukoc Biol* 1997 Jun;61(6):647-653.
- (41) Jones DP, Lemasters JJ, Han D, Boelsterli UA, Kaplowitz N. Mechanisms of pathogenesis in drug hepatotoxicity putting the stress on mitochondria. *Mol Interv* 2010 Apr;10(2):98-111.
- (42) Boelsterli UA, Lim PL. Mitochondrial abnormalities--a link to idiosyncratic drug hepatotoxicity? *Toxicol Appl Pharmacol* 2007 Apr 1;220(1):92-107.
- (43) McKenzie R, Fried MW, Sallie R, Conjeevaram H, Di Bisceglie AM, Park Y, et al. Hepatic failure and lactic acidosis due to fialuridine (FIAU), an investigational nucleoside analogue for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1995 Oct 26;333(17):1099-1105.
- (44) Amin MD, Harpavat S, Leung DH. Drug-induced liver injury in children. *Curr Opin Pediatr* 2015 Oct;27(5):625-633.
- (45) Bissell DM, Gores GJ, Laskin DL, Hoofnagle JH. Drug-induced liver injury: mechanisms and test systems. *Hepatology* 2001 Apr;33(4):1009-1013.
- (46) Kass GE, Price SC. Role of mitochondria in drug-induced cholestatic injury. *Clin Liver Dis* 2008 Feb;12(1):27-51, vii.
- (47) Lucena MI, Garcia-Martin E, Andrade RJ, Martinez C, Stephens C, Ruiz JD, et al. Mitochondrial superoxide dismutase and glutathione peroxidase in idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology* 2010 Jul;52(1):303-312.
- (48) Bourdi M, Eiras DP, Holt MP, Webster MR, Reilly TP, Welch KD, et al. Role of IL-6 in an IL-10 and IL-4 double knockout mouse model uniquely susceptible to acetaminophen-induced liver injury. *Chem Res Toxicol* 2007 Feb;20(2):208-216.
- (49) Andrade RJ, Lucena MI, Alonso A, Garcia-Cortes M, Garcia-Ruiz E, Benitez R, et al. HLA class II genotype influences the type of liver injury in drug-induced idiosyncratic liver disease. *Hepatology* 2004 Jun;39(6):1603-1612.

- (50) O'Donohue J, Oien KA, Donaldson P, Underhill J, Clare M, MacSween RN, et al. Co-amoxiclav jaundice: clinical and histological features and HLA class II association. *Gut* 2000 Nov;47(5):717-720.
- (51) Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, Shen Y, Pe'er I, Floratos A, et al. HLA-B\*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat Genet* 2009 Jul;41(7):816-819.
- (52) Ruiz Montero, A., Durán Quintana, J.A., Jiménez Sáenz, M., Abad Delgado, J.A. A strategy to improve the detection of drug-induced hepatotoxicity.
- (53) 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 Nov;46(11):1323-1330.
- (54) 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 Nov;46(11):1331-1336.
- (55) Faich GA, Castle W, Bankowski Z. International reporting on adverse drug reactions: the CIOMS project. CIOMS ADR Working Group. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1990 Apr;28(4):133-138.
- (56) Peire MA, Lucena MI, Ruiz-Extremera A, Jara P, Romero-Gonzalez J, Andrade RJ. Drug-induced hepatotoxicity in children. Where we are and where we are going. *An Esp Pediatr* 2002 May;56(5):434-442.
- (57) Molleston JP, Fontana RJ, Lopez MJ, Kleiner DE, Gu J, Chalasani N, et al. Characteristics of idiosyncratic drug-induced liver injury in children: results from the DILIN prospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011 Aug;53(2):182-189.
- (58) Benichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990 Sep;11(2):272-276.
- (59) Chen M, Suzuki A, Borlak J, Andrade RJ, Lucena MI. Drug-induced liver injury: Interactions between drug properties and host factors. *J Hepatol* 2015 Aug;63(2):503-514.
- (60) Chalasani N, Bonkovsky HL, Fontana R, Lee W, Stolz A, Talwalkar J, et al. Features and Outcomes of 899 Patients With Drug-Induced Liver Injury: The DILIN Prospective Study. *Gastroenterology* 2015 Jun;148(7):1340-52.e7.
- (61) Lucena MI, Andrade RJ, Kaplowitz N, Garcia-Cortes M, Fernandez MC, Romero-Gomez M, et al. Phenotypic characterization of idiosyncratic drug-induced liver injury: the influence of age and sex. *Hepatology* 2009 Jun;49(6):2001-2009.
- (62) Mitchell SJ, Hilmer SN Associate P. Drug-induced liver injury in older adults. *Ther Adv Drug Saf* 2010 Dec;1(2):65-77.
- (63) Fountain FF, Tolley E, Chrisman CR, Self TH. Isoniazid hepatotoxicity associated with treatment of latent tuberculosis infection: a 7-year evaluation from a public health tuberculosis clinic. *Chest* 2005 Jul;128(1):116-123.
- (64) Felker D, Lynn A, Wang S, Johnson DE. Evidence for a potential protective effect of carnitine-pantothenic acid co-treatment on valproic acid-induced hepatotoxicity. *Expert Review of Clinical Pharmacology* 2014;7(2):211-218.

- (65) de Abajo FJ, Montero D, Madurga M, Garcia Rodriguez LA. Acute and clinically relevant drug-induced liver injury: a population based case-control study. *Br J Clin Pharmacol* 2004 Jul;58(1):71-80.
- (66) Larrey D. Epidemiology and individual susceptibility to adverse drug reactions affecting the liver. *Semin Liver Dis* 2002;22(2):145-155.
- (67) Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC, Pelaez G, Pachkoria K, Garcia-Ruiz E, et al. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005 Aug;129(2):512-521.
- (68) 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 Jun;144(7):1419-25, 1425.e1-3; quiz e19-20.
- (69) Wang JY, Liu CH, Hu FC, Chang HC, Liu JL, Chen JM, et al. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect* 2011 Jun;62(6):448-455.
- (70) Andrade RJ, Lopez-Ortega S, Lopez-Vega MC, Robles M, Cueto I, Lucena MI. Idiosyncratic drug hepatotoxicity: a 2008 update. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2008 Mar;1(2):261-276.
- (71) Medina-Caliz I, Robles-Diaz M, Garcia-Munoz B, Stephens C, Ortega-Alonso A, Garcia-Cortes M, et al. Definition and risk factors for chronicity following acute idiosyncratic drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2016 Sep;65(3):532-542.
- (72) Tilling L, Townsend S, David J. Methotrexate and hepatic toxicity in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin Drug Investig* 2006;26(2):55-62.
- (73) Lucena MI, Andrade RJ, Vicioso L, Gonzalez FJ, Pachkoria K, Garcia-Munoz B. Prolonged cholestasis after raloxifene and fenofibrate interaction: A case report. *World J Gastroenterol* 2006 Aug 28;12(32):5244-5246.
- (74) Larrey D. Drug-induced liver diseases. *J Hepatol* 2000;32(1 Suppl):77-88.
- (75) Aithal GP, Grove JJ. Genome-Wide Association Studies in Drug-Induced Liver Injury: Step Change in Understanding the Pathogenesis. *Semin Liver Dis* 2015 Nov;35(4):421-431.
- (76) Lucena MI, Molokhia M, Shen Y, Urban TJ, Aithal GP, Andrade RJ, et al. Susceptibility to amoxicillin-clavulanate-induced liver injury is influenced by multiple HLA class I and II alleles. *Gastroenterology* 2011 Jul;141(1):338-347.
- (77) Schaid DJ, Spraggs CF, McDonnell SK, Parham LR, Cox CJ, Ejlertsen B, et al. Prospective validation of HLA-DRB1\*07:01 allele carriage as a predictive risk factor for lapatinib-induced liver injury. *J Clin Oncol* 2014 Aug 1;32(22):2296-2303.
- (78) Singer JB, Lewitzky S, Leroy E, Yang F, Zhao X, Klickstein L, et al. A genome-wide study identifies HLA alleles associated with lumiracoxib-related liver injury. *Nat Genet* 2010 Aug;42(8):711-714.
- (79) Alfirevic A, Gonzalez-Galarza F, Bell C, Martinsson K, Platt V, Bretland G, et al. In silico analysis of HLA associations with drug-induced liver injury: use of a HLA-genotyped DNA archive from healthy volunteers. *Genome Med* 2012 Jun 25;4(6):51.

- (80) Aithal GP, Ramsay L, Daly AK, Sonchit N, Leathart JB, Alexander G, et al. Hepatic adducts, circulating antibodies, and cytokine polymorphisms in patients with diclofenac hepatotoxicity. *Hepatology* 2004 May;39(5):1430-1440.
- (81) Pachkoria K, Lucena MI, Crespo E, Ruiz-Cabello F, Lopez-Ortega S, Fernandez MA, et al. Analysis of IL-10, IL-4 and TNF-alpha polymorphisms in drug-induced liver injury (DILI) and its outcome. *J Hepatol* 2008 Jul;49(1):107-114.
- (82) Maria VA, Victorino RM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatology* 1997 Sep;26(3):664-669.
- (83) Garcia-Cortes M, Stephens C, Lucena MI, Fernandez-Castaner A, Andrade RJ. Causality Assessment Methods In Drug Induced Liver Injury: Strengths And Weaknesses. *J Hepatol* 2011 Feb 21.
- (84) Ocete Hita E, Martin Garcia JA, Gimenez Sanchez F, Flores Gonzalez JC, Abril Molina A, Salmeron Escobar J, et al. Hepatotoxicity due to drugs or natural products in children. *An Pediatr (Barc)* 2012 Sep 24.
- (85) Teschke R, Genthner A, Wolff A, Frenzel C, Schulze J, Eickhoff A. Herbal hepatotoxicity: analysis of cases with initially reported positive re-exposure tests. *Dig Liver Dis* 2014 Mar;46(3):264-269.
- (86) Teschke R, Eickhoff A. Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: actual key issues and new encouraging steps. *Front Pharmacol* 2015 Apr 23;6:72.
- (87) Lucena MI, Andrade RJ. Increasing the detection of hepatotoxic response in clinical practice: a quality commitment. *Rev Esp Enferm Dig* 2005 Mar;97(3):145-153.
- (88) Lindquist M. Data quality management in pharmacovigilance. *Drug Saf* 2004;27(12):857-870.
- (89) Sgro C, Clinard F, Ouazir K, Chanay H, Allard C, Guilleminet C, et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology* 2002 Aug;36(2):451-455.
- (90) Hita EO, Garcia JA, Gonzalez JC, Molina AA, Cordero MA, Escobar JS, et al. Amoxicillin-clavulanic acid hepatotoxicity in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012 Dec;55(6):663-667.
- (91) Fontana RJ, Watkins PB, Bonkovsky HL, Chalasani N, Davern T, Serrano J, et al. Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) prospective study: rationale, design and conduct. *Drug Saf* 2009;32(1):55-68.
- (92) Vuppalanchi R, Liangpunsakul S, Chalasani N. Etiology of new-onset jaundice: how often is it caused by idiosyncratic drug-induced liver injury in the United States? *Am J Gastroenterol* 2007 Mar;102(3):558-62; quiz 693.
- (93) Lindell-Osuagwu L, Korhonen MJ, Saano S, Helin-Tanninen M, Naaranlahti T, Kokki H. Off-label and unlicensed drug prescribing in three paediatric wards in Finland and review of the international literature. *J Clin Pharm Ther* 2009 Jun;34(3):277-287.
- (94) Conroy S, Choonara I, Impicciatore P, Mohn A, Arnell H, Rane A, et al. Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries. European Network for Drug Investigation in Children. *BMJ* 2000 Jan 8;320(7227):79-82.
- (95) Ceci A, Felisi M, Catapano M, Baiardi P, Cipollina L, Ravera S, et al. Medicines for children licensed by the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. *Eur J Clin Pharmacol* 2002 Nov;58(8):495-500.

- (96) Saint Raymond A, Brasseur D. Development of medicines for children in Europe: ethical implications. *Paediatr Respir Rev* 2005 Mar;6(1):45-51.
- (97) Squires RH, Jr, Shneider BL, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol RJ, Narkewicz MR, et al. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric acute liver failure study group. *J Pediatr* 2006 May;148(5):652-658.
- (98) Bessmertny O, Hatton RC, Gonzalez-Peralta RP. Antiepileptic hypersensitivity syndrome in children. *Ann Pharmacother* 2001 May;35(5):533-538.
- (99) Lim JR, Faught PR, Chalasani NP, Molleston JP. Severe liver injury after initiating therapy with atomoxetine in two children. *J Pediatr* 2006 Jun;148(6):831-834.
- (100) Mecarelli O, Pulitano P, Mingoia M, Ferretti G, Rossi M, Berloco PB, et al. Acute hepatitis associated with lamotrigine and managed with the molecular adsorbents recirculating system (Mars). *Epilepsia* 2005 Oct;46(10):1687-1689.
- (101) Zhu Y, Li YG, Wang JB, Liu SH, Wang LF, Zhao YL, et al. Causes, Features, and Outcomes of Drug-Induced Liver Injury in 69 Children from China. *Gut Liver* 2015 Feb 26.
- (102) Ocete-Hita E, Sameron-Fernandez MJ, Gonzalez Gomez JM, Urrutia Maldonado E, Salmeron Ruiz M, Ruiz-Extremera A, et al. Hepatotoxicity from the Consumption of Herbalist Products by a Paediatric Population. *Nutr Hosp* 2015 Aug 1;32(2):652-655.
- (103) Yamamoto M, Takeda K. Current views of toll-like receptor signaling pathways. *Gastroenterol Res Pract* 2010;2010:240365.
- (104) Marcdante K, Behrman R, Jenson H, Kliegman RM, Nelson. *Pediatría Esencial*. Séptima ed.: Elsevier; 2015.
- (105) Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006 Feb 24;124(4):783-801.
- (106) Macian F. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol* 2005 Jun;5(6):472-484.
- (107) Ahmed R, Bevan MJ, Reiner SL, Fearon DT. The precursors of memory: models and controversies. *Nat Rev Immunol* 2009 Sep;9(9):662-668.
- (108) Jenkins MK, Khoruts A, Ingulli E, Mueller DL, McSorley SJ, Reinhardt RL, et al. In vivo activation of antigen-specific CD4 T cells. *Annu Rev Immunol* 2001;19:23-45.
- (109) Sharpe AH. Mechanisms of costimulation. *Immunol Rev* 2009 May;229(1):5-11.
- (110) Bour-Jordan H, Bluestone JA. Regulating the regulators: costimulatory signals control the homeostasis and function of regulatory T cells. *Immunol Rev* 2009 May;229(1):41-66.
- (111) Wang H, Kadlec TA, Au-Yeung BB, Goodfellow HE, Hsu LY, Freedman TS, et al. ZAP-70: an essential kinase in T-cell signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010 May;2(5):a002279.
- (112) Jayawardena-Wolf J, Bendelac A. CD1 and lipid antigens: intracellular pathways for antigen presentation. *Curr Opin Immunol* 2001 Feb;13(1):109-113.

- (113) Love PE, Hayes SM. ITAM-mediated Signaling by the T-Cell Antigen Receptor. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010 Jun;2(6):a002485. doi:10.1101/cshperspect.a002485.
- (114) O'Connor GM, Hart OM, Gardiner CM. Putting the natural killer cell in its place. *Immunology* 2006 Jan;117(1):1-10.
- (115) McQueen KL, Parham P. Variable receptors controlling activation and inhibition of NK cells. *Curr Opin Immunol* 2002 Oct;14(5):615-621.
- (116) Lanier LL. Up on the tightrope: natural killer cell activation and inhibition. *Nat Immunol* 2008 May;9(5):495-502.
- (117) Lopez-Botet M, Fontan G, Garcia Rodriguez MC, de Landazuri MO. Relationship between IL 2 synthesis and the proliferative response to PHA in different primary immunodeficiencies. *J Immunol* 1982 Feb;128(2):679-683.
- (118) Rajalingam R. Human diversity of killer cell immunoglobulin-like receptors and disease. *Korean J Hematol* 2011 Dec;46(4):216-228.
- (119) Middleton D, Gonzelez F. The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology* 2010 Jan;129(1):8-19.
- (120) Garcia CA, Robinson J, Guethlein LA, Parham P, Madrigal JA, Marsh SG. Human KIR sequences 2003. *Immunogenetics* 2003 Jul;55(4):227-239.
- (121) Yawata M, Yawata N, Draghi M, Little AM, Partheniou F, Parham P. Roles for HLA and KIR polymorphisms in natural killer cell repertoire selection and modulation of effector function. *J Exp Med* 2006 Mar 20;203(3):633-645.
- (122) Single RM, Martin MP, Gao X, Meyer D, Yeager M, Kidd JR, et al. Global diversity and evidence for coevolution of KIR and HLA. *Nat Genet* 2007 Sep;39(9):1114-1119.
- (123) Navarro F, Llano M, Bellon T, Colonna M, Geraghty DE, Lopez-Botet M. The ILT2(LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur J Immunol* 1999 Jan;29(1):277-283.
- (124) Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2001;19:197-223.
- (125) Borrego F. The first molecular basis of the "missing self" hypothesis. *J Immunol* 2006 Nov 1;177(9):5759-5760.
- (126) Parham P, Norman PJ, Abi-Rached L, Guethlein LA. Variable NK cell receptors exemplified by human KIR3DL1/S1. *J Immunol* 2011 Jul 1;187(1):11-19.
- (127) Campbell KS, Purdy AK. Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology* 2011 Mar;132(3):315-325.
- (128) Dunphy SE, Guinan KJ, Chorcora CN, Jayaraman J, Traherne JA, Trowsdale J, et al. 2DL1, 2DL2 and 2DL3 all contribute to KIR phenotype variability on human NK cells. *Genes Immun* 2015 Jul-Aug;16(5):301-310.



- (129) Vojvodic S, Ademovic-Sazdanic D. KIR and HLA haplotype analysis in a family lacking the KIR 2DL1-2DP1 genes. *Balkan J Med Genet* 2015 Dec 30;18(1):55-64.
- (130) Martin AM, Kulski JK, Gaudieri S, Witt CS, Freitas EM, Trowsdale J, et al. Comparative genomic analysis, diversity and evolution of two KIR haplotypes A and B. *Gene* 2004 Jun 23;335:121-131.
- (131) Martin MP, Single RM, Wilson MJ, Trowsdale J, Carrington M. KIR haplotypes defined by segregation analysis in 59 Centre d'Etude Polymorphisme Humain (CEPH) families. *Immunogenetics* 2008 Dec;60(12):767-774.
- (132) Sun G, Wang C, Zhen J, Zhang G, Xu Y, Deng Z. Cloning and sequencing of KIR2DL1 framework gene cDNA and identification of a novel allele. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2016 Oct;33(5):694-697.
- (133) Hsu KC, Chida S, Geraghty DE, Dupont B. The killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genomic region: gene-order, haplotypes and allelic polymorphism. *Immunol Rev* 2002 Dec;190:40-52.
- (134) Schmitt N, Ueno H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol* 2015 Jun;34:130-136.
- (135) Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 1993;11:165-190.
- (136) Beebe AM, Cua DJ, de Waal Malefyt R. The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS). *Cytokine Growth Factor Rev* 2002 Aug-Oct;13(4-5):403-412.
- (137) Alhamad EH, Cal JG, Shakoor Z, Almogren A, AlBoukai AA. Cytokine gene polymorphisms and serum cytokine levels in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Med Genet* 2013 Jul 1;14:66-2350-14-66.
- (138) Qidwai T, Khan F. Tumour Necrosis Factor Gene Polymorphism and Disease Prevalence. *Scand J Immunol* 2011;74(6):522-547.
- (139) Chen S, Wang Q, Wu Z, Wu Q, Li P, Li Y, et al. Associations between TNF-alpha-308A/G polymorphism and susceptibility with dermatomyositis: a meta-analysis. *PLoS One* 2014 Aug 7;9(8):e102841.
- (140) Gajewski PD, Hengstler JG, Golka K, Falkenstein M, Beste C. The functional tumor necrosis factor-alpha (308A/G) polymorphism modulates attentional selection in elderly individuals. *Neurobiol Aging* 2013 Nov;34(11):2694.e1-2694.e12.
- (141) Al-Mohaya MA, Al-Otaibi L, Al-Harhi F, Al Bakr E, Arfin M, Al-Asmari A. Association of genetic polymorphisms in interferon-gamma, interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 gene with oral lichen planus susceptibility. *BMC Oral Health* 2016 Aug 20;16(1):76-016-0277-x.
- (142) Reichert S, Schlitt A, Benten AC, Hofmann B, Schaller HG, Schulz S. Data on IL-6 c.-174 G>C genotype and allele frequencies in patients with coronary heart disease in dependence of cardiovascular outcome. *Data Brief* 2016 Jul 16;8:1295-1299.
- (143) Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. The major histocompatibility complex and its functions. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* New York; 2001.

- (144) Bjorkman PJ. MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions. *Cell* 1997 Apr 18;89(2):167-170.
- (145) Krensky AM, Weiss A, Crabtree G, Davis MM, Parham P. T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. *N Engl J Med* 1990 Feb 22;322(8):510-517.
- (146) Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 2008 Aug;8(8):607-618.
- (147) Inaba K, Turley S, Iyoda T, Yamaide F, Shimoyama S, Reis e Sousa C, et al. The formation of immunogenic major histocompatibility complex class II-peptide ligands in lysosomal compartments of dendritic cells is regulated by inflammatory stimuli. *J Exp Med* 2000 Mar 20;191(6):927-936.
- (148) Shah RR. Can pharmacogenetics help rescue drugs withdrawn from the market? *Pharmacogenomics* 2006 Sep;7(6):889-908.
- (149) Fooksman DR, Gronvall GK, Tang Q, Edidin M. Clustering class I MHC modulates sensitivity of T cell recognition. *J Immunol* 2006 Jun 1;176(11):6673-6680.
- (150) Romon I, Montes C, Ligeiro D, Trindade H, Sanchez-Mazas A, Nunes JM, et al. Mapping the HLA diversity of the Iberian Peninsula. *Hum Immunol* 2016 Jul 1.
- (151) Eade OE, Grice D, Krawitt EL, Trowell J, Albertini R, Festenstein H, et al. HLA A and B locus antigens in patients with unexplained hepatitis following halothane anaesthesia. *Tissue Antigens* 1981;17(4):428-432.
- (152) Otsuka S, Yamamoto M, Kasuya S, Ohtomo H, Yamamoto Y, Yoshida TO, et al. HLA antigens in patients with unexplained hepatitis following halothane anesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1985 Jul;29(5):497-501.
- (153) Berson A, Freneaux E, Larrey D, Lepage V, Douay C, Mallet C, et al. Possible role of HLA in hepatotoxicity. An exploratory study in 71 patients with drug-induced idiosyncratic hepatitis. *J Hepatol* 1994 Mar;20(3):336-342.
- (154) Rangnekar AS, Fontana RJ. An update on drug induced liver injury. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011 Jun;57(2):213-229.
- (155) Lammert C, Bjornsson E, Niklasson A, Chalasani N. Oral medications with significant hepatic metabolism at higher risk for hepatic adverse events. *Hepatology* 2010 Feb;51(2):615-620.
- (156) Amathieu R, Levesque E, Merle JC, Chemit M, Costentin C, Compagnon P, et al. Severe toxic acute liver failure: etiology and treatment. *Ann Fr Anesth Reanim* 2013 Jun;32(6):416-421.
- (157) Lee WM. Etiologies of acute liver failure. *Semin Liver Dis* 2008 May;28(2):142-152.
- (158) Baris Z, Saltik Temizel IN, Uslu N, Usta Y, Demir H, Gurakan F, et al. Acute liver failure in children: 20-year experience. *Turk J Gastroenterol* 2012 Apr;23(2):127-134.
- (159) Cakir B, Kirbas I, Demirhan B, Tarhan NC, Bozkurt A, Ozcay F, et al. Fulminant hepatic failure in children: etiology, histopathology and MDCT findings. *Eur J Radiol* 2009 Nov;72(2):327-334.
- (160) Adcock KG, MacElroy DE, Wolford ET, Farrington EA. Pemoline therapy resulting in liver transplantation. *Ann Pharmacother* 1998 Apr;32(4):422-425.

- (161) Beurton I, Germanese JC, Becker MC, Koch S, Carbillet JP, Miguët JP, et al. Acute hepatitis and destructive cholangitis probably induced by amoxicillin-clavulanic acid combination]. *Gastroenterol Clin Biol* 1999 Oct;23(10):1097-1098.
- (162) Andrade RJ, Robles M, Ortiz N, Lucena MI. Rechallenge in hepatotoxicity: proof of concept or therapeutic accident? *Rev Esp Enferm Dig* 2008 May;100(5):255-258.
- (163) Stine JG, Lewis JH. Drug-induced liver injury: a summary of recent advances. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011 Jul;7(7):875-890.
- (164) Maddur H, Chalasani N. Idiosyncratic drug-induced liver injury: a clinical update. *Curr Gastroenterol Rep* 2011 Feb;13(1):65-71.
- (165) Lucena MI, Kaplowitz N, Hallal H, Castiella A, Garcia-Bengoechea M, Otazua P, et al. Recurrent drug-induced liver injury (DILI) with different drugs in the Spanish Registry: the dilemma of the relationship to autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2011 Oct;55(4):820-827.
- (166) Petronijevic M, Ilic K, Suzuki A. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2011 Apr;20(4):416-423.
- (167) Schirm E, van den Berg P, Gebben H, Sauer P, De Jong-van den Berg L. Drug use of children in the community assessed through pharmacy dispensing data. *Br J Clin Pharmacol* 2000 Nov;50(5):473-478.
- (168) Lai RT, Wang H, Gui HL, Ye MZ, Dai WJ, Xiang XG, et al. Clinical and pathological features in 138 cases of drug-induced liver injury. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2012 Mar;20(3):185-189.
- (169) Robles M, Toscano E, Cotta J, Lucena MI, Andrade RJ. Antibiotic-induced liver toxicity: mechanisms, clinical features and causality assessment. *Curr Drug Saf* 2010 Jul 2;5(3):212-222.
- (170) Salvo F, Polimeni G, Moretti U, Conforti A, Leone R, Leoni O, et al. Adverse drug reactions related to amoxicillin alone and in association with clavulanic acid: data from spontaneous reporting in Italy. *J Antimicrob Chemother* 2007 Jul;60(1):121-126.
- (171) Ochoa C, Eiros JM, Inglada L, Vallano A, Guerra L. Assessment of antibiotic prescription in acute respiratory infections in adults. The Spanish Study Group on Antibiotic Treatments. *J Infect* 2000 Jul;41(1):73-83.
- (172) Piccirillo JF, Mager DE, Frisse ME, Brophy RH, Goggin A. Impact of first-line vs second-line antibiotics for the treatment of acute uncomplicated sinusitis. *JAMA* 2001 Oct 17;286(15):1849-1856.
- (173) Garcia-Cortes M, Borraz Y, Lucena MI, Pelaez G, Salmeron J, Diago M, et al. Liver injury induced by "natural remedies": an analysis of cases submitted to the Spanish Liver Toxicity Registry. *Rev Esp Enferm Dig* 2008 Nov;100(11):688-695.
- (174) Casallo Blanco S, Blanco Gonzalez J, Marcos Sanchez F, Alvarez Cercadillo R, Moreno Palomares M. Toxic hepatitis induced by Chinese herbs. *Gastroenterol Hepatol* 2005 May;28(5):307-308.
- (175) Licata A, Macaluso FS, Craxi A. Herbal hepatotoxicity: a hidden epidemic. *Intern Emerg Med* 2013 Feb;8(1):13-22.
- (176) Andrade RJ, Lucena MI, Garcia-Cortes M, Garcia-Ruiz E, Fernandez-Bonilla E, Vazquez L. Chronic hepatitis C, ibuprofen, and liver damage. *Am J Gastroenterol* 2002 Jul;97(7):1854-1855.

- (177) Lee CH, Wang JD, Chen PC. Increased risk of hospitalization for acute hepatitis in patients with previous exposure to NSAIDs. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2010 Jul;19(7):708-714.
- (178) Srivastava M, Perez-Atayde A, Jonas MM. Drug-associated acute-onset vanishing bile duct and Stevens-Johnson syndromes in a child. *Gastroenterology* 1998 Sep;115(3):743-746.
- (179) Garcia Garcia MD, Prieto Tato LM, Santos Borbujo J, Monzon Corral L, Hernandez Fabian A, San Feliciano Martin L. Attention deficit and hyperactivity disorder, a current problem. *An Pediatr (Barc)* 2008 Sep;69(3):244-250.
- (180) Gandia-Beneto R, Mulas F, Roca P, Ortiz-Sanchez P, Abad-Mas L. Change in the therapeutic strategy when faced with an inadequate response to the pharmacological treatment of attention deficit hyperactivity disorder. *Rev Neurol* 2015 Feb 25;60 Suppl 1:S13-8.
- (181) Bakke OM, Manocchia M, de Abajo F, Kaitin KI, Lasagna L. Drug safety discontinuations in the United Kingdom, the United States, and Spain from 1974 through 1993: a regulatory perspective. *Clin Pharmacol Ther* 1995 Jul;58(1):108-117.
- (182) Watkins PB, Kaplowitz N, Slattery JT, Colonese CR, Colucci SV, Stewart PW, et al. Aminotransferase elevations in healthy adults receiving 4 grams of acetaminophen daily: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006 Jul 5;296(1):87-93.
- (183) Miljkovic MM, Dobric S, Dragojevic-Simic V. Consistency between causality assessments obtained with two scales and their agreement with clinical judgments in hepatotoxicity. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2011 Jan 10.
- (184) Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981 Aug;30(2):239-245.
- (185) Grove JI, Aithal GP. Human leukocyte antigen genetic risk factors of drug-induced liver toxicology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2015 Mar;11(3):395-409.
- (186) Anderson GD. Children versus adults: pharmacokinetic and adverse-effect differences. *Epilepsia* 2002;43 Suppl 3:53-59.
- (187) Zhu X, Uetrecht J. A novel T(H)17-type cell is rapidly increased in the liver in response to acetaminophen-induced liver injury: T(H)17 cells and the innate immune response. *J Immunotoxicol* 2013 Jul-Sep;10(3):287-291.
- (188) Kindmark A, Jawaid A, Harbron CG, Barratt BJ, Bengtsson OF, Andersson TB, et al. Genome-wide pharmacogenetic investigation of a hepatic adverse event without clinical signs of immunopathology suggests an underlying immune pathogenesis. *Pharmacogenomics J* 2008 Jun;8(3):186-195.
- (189) Martin AM, Nolan D, James I, Cameron P, Keller J, Moore C, et al. Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1\*0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *AIDS* 2005 Jan 3;19(1):97-99.
- (190) Spraggs CF, Budde LR, Briley LP, Bing N, Cox CJ, King KS, et al. HLA-DQA1\*02:01 is a major risk factor for lapatinib-induced hepatotoxicity in women with advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2011 Feb 20;29(6):667-673.
- (191) Yuan J, Guo S, Hall D, Cammett AM, Jayadev S, Distel M, et al. Toxicogenomics of nevirapine-associated cutaneous and hepatic adverse events among populations of African, Asian, and European descent. *AIDS* 2011 Jun 19;25(10):1271-1280.

- (192) Hirata K, Takagi H, Yamamoto M, Matsumoto T, Nishiya T, Mori K, et al. Ticlopidine-induced hepatotoxicity is associated with specific human leukocyte antigen genomic subtypes in Japanese patients: a preliminary case-control study. *Pharmacogenomics J* 2008 Feb;8(1):29-33.
- (193) Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2004 Jun;50(2):113-123.
- (194) Sharma SK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Mehra NK. Evaluation of clinical and immunogenetic risk factors for the development of hepatotoxicity during antituberculosis treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 Oct 1;166(7):916-919.
- (195) Vinken M, Maes M, Vanhaecke T, Rogiers V. Drug-induced liver injury: mechanisms, types and biomarkers. *Curr Med Chem* 2013;20(24):3011-3021.
- (196) Shah RR. Pharmacogenetics in drug regulation: promise, potential and pitfalls. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2005 Aug 29;360(1460):1617-1638.
- (197) Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med* 2005 Apr 4;201(7):1025-1029.
- (198) Buhler S, Giostra E, Gbame C, de Rham C, Mullhaupt B, Dufour JF, et al. A significant effect of the KIR ligand HLA-C on fibrosis progression in chronic C hepatitis with or without liver transplantation. *Liver Int* 2015 Dec 30.

## **XI. ANEXOS**

## ANEXO I. Publicación y comunicaciones científicas relacionadas con la tesis:

**Nutrición  
Hospitalaria**



Nutr Hosp. 2015;32(2):652-655  
ISSN 0212-1611 • CODEN NUHOEQ  
S.V.R. 318

Original/ *Pediatría*

## Hepatotoxicidad y consumo de productos de herboristería en la población pediátrica

Esther Ocete-Hita<sup>1,2,3</sup>, M.<sup>a</sup> José Samerón-Fernández<sup>1</sup>, Jose Manuel González Gómez<sup>4</sup>, Emilia Urrutia Maldonado<sup>1</sup>, Marfa Salmerón Ruiz<sup>5</sup>, Angela Ruiz-Extremera<sup>1,2,3</sup> y Javier Salmerón<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Granada. <sup>2</sup>Universidad de Granada. <sup>3</sup>CIBERehd. <sup>4</sup>Hospital Materno Infantil de Málaga. <sup>5</sup>Hospital Universitario La Paz, Madrid (España).

### Resumen

El consumo de productos de herboristería es debido principalmente a la percepción de que al ser “naturales”, solo pueden ser beneficiosos y carecen de riesgos para la salud. Sin embargo, las propiedades de los mismos están escasamente estudiadas y contrastadas.

Se presentan cuatro episodios de hepatotoxicidad por productos naturales en tres niños, analizándose sus características epidemiológicas y clínicas. Se hace especial hincapié en la importancia de una correcta anamnesis para la sospecha diagnóstica.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:652-655)

DOI:10.3305/nh.2015.32.2.8853

Palabras clave: *Hepatotoxicidad. Productos de herboristería. Niños. Hepatitis tóxica.*

### HEPATOTOXICITY FROM THE CONSUMPTION OF HERBALIST PRODUCTS BY A PAEDIATRIC POPULATION

#### Abstract

The consumption of herbal products is mainly due to the perception that being “natural” can only be beneficial and without risk to health. However the properties thereof are poorly studied and proven.

Four episodes are presented of hepatotoxicity from the consumption of herbal products, by three children. We analyse the epidemiological and clinical characteristics of these products, and stress the importance of proper anamnesis for accurate diagnosis.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:652-655)

DOI:10.3305/nh.2015.32.2.8853

Key words: *Hepatotoxicity. Herbal products. Children. Hepatitis toxic.*

### Introducción

Las enfermedades hepáticas de la infancia tienen como causa más frecuente las infecciones virales y no tóxico-medicamentosa como ocurre en el adulto. El hígado del niño, en teoría, está más protegido que el de los adultos frente a hepatotoxinas debido a la mayor cantidad de glutatión (principal componente de las vías detoxificantes) e hipertrofia de algunas vías metabólicas como la sulfatación, que pueden compensar el déficit madurativo de otras como la glucurononjugación<sup>1</sup>.

**Correspondencia:** Esther Ocete Hita.  
Hospital Materno Infantil.  
Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos.  
Av. de las Fuerzas Armadas 2.  
18014 Granada, España.  
E-mail: estherocete@ugr.es

Recibido: 18-II-2015.  
Aceptado: 24-V-2015.

No obstante, hay determinadas sustancias cuya probabilidad de producir lesión hepatotóxica disminuye con la edad como es el caso de: Ac. valproico, paracetamol, ciclosporina y vincristina<sup>2</sup>.

La medicina alternativa incluye un grupo heterogéneo de prácticas que son utilizadas con gran frecuencia en la población general con un crecimiento importante en países desarrollados en los últimos años. En el marco de la medicina alternativa, el consumo de productos botánicos es el que mayor auge ha alcanzado y el que mayor incremento ha experimentado en las últimas décadas<sup>3</sup>, estimándose una prevalencia actual entre un 18,6 y el 37% con amplias variaciones entre distintos países y tipos de estudios<sup>4</sup>.

Este aumento en el consumo de productos herbales es debido principalmente a la percepción de que al ser “naturales” sólo pueden ser beneficiosos y carecen de riesgos para la salud. Sin embargo, aunque hoy día sabemos que las sustancias de origen vegetal no carecen de efecto biológico, las propiedades de las mismas están escasamente estudiadas y contrastadas<sup>5</sup>.

### Pacientes y método

Los pacientes descritos pertenecen al Registro español de hepatotoxicidad en la población pediátrica<sup>1</sup>. Este Registro comenzó a funcionar en el año 2008 y tiene recogidos en la actualidad un total de 70 casos de toxicidad hepática en la infancia.

La información de cada paciente incluye datos sobre:

- Variables demográficas
- Características del tratamiento al que se imputa la reacción, medicación concomitante
- Curso del episodio. Variables de laboratorio durante la reacción, hasta la eventual resolución y/o cada 6 m. desde el inicio.
- Datos histológicos si procede
- Exclusion de causas alternativas

La interpretación de los datos de laboratorio se correlacionarán con las lesiones anatómo-patológicas, según los criterios establecidos en la Conferencia Internacional de Consenso celebrada en 1990<sup>5,6</sup> en:

1. Lesión hepatocelular: incremento aislado de ALT dos veces superior al límite de la normalidad o actividad de ALT/FA expresada en múltiplos del límite superior de la normalidad mayor a 5. En los niños como la FA esta elevada por la fracción ósea, hay que usar la isoenzima hepática de la fosfatasa alcalina.
2. Lesión colestásica: incremento aislado de FA superior a dos veces el valor normal o ALT/FA inferior a dos.
3. Lesión mixta: ALT elevada, incremento de FA y ALT/FA mayor a dos pero inferior a cinco.

En todos los casos remitidos al registro se evalúa la causalidad, primero por juicio clínico y posteriormente mediante la aplicación de la escala *Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS/ RUCAM)*<sup>8,9</sup>.

Con estas consideraciones previas, hemos detectado un total de 4 reacciones hepatotóxicas secundarias a productos de herboristería en tres pacientes lo que corresponde a un 5,7% de los casos del registro.

Los productos implicados han sido anís verde, anís estrellado y cola de caballo. En el caso del anís verde, se produjo una reexposición accidental por el desconocimiento previo de la causa de la hipertransaminasemia.

### Descripción de los enfermos

#### Caso 1

Se trata de un niño de dos meses de edad que consulta en el servicio de urgencias hospitalarias por rechazo de las tomas en las 24 horas previas. En la

exploración física no se encuentran datos de interés. En la anamnesis se registra la ingestión, en los 20 días previos, de una infusión con "cola de caballo". Se trata de un niño sin antecedentes personales ni familiares de interés que recibe la infusión por estreñimiento y dispepsia. En la analítica realizada en el momento de la consulta los únicos hallazgos patológicos son la presencia de una cifra de GPT de 10,3 XLSN y de GOT de 18,3 LSN. Tras descartar razonablemente otras causas de aumento de transaminasas se cataloga esta reacción hepatotóxica como *posible* según la escala diagnóstica de CIOMS. El enfermo permanece con enzimas hepáticas elevadas durante 60 días.

#### Caso 2 y 3

Se trata de un niño de 6 años de edad que consulta por vómitos mucosos, rinorrea e impresión subjetiva por parte de la madre de pérdida de peso en los últimos días. En la analítica realizada en este momento destaca la presencia de un GPT de 9,5 LSN, GOT 6,2 LSN. Precisa ingreso durante 48 horas por la no tolerancia hídrica y es dado de alta con diagnóstico de probable hepatitis de etiología vírica y seguido en consulta de hepatología pediátrica hasta normalización de transaminasas que ocurre a los 30 días. Se cataloga como probable hepatitis de etiología vírica.

A los cuatro meses consulta en el servicio de urgencias por un cuadro clínico semejante al del ingreso anterior. En la anamnesis realizada se detecta la ingestión de un compuesto comercial de venta libre en supermercados con menta, manzanilla y anís verde. Refiere la madre que esta infusión se la ha ofrecido por presentar vómitos esporádicos al estar cursando un proceso respiratorio de vías altas. Indagando en este tema, en el ingreso anterior también había ingerido este mismo compuesto. En esta ocasión llevaba 5 días tomando la infusión, cree recordar que en el episodio previo lo ingirió durante 7-10 días.

La analítica muestra una GPT de 22,5 LSN y GOT de 17,5 LSN. Este aumento de transaminasas permanece durante 40 días. Tras descartar otras causas de hepatitis se cataloga como reacción hepatotóxica *altamente probable o definida*.

En este caso, en el que la reproducción de los síntomas tras reexposición al mismo preparado apoya fuertemente el diagnóstico, ha sido considerado el anís verde como probable responsable de la reacción tóxica por ser este el único con hepatotoxicidad potencial demostrada de los compuestos presentes en la infusión.

#### Caso 4

Se trata de un niño de 4 meses de edad que consultaba en el servicio de urgencias por decaimiento. En la anamnesis se registra la ingestión de anís estrellado comprado en herboristería desde 14 días antes indicado



para aliviar los "cólicos del lactante". En los exámenes complementario destaca la existencia de hipoglucemia (50 mg/dl) con disminución de actividad de protrombina (22%) e hipertransaminasemia (GPT 20,3 xLSN, GOT 17,5 XLSN). Se ingresa para estudio en el que se descartan razonablemente las causas infecciosa y metabólicas de insuficiencia hepática. Se produce una recuperación de las enzimas hepática en 2 meses. Se cataloga por la escala de CIOMS de reacción hepatotóxica *probable* por *anís* estrellado.

Tarda en normalizar las transaminasas 2 meses.

## Discusión

Muchos son los factores que pueden contribuir a la hepatotoxicidad de los productos de herboristería: el efecto tóxico de la/s sustancia/s del mismo, la falta de identificación del producto y de sus componentes, la selección de una parte errónea de la planta, el almacenamiento inadecuado, la contaminación de las plantas por productos químicos, metales pesados o microorganismos, la adulteración durante la producción y la falta o el mal etiquetado de los productos. Por lo tanto, establecer el diagnóstico de hepatitis tóxica por uso de productos de herboristería, muchas veces de consumo no reconocido, es complicado<sup>7</sup>.

El daño hepático asociado a fármacos convencionales es un efecto identificado desde hace tiempo y valorado por el personal prescriptor en el momento de la toma de decisiones farmacoterapéuticas. Sin embargo, en el caso los productos naturales, su identificación como causa de hepatotoxicidad es relativamente reciente, lo que favorece que sea un problema escasamente considerado e investigado. En este sentido, algunos productos fitoterapéuticos se han asociado con la aparición de hepatitis aguda y hepatitis crónica, colestasis, lesiones vasculares e incluso fallo hepático y cirrosis. Además, las alteraciones hepáticas por estos productos son difíciles de diagnosticar. Por ello, la prevención de la utilización y la identificación temprana resulta clave en el control y el tratamiento de estos problemas.

El consumo de remedios naturales está muy extendido y va aumentando en los últimos años. La consideración general, basada principalmente en conceptos tradicionales, les otorga una serie de beneficios y les exime de efectos nocivos. Sin embargo numerosas aportaciones en la bibliografía alertan del potencial hepatotóxico de estas sustancias<sup>4,8-10</sup>.

El considerado como "patrón oro" para el diagnóstico de hepatotoxicidad es la reaparición de las alteraciones clínico-biológicas tras la reexposición al fármaco (*rechallenge*)<sup>11,12</sup>. Sin embargo, por razones éticas, no está indicado volver administrar de forma voluntaria una sustancia sospechosa de causar hepatotoxicidad, a fin de demostrar de forma más fiable la causalidad. En nuestra serie ha existido reexposición en 1 paciente, las sustancia implicada ha sido *anís* ver-

de. El principal motivo de reexposición accidental ha sido la falta de reconocimiento del primer episodio como lesión hepatotóxica y el erróneo establecimiento de hepatitis de causa viral sin datos objetivos que lo sustenten. Se comprobó un mayor ascenso de ALT y un intervalo más corto entre exposición e inicio de síntomas en la reexposición. La reexposición involuntaria ocurrida es un hecho evitable y potencialmente grave.

El diagnóstico de causalidad, tras la adecuada sospecha clínica, se debe establecer con la ayuda de escalas diagnósticas que valoran una serie de datos objetivos mediante una puntuación numérica y establecen distintas categorías de probabilidad. De todas las desarrolladas por distintos grupos son la escala de CIOMS/RUCAM<sup>5</sup> y la de Marfá y Victorino<sup>13</sup> las más utilizadas. Ambas valoran los datos existentes en 6 apartados con un sistema de puntuación final con el que se establecen diferentes categorías de sospecha. Ninguna de las escalas referidas están validadas para la población infantil siendo prioritario un método de diagnóstico pediátrico más acorde con esta población.

Hemos utilizado la escala de CIOMS/RUCAM por ser un procedimiento establecido en consenso internacional y haber demostrado en varios estudios realizados en adultos una mayor capacidad para diferenciar las distintas categorías de sospecha y mayor consistencia con el juicio clínico realizado por los hepatólogos en adultos<sup>14</sup>.

El creciente consumo de plantas medicinales, los riesgos e incertidumbres acerca de sus efectos farmacológicos y la posibilidad de aparición de interacciones con otros medicamentos deben hacer cambiar nuestra mentalidad sobre el modo de registrar el consumo de estos productos en la historia clínica y su consideración como posibles causantes de efectos adversos. Es más, la posibilidad de llegar a detectar los episodios de hepatotoxicidad secundarios a sustancias herbales dependerá en gran medida de la sospecha clínica y la correcta anamnesis realizada tanto en la población adulta como en la pediátrica.

Creemos que el conocimiento de que los productos de herboristería, lejos de ser inocuos, pueden ocasionar efectos adversos, debe animarnos a transmitir prudencia a nuestros pacientes en el consumo de estas sustancias.

## Referencias

- Ocete Hita E, Martín García JA, Giménez Sánchez F, Flores González JC, Abril Molina A, Salmerón Escobar J, et al. Hepatotoxicity due to drugs or natural products in children. *An Pediatr (Barc)* 2013 Apr;78(4):248-259.
- Ferrajolo C, Capuano A, Verhamme KM, Schuemie M, Rossi F, Stricker BH, et al. Drug-induced hepatic injury in children: a case/non-case study of suspected adverse drug reactions in Vigibase. *Br J Clin Pharmacol* 2010 Nov;70(5):721-728.
- Teschke R, Genthner A, Wolff A, Frenzel C, Schulze J, Eichhoff A. Herbal hepatotoxicity: analysis of cases with initially reported positive re-exposure tests. *Dig Liver Dis* 2014 Mar;46(3):264-269.

4. Licata A, Macaluso FS, Craxi A. Herbal hepatotoxicity: a hidden epidemic. *Intern Emerg Med* 2013 Feb;8(1):13-22.
5. 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 Nov;46(11):1323-1330.
6. Benichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990 Sep;11(2):272-276.
7. Teschke R, Schwarzenboeck A, Eickhoff A, Frenzel C, Wolff A, Schulze J. Clinical and causality assessment in herbal hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Saf* 2013 May;12(3):339-366.
8. Garcia-Cortes M, Borraz Y, Lucena MI, Petaez G, Salmeron J, Diago M, et al. Liver injury induced by "natural remedies": an analysis of cases submitted to the Spanish Liver Toxicity Registry. *Rev Esp Enferm Dig* 2008 Nov;100(11):688-695.
9. Bunchornavakul C, Reddy KR. Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther* 2013 Jan;37(1):3-17.
10. Navarro VJ, Lucena MI. Hepatotoxicity induced by herbal and dietary supplements. *Semin Liver Dis* 2014 May;34(2):172-193.
11. Teschke R, Frenzel C, Schulze J, Schwarzenboeck A, Eickhoff A. Herbalife hepatotoxicity: Evaluation of cases with positive reexposure tests. *World J Hepatol* 2013 Jul 27;5(7):353-363.
12. Costero Pastor B, Díaz Barroso B, Taberero da Veiga S, Castanos-Mollor R, Poves Martínez E, Leal Berral JC, et al. Severe hepatitis with cytolysis pattern caused by amoxicillin-clavulanae]. *Rev Esp Enferm Dig* 2000 Jul;92(7):472-473.
13. Maria VA, Victorino RM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatology* 1997 Sep;26(3):664-669.
14. Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Bjornsson E, Day CP, Serrano J, et al. Standardization of nomenclature and causality assessment in drug-induced liver injury: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 2010 Aug;52(2):730-742.

11, 12 y 13 de junio 2015  
**63 Congreso AEP**  
**BILBAO**  
Palacio de Congresos y de la Música – Euskalduna Jauregia  
2015eko ekainaren 11, 12 eta 13an • 63 KONGRESU AEP  
BILBAO Euskalduna Jauregia



# Libro de ponencias y comunicaciones

## Pósteres moderados



## Póster moderado

AEP 2015-63 Congreso de la Asociación Española de Pediatría

descrita su implicación en el desarrollo de cáncer gástrico y linfomas de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT), si bien son patologías muy poco frecuentes en edad pediátrica.

### Resumen del caso

Niño de 11 años remitido por episodios de impactación alimentaria en esófago medio-distal desde hacía un año que precisaban inducir el vómito para resolverse. No disfgia para sólidos ni líquidos. No vómitos. No regurgitador. No dolor abdominal. Exploración física anodina.

Antecedentes personales: Rinitis alérgica estacional, sensibilización a ácaros del polvo, olivo, gramíneas y platanera en tratamiento con inmunoterapia sublingual desde hacía año y medio. Bronquitis en primera infancia con mejoría desde inmunoterapia. Dermatitis atópica.

Antecedentes familiares sin interés.

Con la sospecha de esofagitis eosinofílica, se programó endoscopia digestiva alta, que macroscópicamente objetivó mucosa esofágica rugosa con erosiones longitudinales en tercio distal y medio y nodularidad antral con test de ureasa positivo, motivo por el que se instauró terapia secuencial erradicadora, manteniendo IBP 8 semanas. Se solicitó batería eosinofílica que fue positiva para legumbres, alubias, cacahuete y melocotón.

Anatomía patológica (AP): Mucosa gástrica antral con proliferación linfoplasmocitoide con lesiones linfoepiteliales y expresión monotípica de cadena lambda, compatible con linfoma B del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT). Presencia de bacilos *H. Pylori*. Mucosa esofágica con cambios inflamatorios con eosinofilia (> 15 Eosinófilos/campo).

Evolución: Se realiza estudio de extensión en colaboración con nuestro hospital terciario de referencia siendo las serologías VHB, VHC y VIH negativas, ecografía abdominal, radiografía de tórax, RMN cervical, torácica y abdominal y TAC torácico normales. Se realiza biopsia de médula ósea sin objetivar infiltración por linfoma B.

Evolución satisfactoria sin impactación alimentaria. Endoscopia de control sin hallazgos compatibles con linfoma ni infección por HP, persistiendo eosinofilia esofágica, por lo que se realiza exclusión alimentaria de alimentos a los que ha mostrado sensibilización. Resultados de translocación t(11;18)(q21;q21) pendientes.

### Conclusiones y comentarios

HP habitualmente ocasiona gastritis pero está implicado en entidades más importantes, por lo que creemos recomendable tomar biopsias de estómago para AP en endoscopias realizadas por cualquier otro motivo. El linfoma MALT es muy poco frecuente en la edad pediátrica, pero como en el adulto, cuando se asocia a infección por HP y se diagnostica en estadios tempranos, tiene buen pronóstico, resolviéndose en la mayoría de los casos erradicando de la bacteria.

### P120

#### HEPATITIS TÓXICAS POR PRODUCTOS DE HERBORISTERÍA

Laura Trujillo Caballero<sup>1</sup>, M.ª José Salmerón Fernández<sup>1</sup>, José Manuel González Gómez<sup>2</sup>, Emilia Urrutia Maldonado<sup>1</sup>, Margarita Camacho González-Aurioles<sup>1</sup>, Esther Ocete Hita<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Complejo Hospitalario Universitario de Granada, España  
<sup>2</sup> Hospital Universitario Materno Infantil, Málaga, España

#### Introducción y objetivos

Las enfermedades hepáticas de la infancia tienen como causa más frecuente la infección viral y no tóxico-medicamentosa como en el adulto.

La medicina alternativa incluye un grupo de prácticas con un aumento importante en países desarrollados en los últimos años. Se debe a la percepción de que al ser "naturales" carecen de riesgos para la salud.

Presentamos las características clínicas y epidemiológicas de tres pacientes con hepatotoxicidad secundaria a productos naturales.

#### Métodos

En cada paciente se recoge información mediante un protocolo que incluye:

- Variables demográficas.
- Medicamentos implicados.
- Curso clínico.
- Histología.
- Exclusión causas alternativas.

En todos los casos se evalúa la causalidad mediante la aplicación de la escala Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS/RUCAM).

#### Resultados

Hemos detectado un total de 4 reacciones hepatotóxicas en tres pacientes (Tabla). Los productos implicados han sido anís verde, anís estrellado y cola de caballo. En el caso del anís verde, se produjo una reexposición accidental por el desconocimiento previo de la causa de la elevación de enzimas hepáticas.

#### Conclusiones

Muchos son los factores que pueden contribuir a la hepatotoxicidad de los productos de herboristería: el efecto tóxico de la/s sustancia/s, la falta de identificación del producto y de sus componentes, la selección de una parte errónea de la planta, el almacenamiento inadecuado, la contaminación de las plantas por productos químicos, metales pesados o microorganismos, la adulteración durante la producción y la falta o el mal etiquetado de los productos.

El considerado como "patrón oro" para el diagnóstico de hepatotoxicidad es la reaparición de las alteraciones clínico-biológicas tras la reexposición al fármaco (*recha-*

*llenge*). En nuestra serie ha existido reexposición en un paciente por desconocimiento de la reacción previa, la sustancia implicada ha sido anís verde. Se comprobó un mayor ascenso de ALT y un intervalo más corto entre exposición e inicio de síntomas en la reexposición.

El creciente consumo de plantas medicinales, los riesgos e incertidumbres acerca de sus efectos farmacológicos y la posibilidad de aparición de interacciones con otros

medicamentos deben hacer cambiar nuestra mentalidad sobre el modo de registrar el consumo de estos productos en la historia clínica y su consideración como posibles causantes de efectos adversos también en la población pediátrica. Es más, la posibilidad de llegar a detectar los episodios de hepatotoxicidad secundarios a sustancias herbales dependerá en gran medida de la sospecha clínica y la correcta anamnesis.

	Caso 1	Caso 2	Reexposición Caso 2	Caso 3
Sexo	hombre	hombre	hombre	hombre
Edad	2 meses	6 años	6 años	4 meses
Días desde el inicio de la ingestión	20	2-3	2	14
Probable tóxico	Cola de caballo	Anís verde	Anís verde	Anís estrellado
Motivo de la ingestión del compuesto	Estreñimiento	Mucosidad	Mucosidad	Aerocolia
Exposición previa a fármacos en los tres últimos meses	no	Ambroxol	no	no
Sintomatología en el momento del diagnóstico	Rechazo de las tomas	Vómitos incohercibles	Vómitos incohercibles	Decaimiento, rechazo de las tomas
ALT* (xN)**	10,3 N	9,5 N	22,5 N	20,3 N
AST (xN)**	18,3 N	6,2 N	17,5 N	17,5 N
FA (IU/l)****	167	176	189	192
Bilirrubina (mg/dl)	0,6	0,9	0,9	0,7
Actividad protrombina (%)	Normal	Normal	Normal	22
Días hasta la normalización analítica	60	30	40	60
Resolución espontánea	Si	Si	Si	Si
Tipo de reacción	Hepatotóxica	Hepatotóxica	Hepatotóxica	Hepatotóxica
Mecanismo patogénico	Idiosincrásico	Idiosincrásico	Idiosincrásico	Idiosincrásico
Evaluación causalidad CIOMS/RUCAM	Probable		Altamente probable	Probable

## P121

### HIPOBETALIPOPROTEINEMIA PRIMARIA: EXPERIENCIA EN NUESTRO MEDIO

Eloisa Cervantes Hernández, Diana Ghandour Fabre, Juan Pablo Muñoz Pérez, María Herraiz Martínez, David Gil Ortega, Inmaculada Vives Piñera  
Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

#### Introducción y objetivos

La hipobetalipoproteinemia primaria (HBL) engloba un grupo de enfermedades de causa genética con defecto del metabolismo de las lipoproteínas que se caracterizan por

presentar niveles bajos (< percentil 5) de apolipoproteína B, colesterol total (CT) y c-LDL, las cuales resultan clínicamente indistinguibles. Afectan a 1/1.000 individuos. Clínicamente existe malabsorción grasa con diarrea, esteatorrea, retraso en el crecimiento, esteatosis hepática, ataxia, retinitis pigmentaria y acantocitosis. Las formas graves suelen manifestarse en la primera infancia con riesgo de pronóstico adverso, necesitan monitorización estrecha del crecimiento y prevención de complicaciones neurológicas mediante la administración precoz de los suplementos vitamínicos.

El objetivo de este estudio fue analizar la historia natural de los pacientes con diagnóstico de HBL en nuestra unidad revisando su presentación clínica al diagnóstico, los problemas detectados en la evolución y su situación actual.

85

medicación. Debemos ajustarnos a los protocolos diagnósticos, realizando más endoscopias y valorar nuevos tratamientos basados en el empleo de Budesonida viscosa y dieta de exclusión.

## P129

### TOXICIDAD HEPÁTICA POR IBUPROFENO EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA

M.<sup>a</sup> de los Ángeles Carrasco Pardo<sup>1</sup>, M.<sup>a</sup> Carmen Martínez Padilla<sup>2</sup>, Ana Abril Molina<sup>1</sup>, M.<sup>a</sup> José Salmerón Fernández<sup>1</sup>, María Salmerón Ruiz<sup>1</sup>, Esther Ocete Hita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Complejo hospitalario universitario de Granada, España

<sup>2</sup> Complejo Hospitalario de Jaén, España

#### Introducción y objetivos

Los AINE son uno de los grupos de fármacos más utilizados en los países occidentales. Entre sus efectos secundarios ha sido descrita la hepatotoxicidad idiosincrásica, cuya incidencia varía en función del fármaco implicado. El riesgo es bajo pero la gran penetrancia de su consumo hace que sean una causa a tener en cuenta en las lesiones hepáticas. El ibuprofeno es considerado como uno de los AINE más seguro y bien tolerado pero puede, sin embargo, rara vez causar lesión hepática aguda clínicamente evidente y grave. Presentamos las características clínicas y evolutivas de cuatro reacciones hepatotóxicas por ibuprofeno.

#### Métodos

Para el diagnóstico de hepatitis tóxica se revisaron exhaustivamente los fármacos de consumo actual y los previos. Se excluyeron otras causas de enfermedad hepática: hepatitis viral reciente por virus A (IgM anti-VHA), B (IgM anti-VHB) o C (anti-VHC y PCR), enfermedades autoinmunes (ANA, anticuerpos antimitocondriales, anti-

LKM1 y anti músculo liso) y obstrucción biliar (ecografía abdominal complementada con resonancia magnética o colangiografía endoscópica en los casos necesarios). Si el contexto clínico lo sugería se descartó citomegalovirus, Epstein Barr, infección por herpes virus o hepatitis E y serología de bacterias como Salmonella, Campylobacter y listeria. Se determinó la ceruloplasmína y la excreción urinaria de cobre para descartar la enfermedad de Wilson. Se evaluó, asimismo, la presencia de otras enfermedades metabólicas hepáticas como la hemocromatosis, el déficit de alfa 1 antitripsina y, en pacientes con historia de hipotensión reciente, se descartó la presencia de hepatitis isquémica. La indicación de biopsia hepática quedó a criterio del médico notificador del caso.

Se valoró la causalidad, primero por juicio clínico y posteriormente mediante la aplicación de la escala Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS/RUCAM). Dicha escala se basa en un sistema de puntuación estandarizado según diferentes criterios (cronológicos, evolución, factores de riesgo, fármaco concomitante, exclusión de causas alternativas no farmacológicas, información previa de hepatotoxicidad del fármaco, reexposición), finalmente el resultado se traslada a categorías de sospecha divididas en: definida o altamente probable (> 8 puntos), probable (6-8 puntos), posible (3-5 puntos), improbable (< 2 puntos) y excluida (≤ 0 puntos).

#### Resultados

Las características de los pacientes aparecen en la **Tabla 1**.

#### Conclusiones

El mecanismo de lesión hepática inducida por el ibuprofeno, no se conoce completamente, pero puede ser multifactorial. La gravedad de la lesión hepática por ibuprofeno puede variar desde elevaciones asintomáticas de los niveles de transaminasas séricas hasta insuficiencia hepática aguda y la necesidad de trasplante.

## Póster moderado

AEP 2015-63 Congreso de la Asociación Española de Pediatría

**Tabla 1.** Características de los pacientes

	Patología	Duración del tratamiento (días)	Signos clínicos	ALT (xN)	AST (xN)	GGT (xN)	Bilirrubina total mg/dl	Normalización de enzimas hepáticas	Puntuación en la escala de CIOMS
Case 1	Infección respiratoria	4	Astenia, vómitos	10,4N	10,6N	N	0,6	4	Posible
Case 2	Artritis idiopática Juvenil	45	Dolor abdominal, vómitos, deshidratación	27,6N	19,8N	N	0,3	3	Probable
Case 3	Artritis idiopática Juvenil	10	Dolor abdominal, vómitos	87,9N	97,3N	2,3N	0,14	6	Definido
Case 4	Infección respiratoria	7	Anorexia, astenia, ictericia	34,8N	10,2N	N	3,99	2	Probable
Case 5	Infección respiratoria	10	Ictericia	59,8N	55,9N	N	13,53	Trasplante hepático	Probable

ALT: alanina aminotransferasa, AST: aspartato aminotransferasa, FA: fosfatasa alcalina, GGT: gamma-glutamil-transferasa, xN: multiples of normality.



LIBRO DE PONENCIAS Y COMUNICACIONES  
Sesiones científicas oficiales

**CONCLUSIONES**

Según los resultados de nuestra serie, observamos que existe una buena correlación entre los resultados obtenidos en el Score diagnóstico y los datos obtenidos en la biopsia, planteando la posibilidad de realizar la biopsia a aquellos pacientes que presentan puntuaciones que establecen una HAI probable (> 10-15 puntos).

**HEPATOTOXICIDAD IDIOSINCRÁTICA POR FÁRMACOS USADOS PARA EL SISTEMA NERVIOSO**

José María Gómez Luque, María José Salmerón Fernández, José Antonio Martín García, María Luisa Alés Palmer, Antonio Blanco Molina, Esther Ocete Hita

Hospital Materno Infantil Virgen de las Nieves, Granada.

**INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

El uso frecuente de medicamentos en el paciente pediátrico favorece la aparición de reacciones adversas hepatotóxicas idiosincráticas. Estas dependen de determinadas características del paciente, no relacionadas con la dosis recibida y en muchas ocasiones no identificadas correctamente. La falta de marcadores específicos, que permitan confirmar la existencia de hepatotoxicidad, hace totalmente necesario una alta sospecha clínica.

**MÉTODOS**

Los datos aportados están incluidos en un estudio prospectivo observacional multicéntrico iniciado en

Enero de 2008. Los criterios de inclusión son: incremento de ALT mayor de 2 veces el límite superior de normalidad (LSN); o de bilirrubina conjugada; o a la combinación del incremento de AST, fosfatasa alcalina y bilirrubina total, siendo uno de ellos 2 veces > LSN.

Los datos se recogen en un protocolo estructurado con información relacionada con:

1. Relación temporal entre exposición al fármaco y enfermedad hepática.
2. Mejora o recuperación tras cese de exposición.
3. Otros fármacos o productos naturales consumidos, simultáneamente o previamente.
4. Datos de laboratorio, desde el inicio hasta la resolución, y exclusión de otras causas (viricas, autoinmunes y bacterianas).

Se valoró la causalidad mediante la escala propuesta por el Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS).

**RESULTADOS**

Del total de casos registrados, en 5 las reacciones hepatotóxicas están relacionadas con medicamentos usados para el SNC, suponiendo el 8,3%. Los fármacos implicados son (Tabla 1): Metilfenidato (1), Lisdexanfetamina (1), Olanzapina (1), Gabapentina (1) y Zonisamida (1). El tipo de lesión se ha definido como hepatocelular en 2 casos, colestático en 2 y mixto en otro caso. La causalidad según la escala de CIOMS se ha establecido como "Posible" en 3 casos y "Probable" en 2 (Tabla 2). Todos los casos evolucionaron favorablemente en menos de 30 días.

Tabla 1

Nº	Fármaco	GOT/AST <sup>1</sup>	GPT/ALT <sup>1</sup>	GGT/FA <sup>1</sup>	Exposición <sup>2</sup>	Normalización <sup>2</sup>
Caso 1	Metilfenidato	7,75	3,88	0,73	30	33
Caso 2	Gabapentina	4,43	11,05	22,95	20	9
Caso 3	Zonisamida	3,69	1,67	1,47	9	15
Caso 4	Olanzapina	18,68	11,28	1,73	15	22
Caso 5	Lisdexanfetamina	9,37	13,9	6,25	90	10

<sup>1</sup> Expresado en NxLSN. <sup>2</sup> Número de días



## Pósteres moderados

AEP 2016-64 Congreso de la Asociación Española de Pediatría

Tabla 2

Número	Edad (años)	Sexo	Tipo de lesión	Causalidad (CIOMS)
Caso 1	14	M	Hepatocelular	Posible
Caso 2	15	F	Colestática	Probable
Caso 3	3	F	Colestática	Posible
Caso 4	16	F	Hepatocelular	Posible
Caso 5	12	M	Mixta	Probable

## CONCLUSIONES

Es necesario un alto nivel de sospecha para poder conocer la verdadera etiología y no establecer diagnósticos imprecisos de "hepatitis viral" con serologías negativas. Hay que tener en cuenta que este tipo de alteraciones hepáticas leves en la mayoría de los casos pueden acabar en lesiones hepáticas severas e irreversibles si se produce reexposición al fármaco o se mantiene el tratamiento de forma prolongada.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto, PI12/02525 integrado en el Plan Nacional de I+D+I 2008-2012 y cofinanciado por el ISCIII-Subdirección Gral. de Evaluación y Fomento de la Investigación el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)".

#### HIPOTIROIDISMO SECUNDARIO A TRATAMIENTO CON INTERFERON ALFA PEGILADO (peg-IFN $\alpha$ ) PARA INFECCIÓN CRÓNICA POR HEPATITIS C EN NIÑOS

Beatriz Guzmán Morais, Borja Peñalba Vidal, Ángel Vicente Valls Arévalo, Julia Sánchez Zahonero, Elena Crehuá Gaudiza, Cecilia Martínez Costa

Hospital Clínico Universitario Valencia, Valencia.

## INTRODUCCIÓN

La hepatitis crónica C es una causa hepatopatía crónica, que puede desencadenar cirrosis hepática y hepatocarcinoma. El interferon  $\alpha$  pegilado (peg-IFN $\alpha$ ), junto con ribavirina (RBV), constituye el tratamiento de elección debido a su alta eficacia terapéutica. Sin embargo, su utilización no está exenta de efectos adversos, entre los que destaca la disfunción tiroidea. El

objetivo de esta comunicación es presentar un caso de hipotiroidismo en el curso del tratamiento con dichos fármacos.

## RESUMEN DEL CASO

Niña de 8 años afecta de hepatitis C (genotipo 1a) por transmisión vertical que inicia tratamiento con peg-IFN $\alpha$  y RBV tras resultado histológico de hepatitis crónica por VHC grado 2 y RNA VHC mantenido por encima de  $2 \times 10^6$  UI/mL (6,40 log). Tras mes y medio de tratamiento se consigue disminución de 2 log de carga viral, y tras 6 meses la casi negativización (RNA VHC  $< 12$  UI/mL). Durante los primeros meses de tratamiento aqueja síntomas gripales (astenia, anorexia, vómitos, febrícula) que se resuelven al tercer mes, permaneciendo posteriormente asintomática. Al sexto mes se detecta en control analítico programado TSH de 257  $\mu$ U/mL con T4 de 0,34 ng/dL, estando ambas previamente normal, y se inicia tratamiento con levotiroxina 50  $\mu$ g/día, con buena respuesta analítica.

## CONCLUSIONES / COMENTARIOS

Es importante, al indicar el tratamiento combinado de interferón y ribavirina a un paciente con hepatitis crónica C, la frecuencia y magnitud de los efectos secundarios, ya que pueden interferir con la adherencia al tratamiento y la respuesta a este, y ocasionar un impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes. Entre ellos destacan las alteraciones tiroideas, por lo que se recomienda el control de la función tiroidea antes, durante (cada 3-6 meses) y al menos una vez finalizado del tratamiento con IFN $\alpha$ , para detectar precozmente las alteraciones y de este modo poder indicar el tratamiento adecuado.

## ANEXO II. Evaluación de la causalidad de un fármaco en el daño hepático agudo. Escala de CIOMS.

	Tipo hepatocelular		Tipo colestásico o mixto		Evaluación
<b>Tiempo desde inicio</b>					
<i>Incompatible</i>	La reacción ocurre antes de la ingesta del fármaco, o más de 10 días después de finalizar (excepto para fármacos de metabolismo lento)		La reacción ocurre antes de la ingesta del fármaco, o más de 30 días después de finalizar (excepto para fármacos de metabolismo lento)		Sin relación
<i>Desconocido</i>	Cuando la información no está disponible para calcular el tiempo desde el inicio				Insuficiente documentación
	Tratamiento inicial	Tratamiento subsiguiente	Tratamiento inicial	Tratamiento subsiguiente	Puntuación
<i>Con inicio del tratamiento</i>					
- Sugestivo	5-90 días	1-15 días	5-90 días	1-90 días	+ 2
- Compatible	< 5 días o > 90 días	> 25 días	< 5 días o > 90 días	> 90 días	+ 1
<i>Con final del tratamiento</i>					
- Compatible	< 15 días	< 15 días	< 30 días	< 30 días	+ 1
<b>Evolución</b>	Diferencia entre el pico de ALT (SGOT) y el límite superior de valores normales		Diferencia entre el pico de FA (o TB) y el límite superior de valores normales		
<i>Después de cesar la ingesta</i>					
- Altamente sugestivo	Disminución > 50% en 8 días		No aplicable		+ 3
- Sugestivo	Disminución > 50% en 30 días		Disminución > 50% en 180 días		+ 2
- Compatible	No aplicable		Disminución < 50% en 180 días		+ 1
- Inconcluso	No información o disminución > 50% después del día 30		Persistencia o aumento o no información		0
- En contra tipología del fármaco	Disminución < 50% después del día 30 o incremento recurrente		No situación. No aplicable.		- 2
<i>Si lo continúa tomando</i>					
- Inconclusivo	En todas las situaciones		En todas las situaciones.		0
<b>Factores de riesgo</b>	Etanol		Etanol o embarazo		
<i>Presencia</i>					+ 1
<i>Ausencia</i>					0
<i>Edad &gt; 50 años</i>					+ 1
<i>Edad &lt; 50 años</i>					0

	Tipo hepatocelular	Tipo colestásico o mixto	Evaluación
<b>Tratamiento concomitante</b>			
- No o no información o tratamiento concomitante con incompatibilidad desde el inicio del tratamiento			0
- Tratamiento concomitante compatible o sugestivo desde el inicio del tratamiento			- 1
- Tratamiento concomitante conocido como hepatotóxico y con compatibilidad o sugestivo con el inicio del tratamiento			- 2
- Tratamiento concomitante con evidencia para este efecto (positivo "rechallenge" o test validado)			- 3
<b>Búsqueda de causas no relacionadas con fármacos</b>			
<i>Grupo I (6 causas):</i>			
Reciente infección viral con VHA (IgM anti-VHA) oVHB (IgM anti-VHB) o VHC (anti-VHC y test no A no B), obstrucción biliar (ultrasonografía), alcoholismo (AST/ALT > 2), historia reciente de hipotensión aguda (particularmente si hay enfermedad cardíaca)			- Todas las causas (grupos I y II) razonablemente descartadas
			- Las 6 causas del grupo I razonablemente descartadas
			- 4 o 5 causas del grupo I razonablemente descartadas
			- Menos de 4 causas del grupo I razonablemente descartadas
			+ 2
			+ 1
			0
			- 2
<i>Grupo II:</i>			
Complicaciones de enfermedad subyacente: clínica y/o biológico			
Contexto sugerente de infección por CMV, VEB o herpes virus			- Causas no farmacológicas altamente probable.
			- 3
<b>Información previa de hepatotoxicidad del fármaco</b>			
- Reacción identificada en la ficha técnica del producto			+ 2
- Reacción publicada pero no identificada en la ficha técnica			+ 1
- Reacción desconocida			0
<b>Respuesta a la administración</b>			
- Positiva	Duplica ALT con el fármaco a solas		Duplica FA (o TB) con el fármaco a solas
- Compatible	Duplica ALT con los fármacos juntos dados al mismo tiempo en la primera introducción		Duplica FA (o TB) con los fármacos juntos dados al mismo tiempo en la primera introducción
			+ 3
			+ 1
- Negativa	Incremento de ALT pero menor que en las mismas condiciones para la primera administración		Incremento de FA (o TB) pero menor que en las mismas condiciones para la primera administración
			- 2
- No dada o no interpretable	Otras situaciones		Otras situaciones
			0

## ANEXO III. Protocolo de recogida de datos de los casos sospechosos de DILI.

Tabla 1 Protocolo de estudio				
N.º de Historia clínica . _____				
Nombre, apellidos _____				
Edad (fecha nacimiento) _____				
Sexo: 1. Varón 2. Mujer _____				
Peso (kg) _____				
Talla (cm) _____				
Superficie corporal (SC peso talla/3.600) (m2) _____				
Procedencia: 1. Hospital 2. Atención primaria _____				
Localidad: 1, Almería; 2, Cádiz; 3, Córdoba; 4, Granada; 5, Huelva; 6, Jaén; 7, Málaga; 8, Sevilla; 9, Madrid; 10, Otro _____				
<b>Medicamento(s) sospechoso(s) de causar la reacción (principio activo)</b>				
<b>Especialidad farmacéutica (nombre comercial)</b>				
Dosis diaria total (mg) _____				
Intervalo (h) _____				
Vía administración: 1, Oral; 2, intravenoso; 3, intramuscular; 4, sublingual; 5, rectal; 6, aerosol; 7, tópica; 8, otros . _____				
Indicación que motivó su prescripción: _____				
Fechas del tratamiento: desde (día/mes/año) _____				
hasta (día/mes/año) _____				
Duración del tratamiento (días) _____				
Dentro de este período ¿cuándo apareció la reacción _____				
¿Desapareció la reacción al suspender la medicación? _____				
1, Sí; 2, no; 3, no procede _____				
¿Reapareció al reemprender el medicamento? _____				
1, Sí; 2, no; 3, no procede _____				
Tiempo de resolución de la reacción (días) _____				
<b>Descripción de la(s) reacción(es) adversa(s)</b>				
(incluyendo resultados relevantes de exploración o de laboratorio) y signos/síntomas extrahepáticos				
Astenia, anorexia: 1, sí; 2, no Exantema: 1, sí; 2, no Prurito: 1, sí; 2, no				
Ictericia: 1, sí; 2, no Eosinofilia: 1, sí; 2, no Fiebre: 1, sí; 2, no				
<b>Medicamentos concomitantes</b>				
Prescritos o por automedicaciones ingeridos por la madre en período de lactancia (excluyendo los usados para tratar la reacción adversa)				
<b>Preparado</b>	<b>Dosis diaria</b>	<b>Vía</b>	<b>Indicación</b>	<b>Duración</b>
_____	Desde _____	_____	_____	Hasta _____
_____	Desde _____	_____	_____	Hasta _____
_____	Desde _____	_____	_____	Hasta _____
_____	Desde _____	_____	_____	Hasta _____
_____	Desde _____	_____	_____	Hasta _____

Tabla 1 (Continuación)

<b>Datos importantes de la historia clínica</b>			
Alergias, metabolopatías congénitas, test de Apgar, peso al nacer, tipo alimentación, estado nutricional, antecedentes obstétricos, test de Coombs, medicamentos ingeridos por la madre en la gestación y la lactancia			
<b>Pruebas diagnósticas</b>			
ECG, TC, colangiografía, niveles plasmáticos de medicamento y/o sus metabolitos, etc.			
<b>Biopsia hepática</b>			
Descripción y fecha de su realización			
<b>Determinación de niveles plasmáticos</b>			
<b>Desenlace de la reacción</b> (señale lo que proceda)			
Resolución espontánea, requirió tratamiento, persistencia de la reacción adversa, necesidad de hospitalización, necesidad de prolongar hospitalización previa, incapacidad permanente o significativa, recuperación, la vida del paciente ha estado en peligro, fallecimiento			
<b>Antes del tratamiento (fecha)</b>	<b>Inicial (fecha)</b>	<b>Evolución (fecha)</b>	
<b>Evolución (fecha)</b>	<b>Al alta (fecha)</b>		
<b>Datos bioquímicos</b>			
Glucosa			
Urea			
Creatinina			
Proteínas totales			
Albumina			
Alfa-1 (g/l)			
Alfa-2			
Beta			
Gamma globulinas			
Bilirrubina total (n _____)			
Bilirrubina directa			
AST (rango _____)			
ALT (rango _____)			
GGT (rango _____)			
Fosfatasa alcalina (rango _____)			
Hierro			
Transferrina			
Cobre			
Ceruloplasmina			
Inmunoglobulina M			
Inmunoglobulina G			
Inmunoglobulina A			
<b>Hemograma</b>			
Hematies			
Hemoglobina			
Hematocrito			
VCM			
VSG			
Plaquetas			
Actividad de protrombina			
Leucocitos			
Polimorfonucleares			
Linfocitos			
Monocitos			
Eosinófilos			
Basófilos			
<b>Iniciales (fecha)</b>	<b>Evolución (fecha)</b>	<b>Alta (fecha)</b>	
<b>Marcadores</b>			
IgM anti-HV A			
HBsAg			
Anti-HBc			
Anti-HCV: ELISA			
Anti-HCV: RIBA			
Anti-HCV: PCR			
Anti-HEV			
CMV IgM			
VEB IgM			
Otros			
<b>Autoanticuerpos</b>			
ANA			
AML			
AMA			
Anti-LKM-1			
Factor reumatoide			
Alfa-1-antitripsina (n ...)			
Células LE			

Tabla 1 (Continuación)
<b>Exclusión de otras causas</b>
<i>Malformaciones congénitas</i>
Atresia de vías biliares
Quiste congénito de colédoco
Enfermedad de Caroli
Estenosis de colédoco terminal
<i>Tumores hepáticos y de vías biliares</i>
<i>Tóxicos</i>
Alcohol
Tóxicos industriales (colas, pegamentos, barnices, juguetes de vinilo, etc.)
Drogas ilegales
Toxinas (plantas, hongos)
<i>Enfermedades nooplásticas</i>
<i>Enfermedades sistémicas con afectación hepática</i>
Enfermedad inflamatoria intestinal
Artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico
Poliartritis nudosa
Insuficiencia cardíaca
Hipo o hipertiroidismo
Transfusiones múltiples
Traumatismos graves abdominales
Anoxia, hipoxia
<i>Vacunas</i>
<i>Anemias hemolíticas</i>
Congénitas
Adquiridas
<i>Hepatitis postquirúrgicas</i>
Anestesia por halotano
Infecciones bacterianas Hipoxia
Hipotensión
Otros fármacos
<i>Embarazo</i>
<i>Tatuajes</i>
<i>Hiperbilirrubinemia fisiológica</i>
Recién nacido
Lactancia materna
<i>Infecciones víricas</i>
Hepatitis A, B, C, D
Citomegalovirus
Toxoplasma
Epstein-Barr
SIDA
Sarampión
Herpes simple
Virus de la varicela-zoster
Rubéola
Coxsackie
Echovirus
<i>Infecciones protozoarias:</i>
Toxoplasma
<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Infecciones bacterianas</i>
Sepsis, salmonelosis, brucelosis
<i>Parasitosis intestinales</i>
<i>Alteraciones metabólicas</i>
Síndrome de Gilbert
Enfermedad de Wilson
Déficit de alfa-1-antitripsina
Fibrosis quística
Glicogenosis
Galactosemia
Tirosinemia

**ANEXO IV.** Recogida de muestras de sangre para el protocolo de estudio de hepatopatías asociadas a medicamentos en pediatría.

Se recogerán de los pacientes en los que se sospeche hepatopatía asociada al consumo de fármacos:

- 2 tubos de sangre total en EDTA (K2E, tapón lila) de 4.0ml ó 3.5ml.
- 1 tubo para la separación del suero (bioquímica, tapón amarillo) de 8.5ml.

Se guardan los tubos en la nevera (2-8 °C) y a los 15 min aproximadamente se centrifugan a: 4°C, 3000 rpm, 15 min. Los tubos después de la centrifugación se alicuotan en tubos eppendorf de 1.5 ml y se guarden a -80°C. Los tubos tienen que estar identificados con el nombre, apellidos del paciente y la fecha extracción así como el tipo de muestra (suero, plasma o células) (esto último si están alicuotadas).

Si resulta más conveniente se puede proceder a la separación de los elementos y congelación a -80°C.

Extracción de 10 ml de sangre en un tubo con EDTA (tapa lila). Tubo de bioquímica. Proceder rápidamente a centrifugar.

Centrifugar a 2000 rpm durante 15 minutos.

Aspirar con pipeta Pasteur el plasma sobrenadante sin tocar la capa de células blancas que cubre a las células rojas, y pasarlo a tubos eppendorf etiquetarlos y congelar a -80°. Del tubo de bioquímica extraer el suero, alicuotar y congelar a -80°C.

Tapar el tubo con la sangre, mezclarlo y verterlo haciendo alicuotas en tubos eppendorf (2-3).

Etiquetarlos y congelar a -20°C.

Mandar a Granada a través de servicio de mensajería urgente para que lleguen en 24-48 horas.

INSTRUCCION ESPECÍFICA PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y DATOS ASOCIADOS AL NODO DEL COMPLEJO HOSPITALARIO GRANADA DEL BIOBANCO PARA INVESTIGACION DEL SSPA desde los centros participantes en el estudio "Análisis de factores inmunogenéticos (HLA, polimorfismos IL-10 y genotipo KIR) en la hepatotoxicidad idiosincrásica en población pediátrica. Consolidación del Registro (Código de Registro en Biobanco 037120008)

**Identificación de donantes:** Se incluirán en el estudio todos los donantes pediátricos, neonatos y niños que, a juicio del médico responsable en los diferentes hospitales participantes, presenten una sospecha de hepatopatía asociada a la ingesta de medicamentos, productos de herboristería, drogas o tóxicos.

**Criterios de inclusión:** Niños con edad comprendida de 0 a 15 años

La señal de alerta que hará sospechar toxicidad hepática medicamentosa, puede ser una de las siguientes:

- a)  $> 2\text{LSN}$  (límite superior de la normalidad) de GPT;
- b)  $> 0,6 \text{ mg/dL}$  de bilirrubina conjugada;
- c)  $> 80 \text{ U/L}$  de GOT,  $> 2 \text{ mg/dL}$  de bilirrubina total y  $> 516 \text{ U/L}$  de isoenzima hepática de la fosfatasa alcalina (simultáneamente).

Basta la existencia de una de ellas para generar la sospecha.

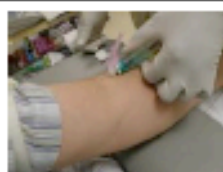
Todos los casos serán notificados mediante el protocolo estructurado (consultar página web: [www.proyecto-paidosham.es/](http://www.proyecto-paidosham.es/))



### TOMA DE MUESTRAS

Cuando esté establecido el diagnóstico de hepatotoxicidad se tomarán dos muestras de sangre de cada paciente.

- Extraer 2 tubos de hemograma (tapón morado)
- Extraer 2 tubos de bioquímica (tapón amarillo)



Los tubos deben enviarse identificados, bien con un código rotulado a mano o pegatina.



**\*\*En caso de que la extracción sea dificultosa se obtendrá como mínimo un tubo de cada.**

### ENVIO DE MUESTRAS

- Las muestras se enviarán dentro de contenedores de bioseguridad adecuados

- (si no se dispone de ellos contactar previamente con el biobanco Telf. 958 023 651 para que los proporcione)



Se enviará junto a las muestras el formulario : Datos de la donación, indicando el código con el que se han identificado los tubos y una copia del Consentimiento Informado.

Para la tramitar la **RECOGIDA** y envío de las muestras el Hospital Remitente se pondrá en contacto con el Biobanco **el día anterior** o el mismo día **antes de las 11:00:**

Benilde Ayala 958 023 651 /671 599 548  
[benilde.ayala.exts@juntadeandalucia.es](mailto:benilde.ayala.exts@juntadeandalucia.es)  
[biobanco.hsc.sspa@juntadeandalucia.es](mailto:biobanco.hsc.sspa@juntadeandalucia.es)



El Biobanco **enviará al mensajero que recogerá el paquete antes de las 14:00**



**ANEXO V: Consentimiento informado para la donación de muestras biológicas al Biobanco..**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS AL BIOBANCO**

Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía. Nodo del Hospital Universitario San Cecilio

DATOS DEL/DE LA DONANTE Y DE SU REPRESENTANTE (éste último sólo en caso de incapacidad del/de la donante):

Apellidos y nombre del/de la Donante:

.....

DNI / NIE: ..... N°Seg. Social: .....

Apellidos y nombre del/de la representante legal:

.....

DNI / NIE: .....

PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO:

Los siguientes profesionales declaran que se ha explicado la información relativa a la donación de muestras biológicas al Biobanco:

Apellidos y nombre Fecha Firma

.....

CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. .... declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendido el Formulario de Información, del que se me ha entregado un ejemplar.

He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas

de..... al Biobanco y sobre la posible realización de análisis genéticos sobre las mismas. He podido hacer preguntas sobre la información recibida y hablar con el profesional indicado, quien me ha resuelto todas las dudas que le he planteado.

Dichas muestras son:

-Excedentes del procedimiento médico-quirúrgico asistencia al que va a someterse o se ha sometido.

.....  
.....

Tomadas mediante el procedimiento expreso.....



Asimismo, consiento el tratamiento de los datos clínicos asociados a las muestras. Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratados de forma:

- \* Codificada (serán posible volver a ligarlas identificadas con un código que protege mi identidad, siendo conmigo) o
  - \* Anonimizada (no se podrán asociar las muestras conmigo, por haberse eliminado de forma irreversible la vinculación entre las mismas y mi identidad).
- Deseo establecer restricciones respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en

.....

Autorizo que se pueda contactar conmigo posteriormente:    SI    NO

En caso afirmativo, por favor, indique el medio de

hacerlo:.....

Autorizo recibir información sobre datos genéticos y datos relevantes para mi salud (Si solicita que las muestras sean anonimizadas, no podrá recibir esta información)

Marque lo que proceda:    SI    NO

Sé que puedo revocar, en cualquier momento, el consentimiento otorgado en este documento.

En \_\_\_\_\_, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

EL/LA REPRESENTANTE LEGAL  
(sólo en caso de incapacidad del/de la donante)  
Fdo.: Fdo.: