

Hepatotoksičnost dodataka prehrani i biljnih ekstrakata

Spajić, Matej

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:065594>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

MATEJ SPAJIĆ

ZAGREB, 2022.

Matej Spajić

**Hepatotoksičnost dodataka prehrani i biljnih
ekstrakata**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Patofiziologija s patologijom Farmaceutsko - biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i izrađen u suradnji s Kliničkim zavodom za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod stručnim vodstvom doc.dr.sc. Stele Bulimbašić.

Zahvala:

Mojim roditeljima, sestrama i ostaloj obitelji na potpori kroz sve godine studija.

Zbog vas sam postao ono što jesam.

Hvala mojim prijateljima na uspomenuama tijekom studija koje ću zauvijek pamtiti.

Veliko hvala mentorici dr.sc. Steli Bulimbašić na vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. ANATOMSKA I HISTOLOŠKA GRAĐA JETRE..... | 2 |
| 1.2. GRAĐA HEPATOCITA | 4 |
| 1.3. FIZIOLOGIJA JETRE | 5 |
| 1.4. METABOLIZAM KSENOBIOTIKA..... | 6 |
| 1.4.1. ULOGA CITOKROMA U SISTEMSKOJ RASPOLOŽIVOSTI KSENOBIOTIKA..... | 8 |
| 1.5. HEPATOTOKSIČNOST | 9 |
| 1.5.1. DIJAGNOSTIČKI PARAMETRI HEPATOTOKSIČNOSTI..... | 10 |
| 1.5.2. VRSTE HEPATOTOKSIČNOSTI | 13 |
| 1.5.3. KLINIČKA MANIFESTACIJA HEPATOTOKSIČNOSTI..... | 16 |
| 1.5.4. HEPATOTOKSIČNI LIJEKOVI | 18 |
| 1.5.5. HEPATOTOKSIČNI DODACI PREHRANI I BILJNI EKSTRAKATA..... | 19 |
| 1.5.5.1. VITAMIN A | 21 |
| 1.5.5.2. HERBALIFE®..... | 21 |
| 1.5.5.3. CAMELIA SINENSIS..... | 22 |
| 1.5.5.4. MONAKOLIN K | 22 |
| 1.5.5.5. CHELIDONIUM MAJUS..... | 23 |
| 1.6.5. PRIPRAVCI SA ZAŠTITNIM UČINKOM NA JETRU | 24 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 26 |
| 3. MATERIJALI I METODE..... | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 28 |
| 4.1. UZORAK ISPITANIKA | 28 |
| 4.2. OSOBNE NAVIKE I UPOZNATOST S TEMOM | 29 |
| 4.3. STAVOVI I ZNANJA O UPORABI DODATAKA PREHRANI | 30 |
| 4.4. HEPATOTOKSIČNOST POJEDINIH PRIPRAVAKA | 32 |
| 4.5. OSOBNI STAVOVI..... | 34 |
| 5. ZAKLJUČCI | 39 |
| 6. POPIS KRATICA, SIMBOLA I OZNAKA | 40 |
| 7. LITERATURA | 41 |
| 8. SAŽETAK | 44 |
| 8. SUMMARY..... | 45 |
| 9. PRILOZI | 46 |

1. UVOD

Uporaba dodataka prehrani i biljnih pripravaka se značajno povećala u zadnjem desetljeću. Unatoč uvriježenom mišljenju da je uporaba takvih pripravaka bezopasna, upravo oni mogu izazvati ozbiljne posljedice raznim organima, a poglavito jetri kao glavnom mjestu metabolizma ksenobiotika (Ballotin i sur., 2021).

1.1. ANATOMSKA I HISTOLOŠKA GRAĐA JETRE

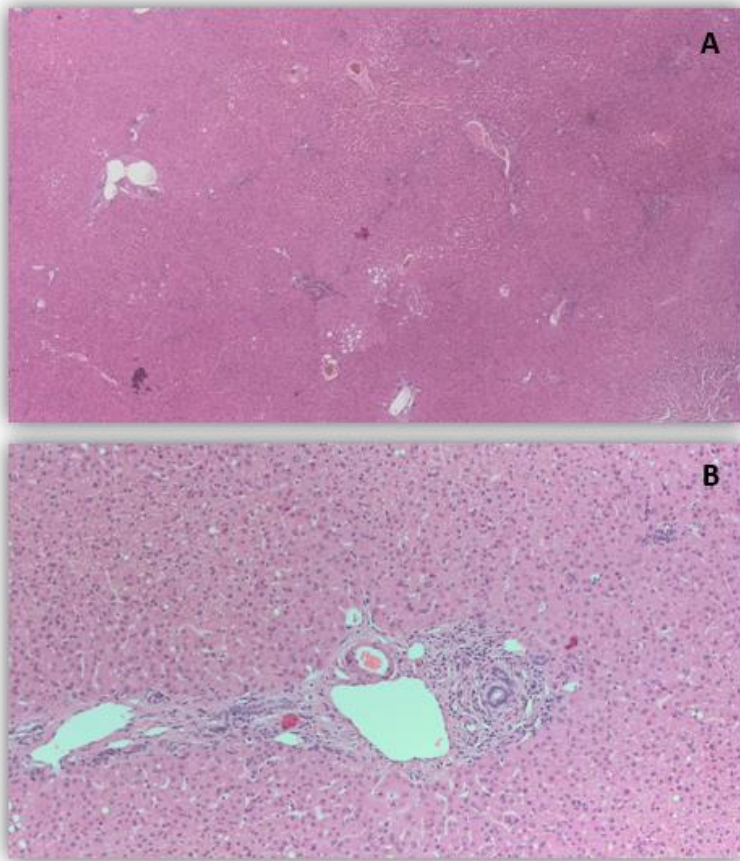
Jetra je najveća žlijezda u tijelu smještena neposredno ispod dijafragme, crvenkasto-smeđe boje i težine oko 1.4 kilograma (Saladin, 2010). Pruža se od 5. međurebrenog područja do donje granice rebara zauzimajući time većinu gornjeg desnog kvadranta trbušne šupljine (Shier i sur., 2000).

Sastoji se od 4 glavna režnja (lobusa), a s prednje strane se vide 2 najveća: veliki desni režanj (lobus dexter) i manji lijevi režanj (lobus sinister). Međusobno su odijeljeni falciformnim ligamentom, mezenteričkom opnom koja odvaja jetru od dijafragme i prednjeg trbušnog zida. S donje strane vidljivi su četverokuti režanj (lobus quadratus) smješten pokraj žuči i repati režanj (lobus caudatus) iza njega (Saladin, 2010).

Pojedini režanj je podijeljen u manje hepaticke režnjiće (lobuluse) koji predstavljaju glavnu funkcionalnu jedinicu jetre. Režnjić (lobulus) se sastoji od mnogo jetrenih stanica (hepatocita) smještenih oko centralne vene dok hepaticki sinusi odvajaju međusobne nakupine hepatocita (Shier i sur., 2000).

Kroz jetrena vrata na donjem rubu između lijevog i desnog režnja ulaze grane jetrene arterije i portalne vene pružajući jetri dvostruki cirkulacijski sustav. Njime dovode krv u sinusoidne koje time dobivaju mješavinu venske krvi bogate nutrijentima porijeklom iz crijeva (nutritivni krvotok) te oksigenirane arterijske krvi iz celijačne arterije (truncus celiacus) (funkcionalni krvotok). Uz stijenke sinusoida nalaze se Kupfferove stanice kao specijalizirane stanice monocitno-makrofagnog sustava koje sadržavaju lizosome za fagocitozu bakterija, ali također luče interleukine i prostaglandine kao važne čimbenike upalnog odgovora. Nakon filtriranja kroz sinusoidne, krv se sakuplja u centralnu venu te odlazi u desnu i lijevu jetrenu venu koje napuštaju jetru na gornjoj površini te se slijevaju u donju šuplju venu (Čvorišćec i Čepelak, 2009). S druge strane, žuč se slijeva u sve veće interlobarne žučne vodove koji postaju sve veći što su bliže jetrenom hilusu gdje stvaraju glavne jetrene žučne vodove (ductus hepaticus dexter et sinister) te kasnije zajednički jetreni žučni vod (ductus hepaticus communis). On je povezan sa žučnim mjehurom preko cističnog voda čineći žučovod (ductus choledochus). Na kraju se spaja s gušteračnim vodom i ulijevaju u dvanaesnik preko Oddijevog sfinktera (Damjanov i sur., 2018).

Histološki izgled jetrenog parenhima na malom i srednjem povećanju prikazan je na Slici 1.



Slika 1: Histološki izgled jetrenog parenhima prikazan na malom i srednjem povećanju (A: povećanje 40x, B: povećanje 200x). Na slici A vidljiv je parenhim karakteristične ružičaste boje, dok su na slici B vidljive strukture u portalnom prostoru i okolnim hepatocitima.

(Mikrofotografije arhiviranih preparata Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb; dobiveno ljubaznošću Bulimbašić S.)

1.2. GRAĐA HEPATOCITA

Jetrene stanice (hepatociti) su poligonalne stanice koje stvaraju gredice protežući se od središnje vene do portalnih prostora. Obiluju granuliranom citoplazmom te centraliziranom jezgrom (Damjanov i sur., 2018).

Od glavnih organela izdvajaju se mitohondriji koji zauzimaju do čak 18% ukupnog staničnog volumena. Sadrže enzime uključene u Krebsovom ciklusu i β -oksidaciji masnih kiselina kao procesima koji sudjeluju u stvaranju energije. U grubom endoplazmatskom retikulumu obavljaju se brojne sintetičke funkcije jetre uključujući stvaranje albumina, enzima i koagulacijskih faktora, dok glatki endoplazmatski retikulum sadržava enzime za procese konjugacije bilirubina i detoksikacije. To je mjesto metabolizma mnogih lijekova i njihovih važnih interakcija.

Hepatocit također sadržava i peroksisome s oksidazama koje proizvode vodikov peroksid pri oksidacijskoj modifikaciji supstrata, ali i katalazu koja nastali vodikov peroksid razlaže na vodu i kisik. Uz peroksisome, lizosomi su organele s hidrolitičkim enzimima uključenim u odlaganju željeza, bakra i žučnih pigmenata. Konačno, Golgijev aparat je uključen u sekreciji tvari poput žučnih kiselina i albumina (Čvorišćec i Čepelak, 2009).

1.3. FIZIOLOGIJA JETRE

Jetra, dakle, predstavlja veliki skup aktivnih stanica s visokim stupnjem metabolizma izmjenjujući supstrate i energiju od jednog metaboličkog sustava do drugog. Upravo zato je i protok krvi kroz jetru velik, a žilni otpor malen pa u jetrene sinuse proteče do 1 L krvi iz portalne vene i 300mL iz jetrene arterije što ukupno odgovara 27% srčanog minutnog volumena u mirovanju (Guyton i Hall, 2006).

Glavne jetrene stanice, hepatociti, obavljaju najveći dio metaboličkih i sintetičkih funkcija jetre koji čine 70% ukupne jetrene mase. U malom broju nalaze se i zvjezdaste (Itoove) stanice smještene u tzv. Disseovom prostoru između endotelnog ruba sinusoida i hepatocita, a primarno su zaslužne za stvaranje manjeg dijela dušikovog oksida za regulaciju intrahepatičkog protoka krvi, ali važne su i u pohrani vitamina A te ostalih liposolubilnih vitamina. Takva pohrana se događa pretežito u mirovanju, dok se nakon stimulacije morfološki i funkcionalno transformiraju te sudjeluju u sintezi kolagena prisutnog u fibrozi jetre. Sveukupno, jetra je važna u metabolizmu uključujući kataboličke i anaboličke procese poput metabolizma svih makronutrijenata, ali i procesa detoksikacije, konjugacije i esterifikacije. Nutrijenti apsorbirani u gastrointestinalnom traktu portalnim krvotokom prolaze kroz sinusoidne prije ulaza u sistemske cirkulacije čineći jetru glavnom preprekom u sistemskej apsorpciji nutrijenata (Čvorišćec i Čepelak, 2009).

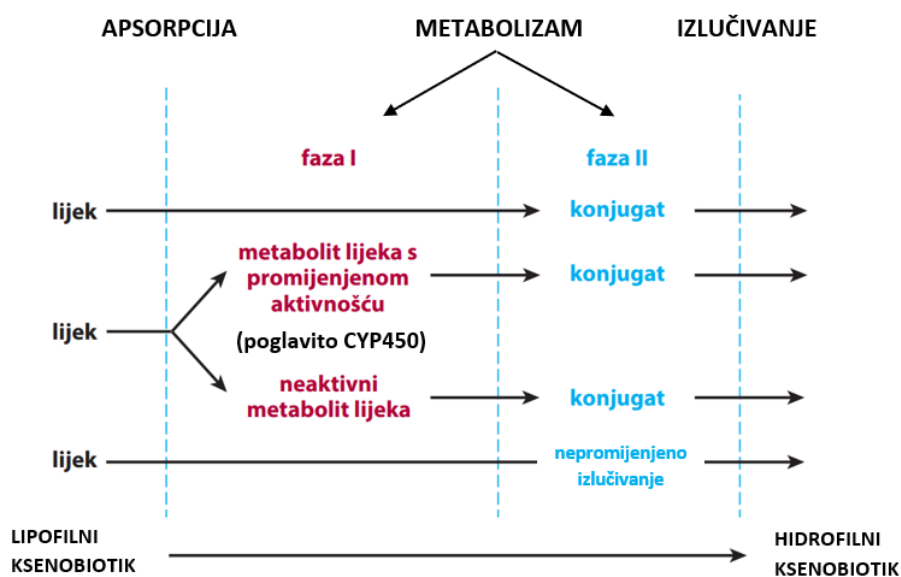
Jetra je posebno važna u održavanju normoglikemije jer se pohranjivanjem glikogena može odstraniti višak glukoze u krvi ili pak nadomjestiti manjak kad se koncentracija počne smanjivati (Guyton i Hall, 2006). Jetra je također glavno mjesto glukoneogeneze, procesa kojim se iz aminokiselina, lipida ili jednostavnih ugljikohidratnih tvari dobiva glukoza (Berne i Levy, 1993). U metabolizmu lipida, jetra sudjeluje u oksidaciji masnih kiselina i stvaranju energije za druge funkcije tijela te sintezi masti iz bjelančevina i ugljikohidrata. Da bi se dobila energija, masna kiselina se β -oksidacijom pretvara u acetyl-koenzim A koji zatim ulazi u ciklus limunske kiseline da bi se dobila energija ili se takva dva koenzima kondenziraju pri čemu nastaje vrlo topljiva acetoacetna kiselina (Guyton i Hall, 2006). Nadalje se pretvara u β -hidroksimaslačnu kiselinu i aceton koje zajedničkim imenom nazivamo ketonskim tijelima. Ketonska tijela se otpuštaju iz hepatocita u cirkulaciju kojom dolaze do drugih tkiva gdje se normalno metaboliziraju oksidacijom stvarajući energiju. Jetra ima središnju ulogu i u metabolizmu

bjelančevina čijom deaminacijom nastaje amonijak koji se dalje pretvara u ureju koja se izlučuje urinom (Berne i Levy, 1993).

Jetrene stanice stvaraju otprilike 90% svih plazmatskih bjelančevina i koagulacijskih faktora, a također su i mjesto za pohranjivanje vitamina. U najvećim količinama pohranjuje se vitamin A, ali i vitamin D i B12. Uz spomenute vitamine, pohranjuje i minerale poput željeza u obliku feritina (Guyton i Hall, 2006). Njihova pohrana u jetri omogućuje zaštitu organizma od manjka vitamina u prehrani do nekoliko mjeseci (Berne i Levy, 1993).

1.4. METABOLIZAM KSENOBIOTIKA

Biološki učinak ksenobiotika na organizam ovisan je o prirodi samog supstrata, ali i sudbini u organizmu koju čine svi procesi u kojima ksenobiotik sudjeluje nakon primjene poput apsorpcije, biotransformacije te distribucije i eliminacije. U fazi biotransformacije ksenobiotik nailazi na enzime u organizmu koji kataliziraju takve reakcije pretvorbe i time mijenjaju njegove biokemijske značajke. Ovim se reakcijama supstrat prevodi iz oblika koji se lakše apsorbira (lipofilniji oblik) u oblik koji će se lakše izlučiti iz organizma (hidrofilniji oblik). Upravo ove reakcije često određuju intenzitet i duljinu učinka, ali i kemijsku toksičnost ksenobiotika. Takav prikaz reakcija biotransformacije ovisno o lipofilnosti ksenobiotika prikazan je na Slici 2. Naravno, treba uzeti u obzir da neki ksenobiotici mogu inducirati sintezu ili inhibirati aktivnost enzima što u konačnici može imati klinički značajan učinak.



Slika 2: Prva i druga faza metabolizma ksenobiotika (prema Katzung, 2020)

Od svih enzima, gotovo tri četvrtine svih biotransformacija kataliziraju enzimi citokroma P450. To je superporodica brojnih i međusobno sličnih hemoproteina zaduženih za biosintezu steroida, ali i metabolizam endogenih i egzogenih supstrata. Klasificirani su prema sličnosti sekvence u porodice (više od 40% sličnosti) i potporodice (više od 59% sličnosti) (Rendić, 2016).

Prva zapažanja da lijek posjeduje strukturne značajke različite od strukture tvari koja se unosi u organizam datiraju od prije jednog stoljeća. Kasnih 1950-ih se pokazalo da ako se jetreni mikrosomi štakora tretiraju u određenim uvjetima, pojavljuje se intenzivna apsorpcijska vrpca na 450nm valne duljine (DiPiro, 2003). Time je naziv proizašao iz spektralnih karakteristika enzima podrazumijevajući hemsku skupinu koja u reduciranom obliku željeza ima visoki afinitet prema ugljikovom monoksidu. Nastali reducirani kompleks je vrlo stabilan te u diferencijalnom spektru pokazuje apsorpcijski maksimum na 450 nanometara, a minimum kod 420 nm (Rendić, 2016). Smatralo se da se radi samo o jednom proteinu, ali je uskoro postalo očito da je riječ o velikom broju različitih proteina (DiPiro, 2003).

Po svojoj građi, citokromi su tipične monooksigenaze koje mogu djelovati kao oksidaze i peroksidaze, ali kataliziraju i reakcije redukcije. Građeni su od oko 500 aminokiselinskih ostataka s jednim ekvivalentom hemske skupine po polipeptidnom lancu povezanih preko cisteinskog ostatka. Kod metaboličkih reakcija ksenobiotika prevladavaju reakcije oksidacije stoga je općenito više od 90% svih reakcija oksidacije katalizirano enzimima citokrom P450 koje u stanicama sisavaca pronalazimo pretežito u endoplazmatskom retikulumu i mitohondrijima, ali aktivnost je zabilježena i u membrani jezgre i Golgijevom aparatu. Kako su enzimi integralni dio strukture membrane endoplazmatskog retikuluma i mitohondrija, posljedično i katalitička svojstva enzima ovise o svojstvima ostalih dijelova membrane (Rendić, 2016).

Ukratko, citokrom enzimi za svoj katalitički ciklus trebaju reducens poput NADP-a (nikotinamid adenin dinukleotid fosfata) te molekularni kisik. U početku se lijek veže za oksidirani citokrom P450 u feri obliku (Fe^{3+}) te se zatim takav kompleks reducira pomoću flavoprotein NADP-citokrom P450 reduktaze. Takav reducirani kompleks se spaja s molekulom kisika te u nizu koraka nastaju oksidirani metabolit i voda uz regeneraciju oksidiranog citokroma P450 (Bulat i sur., 2001).

Većina ksenobiotika se metabolizira prije eliminiranja iz tijela, a u užem smislu ih dijelimo na reakcije 1. i 2. faze. Prva faza metabolizma uključuje procese poput oksidacije, redukcije i hidrolize kao reakcije funkcionalizacije zbog povećanja polarnosti ksenobiotika, a novonastale funkcionalne grupe često su podložne reakcijama 2. faze metabolizma koje uključuju konjugacije poput glukuronidacije ili sulfatacije (Page i sur., 2002). U širem smislu tu su još i faza apsorpcije (nulta faza) te faza transporta (faza 3) (Rendić, 2016).

1.4.1. ULOGA CITOKROMA U SISTEMSKOJ RASPOLOŽIVOSTI KSENOBIOTIKA

Citokrom enzimi su, uz jetru, prisutni i u gastrointestinalnom traktu, smješteni pretežito na samom rubu enterocita uz P-glikoprotein kao efluksni transportni protein. Najzastupljeniji citokrom u crijevima je CYP3A4 koji čini više od 70% ukupne aktivnosti u crijevima. Također, velike razlike između aktivnosti citokrom enzima u pojedinaca objašnjavaju nejednaku učinkovitost i/ili toksičnost. Takve razlike su većinom određene genetikom, vezano uz polimorfizam CYP2D6 i CYP2C9, ali i neki vanjski faktori poput induktora ili inhibitora enzima mogu utjecati na njihovu aktivnost. Takav primjer su policiklički aromatski hidrokarboni (PAH) iz dima cigarete koju su induktori pretežito CYP1A2. Svi ovi faktori mogu doprinjeti klinički značajnoj razlici u sistemske bioraspoloživosti ksenobiotika (DiPiro, 2003).

1.5. HEPATOTOKSIČNOST

Kako je jetra glavno mjesto metabolizma lijekova, ujedno je i meta toksičnosti izazvane lijekovima što se u stručnoj literaturi najčešće opisuje kraticom DILI (drug-induced liver injury tj. oštećenja jetre uzrokovana lijekovima u koja u širem smislu ubrajamo i oštećenja uzrokovana dodacima prehrani i biljnim tvarima). Unatoč rigoroznom pretkliničkom i kliničkom istraživanju, učestalost hepatotoksičnosti uzrokovane lijekovima i dodacima prehrani je ostala ista godinama.

Hepatotoksičnost se, ugrubo, može podijeliti na intrinzičnu i puno češću idiosinkratsku. Kod intrinzične hepatotoksičnosti reakcija je predvidljiva, ovisna o dozi i kreće ubrzo nakon što je postignut određeni prag toksičnosti. Sam mehanizam može biti direktna toksičnost poput oštećenja organela hepatocita ili indirektan prilikom pretvorbe ksenobiotika u aktivni toksični metabolit. S druge strane, idiosinkratska hepatotoksičnost uključuje nepredvidljive reakcije koje su ujedno i neovisne o dozi, te ovise o pojedinačnim genetskim i okolišnim faktorima pojedinca. Javlja se odgođeno, a takva reakcija ovisi i o metaboličkom kapacitetu pojedinca jer je najčešći mehanizam hepatotoksičnosti stvaranje reaktivnih metabolita ksenobiotika (Le Bail i sur., 2015). Upravo idiosinkratska hepatotoksičnost onda nastaje samo kod malog broja izloženih ljudi zbog navedenog drugačijeg puta metabolizma ili sklonosti pojedinca da pokrene hiperosjetljivu imunoreakciju na taj ksenobiotik (Damjanov i sur., 2018).

Dijagnosticiranje uzroka DILI-ja je vrlo zahtjevno jer su svi ksenobiotici potencijalno hepatotoksični zbog nepredvidljive idiosinkrazije, a predvidljive toksične reakcije koje su ovisne o dozi su vrlo rijetke. S kliničkog stajališta, bilo kakav oblik jetrenog oštećenja može preslikavati ostale bolesti jetre, a i samo jedan ksenobiotik može prouzročiti različite promjene u različitim pacijentima. Najčešće kliničke prezentacije hepatotoksičnosti su obično akutne i velikim dijelom reverzibilne, ali moguće su i kronične bolesti. Nastup i trajanje bolesti je individualno o pacijentu te ovisno o ksenobiotiku stoga se može javiti i dugo nakon samog uzimanja lijeka ili dodatka prehrani (Le Bail i sur., 2015).

1.5.1. DIJAGNOSTIČKI PARAMETRI HEPATOTOKSIČNOSTI

Jetra sadrži enzime koji se prema njihovom korištenju u dijagnostici razvrstavaju u 3 glavne skupine.

Prva skupina obuhvaća enzime koji se sintetiziraju u stanicama jetrenog parenhima i luče u krv gdje obavljaju svrsishodnu fiziološku funkciju poput kolinesteraze i koagulacijskih faktora koji svojim katalitičkim djelovanjem sudjeluju u procesu koagulacije krvi. U jetrenim bolestima ti se enzimi manje sintetiziraju pa je njihova koncentracija u krvnom serumu smanjena kao i koncentracija albumina pa su enzimi prve skupine dobri upozoritelji funkcionalne insuficijencije jetre.

Druga skupina, koja je ujedno i najvažnija u kontekstu dijagnoze oštećenja jetre uzrokovanih lijekovima i dodacima prehrani su tzv. indikatorski enzimi. Oni izlaze u krv prilikom oštećenja hepatocita te upućuju na ozbiljno oštećenje. To su enzimi poput aspartat- i alanin-aminotransferaze uz laktat dehidrogenazu i ostale. Sve su to indikatorski enzimi čija se aktivnost u serumu povećava ovisno o intenzitetu oštećenja jetrenih stanica, ali ovisno i o fazi bolesti i vrsti procesa koji se događa u jetrenoj bolesti.

Treća skupina obuhvaća gama-glutamilttransferazu i alkalnu fosfatazu koji se nalaze u stanicama epitela žučnih vodova pa se pri opstrukciji istih oštećuje epitel te enzimi u većim količinama prelaze u serum. Dobri su pokazatelji kolestaze pa se njihovo određivanje koristi u razlikovanju hepatocelularnog i kolestatskog oštećenja..

Kao što je navedeno, povećanje aktivnosti poglavito enzima druge skupine u serumu upućuje na oštećenje jetrenog tkiva, ali pri tome jetrena funkcija i dalje može biti očuvana (Čvorišćec i Čepelak, 2009). AST i ALT pripadaju grupi aminotransferaza koje kataliziraju reverzibilni prijenos aminoskupine između aminokiselina i ketokiselina stvarajući novu aminokiselinu.

Aspartat-aminotransferaza (AST) katalizira transaminaciju između L-asparaginske kiseline i alfa-ketoglutarne kiseline čime nastaje glutaminska kiselina uz oksaloctenu kiselinu. Najviše je ima u jetri, srčanom mišiću i skeletnim mišićima, a najviše je lokalizirana u mitohondrijima (60%) i citoplazmi (40%). Kada se ošteti tkivo bogato AST-om, enzim prelazi u cirkulaciju te

se njegova aktivnost u serumu povećava. Povišene vrijednosti nalazimo pri infarktu miokarda, mišićnoj distrofiji, ali ovdje najbitnije u dijagnozi i prognozi jetrenih bolesti.

Alanin-aminotransferaza (ALT) katalizira transaminaciju između alanina i 2-oksoglutarne kiseline dajući glutaminsku i piruvatnu kiselinu. Enzim najviše pronalazimo u jetri, ali poput AST, prisutan je i u srcu i mišićima, doduše u puno manjim količinama. Jetra je nešto bogatija AST-om nego ALT-om, ali se ipak ALT smatra specifičnim jetrenim enzimom jer ga u ostalim organima ima relativno malo u odnosu na količine AST-a u istim tkivima. Budući da je ALT citoplazmatski enzim, i pri manjim oštećenjima tkiva ga pronalazimo u serumu jer je dovoljno da se promjeni propusnost stanične membrane kako bi enzim prešao u izvanstanični prostor, a njegova povećana aktivnost najznačajnija je u raznim bolestima hepatobilijarnog trakta.

Zaključno, u takvim bolestima korisno je mjerenje aktivnosti oba enzima. Upravo zato, uveden je De Ritisov omjer kao odnos AST/ALT. U serumu zdravih osoba taj je omjer približno jednak 1, a pri većini bolesti veći od 1, dakle aktivnost AST-a je obično veća od aktivnosti ALT-a. Samo u nekim jetrenim bolestima poput virusnog hepatitisa zabilježava se inverzija De Ritisova omjera koji iznosi otprilike 0,65 . Kod akutnog toksičnog hepatitisa AST i ALT su jako povećani izvan referentnog intervala, ali je tu često aktivnosti AST-a veća od aktivnosti ALT-a tako da ne dolazi do inverzije De Ritisovog omjera. Usporedno tome, kod kroničnog hepatitisa aktivnost AST-a obično ostaje unutar referentnog intervala, a u cirozi je povećana i do 20 puta iznad gornje granice referentnog intervala (Štraus, 1992).

Uz aminotransferaze, bitni pokazatelji oštećenja jetre su i GGP (gama-glutamilttransferaza) i AP (alkalna fosfataza). GGP je najosjetljiviji pokazatelj oštećenja jetre. U kroničnom hepatitisu je vrijednost malo povećana za razliku od ostalih indikatorskih enzima koji su većinom unutar referentnog intervala. U jetrenoj cirozi aktivnost je vrlo visoka, osobito ako je uzrok povećana konzumacija alkohola. Uz ovaj enzim, određivanje aktivnosti alkalne fosfataze je vrlo korisno za diferencijalnu dijagnostiku bolesti hepatobilijarnog trakta. Kolestaza jetre uzrokuje povećanje aktivnosti ovog enzima u serumu i to 3 puta od gornje granice referentnog intervala pa je pretraga AP-a dobra u razlikovanju kolestatske od hepatocelularne žutice.

Uz navedene enzime, povišeni bilirubin kao razgradni produkt hema je karakterističan, ali ne i specifičan znak jetrene bolesti. Uz hemolitičku i funkcionalnu žuticu, u kontekstu oštećenja jetre ksenobioticima izdvajaju se kolestatska i hepatocelularna žutica. U kolestatskoj žutici bilirubin se normalno stvara u retikuloendotelnim stanicama te vezan na albumin u krvi dopijeva u jetru koja ga normalno konjugira s glukuronskom kiselinom, međutim zbog oštećenja žučnih kanalića ne može se izlučivati u crijevo putem žuči pa se povećava koncentracija konjugiranog bilirubina u krvi. S druge strane, u hepatocelularnoj žutici, funkcionalno insuficijentni hepatociti ne mogu metabolizirati sav nastali bilirubin pa se bilirubin vraća u jetrene sinusoidne i natrag u krvotok gdje se njegova koncentracija povećava, uključujući konjugirani i nekonjugirani bilirubin. Kod oba navedena tipa bilirubin se može naći u mokraći jer je konjugirani bilirubin topiv u vodi te se filtrira kroz glomerule u mokraću (Čvorišćec i Čepelak, 2009).

Kod hepatotoksičnosti uzrokovane lijekovima, dodacima prehrani i biljnim ekstraktima pretežito se koriste ALT I ALP što je objašnjeno u sljedećem poglavlju, ali bitno je razumjeti i ostale parametre jetrenog oštećenja kako bi se dobila ukupna slika pozadine takvog stanja.

1.5.2. VRSTE HEPATOTOKSIČNOSTI

Dili obuhvaća gotovo 10% svih slučajeva hepatitisa u odrasloj dobi, a vrlo je vjerojatno da je taj broj znatno veći jer DILI ostaje neprepoznat u općoj populaciji. Zato je bitno razviti algoritam za diferenciranje oštećenja jetre, a dvije najpoznatije su RUCAM metoda te Naranjo skala. Roussel Uclaf metoda određivanja uzroka hepatotoksičnosti (RUCAM) (bivši naziv: CIOMS = Council for International Organizations of Medical Sciences) predlaže 6 kategorija oštećenja na temelju kronologije i bioloških testova: hepatocelularno, kolestatsko i miješano ozljeđenje uz akutno i kronično ozljeđenje te kroničnu jetrenu bolest uz pripadajuće kriterije koji su zajedno prikazani u Tablici 1.

Kronološki kriteriji za dijagnozu obuhvaćaju početak simptoma od 1. tjedna do 3. mjeseca od početka uzimanja ksenobiotika, 50-postotno smanjenje povišenih jetrenih nalaza nakon tjedan dana ne uzimanja ksenobiotika uz relaps laboratorijskih nalaza nakon ponovnog uzimanja lijeka. S druge strane, klinički kriteriji eliminiraju ostale uzroke poput prijašnjih jetrenih bolesti virusnog ili bakterijskog porijekla, pretjeran unos alkohola ili titar specifičnih serumskih protutijela u uzorku poput anti-CYP1A2 ili anti-CYP2E1 protutijela. Kao treća kategorija ostaje biopsija jetre koja nije obvezna u rutinskim pretragama, ali predlaže mehanizam oštećenja jetre uzrokovan ksenobiotikom ili pak eliminira ostale uzroke jetrenog oštećenja. Ono što predstavlja najveći problem u dijagnozi hepatotoksičnosti različitih ksenobiotika su nespecifični klinički simptomi uz prisutne komorbiditete.

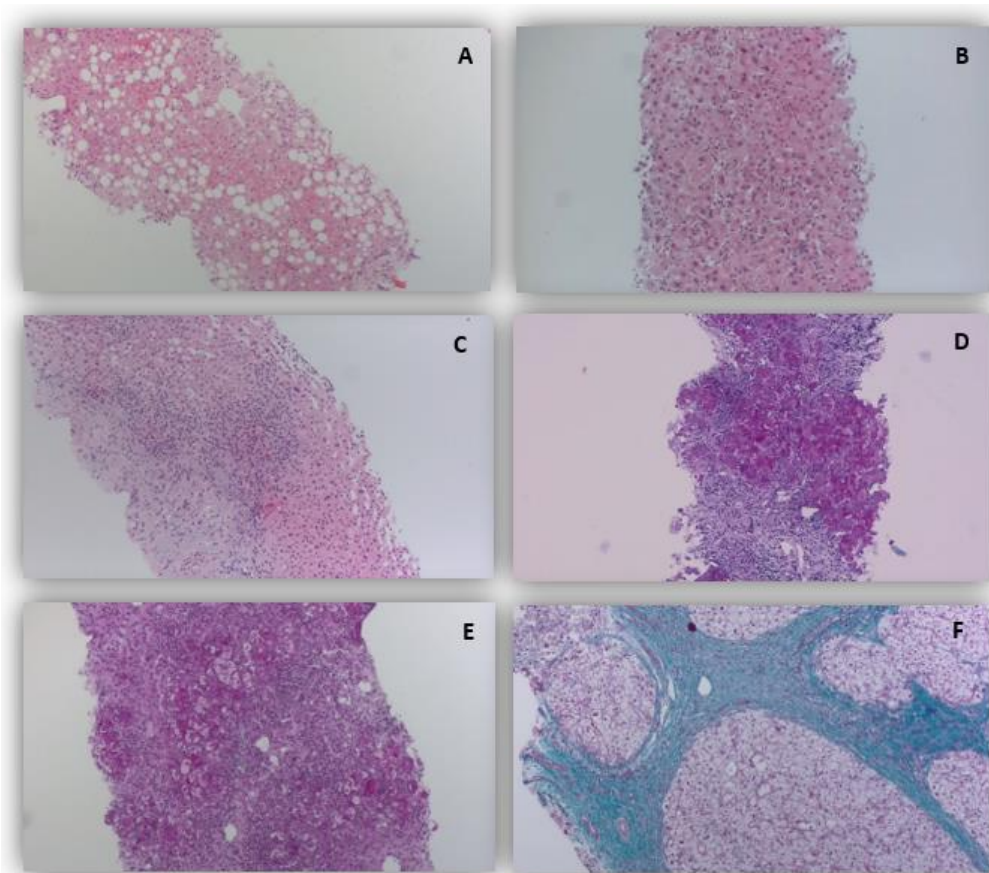
Često nema dovoljno podataka o samom slučaju zbog trenda samoliječenja ili zaboravljanja uzimanja ksenobiotika. Na kraju se procjena uzroka hepatotoksičnosti svodi na statističku analizu, ali podatci o metabolizmu i strukturi ksenobiotika te genetskim uvjetima pacijenta pridodaju vjerojatnosti o povezanosti DILI-ja i konkretnog ksenobiotika (Le Bail i sur., 2015).

Tablica 1. RUCAM terminologija DILI-ja (prema Le Bail i sur., 2015)

| NOMENKLATURA | KRITERIJ |
|----------------------------------|--|
| Hepatocelularno oštećenje | Izolirani $ALT \geq 2XUL$ ili $ALT/ALP \geq 5$ |
| Kolestatsko oštećenje | Izolirani $ALP \geq 2XUL$ ili $ALT/ALP \leq 2$ |
| Miješano oštećenje | ALT I ALP povećani i $2 \leq ALT/ALP \leq 5$ |
| Akutna ozljeda | Promjene prisutne < 3 mjeseca |
| Kronična ozljeda | Promjene prisutne > 3 mjeseca |
| Kronična jetrena bolest | Naziv se koristi samo nakon histološke potvrde |

U širem smislu, klasifikaciju oštećenja jetre lijekovima moguće je prikazati u 3 skupine. Prema kliničkoj prezentaciji, na već spomenuto hepatocelularno, kolestatsko ili miješano oštećenje. Prema samom mehanizmu hepatotoksičnosti, na predvidljivo i idiosinkratsko te u konačnici prema histološkom nalazu biopsije jetre, na hepatitis, kolestazu ili steatozu. Daljnja klasifikacija histološke analize uključuju dijagnozu fibroze, fosfolipidoze, granulomatoze itd. (<https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=GAST%2F74021>, pristupljeno 20.6.2022.).

Primjeri nekih histoloških manifestacija hepatotoksičnosti prikazani su na Slici 3. Slika A prikazuje masnu promjenu jetre što je vidljivo po nakupljanju jednog ili više mjehurića koji sadrže ulje, Slika B prikazuje akutni hepatitis te Slika C koja prikazuje kronično, predominantno bilijarno oštećenje. Ova 3 histološka prikaza koristila su hemalaun-eozin bojenje. Slika D prikazuje oštećenje sa slikom autoimunog hepatitisa te Slika E prikazuje uznapredovali kronični aktivni hepatitis. Histološki prikazi D i E koristili su PAS bojenje. Konačno, slika F u donjem desnom kutu prikazuje stadij ciroze jetre korištenjem Mallory trikom bojenja.



Slika 3: Primjeri histološke manifestacije hepatotoksičnosti (A:masna promjena jetre, B: akutni hepatitis, C:kronično, predominantno bilijarno oštećenje, D: oštećenje sa slikom autoimunog hepatitisa, E:uznapredovali kronični aktivni hepatitis, F:stadij ciroze, A-C hemalaun-eozin bojenje, D-E PAS bojenje, F Mallory trikrom bojenje, povećanje 100x)
(Mikrofotografije arhiviranih preparata Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb; dobiveno ljubaznošću Bulimbašić S.)

Naravno, svakom lijeku u njegovom prekliničkom životu izvodi se ispitivanje potencijalne hepatotoksičnosti na temelju njegove strukture i metabolizma. Time se pokušavaju ukloniti one molekule koje u organizmu mogu biti sklone metaboličkoj bioaktivaciji i stvaranju elektrofilnih metabolita sklonih kovalentnom vezivanju na stanične proteine. Uz to, smatra se da je uloga mitohondrija u DILI-ju izuzetno važna jer se ove organele može oštetiti direktnim citotoksičnim reakcijama ili pak toksičnim reakcijama posredovanih imunološkom reakcijom. Takav in vitro pristup se pokazao jako korisnim, ali pokazuje i svoje nedostatke jer ekstrapolacija podataka ne može obuhvatiti samu toksičnost i opseg bioaktivacije molekule. Nakon prekliničkih i kliničkih ispitivanja te puštanja lijeka u promet, postmarketinško praćenje lijeka postaje izuzetno važno u pronalasku hepatotoksičnosti u općoj populaciji zbog nedovoljnog broja ispitanika u kliničkoj fazi istraživanja (Le Bail i sur., 2015).

1.5.3. KLINIČKA MANIFESTACIJA HEPATOTOKSIČNOSTI

Akutna prezentacija simptoma DILI-ja uključuje asimptomatsko i blago povišenje jetrenih enzima, znatno povišenje uz kliničke manifestacije akutnog hepatitisa, kolestazu s pruritusom, oštećenje sa žuticom koja sliča virusnom hepatitisu te akutno zatajenje jetre. S druge strane, kronično oštećenje jetre sliča drugim uzrocima kronične jetrene bolesti poput autoimunog hepatitisa ili alkoholnog oštećenja jetre.

Većina pacijenata s oštećenjem jetre uzrokovanim lijekovima i dodacima prehrani je asimptomatska i time detektirana samo pomoću laboratorijskih pretraga. Ako stanje napreduje, može se javiti slika akutnog hepatitisa sa simptomima poput malaksalosti, blago povišene tjelesne temperature, mučnine i povraćanja. Takvi simptomi mogu napredovati u bol u gornjem desnom kvadrantu i žuticu. Dodatno, pacijenti s kolestazom mogu manifestirati pruritus koji se može pogoršati do krajnjeg stadija kada nastaju teška oguljena mjesta kože zbog grebanja. Uz sve navedeno, pri fizikalnom pregledu može biti prisutna i hepatomegalija pri palpaciji. Kod težih slučajeva, može se razviti koagulopatija i hepatička encefalopatija što indicira akutno zatajenje jetre. Sama hepatička encefalopatija je rangirana u 4 stupnja, gdje prvi obilježava blaže simptome poput promjene u ponašanju, blage konfuznosti i ometanog govora prema četvrtom stupnju koji vodi u komu i ne reagiranje na bolne podražaje. U zadnjim stupnjevima dolazi do cerebralnog edema, povećanja intrakranijalnog tlaka što za svoju posljedicu ima promjene u krvnom tlaku, respiratornu depresiju, epileptične napadaje i ostalo (Feldman i sur., 2021).

Kod nekih ljudi, uslijed genetičkih faktora, postoji rizik za razvijanje tzv. DRESS sindroma tj. reakcija preosjetljivosti na ksenobiotik koji uključuje eozinofiliju, hepatomegaliju, vrućicu, limfadenopatiju uz moguću Steven-Johnsonov sindrom toksične epidermalne nekrolize (Chitturi i Farrell, 2000).

Dakle, ozbiljnost oštećenja jetre uzrokovano lijekovima može varirati od blagog, prolaznog i asimptomatskog povišenja jetrenih enzima do akutnog zatajenja jetre koji može završiti smrću ili potrebom za transplantacijom jetre. Zbog takvog velikog raspona i brzog napredovanja jetrenog oštećenja, bitno je kategorizirati ozbiljnost situacije, međutim zbog prevelike varijabilnosti među pacijentima teško je koristiti pojedinačne simptome i laboratorijske pretrage pri donošenju odluke. Drug-Induced Liver Injury Network ili DILIN je razvio 5-stupanjsku ljestvicu za ocjenjivanje ozbiljnosti jetrenog oštećenja temeljeno na prisutnosti žutice, hospitalizaciji, znakovima hepatičkog oštećenja uz oštećenja drugih organa i ishodu situacije. Prvi stupanj označava blago povišenje aminotransferaza bez hospitalizacije gdje

ozbiljnost oštećenja jetre raste prema konačnom petom stupnju koji označava potrebu za transplantacijom jetre. Prikaz kriterija za pojedine stupnjeve prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. DILIN podjela oštećenja jetre prema kliničkoj manifestaciji

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548241/>, pristupljeno 10.6.2022.)

| STUPANJ | OBILJEŽJA |
|----------------------------|--|
| 1. Blago | Povišeni ALT, AST ili ALP ili oboje, ali ukupni serumski bilirubin < 2.5mg/dL bez koagulopatije (INR < 1.5) |
| 2. Srednje | Povišeni ALT, AST ili ALP ili oboje i ukupni serumski bilirubin > 2.5mg/dL ili koagulopatija (INR > 1.5) bez hiperbilirubinemije |
| 3. Srednje do teško | Povišeni ALT, AST ili ALP i ukupni serumski bilirubin > 2.5mg/dL i hospitalizacija (ili postojeća hospitalizacija koja je produžena) zbog DILI-ja |
| 4. Teško | Povišeni ALT, AST ili ALP i serumski bilirubin > 2.5 mg/dL i barem jedan od sljedećih: a) žutica i simptomi dulje od 3 mjeseca b) znakovi hepatičke dekompenzacije (INR > 1.5, ascites, encefalopatija) c) Zatajenje ostalih organa povezano s DILI-jem |
| 5. Fatalno | Smrt ili transplantacija jetre zbog DILI-ja |

1.5.4. HEPATOTOKSIČNI LIJEKOVI

Kao jedan od najpoznatijih predstavnika skupine lijekova koji imaju potencijal uzrokovanja oštećenja jetrenih stanica izdvaja se paracetamol. Paracetamol (poznatiji kao acetaminofen u zapadnim državama) jedan je od najkorištenijih lijekova s učinkom na bol. Svoju vršnu koncentraciju postiže unutar sat vremena od primjene, a u jetri se inaktivira procesom glukuronidacije ili sulfatacije. Toksične doze mogu uzrokovati potencijalno smrtnu hepatotoksičnost jer pri takvim dozama koje su do 3 puta veće od maksimalne dopuštene od 4g, dolazi do zasićenja enzima koji kataliziraju navedene faze konjugacije u metabolizmu ovog lijeka pa se lijek metabolizira pomoću oksidaza, pretežito CYP2E1 enzima. Posljedica takvog metabolizma je nastanak toksičnog metabolita N-acetil-parabenzokinonimina (NAPQI). Srećom, takav elektrofilni metabolit se konjugira s glutationom i tom reakcijom postaje inaktivan i kao takav se izlučuje iz organizma. Međutim, ako se u stanici dogodi deplecija glutationa uslijed različitih stanja organizma, dolazi do nakupljanja toksičnog metabolita koji u stanici ulazi u reakcije s nukleofilima i pridonosi nekrozi jetre, ali i bubrežnih tubula. Mehanizmi toksičnosti uključuju procese poput lipidne peroksidacije i trajnog porasta unutarstanične koncentracije kalcija čime se stimuliraju degradacijski enzimi ovisni o Ca^{2+} (Rang i sur., 2003). Ovakvu toksičnost potencira i alkohol zbog indukcije jetrenih enzima pa se metabolički put paracetamola povećava preko CYP2E1, a time i količina nastalog toksičnog metabolita. Akutno se simptomi predoziranja paracetamolom ispoljavaju kao mučnina, a hepatotoksični simptomi se javljaju dan-dva nakon ingestije te uključujuću žuticu, bol u području jetre te golemi porast transaminaza uz produljeno protrombinsko vrijeme (PV), dok je histološki vidljiva nekroza zone 3 (Bilić i sur., 1991). Kao antidot trovanju paracetamola u periodu do 12h nakon ingestije daje se N-acetilcistein (i.v.primjena u otopini glukoze u dozi od 150mg/kg) ili metionin kao donor glutationa, dok se u ranijoj fazi može dati i aktivni ugljen kao adsorbens. Uz paracetamol, lijekovi poput amoksicilina uz klavulansku kiselinu, tetraciklina, valproata, amiodarona te brojnih citostatika pokazuju hepatotoksični potencijal uz različita hepatocelularna, kolestatska ili miješana oštećenja, ali o njima neće biti riječ jer se ovaj rad fokusira na hepatotoksičnost dodataka prehrani i biljnih ekstrakata kao kategorije unutar DILI-ja (Rang i sur., 2003).

1.5.5. HEPATOTOKSIČNI DODACI PREHRANI I BILJNI EKSTRAKATA

Prema Pravilniku o dodacima prehrani (NN 46/2011), njima smatramo pripravke proizvedene iz koncentriranih izvora hranjivih tvari (vitamini i minerali) ili drugih tvari (ekstrakti biljnih vrsta, bilje vrste, aminokiseline...) s hranjivim ili fiziološkim učinkom koji imaju svrhu dodatno obogatiti uobičajenu prehranu s ciljem održavanja zdravlja. Za razliku od lijekova koji moraju imati dokaz o djelotvornosti, dodaci prehrani nisu namijenjeni liječenju bolesti, a u vlastitoj kontroli kvalitete nužno je samo ispitivanje sanitarne ispravnosti dok praćenje nuspojava nije obvezno. Iako postoje informacije o ljekovitim biljnim proizvodima, postoji i puno nepouzdanih informacija kao rezultat loše osmišljenih kliničkih ispitivanja te jakog placebo učinka koji čini i do 50% pripisanog učinka. Zbog takvog ekonomskog aspekta razvoja i proizvodnje suplemenata, tržište je preplavljeno brojnim dodacima zbog čega ljekarnici i LOM-ovi (liječnici obiteljske medicine) moraju biti u tijeku s novim trendovima i sastojcima kako bi se mogli prilagoditi zahtjevima pacijenata kojima se takvi proizvodi nameću. Razlika u regulativi isključuje potrebu za dokazivanjem djelotvornosti i sigurnosti dodataka prehrani te daje odgovornost regulatornim tijelima da dokažu da pojedini proizvod nije siguran za primjenu prije no što mu primjena bude ograničena. Dakle, dodacima prehrani na tržištu nije ispitan odnos doze i učinka, kao što ni toksičnost, mutagenost ili kancerogenost nisu odgovarajuće ispitani (Katzung, 2020).

U ovome poglavlju bit će analizirano nekoliko dodataka prehrani koji se nalaze u Republici Hrvatskoj ili pokazuju velik rizik hepatotoksičnosti na što se treba obratiti pozornost, a Tablica 3. prikazuje presjek zabilježenih hepatotoksičnih dodataka prehrani na svjetskoj razini s naglaskom na Istočne zemlje i fitoaromaterapiju tih područja.

Tablica 3: Prikaz hepatotoksičnih dodataka prehrani (prema Lewis, 2015)

| NAZIV BILJKE/DODATKA PREHRANI | HEPATOTOKSIČNA KOMPONENTA | UPORABA | TIP PRETPOSTAVLJENOG JETRENOG OŠTEĆENJA |
|--|---|---------------------------------|---|
| Callilepis laureola | Antracilati | Razno | Hepatička nekroza |
| Cascara sagrada | Antracenski glikozidi | Laksativ | Kolestatski hepatitis |
| Cassia angustifolia | Senozidni alkaloidi | Laksativ | Akutni hepatitis |
| Cassia siamea | Nepoznato | Anksiolitik | Reverzibilni hepatitis |
| Cimicifuga racemosa | Nepoznato (mitohondrijsko oštećenje?) | Ublažavanje simptoma menopauze | Akutni hepatitis |
| Chelidonium majus | Nepoznato | IBS | Kolestatski hepatitis |
| Ephedra spp. | Efedrin | Pomoć pri mršavljenju | Teški hepatitis |
| Larrea tridentata | Razno | Pomoć pri mršavljenju | Kolestatski hepatitis |
| Lycopodium serratum | Nepoznato | Analgetik | Akutni hepatitis |
| Piper methysticum | Kava laktoni | Anksiolitik | Akutni hepatitis |
| Polygonum multiflorum | Nepoznato | Tradicionalna kineska medicina | Akutni hepatitis |
| Serenoa repens | Nepoznato | BHP | Kronična kolestaza |
| Symphytum officinale | Pirolizidinski alkaloidi metabolizirani u hepatotoksične adukte | Biljni čaj | Ciroza |
| Teucrium capitatum | Diterpeni, epoksidi | Pomoć pri mršavljenju | Akutni i kronični hepatitis |
| Valeriana officinalis | Nepoznato | Sedativ | Povišenje ALT, AST |
| Viscum album | Nepoznato | Astma, neplodnost | Hepatitis |
| DODACI PREHRANI | | | |
| LipoKinetix® | Nepoznato | Pomoć pri mršavljenju | Akutni hepatitis |
| Oxy ELITE Pro® | Nepoznato (razno) | Povećanje mišićne izdržljivosti | Teški akutni hepatitis |
| Hydroxycut® (početna formulacija) | Ekstrakt zelenog čaja | Pomoć pri mršavljenju | Teški hepatitis |
| Herbalife® | Razno | Pomoć pri mršavljenju | Teški hepatitis |

1.5.5.1. VITAMIN A

Vitamin A je esencijalan za ispravno funkcioniranje većine organa u tijelu, posebice funkcije vida. Zapravo se pojam odnosi na grupu tvari esencijalnih za vid i staničnu proliferaciju i diferencijaciju. Topljiv je u mastima čime stvara zalihe u tijelu, a pri velikim količinama predstavlja rizik toksičnosti (Loyd, 1993). Vitamin A ima specifično iskazivanje količine na deklaracijama dodataka prehrani, gdje je 1 IU vitamina A ekvivalentna 0.3 mikrograma RAE (retinol activity equivalent), a 1 mikrogram RAE je ekvivalentan 1 mikrogramu retinola.

Hepatotoksičnost vitamina A je prijavljena pri dozama iznad 50000 IU dnevno, dok se pri dozama iznad 25000 također može pojaviti elevacija jetrenih enzima, ali rjeđe. Treba se naglasiti da je također bitna ukupna kumulativna doza vitamina A kao i prisutnost ostalih faktora u razvoju hepatotoksičnosti. Zbog opće dostupnosti visoko-doziranih suplemenata dostupnih bez recepta, zdravstveni radnici trebaju biti svjesni potencijalnog rizika hepatotoksičnosti vitamina A. Zanimljivo je da beta karoten ne uzrokuje ovakvu vrstu rapidne toksičnosti zbog sporog stupnja pretvorbe u vitamin A (Kowalsky i sur., 1994).

1.5.5.2. HERBALIFE®

Herbalife® je jedan od najvećih svjetskih proizvođača dodataka prehrani usmjerenih pretežno na smanjenje tjelesne težine. Sadrže biljne ekstrakte zajedno s vitaminima i mineralima, a zbog manjka standardizacije i kompleksnosti biljnih ekstrakata, točni sastojci nisu poznati uz dodatak pesticida i konzervansa. Dokumentirano je nekoliko slučajeva teških ozljeda jetre uzrokovanih Herbalife® proizvodima kontaminiranih s *Bacillus subtilis*. Zbog svega navedenog, teško je izdvojiti jednu supstancu koja je uzrok hepatotoksičnosti. Postoje dokazi o negativnim učincima visokih doza ekstrakata zelenog čaja i aloa vere koji su dva glavna sastojka nekoliko Herbalife® proizvoda. Slučaj dokumentiran u Švicarskoj pokazao je pretežito kolestatski hepatitis, dok onaj u Izraelu povezan s Herbalife® proizvodima je bio pretežito hepatocelularne prirodne. Iako su Herbalife® proizvodi rasprostranjeni širom svijeta, stopa hepatotoksičnosti je zapravo mala, upravo zbog nedovoljno podataka o sastavu proizvoda, kao i zbog činjenice da hepatotoksičnost dodataka prehrani može biti kratka i asimptomatska, a time i neotkrivena. Uzimajući u obzir rastuću potrošnju ovakvih pripravaka upitne učinkovitosti, potrebne su strože regulative aktivnih tvari te toksikološka istraživanja istih. Uz to, zdravstveni radnici moraju biti upoznati s rizikom pripravaka (Jurčić i sur., 2019).

1.5.5.3. CAMELIA SINENSIS

Zeleni čaj sastavljen od listova biljke *Camelia sinensis* je široko popularan i korišten zbog svojih potencijalnih učinka na zdravlje poput smanjenja rizika kardiovaskularnih bolesti i gubitka tjelesne težine. Međutim, sumnja se da može inducirati ozljedu jetre. Opisano je nekoliko desetaka slučajeva hepatotoksičnosti povezano s konzumacijom dodataka prehrani koji sadrže visoko dozirane ekstrakte zelenog čaja. Većina ih je bila hepatocelularna i to u osoba ženskog spola. Sam mehanizam toksičnosti ovakvog ekstrakta nije poznat u potpunosti, ali postoji dovoljno dokaza za povećan oprez prilikom korištenja pripravaka s mješavinom biljnih ekstrakata bez nadzora zdravstvenog radnika (Mazzanti, 2015).

1.5.5.4. MONAKOLIN K

Crvena riža se danas klasificira kao dodataka prehrani, nastala fermentacijom obične riže uz pomoć kvasca *Monascus purpureus*. Međutim, takav ekstrakt sadrži nekoliko monakolina, od kojih je monakolin K u obliku laktona kemijski ekvivalentan lovastatinu, inhibitoru HMG-CoA (hidroksimetilglutaril-koenzim A) čime je smanjena sinteza kolesterola u jetri. Međutim, ovakvi preparati su povezani s rijetkim slučajevima ozljeda jetre, slično kao i lovastatin, odnosno svim lijekovima koji pripadaju statinskoj grupi lijekova. Zabilježeni su izolirani slučajevi pacijenata s povećanim serumskim transaminazama povezanih s uporabom ekstrakta crvene riže. Doze se kreću do 10mg u dnevnoj dozi, a kako je monakolin K (odnosno lovastatin) metaboliziran u jetri pomoću CYP3A4 enzima, njegov mehanizam ozljede jetre je najvjerojatnije povezan s toksičnim metabolitom. Zbog navedenog citokroma, uporaba ovakvog dodatka prehrani uz lijekove predstavlja visok rizik od interakcija. Uz sam monakolin, neki sojevi kvasca *Monascus purpureus* proizvode i opasni spoj tj. miktotoksin citrinin kao sekundarni metabolit, koji može izazvati ozbiljno oštećenje bubrega i oštećenje jetre (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548168/>, pristupljeno 9.6.2022.).

Prema uredbi 2022/860 Europske komisije o izmjeni priloga u pogledu monakolina iz crvene fermentirane riže, predloženo je i prihvaćeno smanjenje dopuštene doze monakolina K u dodacima prehrani. Na temelju nekoliko potvrđenih uzročno-posljedičnih slučajeva štetnih učinaka crvene fermentirane riže na mišićno-koštani sustav i jetru, Europska komisija je objasnila da monakolini u riži se upotrebljavaju u proizvodima s više sastojaka čije komponente nisu u potpunosti procijenjene, ni pojedinačno ni u kombinaciji. Nastavno na prethodnu tvrdnju, postoji i nesigurnost vezana uz istovremenu konzumaciju ovakvih dodataka prehrani i lijekova

koji inhibiraju enzim CYP3A4 koji je uključen u metabolizam monakolina, dok mnogi pacijenti ne shvaćaju ozbiljno ovakve pripreme te su podložni istovremenom uzimanju monakolina i statina u kategoriji lijekova čime se povećava rizik od rabdmiolize i štetnih učinaka na jetru. Zaključno, doneseni su novi uvjeti uporabe koji ograničavaju maksimalnu dnevnu dozu monakolina u crvenoj fermentiranoj riži na 3 mg (s prethodnih 10 mg) uz dodatan zahtjev da na ambalaži mora biti upozorenje da se ne smije konzumirati dnevna doza iznad 3 mg monakolina te da se proizvod ne smije konzumirati ako se već uzimaju lijekovi za snižavanje kolesterola. Ovom direktivom štite se pacijenti od neželjenih učinaka ovakvih pripravaka u njihovoj samostalnoj primjeni i/ili politerapiji.

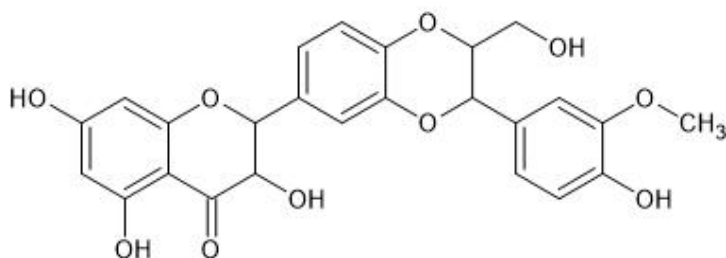
1.5.5.5. CHELIDONIUM MAJUS

Rosopas (*Chelidonium majus*) je biljka iz jugoistočne Europe i Azije koja se godinama koristi za ublažavanje poremećaja gastrointestinalnog trakta, uključujući dispepsiju i spazme. Ekstrakt sadrži više od 20 aktivnih spojeva uključujući različite izokinolinske alkaloidne kao glavne aktivne komponente. Iako značajniji dokazi u animalnim studijama nisu još definirani, ekstrakt rosopasa je povezan s hepatotoksičnim pojavama u nekoliko zabilježenih slučajeva, a nekoliko od njih je povezano upravo s rosopasom uz visoku vjerojatnost povezanosti hepatotoksičnosti. Histološki nalazi su pokazali nekrozu stanica, upalu i fibrozu. Zbog ovih razloga, omjer koristi i rizika je negativan iako su se opisani slučajevi hepatotoksičnosti općenito manifestirali kao blagi simptomi uz oporavak pacijenata nakon prestanka korištenja pripravaka (Pantano i sur., 2017).

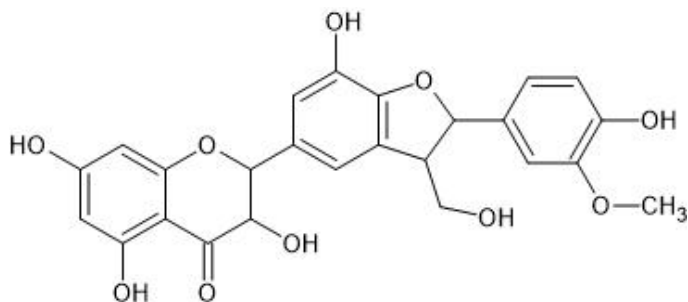
1.6.5. PRIPRAVCI SA ZAŠTITNIM UČINKOM NA JETRU

Nakon navedenih, potencijalno hepatotoksičnih, biljnih ekstrakata postavlja se pitanje što pacijent može poduzeti u trendu samoliječenja kako bi smanjio rizik od oštećenja jetre. Specifični antidoti poput N-acetilcisteina vrijede samo za paracetamol i njegov put metabolizma pomoću CYP2E1, a za ostale heterogene ekstrakte pokušava se pronaći univerzalan pripravak s hepatoprotektivnim učinkom. Takav učinak se pripisuje prvenstveno antioksidativnom učinku jer povećana proizvodnja slobodnih radikala rezultira oštećenjem makromolekula u organizmu. Upravo su antioksidansi heterogena skupina zaštitnog djelovanja neutralizirajući slobodne radikale, a najrasprostranjeniji fenolni spojevi s takvim djelovanjem su flavonoidi podijeljeni u vlastite podskupine poput flavanola, flavanona, flavona i ostalih ovisno o stupnju oksidacije središnjeg prstena u strukturi (Domitrović, 2011).

Najpoznatiji predstavnik hepatoprotektivnih fitokemikalija je ekstrakt ploda sikavice (lat. *Silybi mariani fructus*) iz porodice glavočika (*Asteraceae*). Aktivnu tvar čini silimarin koji je smjesa flavonolignana, derivata taksifolina, sastavljen od 4 izomera: silibinina, izosilibinina, silikristina i silidianina, koji su najpoznatiji po svojim antioksidativnim svojstvima, a od kojih je silibin najpotentniji i najčešći izomer (Post-White i sur., 2007). Strukturne formule silibina i silikristina kao najpotentnijih flavonolignana prikazane su na Slici 4. odnosno Slici 5.



Slika 4: Strukturna formula silibina



Slika 5: Strukturna formula silikristina

In vitro istraživanja pokazuju smanjenje lipidne peroksidacije i povišenje razine glutationa i superoksid-dismutaze, čime se može stabilizirati membrana i smanjiti ulazak toksina inhibicijom transportnih proteina, uz činjenicu da silimarin pruža protuupalno djelovanje jer inhibira migraciju leukocita (što je pokazano i in vivo) te ta činjenica može biti bitna u akutnoj upali, uz inhibiciju NF- κ B (nuclear factor – kappa B) posredovanu TNF- α (tumor necrosis factor alpha). Također, silibin je jaki, nekompetitivni inhibitor lipoksigenaze čime se smanjuje stvaranje leukotriena. U životinjskim modelima, sikavica ograničava oštećenje jetre povezano s nekoliko toksina, uključujući ugljikov tetraklorid, paracetamol, etanol i sl. te smanjuje cirozu jetre smanjujući nakupljanje kolagena. Sva ova istraživanja na životinjskim modelima potencijalni su dokazi o korištenju ekstrakta sikavice u liječenju hepatičke fibroze, a postoje i dokazi o stimulaciji protoka žuči, što može biti korisno u liječenju kolestatskih oštećenja (Katzung, 2020).

Primjena 140mg silimarina tri puta dnevno tijekom mjesec dana rezultirala je poboljšanjem kliničkih simptoma akutnog hepatitisa, dok je primjena samog silibina kao glavnog flavonolignanskog spoja u silimarinu u većem broju studija poboljšao kliničke simptome akutnog i kroničnog hepatitisa te oštećenja jetre uzrokovanih lijekovima. Od ostalih učinaka pokazao je antifibrotični učinak smanjujući stvaranje glavnog fibrogenog citokina TGF-beta-1 (Post-White i sur., 2007).

Od ostalih potencijalnih kandidata u skupini hepatoprotektivnih fitokemikalija, u in vitro te in vivo uvjetima, pokazao se učinkovitim i etanolni ekstrakt kurkume (lat. *Curcuma longa*). Pokazao je zaštitu u štakora kojima je hepatotoksičnost uzrokovana tetraklorugljikom uz povećanje aktivnosti enzima faze 2 koji sudjeluju u procesima detoksikacije. Spriječio je hiperkolesterolemiju i stvaranje masne jetre, dok je njegov sintetski monoacetilirani derivat pokazao snažnu inhibiciju nuklearnog faktora kapa B (Domitrović, 2011).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Ovim radom želi se napraviti analiza klinički značajnih hepatotoksičnih dodataka prehrani i biljnih ekstrakata te procijeniti znanje studenata viših godina Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu o hepatotoksičnosti kao nuspojavi takvih ksenobiotika. S obzirom na to da potražnja i potrošnja dodataka prehrani značajno raste u posljednjem desetljeću, neophodno je biti oprezan prilikom odabira sastava i formulacije suplementa.

Cilj rada je dodatno upoznati buduće ljekarnike kako bi se povećala sigurnost prilikom savjetovanja o primjeni ovakvih pripravaka u kategoriji dodataka prehrani.

3. MATERIJALI I METODE

U rad su uključeni studenti Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, smjera farmacija. Studenti su viših godina studija, odnosno treće, četvrte i pete godine zbog pohađanja stručnih kolegija i relevantnosti s temom hepatotoksičnosti dodataka prehrani i biljnih ekstrakata.

Anketa je provedena u online obliku na platformi *Google Obrasci* u razdoblju od 2. - 8. svibnja 2022. godine. Anketa je bila anonimnog tipa, bez mogućnosti vraćanja na prijašnje pitanje, s jednim ili više točnih odgovora. Bilo je moguće samo jednom pristupiti anketi preko poveznice. Ukupno se sastojala od 15 stručnih pitanja kojima se procjenjuju stavovi i znanja vezani uz tematiku diplomskog rada uz procijenjeno vrijeme rješavanja od 3 minute.

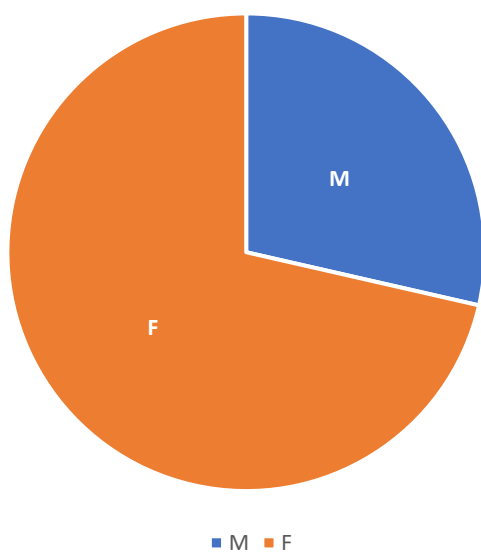
Poveznica za anketu je dijeljena studentima preko privatnih grupa pojedinačnih godina studenata na društvenim mrežama. Ciljna anketna grupa bila je sveukupno 100 studenata s jednako zastupljenim udjelima studenata s pojedinih godina.

Analiza podataka je obavljena pomoću Microsoft Excel programa gdje su pojedinačni odgovori svrstavani u kategorije po pripadajućim pitanjima. Dobiven je statistički udio odgovora u pojedinim pitanjima koji su u radu prikazani grafikonima zbog lakše vizualizacije i obrade podataka.

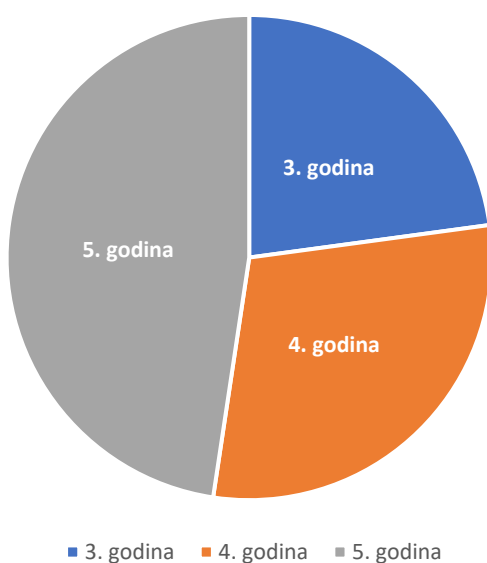
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. UZORAK ISPITANIKA

Malo manje od $\frac{3}{4}$ ispitanika su zauzele studentice što je prikazano na Slici 6, dok od ukupnog broja ispitanika, 47,6% su studenti/ce pete godine studija, 29.5% četvrte godine te 22.9% 3. godine studija što je prikazano na Slici 7.



Slika 6: Podjela ispitanika prema spolu

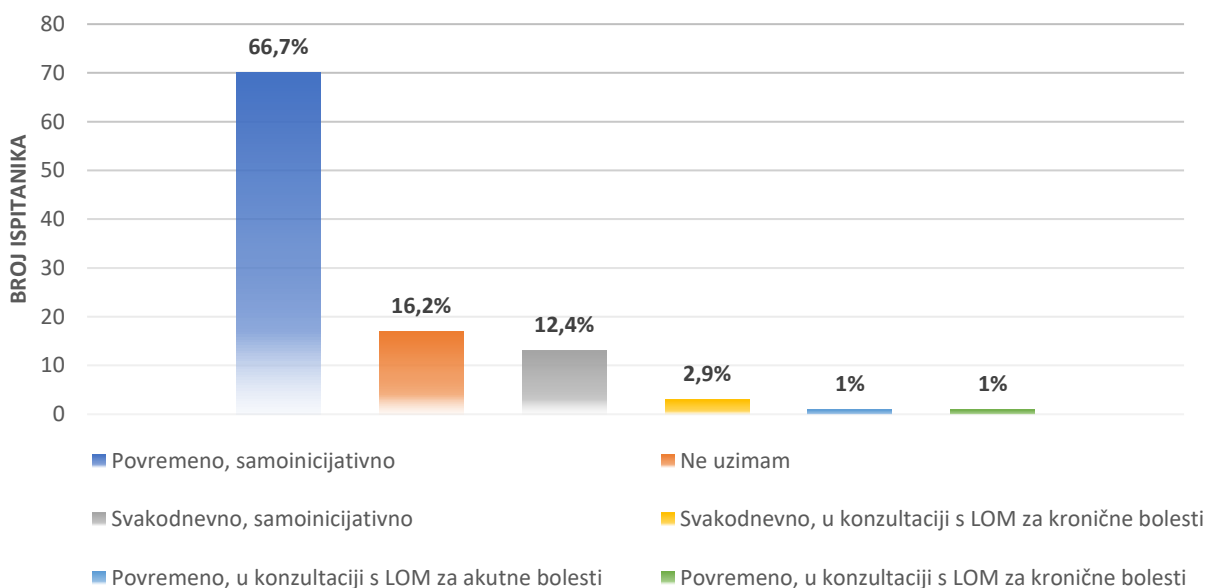


Slika 7: Podjela ispitanika prema godini studija

4.2. OSOBNE NAVIKE I UPOZNATOST S TEMOM

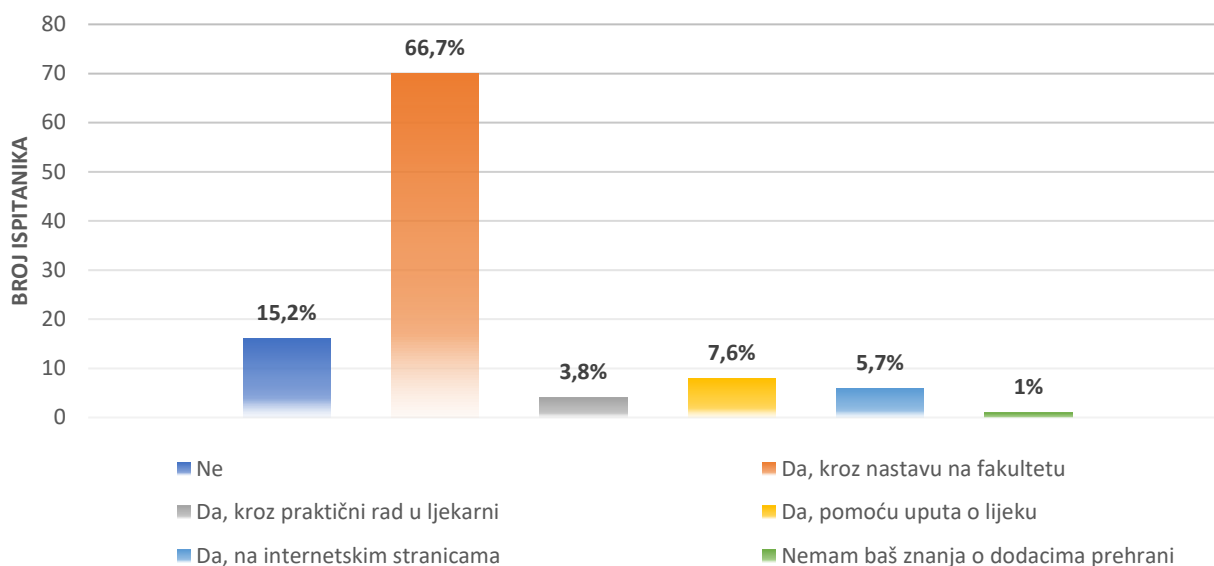
U prvoj sekciji ankete, ispitanici su odgovarali na pitanja vezana uz osobne navike te općenitu upoznatost s temom. Želio se ispitati način i frekvencija uporabe i lijekova i dodataka prehrani te pristupačnost podacima o hepatotoksičnosti.

Na pitanje kako najčešće uzimaju dodatke prehrani uključujući biljne ekstrakte, većinski dio ispitanika je zaokružio da samo povremeno i to samoinicijativno radi, dok manji dio to radi svakodnevno. Grafički prikaz ovog anketnog pitanja i odgovora prikazan je na Slici 8.



Slika 8: Kako ispitanici najčešće uzimaju dodatke prehrani i/ili biljne ekstrakte

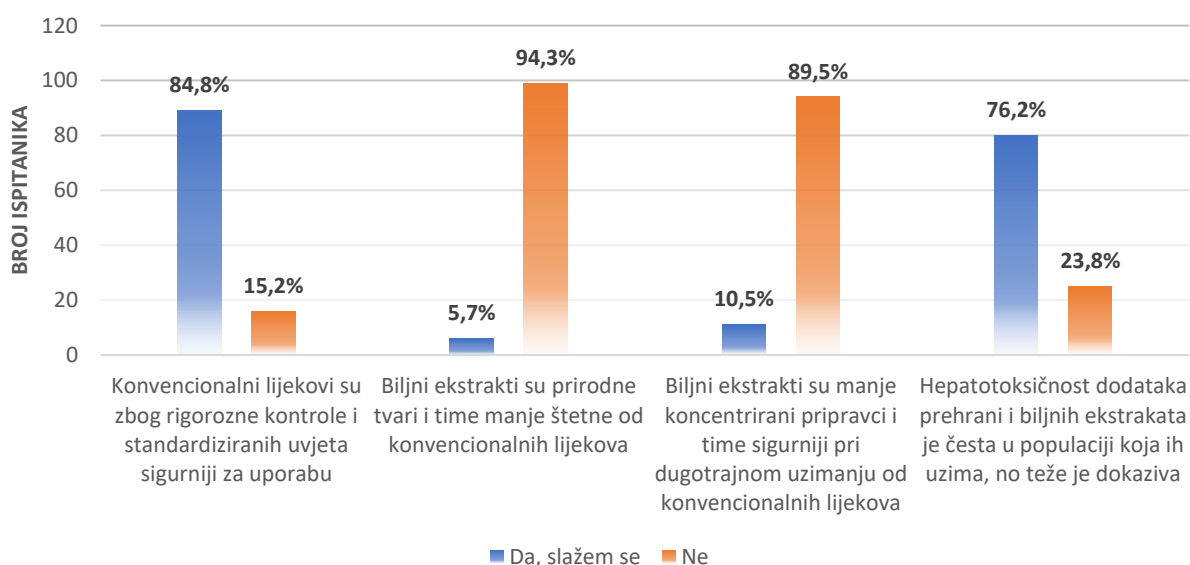
Na pitanje o upoznatosti i putu dobivanja informacija o mogućim hepatotoksičnim učincima dodataka prehrani, najviše studenata je odgovorilo da je upoznato s učincima primarno nastavom na fakultetu, dok je manji broj odgovorio da nema znanja o dodacima prehrani. Ostatak studenata informacije o ovoj problematici nalazi na internetskim stranicama ili kroz praktičan rad u ljekarni na fakultetu. Ukupna statistika o upoznatosti o mogućim hepatotoksičnim učincima dodataka prehrani prikazana je na Slici 9.



Slika 9: Jesu li ispitanici upoznati s mogućim toksičnim djelovanjem dodataka prehrani i biljnih ekstrakata na jetru te na koji način

4.3. STAVOVI I ZNANJA O UPORABI DODATAKA PREHRANI

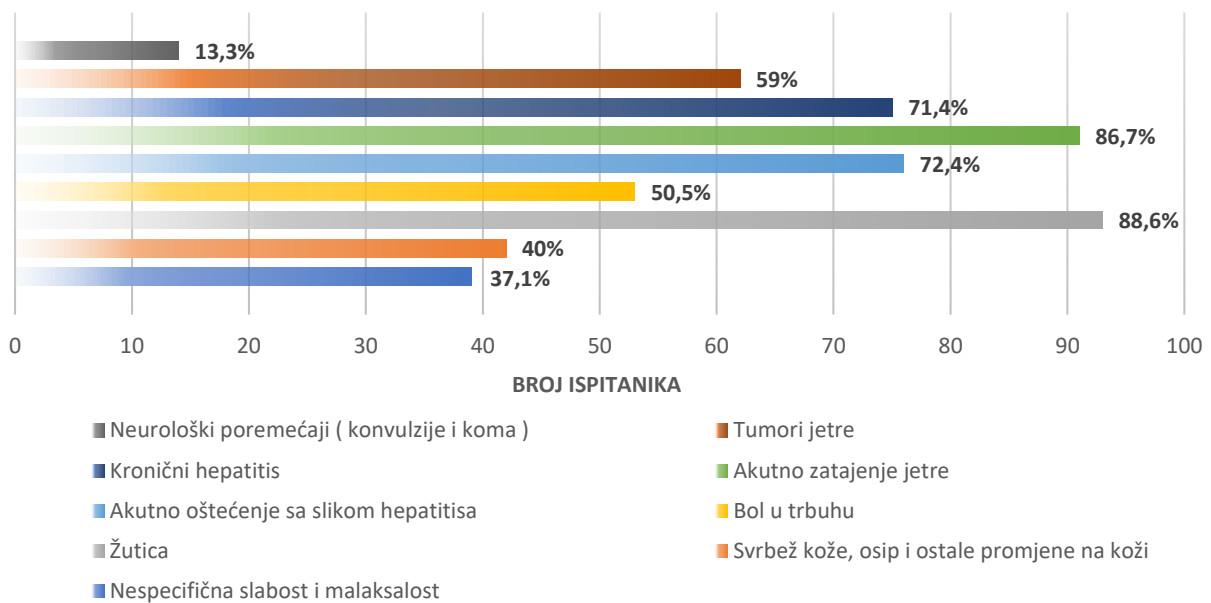
S obzirom na puno strožu direktivu o puštanju lijekova u promet, ispitan je stav studenata o sigurnosti primjene preparata u kategoriji dodataka prehrani što je detaljno prikazano na Slici 10. Ispitani su stavovi o povezanosti rigorozne kontrole i sigurnosti lijekova, koncentriranosti biljnih ekstrakata i štetnosti takve primjene te učestalosti hepatotoksičnosti u općoj populaciji.



Slika 10: Mišljenja studenata o sigurnosti primjene dodataka prehrani

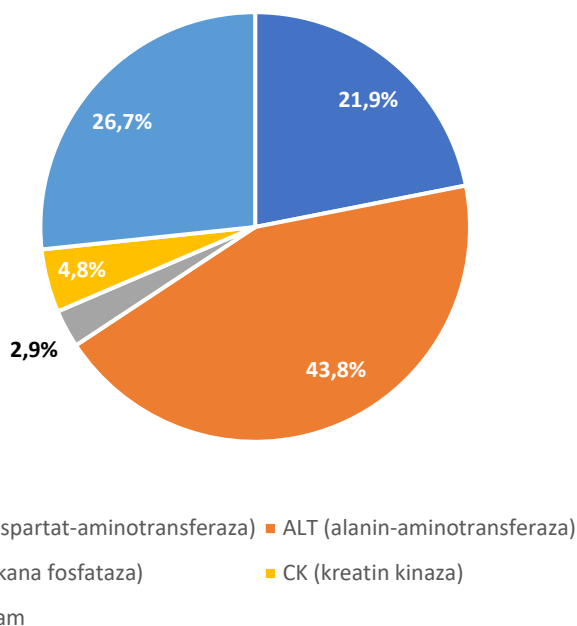
Uz vlastite stavove o dodacima prehrani, ispitano je i znanje o patofiziologiji hepatotoksičnosti te njenoj kliničkoj manifestaciji.

Na pitanje o simptomima hepatotoksičnosti, najveći broj studenata prepoznao je žuticu i akutno zatajenje jetre, dok je najmanji broj studenata povezoa neurološke poremećaje kao simptom hepatotoksičnosti. Važno je napomenuti da je ovdje ispitanicima dana opcija odabira više od jednog simptoma hepatotoksičnosti zbog širokog spektra manifestacija oštećenja jetre na organizam. Sumirani odgovori prikazani su na Slici 11.



Slika 11: S kojim simptomima hepatotoksičnosti su ispitanici već bili upoznati

Uz nabrojane moguće kliničke simptome oštećenja jetre, ispitanicima je postavljeno pitanje o laboratorijskim markerima vezanim uz tu problematiku. Na pitanje o najosjetljivijem enzimu u dijagnozi hepatocelularnih oštećenja, približno 44% ispitanika odgovorilo je ispravno, odnosno da je to alanin-aminotransferaza, dok je sljedeća većina smatrala da je to aspartat-aminotransferaza. Svi ponuđeni odgovori i udjeli studenata koji su te odgovore odabrali prikazan je na Slici 12.



Slika 12: Najosjetljiviji parametar u dijagnozi hepatocelularnih oštećenja

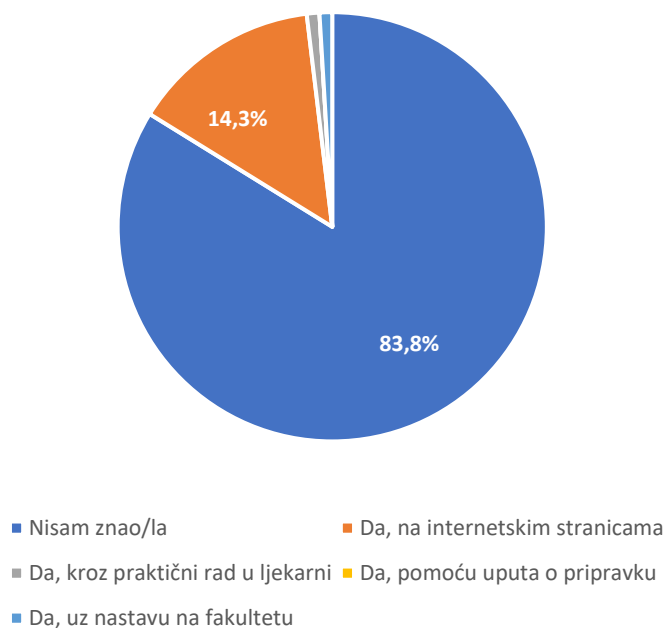
Za kraj 2. sekcije pitanja, ispitanicima je dana mogućnost navođenja bilo kojeg pripravka u domeni dodataka prehrani (uključujući i biljne ekstrakte) s mogućim hepatotoksičnim učinkom. Najviše se izdvajaju odgovori s već obrađenim vitaminom A, crvenom rižom, valerijanom i zelenim čajem.

Uz takve najčešće pripravke, ispitanici su navodili kadulju, cimicifugu, gavez, medvjtku te prevelike doze željeza. Desetina ispitanika nije znala navesti hepatotoksični dodatak prehrani.

4.4. HEPATOTOKSIČNOST POJEDINIH PRIPRAVAKA

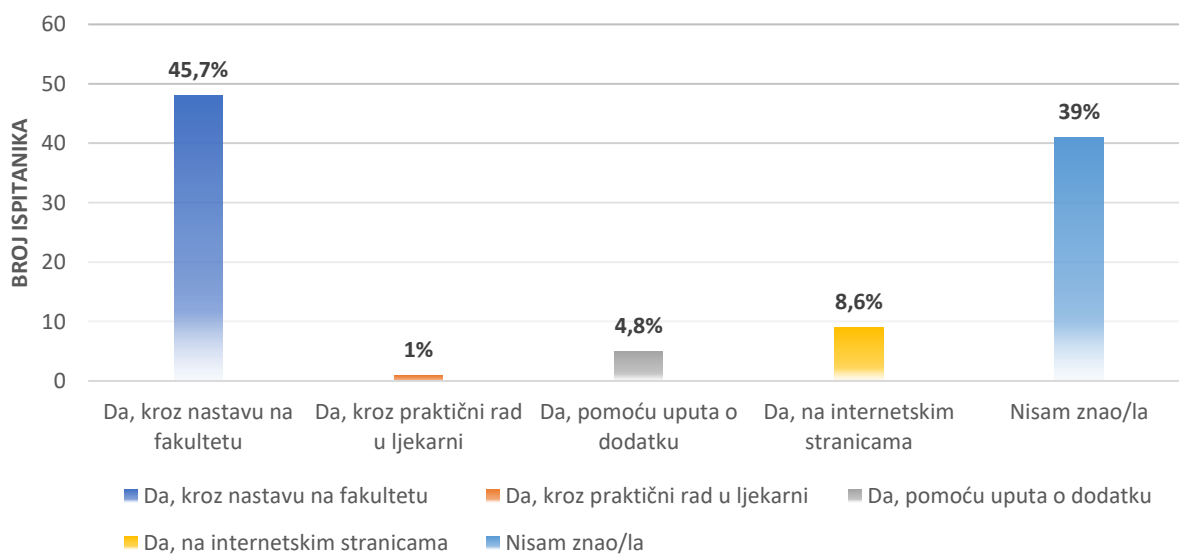
Ispitanicima su navedena 3 hepatotoksična pripravka registrirana kao dodatak prehrani, a prisutni su u Republici Hrvatskoj. Bitno je napomenuti da su pripravci odabrani od najpoznatijeg do onog manje poznatog, dok se svi, najčešće, koriste kroz dulji period kako bi potencijal hepatotoksičnosti imao veći klinički značaj.

Za pripravke Herbalife®, kojima je zabilježeno nekoliko desetaka slučajeva potvrđene kauzalne hepatotoksičnosti, najveći broj ispitanika je odgovorio da uopće nije znao o toj pojavi, dok je manji broj studenata bio upoznat s time pomoću izvora na internetu što je prikazano na Slici 13.



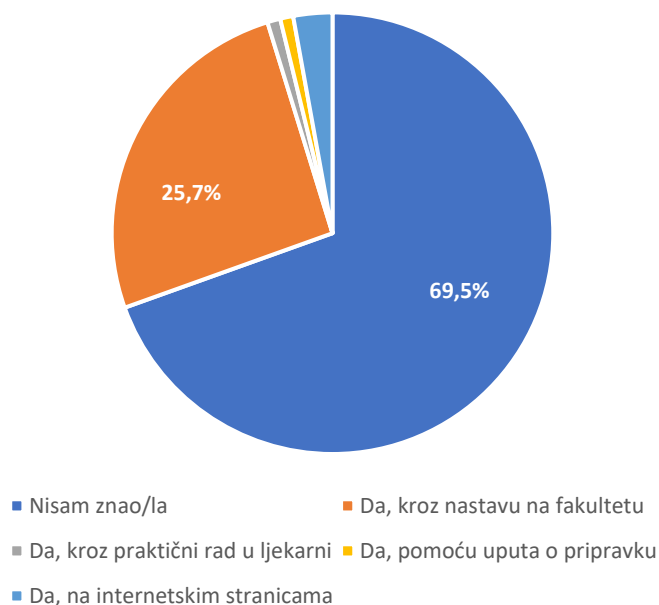
Slika 13: Informiranost o hepatotoksičnosti Herbalife® pripravaka

Kao 2. pripravak odabran je vitamin A. Zbog svoje liposolubilnosti i time nakupljanja u masnom tkivu, u visokim dozama i kroničnoj uporabi predstavlja visok potencijal hepatotoksičnosti. Studenti su ispitani o znanju o takvoj pojavi vezano uz vitamin A te je gotovo polovica ispitanika odgovorila da su upoznati s tom pojavom i to prvenstveno putem fakultetske nastave, dok veliki ostatak nije znao o ovom riziku. Informiranost o vitaminu A i anketni odgovori prikazani su na Slici 14.



Slika 14: Informiranost o hepatotoksičnosti visokih doza vitamina A

Zadnji pripravak je ekstrakt rosopasa koji se koristi u poremećajima gastrointestinalnog trakta, poput dispepsije, mučnine i nadutosti, a u nekoliko je država stavljen pod oprez zbog rizika hepatotoksičnosti. Čak 2/3 ispitanika nije upoznato s tom činjenicom, dok je četvrtina znala o ovome riziku i to putem fakultetske nastave što je vidljivo na Slici 15.



Slika 15: Informiranost o hepatotoksičnosti rosopasa (*Chelidonium majus*)

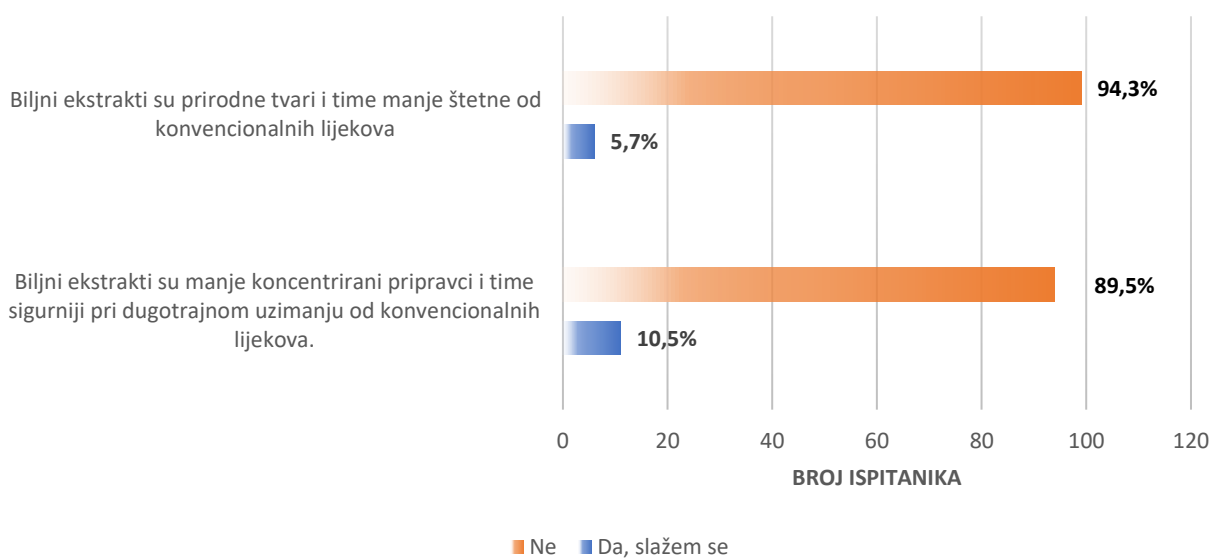
4.5. OSOBNI STAVOVI

Za kraj ankete, ispitanicima je postavljeno nekoliko pitanja vezano uz vlastite stavove o korištenju dodataka prehrani te njihovom utjecaju na preporučivanje istih drugima. Prema prijašnjim generacijama, pokazalo se da većina studenata farmacije će raditi u javnoj ljekarni te ovi podaci neposredno utječu na ljekarničku skrb koju će budući magistri farmacije pružati pacijentima.

Čak 94,3 % ispitanika smatra da biljni ekstrakti nisu manje štetni od konvencionalnih lijekova zato što su prirodne tvari. U općoj populaciji pacijenata vrlo često je zastupljen stav da sve ono što je prirodno je direktno sigurnije za pacijenta. Bitno je znati da su biljni ekstrakti višekomponentni sustavi koji mogu stupati u razne interakcije s lijekovima i drugim dodacima prehrani i time narušiti kvalitetu farmakoterapije ili pak dovesti do nuspojava. Ovakav stav studenata je vrlo bitan jer njime se stavlja oprez na sve prirodne dodatke prehrani kojima je

tržište zasićeno i time stvaraju dodatnu točku kontrole kao budući magistri farmacije koji će takve pripravke i savjetovati pacijentima.

Vezano na prethodnu tvrdnju, gotovo 90% studenata smatra da biljni ekstrakti nisu sigurniji pri dugotrajnom uzimanju od konvencionalnih lijekova jer su sami po sebi manje koncentrirani pripravci što je prikazano na Slici 16. Kronična uporaba svih ksenobiotika, pogotovo u kontekstu utjecaja na jetru, povećava rizik od hepatotoksičnosti i pojave kliničkih simptoma patofizioloških promjena hepatocita. Sami biljni pripravci mogu biti izrazito koncentrirani te s povećanom dozom raste rizik od pojave klinički značajnih interakcija i nuspojava.



Slika 16: Stavovi ispitanika o sigurnosti primjene biljnih ekstrakata u odnosu na konvencionalne lijekove

Primjerice, pacijentice s estrogen-pozitivnim karcinomom dojke i terapiji inhibitorima aromataze ili selektivnim modulatorima estrogenskih receptora (SERM) vrlo često posežu za biljnih pripravcima koji smanjuju simptome manjka estrogena. Zbog preporučenog izbjegavanja pripravaka koji sadrže u sebi fitoestrogene, često se poseže se pripravcima na bazi cimicifuge (*Cimicifuga racemosa*). Jedan rad je pokazao da je pri kroničnoj uporabi, a takva je ova, povezan rast hepatocelularnih enzima u krvnoj plazmi koje vežemo za oštećenje jetre (Enbom i sur., 2014).

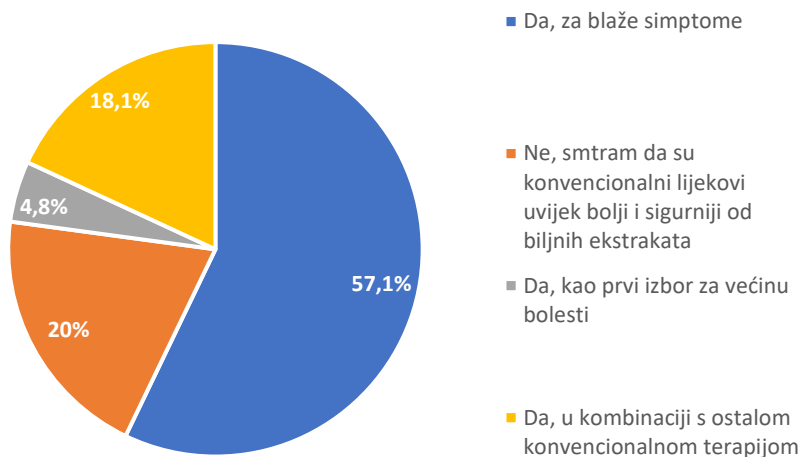
U biljnom lijeku Klimadynon® koji sadrži 2,8 mg suhog ekstrakta cimicifuginog podanka koji je indiciran u odraslih žena za ublažavanje tegoba u menopauzi poput navala vrućine i prekomjernog znojenja, a registriran je na hrvatskom tržištu, uočena je hepatotoksičnost uključujući hepatitis, žuticu te poremećaje u testovima funkcije jetre. Neklinički podaci o

sigurnosti primjene biljnog lijeka prikazani u 28-dnevnom ispitivanju toksičnosti na štakorima u ljudskoj ekvivalentnoj dozi od 8, 32 i 161 mg/kg uočeni su negativni učinci na nekoliko sustava organa. U skupini s najnižom dozom učinci na jetru su bili reverzibilni, dok u onoj s najvećom dozom težina jetre se nije sasvim smanjila nakon 14 dana oporavka. Uočeno je povećanje volumena hepatocelularnog mitohondrija i povećanje žučnih kanala štakora. Ovi podaci mogući su samo jer je pripravak registriran u rigoroznijoj kategoriji biljnog lijeka koja zahtjeva proučavanje farmakokinetike, dok pripravci u kategoriji dodataka prehrani ne pružaju ovakvo upozorenje prilikom uporabe istih te pacijenti ih koriste na svoju ruku bez konzultacije s LOM-om ili ljekarnikom.

Gotovo svi ispitanici (103/105) smatraju da bi dodaci prehrani trebali imati strožu zakonsku regulativu s ciljem zaštite pacijenata. Prema zakonskoj direktivi, dodatak prehrani nije nadomjestak ili zamjena uravnoteženoj prehrani te kao takav nije namijenjen liječenju bolesti. Nužno je provođenje samo sanitarne ispravnosti kao stupnja kvalitete te praćenje nuspojave nije obvezno.

Promjenom zakonske regulative bi se povećao stupanj sigurnosti pacijenata jer bi se time dokazala djelotvornost kompleksnih dodataka prehrani te utvrdila sigurnost prilikom njihove uporabe istovremeno s drugim lijekovima.

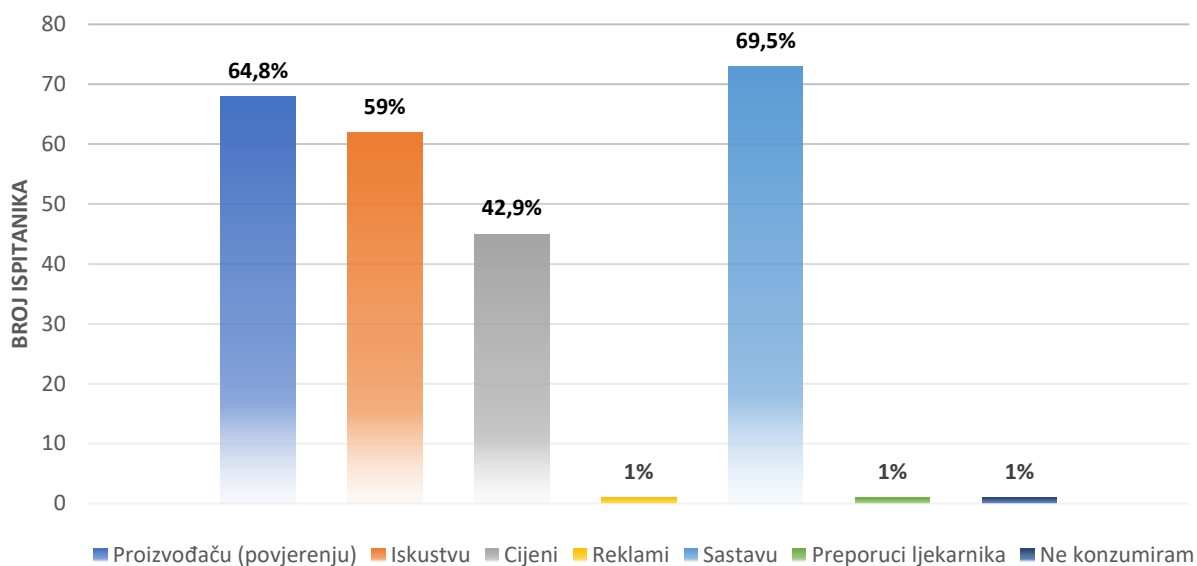
Na pitanje kako i kada bi preporučili biljne ekstrakte u odnosu na konvencionalne lijekove, polovica ispitanika kaže da bi to napravila za blaže simptome bolesti, dok petina ispitanika ipak smatra da su konvencionalni lijekovi uvijek sigurniji i bolji od prirodnih ekstrakata. Ukupna raspodjela studenata oko preporuke ovakvih pripravaka prikazana je na Slici 17. Često pacijenti zbog nedostupnosti liječnika obiteljske medicine ili vlastite preferencije, odlaze u javnu ljekarnu po pripravak na biljnoj osnovi za ublažavanje simptoma. Pacijenti moraju biti svjesni rizika takvih pripravaka, ali i njihovih ograničenja, pogotovo u stanjima kada je vjerojatnost da će se stanje popraviti mala. Uz nedostupnost e-kartona, farmaceut nije upoznat sa svom farmakoterapijom pacijenta te ne može u potpunosti procijeniti sigurnost uporabe takvog pripravka.



Slika 17: Kako ispitanici preporučuju korištenje biljnih ekstrakata u odnosu na konvencionalne lijekove

Nastavno na prethodno pitanje, ispitan je stav studenata o razlogu odabira pojedinih dodataka prehrani u odnosu na druge. Često opća populacija dolazi u javnu ljekarnu po dodatak prehrani kojeg su vidjeli putem reklame ili čuli od poznanika pa se želi usporediti odnos takvog odabira dodataka u odnosu na pristup studenata farmacije koji će takve pripravke preporučiti pacijentima koji dođu u ljekarnu bez prethodnog znanja o tipu dodataka kojeg traže. Najveći dio studenata odabire dodatak prehrani prema sastavu čime je i opravdan stručni pristup odabira suplementa, dok ostala većina bira prema povjerenju proizvođaču što je vidljivo na Slici 18. Važno je naglasiti da zbog velikog broja mogućih odgovora, na ovom pitanju je bilo dopušteno zaokružiti 2 odgovora.

Zbog velike financijske isplativosti proizvodnje dodataka prehrani, velik broj proizvođača poseže za reklamiranjem takvih pripravaka putem televizije i društvenih mreža. Ljekarnik je taj koji u konačnici pomaže odabrati pacijentu optimalan dodatak prehrani, ali ponekada pacijenti ne žele ništa drugo osim onoga što su vidjeli putem oglašavanja. Nastavno uz to, jako je često da pacijenti žele pripravak koji je pomogao njihovom poznaniku. Pacijente treba upozoriti da nije svaki pripravak namijenjen istoj ciljnoj kategoriji ljudi te ih usmjeriti na onaj pripravak koji je u tom trenutku njima potreban.



Slika 18: Vlastita načela prilikom odabira dodataka prehrani

Za kraj ankete, ispitanicima je ostavljena mogućnost preporuke metode o povećanju svijesti o hepatotoksičnosti ksenobiotika, kako lijekova tako i dodataka prehrani.

Samo neki od odgovora su:

„Informiranjem pacijenata, veća zastupljenost takvih informativnih sadržaja kroz medije, pokretanje javnozdravstvenih kampanja na temu hepatotoksičnosti“

„Većim naglaskom na fakultetu hepatotoksičnosti onih lijekova i dodataka prehrani koji se koriste kronično kroz period od nekoliko mjeseci“

„Većom dostupnosti znanstveno-ispravnih podataka na internetu te edukacijom pacijenata koje internetske izvore koristiti“

„Jasnijom predodžbom i edukacijom o tome što dodaci prehrani uistinu jesu jer ih ljudi često konzumiraju iracionalno“

„Prvi korak je edukacija o ovoj temi (ova anketa mi je predočila koliko sam malo naučila na fakultetu, odnosno koliko sam zaboravila ono što sam nekoć učila) prije početka rada u ljekarni, a potom savjesno izdavanje lijekova i dodataka prehrani u vlastitom radu.“

5. ZAKLJUČCI

Opći zaključak analize ankete je nedovoljna upoznatost o ovoj tematici kao i različiti stavovi o sigurnosti primjene ovakvih preparata i njihovom korištenju kao prvom stupnju liječenja akutnih i kroničnih stanja.

Studenti kao budući ljekarnici moraju biti svjesni rizika primjene pojedinih dodataka prehrani te prepoznati takav rizik u kontekstu pacijenta kome se pojedini dodatak prehrani preporuča.

Potreba je dodatna edukacija šire javnosti o ozbiljnosti primjene suplemenata, uključujući i biljne ekstrakte, zbog njihovih nuspojava i stupanja u interakcije s drugim lijekovima, kao i dodatna edukacija samih studenata uz praćenje relevantne literature.

6. POPIS KRATICA, SIMBOLA I OZNAKA

ALT - alanin aminotransferaza

AP – alkalna fosfataza

AST – aspartat aminotransferaza

BHP – benigna hiperplazija prostate

CIOMS - Council for International Organizations of Medical Sciences

CYP450 – citokrom P450

DILI - drug induced liver injury

EBM – Evidence Based Medicine

GGT – gama glutamil transferaza

GIT – gastrointestinalni trakt

HILI – herb-induced liver injury

HMG-CoA – hidroksimetilglutaril-koenzim A

IBS – Inflammatory Bowel Disease

LOM – liječnik obiteljske medicine

NADP – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NAPQI – N-acetilparabenzokinonimin

NF- κ B – nuclear factor – kappa B

PAH – policiklički aromatski hidrokarboni

PV - protrombinsko vrijeme

RE – retinol equivalent

RUCAM – Roussel Uclaf metoda određivanja uzroka hepatotoksičnosti

SERM – selektivni modulator estrogenskih receptora

TNF- α – tumor necrosis factor alpha

7. LITERATURA

Ballotin V, Bigarella L, Brandao A, Balbinor R, Balibnot S, Soldera J. Herb-induced liver injury: Systematic review and meta-analysis. *World Journal of Clinical Cases*, 2021, 9, 5490-5513

Berne R, Levy M. Fiziologija, 2. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 1993, 708-716

Bilić A. Hepatologija. Zagreb, Medicinska naklada, 1991, 319-320

Bulat M, Geber J, Lacković Z. Medicinska farmakologija, 2. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 2001, 25-30

Chitturi S, Farrell G. Drug-induced liver disease. *Current Treatment Options in Gastroenterology*, 2000, 88, 1367-1377

Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija, 3. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 2009, 438-448

Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. Patologija, 5. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 2018, 465-469

Domitrović R. Hepatoprotektivno djelovanje fitokemikalija. *Medicina fluminensis*, 2012, 48, 2-9

DiPiro J. Encyclopedia of Clinical Pharmacy. New York, Marcel Dekker Inc., 2003, 246-249

Enbom E, Oesterich L, Rutgers J, French S. Mechanism of hepatotoxicity due to black cohosh (*Cimicifuga racemosa*): histological, immunohistochemical and electron microscopy analysis of two liver biopsies with clinical correlation. *Exp Mol Pathol*, 2014, 96, 279-283

Guyton A, Hall J. Medicinska fiziologija, 11. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 2006, 859-863

Jurčić D, Gabrić M, Perić R, Pršo A, Mirat J, Včev A, Alerić I, Ebling B. Herbalife associated severe hepatotoxicity in a previously healthy woman. *Acta Clin Croat*, 2019, 58, 771-776

Katzung B. Temeljna i klinička farmakologija, 14. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 2020, 1139-1140

Kowalski T, Falestiny M, Furth E, Malet P. Vitamin A Hepatotoxicity: A Cautionary Note Regarding 25,000 IU Supplements. *The American Journal of Medicine*, 1994, 97, 523-527

Feldman M, Friedman L, Brandt L. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease, Amsterdam, 2021, 1134-1137

Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Toxin- and Drug-Induced Disorders of the Liver. *Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*, 2015, 48, 1285-1288

Lewis J. Drug-Induced and Toxic Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2015, 130-139

Lloyd A. Nutritional products. U: Handbook of nonprescription drugs. Covington T, Lawson L, urednici, Washington, American Pharmaceutical Association, 1993, 288-289.

Mazzanti G, Di Sotto A, Vitalone A. Hepatotoxicity of green tea: an update. *Arch Toxicol*, 2015, 89, 1175-1191

Page C, Curtis M, Sutter M, Walker M, Hoffman B. Integrated Pharmacology, 2. izdanje. London, Mosby, 2002, 44-49

Pantano F, Mannocchi G, Marinelli E, Gentili S, Graziano S, Busardo F, Luca N. Hepatotoxicity induced by greater celandine: A review of the literature. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2017, 21, 46-52

Post-White J, Ladas E, Kelly K. Advances in the Use of Milk Thistle (Silybum Marianum). *Integrative cancer therapies*, 2007, 6, 104-109

Pravilnik o dodacima prehrani, 2013, Zagreb, Narodne novine, broj 126/13 (NN/126/13).

Rang H, Dale M, Ritter J, Moore P. Pharmacology, 5. izdanje. Oxford, Elsevier Science Limited, 2006, 106-110

Red Yeast Rice, 2018, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548168>, pristupljeno 23.5.2022.

Rendić, S. Biotransformacija ksenobiotika. Zagreb, Medicinska naklada, 2016, 114-120

Saladin K. Anatomy & Physiology: The unity of form and function, 5. izdanje. New York, McGraw-Hill, 2010, 986-989

Sažetak opisa svojstava lijeka Klimadynon Bionorica. Dostupno na: <https://halmed.hr/upl/lijekovi/PIL/Klimadynon-PIL.pdf>. Pristupljeno 9. lipnja 2022.

Severity Grading in Drug Induced Liver Injury, Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548241>, Pristupljeno 10. lipnja 2022.

Shier D, Butler J, Lewis, R. Hole's Essentials of Human Anatomy and Physiology, 7. izdanje, Boston, McGraw-Hill, 2000, 425-427

Štraus B. Medicinska biokemija, 2. izdanje. Zagreb, Medicinska naklada, 1992, 864-869

Vladimir-Knežević S. Predavanja iz kolegija Farmakognozija 1. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2018./2019.

Uredba 2022/860 Europske komisije od 1.lipnja 2022. o izmjeni Priloga 3 Uredbi br. 1925/2006 Europskog parlamenta i Vijeća o pogledu monakolina iz crvene fermentirane riže. 2022, Strabourg, Službeni list Europske unije, broj 151/37 (L151/37)

8. SAŽETAK

Hepatotoksičnost dodataka prehrani je sverastući zdravstveni problem. Zbog manjka regulacije i standardizacije u proizvodnji, uz širokodostupnost pripravaka, zdravstveni radnici moraju biti na oprezu prilikom preporuke ovakvih proizvoda. Jetra je glavni organ metabolizma ksenobiotika te je kao takva sklona oštećenjima različitim mehanizmima stoga je ključno poznavati laboratorijske parametre i kliničke simptome oštećenja jetre kako bi se pacijente znalo pravovremeno upozoriti na mogućnost hepatotoksičnog djelovanja pripravka.

Uz nekoliko analiziranih pripravaka koji su dostupni u Republici Hrvatskoj poput suplemenata koji sadrže ekstrakt crvene riže ili zelenog čaja, u radu je anketirano 105 studenata Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u vezi procjene njihovih znanja i stavova o hepatotoksičnosti dodataka prehrani i biljnih ekstrakata. Najveći broj studenata nije bio upoznat ili je nedovoljno upoznat s utjecajem biljnih pripravaka na jetru te smatra da se mora dodatno educirati i povećati oprez prilikom preporuke i/ili korištenja istih.

Ono što i dalje ostaje problem je slaba dokazivost uzročno-posljedične veze između pripravaka i njihovih utjecaja na jetru zbog prisutnosti politerapije te ostalih rizičnih čimbenika u etiologiji oštećenja jetre. Iako ne postoje direktni i konačni zaključci o kompletnom utjecaju obrađenih pripravaka na jetru, potreban je dodatni oprez kako bi se rizik od štetnog utjecaja na jetru smanjio te odabrao pravi pripravak za pojedinog pacijenta kao temelj personalizirane medicine čemu moderna struka, uključujući i medicinu temeljena na dokazima, teže.

8. SUMMARY

Hepatotoxicity of dietary supplements is a growing health problem. Due to the lack of regulation and standardization in production, together with the wide availability of products, health professionals must be careful when recommending such supplements. Liver is the main organ of xenobiotic metabolism and as such is prone to damage by various mechanisms. Therefore, it is crucial to know the laboratory parameters and clinical symptoms of liver damage so that the patients could be warned in time about the possible hepatotoxic side effects.

In addition to several analyzed supplements available in the Republic of Croatia, such as ones containing red rice extract or green tea extracts, a total of 105 students of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the University of Zagreb were interviewed to assess their knowledge and attitudes regarding hepatotoxicity of dietary supplements and plant extracts. Most students were not familiar or were insufficiently familiar with the effect of herbal preparations on the liver and believe that additional education should be provided with increased caution when recommending and / or using these supplements.

What remains a problem is the poor provability of a cause-and-effect relationship between preparations and their effects on the liver due to the presence of polytherapy and other risk factors in the etiology of liver damage. Although there are currently no direct and definitive conclusions about the complete impact of treated supplements on the liver, extra caution is needed to reduce the risk of adverse effects on the liver and choose the right product for the right patient as the end goal of evidence-based medicine.

9. PRILOZI

ANKETA: HEPATOTOKSIČNOST LIJEKOVA, DODATAKA PREHRANI I BILJNIH EKSTRAKATA

SPOL:

- M
- Ž

GODINA STUDIJA:

- 3. godina
- 4. godina
- 5. godina

SEKCIJA 1: OSOBNE NAVIKE I UPOZNATOST S TEMOM

1. Kako najčešće uzimate dodatke prehrani i/ili biljne ekstrakte? *

- Ne uzimam
- Povremeno, samoinicijativno
- Svakodnevno, samoinicijativno
- Povremeno, u konzultaciji s liječnikom za akutne bolesti
- Povremeno, u konzultaciji s liječnikom za kronične bolesti
- Svakodnevno, u konzultaciji s liječnikom za kronične bolesti

2. Jeste li upoznati s mogućim toksičnim djelovanjem dodataka prehrani i biljnih ekstrakata na jetru te na koji način?

- Ne
- Da, kroz nastavu na fakultetu
- Da, kroz praktični rad u ljekarni
- Da, pomoću uputa o lijeku
- Da, na internetskim stranicama

SEKCIJA 2: VAŠI STAVOVI I ZNANJA O UPORABI LIJEKOVA I DODATAKA PREHRANI

3. Biljni ekstrakti su prirodne tvari i time manje štetne od konvencionalnih lijekova.

- Da, slažem se
- Ne

4. Biljni ekstrakti su manje koncentrirani pripravci i time sigurniji pri dugotrajnom uzimanju od konvencionalnih lijekova.

- Da, slažem se
- Ne

5. Hapatotoksičnost dodataka prehrani i biljnih ekstrakata je česta u populaciji koja ih uzima, no teže je dokaziva.

- Da, slažem se
- Ne

6.S kojima od ovih simptoma hepatotoksičnosti ste već bili upoznati?

- Nespecifična slabost i malaksalost
- Svrbež kože, osip i ostale promjene na koži
- Žutica
- Bol u trbuhu
- Akutno oštećenje sa slikom hepatitisa
- Akutno zatajenje jetre
- Kronični hepatitis
- Ciroza, tumori jetre, neurološki poremećaji (konvulzije i koma)

7.Navedite primjer dodatka prehrani (uključujući biljne ekstrakte) s mogućim hepatotoksičnim učinkom:

8.Odaberite koji od sljedećih enzima je najosjetljiviji u dijagnozi hepatocelularnih oštećenja:

- AST (aspartat-aminotransferaza)
- ALT (alanin-aminotransferaza)
- AP (alkalna fosfataza)
- CK (kreatin kinaza)
- Ne znam

SEKCIJA 3: HEPATOTOKSIČNOST POJEDINIH PRIPRAVAKA

9.Pripravci Herbalife® pokazali su nekoliko desetaka zabilježenih slučajeva hepatotoksičnosti. Jeste li to znali te ako da, odakle?

- Nisam znao/la
- Da, kroz nastavu na fakultetu
- Da, kroz praktični rad u ljekarni
- Da, pomoću uputa o lijeku
- Da, na internetskim stranicama
- Ostalo: _____

10.Znate li da je vitamin A u visokim dozama hepatotoksičan? Ako je odgovor da, gdje ste s time upoznali?

- Nisam znao/la
- Da, kroz nastavu na fakultetu
- Da, kroz praktični rad u ljekarni
- Da, pomoću uputa o lijeku
- Da, na internetskim stranicama
- Ostalo:_____

11.(Chelidonium majus) je biljka koja se koristi u samoliječenju problema GIT-a. U nekoliko je država stavljen pod "oprez" zbog povećanog rizika hepatotoksičnosti. Jeste li čuli za njegov loš utjecaj na jetru te ako da, odakle?

- Nisam znao/la
- Da, kroz nastavu na fakultetu
- Da, kroz praktični rad u ljekarni
- Da, pomoću uputa o lijeku
- Da, na internetskim stranicama
- Ostalo:_____

SEKCIJA 4: OSOBNA MIŠLJENJA / ZAKLJUČAK

12.Smatrate li da Vam je dostupno dovoljno informacija o mogućem hepatotoksičnom djelovanju dodataka prehrani i biljnih ekstrakata?

- Da
- Ne
- Donekle

13.Prema dosadašnjem iskustvu i znanju, smatrate li da je zakonska regulativa dodataka prehrani lošija u odnosu na regulativu lijekova?

- Ne, zakonska regulativa je sasvim u redu u obje kategorije
- Da, ali tako i treba biti jer su to dodaci prehrani
- Da te smatram da bi dodaci prehrani trebali imati strožu regulaciju s ciljem zaštite pacijenata

14.Biste li, te u kojoj situaciji, radije preporučili biljne ekstrakte u odnosu na konvencionalne lijekove?

- Ne, smatram da su konvencionalni lijekovi uvijek bolji i sigurniji od biljnih ekstrakata
- Da, za blaže simptome
- Da, kao prvi izbor za većinu bolesti
- Da, u kombinaciji s ostalom konvencionalnom terapijom

15.Dodatke prehrani za sebe i druge biram prema (odabрати 2) :

- Proizvođaču (povjerenju)
- Iskustvu
- Cijeni
- Reklami
- Sastavu
- Ostalo:_____

16.Na koji način bi podignuli svijest o mogućoj hepatotoksičnosti lijekova, dodataka prehrani i biljnih ekstrakata?

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Samostalni kolegij: Patofiziologija s patologijom
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Hepatotoksičnost dodataka prehrani i biljnih ekstrakata

Matej Spajić

SAŽETAK

Hepatotoksičnost dodataka prehrani je sverastući zdravstveni problem. Zbog manjka regulacije i standardizacije u proizvodnji, uz širokodostupnost pripravaka, zdravstveni radnici moraju biti na oprezu prilikom preporuke ovakvih proizvoda. Jetra je glavni organ metabolizma ksenobiotika te je kao takva sklona oštećenjima različitim mehanizmima stoga je ključno poznavati laboratorijske parametre i kliničke simptome oštećenja jetre kako bi se pacijente znalo pravovremeno upozoriti na mogućnost hepatotoksičnog djelovanja pripravka.

Uz nekoliko analiziranih pripravaka koji su dostupni u Republici Hrvatskoj poput suplemenata koji sadrže ekstrakt crvene riže ili zelenog čaja, u radu je anketirano 105 studenata Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u vezi procjene njihovih znanja i stavova o hepatotoksičnosti dodataka prehrani i biljnih ekstrakata. Najveći broj studenata nije bio upoznat ili je nedovoljno upoznat s utjecajem biljnih pripravaka na jetru te smatra da se mora dodatno educirati i povećati oprez prilikom preporuke i/ili korištenja istih.

Ono što i dalje ostaje problem je slaba dokazivost uzročno-posljedične veze između pripravaka i njihovih utjecaja na jetru zbog prisutnosti politerapije te ostalih rizičnih čimbenika u etiologiji oštećenja jetre. Iako ne postoje direktni i konačni zaključci o kompletnom utjecaju obrađenih pripravaka na jetru, potreban je dodatni oprez kako bi se rizik od štetnog utjecaja na jetru smanjio te odabrao pravi pripravak za pojedinog pacijenta kao temelj personalizirane medicine čemu moderna struka, uključujući i medicinu temeljena na dokazima, teže.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 48 stranica, 18 grafičkih prikaza, 3 tablice i 33 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: hepatotoksičnost, dodaci prehrani, biljni ekstrakti

Mentor: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Kristina Radić, *asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Independent course: Patophysiology and Pathology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Hepatotoxicity of dietary supplements and herbal extracts

Matej Spajić

SUMMARY

Hepatotoxicity of dietary supplements is a growing health problem. Due to the lack of regulation and standardization in production, together with the wide availability of products, health professionals must be careful when recommending such supplements. Liver is the main organ of xenobiotic metabolism and as such is prone to damage by various mechanisms. Therefore, it is crucial to know the laboratory parameters and clinical symptoms of liver damage so that the patients could be warned in time about the possible hepatotoxic side effects.

In addition to several analyzed supplements available in the Republic of Croatia, such as ones containing red rice extract or green tea extracts, a total of 105 students of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the University of Zagreb were interviewed to assess their knowledge and attitudes regarding hepatotoxicity of dietary supplements and plant extracts. Most students were not familiar or were insufficiently familiar with the effect of herbal preparations on the liver and believe that additional education should be provided with increased caution when recommending and / or using these supplements.

What remains a problem is the poor provability of a cause-and-effect relationship between preparations and their effects on the liver due to the presence of polytherapy and other risk factors in the etiology of liver damage. Although there are currently no direct and definitive conclusions about the complete impact of treated supplements on the liver, extra caution is needed to reduce the risk of adverse effects on the liver and choose the right product for the right patient as the end goal of evidence-based medicine.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 48 pages, 18 figures, 3 tables and 33 references. Original is in Croatian language.

Keywords: hepatotoxicity, supplements, herbal extracts

Mentor: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Lidija Bach-Rojecky, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Kristina Radić, Ph.D. *Assistant*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2022.

