

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II Großhadern der Ludwig-Maximilians-
Universität München
Direktorin: Prof. Dr. med. Julia Mayerle

**Polymedikation bei Patienten mit
idiosynkratischen Leberschäden: Häufigkeit,
involvierte Substanzen und
Kausalitätsbestimmung**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Isabelle Rotter
aus Memmingen
2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Alexander Gerbes

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Norbert H. Grüner

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Andreas Benesic

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 11.02.2021

Eidesstattliche Versicherung

Rotter, Isabelle

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Polymedikation bei Patienten mit idiosynkratischen Leberschäden: Häufigkeit, involvierte Substanzen und Kausalitätsbestimmung

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Kaufbeuren, 01.03.2021

Isabelle Rotter

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Inhalt

1	Einleitung	6
1.1	DILI: Klassifikation.....	7
1.1.1	Intrinsischer DILI	7
1.1.2	Idiosynkratischer DILI	7
1.2	DILI: Pathomechanismen	8
1.3	DILI: Klinische Einteilung nach Schädigungsmuster	8
1.4	DILI: Epidemiologie.....	9
1.5	Folgen von iDILI	10
1.5.1	Auswirkungen auf die Leber	10
1.5.2	Auswirkungen auf die Medikamentenentwicklung.....	10
1.6	Diagnostik.....	11
1.6.1	Diagnose durch Reexposition.....	12
1.6.2	Diagnose durch RUCAM	13
1.6.3	Diagnose durch Experteneinschätzung.....	13
1.6.4	Diagnostik in Patienten mit Polymedikation.....	14
1.6.5	Diagnose durch den MH Zell- Test.....	15
1.7	Therapie	16
1.8	Ziel der Studie.....	16
2	Material und Methoden	18
2.1	Einschlusskriterien.....	18
2.2	Patientenkollektiv	18
2.3	Datenerhebung Patienten	19
2.4	Medikamentenanamnese.....	20
2.5	Berechnung des RUCAM	21
2.6	Erhobene Laborparameter.....	21
2.7	Schweregrad des Leberschadens	22
2.8	Bildgebung.....	23
2.9	Diagnose iDILI	23

2.10	MH Zell- Test.....	25
2.11	Statistische Methoden	26
3	Ergebnisse	27
3.1	Vergleich beider Datensätze	27
3.2	Vergleich des Gesamtkollektives zwischen iDILI und nonDILI	29
3.3	iDILI Auslöser	34
3.4	Diagnose und Kausalitätsbewertung mit Hilfe des RUCAM.....	34
3.5	Diagnose und Kausalitätsbestimmung mit Hilfe des MH Zell- Test.....	37
3.6	Identifikation eines einzelnen iDILI Medikaments	39
3.7	Reexposition bei polymedizierten Patienten	40
3.8	Medikamentenkombinationen im MH Zell- Test	40
4	Diskussion	42
4.1	Datenerhebung	43
4.2	Medikamentenanamnese.....	43
4.3	Diagnose iDILI und Festlegung auf einen Auslöser.....	44
4.4	Involvierte Medikamente	44
4.5	Vergleich beider Datensätze	45
4.6	Polymedikation	45
4.7	Ergebnisse des RUCAM.....	46
4.8	Ergebnisse des MH Zell- Test	47
4.9	Medikamentenkombinationen	48
5	Zusammenfassung	50
6	Abkürzungsverzeichnis	51
7	Literaturverzeichnis.....	53
8	Anhang Abbildungen	61
9	Anhang Tabellen	63

1 Einleitung

Drug- induced liver injury (DILI), zu Deutsch ein medikamenten- induzierter Leberschaden, ist ein Krankheitsbild, das Gastroenterologen schon seit Jahren beschäftigt. Es handelt sich hierbei um ein seltenes, schwer zu diagnostizierendes und teilweise fulminant verlaufendes Krankheitsbild. Mehr als 1000 Medikamente sind in der klinischen Praxis mittlerweile dafür bekannt, sowohl durch Überdosierung, als auch in therapeutischen Dosen, DILI auslösen zu können.^{1,2} Der Leberschaden kann zum einen dosisabhängig sein, klassisches Beispiel ist hier Paracetamol. Zum anderen können Leberschäden auch ohne klare Dosis-Wirkungs-Beziehung auftreten. Hierbei handelt es sich um einen sogenannten idiosynkratischen DILI (iDILI), der nur Patienten betrifft, die aus letztlich noch nicht geklärten Gründen dafür empfindlich sind. Nicht nur rezeptpflichtige Substanzen können Leberschäden verursachen, sondern auch frei verkäufliche Arzneimittel, Phytopharmaka und Nahrungsergänzungsmittel (HILI, Herb- induced liver injury) sind mögliche Auslöser.^{3,4} Die Symptomatik reicht von einem milden Verlauf mit gering erhöhten Leberparametern und ohne klinische Symptome, bis hin zum akuten Leberversagen.^{2,5,6} DILI ist eine komplexe Erkrankung die keine einheitliche klinische Entität darstellt, so dass die Diagnose bislang im Wesentlichen auf dem Ausschluss alternativer Ursachen basiert. Die Identifizierung der auslösenden Substanz ist von zentraler Bedeutung, um das Risiko eines Medikaments bewerten zu können, aber auch um bei der weiteren Behandlung eines Patienten mit vorangegangener iDILI- Episode kein neues Ereignis auszulösen. Die Kausalitätsbestimmung kann aber insbesondere bei Patienten mit Einnahme mehrerer Medikamente unmöglich sein⁷. Bisherige Diagnostikverfahren wie die Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM) oder die Bewertung durch Experten, eignen sich nur bedingt zur Identifikation der kausalen Substanz, da die Grundlage für die Diagnose das Ausschlussverfahren ist und die Kausalität anhand von vorhandenen Medikamenteninformationen (sog. „Signatur“) bestimmt werden. Sowohl RUCAM als auch Expertenmeinung beziehen vorhandene Vorinformation mit ein und werden dadurch mitunter in eine falsche Richtung beeinflusst (So bekommt ein Medikament für welches Leberschäden im Beipackzettel explizit genannt werden automatisch eine höhere Wahrscheinlichkeit als eines, für welches zwar Fallberichte existieren, der Leberschaden aber nicht im Beipackzettel steht). Vor allem bei Patienten die mehr als ein Medikament einnehmen (Polymedikation) zeigen die auf Ausschlussdiagnose und Medikamenteninformation basierenden Verfahren erhebliche Nachteile. In unserer Studie untersuchten wir auch den sogenannten MH Zell- Test (MH cell = monocyte- derived hepatocyte- like cell), ein vielversprechendes Verfahren um DILI und das dazugehörige Medikament zu diagnostizieren.

1.1 DILI: Klassifikation

1.1.1 Intrinsischer DILI

Beim DILI unterscheidet man zwischen dem intrinsischen DILI (dosisabhängig und vorhersehbar) und dem idiosynkratischen DILI (unvorhersehbar).⁸ Beim intrinsischen Typ existiert eine Dosischwelle, die überschritten werden muss, um den Leberschaden auszulösen.^{9,10} Das Paradebeispiel hierfür ist Paracetamol.^{11,12} Mit 42 – 50 % stellt es die häufigste Ursache für akutes Leberversagen in den USA, sei es durch einen Suizidversuch, oder eine unbeabsichtigte Überdosierung, dar.^{13–15} Der Schädigungsmechanismus von Paracetamol ist relativ genau untersucht. Eine Akkumulation einer zu großen Menge (zwischen 150 - 200 mg/ kg KG bei Erwachsenen und 150 mg/ kg KG bei Kindern) erschöpft das abbauende System (Glucuronidierung und Sulfatierung: Phase II Reaktion). Dies resultiert in der Synthese von *N*- Acetyl- *p*- benzoquinonimin (NAPQI) über das Cytochrom P450 System. NAPQI wird wiederum mittels Glutathion konjugiert und anschließend mit der Galle ausgeschieden.¹⁶ Ist nun dieses System mit der Menge an Substanz überlastet, kommt es zu einer Bindung von NAPQI an andere Proteine. Der Protein- NAPQI Komplex stellt die kritische, hepatotoxische Komponente dar.¹⁶ Die Folge ist eine akute Leberfunktionsstörung ohne vorher bestehenden Leberschaden. Das Wissen um den Paracetamol Schädigungsmechanismus stellt allerdings eine Ausnahme dar, da aufgrund der Dosisabhängigkeit zahlreiche in vitro- und Tiermodelle existieren.

1.1.2 Idiosynkratischer DILI

Die zweite Form des DILI ist der unvorhersehbare und dosisunabhängige (bzw. einer individuell stark unterschiedlichen Dosis-Wirkungsbeziehung folgende¹⁷) idiosynkratische Leberschaden (iDILI).⁵ Eine Vorhersage oder Reproduktion im Tiermodell ist bei dieser Art des arzneimittelinduzierten Schadens nicht möglich.¹⁸ Auch existiert kein strikter zeitlicher Zusammenhang zwischen der Einnahme des Medikaments und dem Zeitpunkt des Leberschadens. Die Zeitspanne kann sich von wenigen Tagen bis hin zu einem oder mehreren Jahren erstrecken.^{19,20} Ferner reichen die Präsentationsmöglichkeiten von akuten bis hin zu chronischen Leberschäden.²¹ Relativ häufige iDILI Medikamente sind Antibiotika,^{22–24} wie zum Beispiel Amoxicillin/ Clavulansäure.^{25–28} Auch antiretrovirale Substanzen und ZNS- Medikamente, meist Antiepileptika,^{29,30} stellen häufige Auslöser dar. Der weitere Teil der Arbeit wird sich ausschließlich mit idiosynkratischen DILI befassen.

1.2 DILI: Pathomechanismen

Zum jetzigen Zeitpunkt ist - im Gegensatz zu dosisabhängigen Leberschäden³¹ – die Pathogenese der idiosynkratischen Reaktionen weitgehend ungeklärt.⁵ Als Auslöser wird eine Zellschädigung durch die eingenommene Substanz oder ihre Metabolite angenommen, welche eine Immunreaktion auslöst, die zum klinisch apparenten Leberschaden führt.³² Einige der vermuteten Mechanismen sind oxidativer Stress,³³ eine Sensibilisierung gegenüber von Tumornekrosefaktoren,³² mitochondriale Dysfunktionen,³⁴ individuelle HLA Polymorphismen des Patienten^{35,36} und eine Überaktivierung von Zellen des Immunsystems.³⁷ Da DILI allerdings relativ selten auftritt – Schätzungen gehen von 1 in 1000 bis 1 in 10000 Patienten aus, deutet dies auf eine zusätzlich beachtliche Komponente von umwelt- und genetischen Einflüsse hin.³⁸ Faktoren wie ein hoher BMI, bestehendem Alkoholismus oder Vorerkrankungen sind Eigenschaften, die ein DILI fördern können.^{21,39,40} Grunderkrankungen wie Hepatitis B oder C sowie HIV können zum Beispiel das Immunsystem sensibilisieren, indem es zur Aktivierung von Zytokinen oder immunologischen Signalwegen kommt.⁴¹ Ferner wurde gezeigt dass ältere Patienten häufiger ein DILI entwickeln. Dies scheint jedoch nicht ausschließlich auf das Alter zurückführbar zu sein, sondern auf den schlechteren Ernährungszustand sowie die Kombination mehrerer Arzneimittel in höherem Alter.^{42–45} Generell erhöht eine Polymedikation durch die Interaktionen auf molekularer Ebene das Risiko für ein DILI.⁴⁶ Zudem scheint DILI in Patienten mit Polymedikation schwerer zu verlaufen.^{47,48}

1.3 DILI: Klinische Einteilung nach Schädigungsmuster

Die klinische Einteilung des iDILI erfolgt mittels Zuordnung in eine von drei Kategorien: hepatozellulär, cholestatisch oder gemischt. Dies beschreibt die Art des histologisch und laborchemisch ermittelten Leberzellschadens und wird anhand des R- Quotienten (Gleichung 1) berechnet. Dieser ist der Quotient aus dem Serum Wert der Alanin- Aminotransferase (ALT) und dem Serum Wert der alkalischen Phosphatase (AP) in Relation zu ihrem oberen Grenzwert des Normbereichs (Upper limit of normal, ULN).⁴⁹ Zur richtigen Einteilung sollten die Laborwerte zu Beginn des Leberschadens verwendet werden.

Gleichung 1: Berechnung des R- Quotienten

$$R - \text{Quotient} = \frac{\frac{ALT \text{ Wert}}{ALT \text{ ULN}}}{\frac{AP \text{ Wert}}{AP \text{ ULN}}} \quad (1)$$

Aus den berechneten R- Werten erfolgt nun die Einteilung in eine der drei Kategorien (Tabelle 1).

Tabelle 1: Ergebnis des R- Quotienten

R- Quotient	Art des Leberzellschadens
R > 5	Hepatozellulär
R = 2 – 5	Gemischt
R < 2	Cholestatisch

Diese Klassifikation kann helfen, die Differentialdiagnosen und die weiterführende Diagnostik einzugrenzen wenn iDILI wahrscheinlich ist, aber mehrere mögliche Substanzen in Frage kommen.^{10,50,51} Kommt es zur Übereinstimmung des laborchemischen Schädigungsmuster mit der jeweiligen *drug signature*, liefert dies einen weiteren Hinweis in Richtung des auslösenden Medikaments (Einige Beispiele für bestimmte *drug signatures* in Tabelle 2).

Tabelle 2: Beispiele für Medikamente mit dazugehöriger Art des Leberschadens

Art des Leberschadens	Medikamente
Hepatozellulär	Valproat, Diclofenac, Isoniazid
Gemischt	Amoxicillin/ Clavulansäure
Cholestatisch	Erythromycin, Amoxicillin/ Clavulansäure

1.4 DILI: Epidemiologie

Man geht davon aus das iDILI etwa 1 % aller akuten Leberschäden ausmacht,⁵² die wahre Epidemiologie ist jedoch kaum einzuschätzen und höhere Fallzahlen gelten als sehr wahrscheinlich. Aufgrund eingeschränkt vorhandener aktiver und passiver Meldesysteme

werden vermutlich nicht alle iDILI-Fälle erfasst,⁵³ zum anderen handelt es sich um eine Erkrankung mit kaum standardisierten diagnostischen Kriterien. iDILI kann anderen akuten, sowohl als auch chronischen Lebererkrankungen sehr stark ähneln.²⁰ Häufig findet man lediglich gering erhöhte Transaminasen, aber in einigen Fällen kann es zu einem akuten Leberversagen kommen.^{54,2} Insbesondere die harmloseren Leberschäden verlaufen subklinisch und anikterisch. Die Patienten äußern meist keine Symptome und bleiben unerkannt.¹⁸ Bisher hatte man angenommen dass 1 von 10.000 bis 1 von 100.000 medikamentös therapierten Patienten in den USA einen Leberschaden entwickelten. Neuere Studien aus Frankreich und Island konnten allerdings zeigen, dass diese Zahlen zu gering sind. Die prospektiv durchgeführten Studien kamen auf 19 von 100.000 Patienten pro Jahr in Island²⁸ und 13 von 100.000 in Frankreich.⁵⁵

1.5 Folgen von iDILI

1.5.1 Auswirkungen auf die Leber

So selten iDILI auch ist, desto schwerwiegender können die Probleme sein, die diese Erkrankung nach sich zieht. Die schwerwiegendste Komplikation stellt das akute Leberversagen dar (Acute liver failure, ALF). Allein in den USA ist Paracetamol DILI mit 51 % die häufigste Ursache für diese Erkrankung, gefolgt von iDILI mit 10 – 13 % noch vor den viralen Hepatitiden.^{13,23} Die Zahl des ALF scheint allerdings noch höher zu liegen. Es gibt Hinweise, dass iDILI nicht in allen Patienten erkannt wurde und weitere 18 % der Patienten ein ALF aufgrund von iDILI aufwiesen.⁵⁶ Die Überlebenschancen ohne Transplantation lag bei diesen Patienten bei nur ca. 27 – 45 %.^{23,57} Im Gegensatz hierzu hat ein durch Paracetamol-induziertes Leberversagen ein transplantationsfreies Überleben von ca. 50 %.⁵⁷ Zudem bleiben bei ca. 8 – 17 % der Patienten nach einem DILI chronische Schäden an der Leber zurück^{58,59} und die Mortalität liegt bei ca. 5 – 8 %.^{60,61} Außerdem ist in den USA eine Lebertransplantationsrate von ca. 15 % auf iDILI zurückzuführen.⁶²

Für den Patienten besteht zudem die Gefahr der Reexposition mit der hepatotoxischen Substanz. Stärkere Reaktionen auf das Medikament, unabhängig von der Schwere des initialen Leberschadens, wurden beschrieben.^{63,64}

1.5.2 Auswirkungen auf die Medikamentenentwicklung

Zusätzlich zu den gesundheitlichen Folgen spielt iDILI eine große Rolle bei der pharmazeutischen Entwicklung von Medikamenten. Der Aufwand (7 - 12 Jahre von der

Ausgangssubstanz bis zur klinischen Zulassung⁶⁵) und die Kosten (\$160 Millionen bis 1,8 Milliarden \$⁶⁶) für die Entwicklung eines marktreifen Medikaments sind in der letzten Dekade stetig gestiegen.⁶⁷ In den letzten Zügen des klinischen Abschnitts einer Studie, oder sogar erst nach Zulassung, treten immer häufiger unvorhergesehene und unerwünschte Nebenwirkungen auf. Dabei handelt es sich häufig um Leberwerterhöhungen, die den Verdacht eines iDILI nahe legen. Auch wenn die Beweislage nicht eindeutig ist, entscheiden sich die Zulassungsbehörden im Zweifelsfall immer für die Sicherheit der Bevölkerung. Dies führt dazu, dass die jeweilige Substanz keine Zulassung erhält oder vom Markt genommen wird (wie es am Beispiel von Troglitazon zu sehen ist⁶⁸). Das bis dahingehend, für die Entwicklung investierte Geld, Zeit und Ressourcen gehen somit weitgehend verloren. Dies geschieht bei ungefähr einem Medikament pro Jahr in den USA.⁶⁹ Insgesamt wurden zwischen 1997 und 2007, 47 Medikamente in den USA aufgrund von Organschädigungen vom Markt genommen. Bei 15 (32 %) lag die Ursache in den lebertoxischen Eigenschaften der Substanz.⁷⁰ Nun ist iDILI zwar eine schwerwiegende, aber doch eher selten auftretende Erkrankung, wenn man die Gesamtheit der Bevölkerung betrachtet. Sollte nun eine Substanz keine Zulassung für den Markt bekommen, von der viele Patienten profitieren könnten, muss sichergestellt werden, dass es sich auch unbestreitbar um iDILI handelt.¹⁰ Die Diagnose zu stellen und das zugehörige Medikament zu identifizieren stellt jedoch die größte Problematik dar.⁷¹ Es ist daher essentiell, eine Methode zu etablieren, die diese beiden Aspekte sicherstellen kann.

1.6 Diagnostik

Das Hauptproblem der Diagnostik von iDILI stellt die große Vielfalt an Präsentationsmöglichkeiten der Erkrankung und die mangelnde Zuverlässigkeit der bisherigen Diagnostikverfahren dar.⁷² Viele Patienten mit einem akuten iDILI zeigen z. B. kaum bis keine klinischen Symptome. Einige Hinweise können das Auftreten von Oberbauchbeschwerden mit druckschmerzhafter Leber, Übelkeit, reduzierter Appetit, Fatigue oder Ikterus sein. Im Labor können erhöhte Werte der ALT, AST, AP und Gamma GT (GGT) bestimmt werden.⁴⁶ Andere Patienten wiederum zeigen Merkmale eines chronischen oder autoimmunen Leberschadens mit Ausschlag, Fieber oder Lymphadenopathie.^{20,73} Zusätzlich kann die Latenz der Erkrankung erheblich, von wenigen Tagen bis hin zu einigen Jahre, variieren.⁷⁴ Intrinsisch ausgelöste DILI verlaufen oft rasant innerhalb von ein paar Tagen wie es bei Paracetamol der Fall ist.⁷⁵ Idiosynkratisches DILI hingegen variiert von einer Woche bis hin zu einem Jahr und das auch nur, wenn es sich nicht um eine Reexposition mit demselben Medikament handelt. In diesem

Fall würde der Leberschaden ebenfalls innerhalb von einigen Tagen auftreten.^{26,76} Somit ist oft ein direkter Schluss von der Einnahme eines Medikaments zum iDILI nicht möglich. Oftmals liegt die Einnahme soweit zurück, dass sie initial überhaupt nicht mehr erinnerlich ist. Dennoch ist die Kenntnis der unterschiedlichen Latenzzeiten essentiell, um das ursächliche Medikament weiter eingrenzen zu können.⁷⁶ Hierfür fehlen jedoch entsprechender Labortests, Biomarker oder bildgebend Verfahren, die ein standardisiertes diagnostisches Vorgehen ermöglichen würden.¹² Meist basiert die Diagnose daher auf der klinischen Einschätzung von Experten unter dem Ausschluss anderer Differentialdiagnosen, in Kombination mit der Anwendung eines standardisierten Fragebogens (Roussel Uclaf Causality Assessment Method, RUCAM).^{77,78} In Zusammenhang mit der ausführlichen Medikamentenanamnese, den Symptomen, Vorerkrankungen und Laborwerten, der virologischen Serologie und bildgebenden oder eventuell histologischen Befunden des Patienten, versucht der behandelnde Arzt sich der Diagnose zu nähern.^{79,76}

1.6.1 Diagnose durch Reexposition

Beweisend für die Diagnose iDILI wäre eine positive Reexposition. Hierbei wird das Medikament, das unter Verdacht steht den Leberschaden auszulösen, nach dem Absetzen und der Normalisierung der Leberwerte erneut gegeben. Kommt es nun abermals zum Anstieg der Leberwerte (hepatozellulär: Verdopplung der ALT; cholestatisch oder gemischt: Verdopplung der AP oder des Bilirubins (Bili)), ist dies als Beweis für die Kausalität des Medikaments anzusehen. Allerdings ist die vorsätzliche Reexposition, auch bei einem vorher nur leichten Leberschaden, moralisch und medizinisch sehr bedenklich. Es besteht ein relevantes Risiko einer stärkeren Reaktion auf das Medikament, unabhängig von der Schwere des initialen Leberschadens.^{63,64} Somit sollte die absichtliche Reexposition nur in Ausnahmefällen in Betracht gezogen werden. Dies wäre der Fall, wenn die Diagnose des iDILI z. B. sehr fraglich wäre. Eine weitere Situation, welche eine Reexposition rechtfertigen könnte wäre gegeben, wenn die Gefahr für den Patienten durch die unbehandelte die Grunderkrankung größer ist, als das Risiko erneut iDILI zu erleiden.⁶⁴ In den meisten Fällen wird die Reexposition jedoch nicht vorsätzlich durchgeführt, sondern geschieht unbeabsichtigt. Am häufigsten kommt dies vor, wenn der initiale iDILI nicht erkannt wurde, oder fälschlich ein anderes Medikament als Auslöser identifiziert wurde.^{72,80}

1.6.2 Diagnose durch RUCAM

Als objektive Hilfsmittel wurden verschiedene Punktesysteme etabliert. Das am häufigsten angewandte Verfahren ist der RUCAM (Anh. Abbildung 1, Anh. Abbildung 2).⁸¹⁻⁸³ Dieses Punktesystem stellt einen standardisierten und weitgehend objektiven Test dar, der den Zusammenhang zwischen dem Leberschaden und den unterschiedlichen Medikamenten quantifiziert. Hierfür enthält er sieben Kategorien in dem Punkte von -9 bis +14 erreicht werden können. Ein höheres Ergebnis (≥ 6) ist gleichbedeutend mit einer höheren Wahrscheinlichkeit, das ursächliche Medikament gefunden zu haben. Leider ist der RUCAM in seinem Aufbau eher komplex was vor allem bei Ärzten, die in seiner Anwendung unvertraut sind, zu einem ungenaueren Ergebnis führt.⁷⁹ Die Skala ist sperrig und inwiefern man die Punkte in den einzelnen Kategorien vergibt nicht immer intuitiv. Als Beispiel kann der Unterpunkt „Alkoholabusus“ betrachtet werden. Dieser wird als Risikofaktor mit +1 Punkten bewertet, allerdings wird der Schwellenwert des Alkoholkonsums nicht weiter definiert (Anzahl der Getränke pro Tag). Es geht so weit, dass selbst drei Untersucher mit der DILI Expertise, die regelmäßig den RUCAM Score anwenden, zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen. In nur 26 % der Fälle kam es zu übereinstimmenden Punktzahlen.⁸⁴ Deshalb ist fraglich ob dieses System erfolgreich von Nicht-Hepatologen im klinischen Alltag angewendet werden kann. Zudem neigt der RUCAM dazu die Anzahl der iDILI Fälle zu unterschätzen. Mit ihm kam der Großteil der Medikamente auf ein mittleres Ergebnis wie „Wahrscheinlich“ und „Möglich“, wohingegen die Expertenmeinung in denselben Fällen häufiger mit „Sicher“ und „Sehr Wahrscheinlich“ bewertete.⁸⁵ Noch komplizierter wird es, wenn mehrere Medikamente ins Spiel kommen. In vielen Fällen wurde gezeigt dass RUCAM für eine Identifikation bei Polymedikation nicht geeignet ist.^{86,71} Obwohl bereits eine Aktualisierung des RUCAM erfolgt ist, hinkt er dennoch bei der Integration neuer Erkenntnisse in der Forschung, wie zum Beispiel der individuellen HLA Variabilität hinterher.

1.6.3 Diagnose durch Experteneinschätzung

Für die Diagnose gilt, trotz Subjektivität, die Expertenmeinung als Gold Standard.⁸⁵ Hierbei ergibt sich die Möglichkeit, im Gegensatz zum RUCAM, weitere Informationen wie z. B. histologische Befunde in die Interpretation miteinzubeziehen.⁸⁷ Das Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN) hat eine standardisierte Methode für die Klassifizierung entwickelt. Diese erfolgt anhand von Wahrscheinlichkeiten wie sie in Tabelle 3 abgebildet sind. Problematisch jedoch ist die Experteneinschätzung dann, wenn es sich um Medikamente

handelt die neu auf den Markt gekommen sind und somit noch kein „typisches“ Muster bekannt ist.⁸⁸ Der Zugriff auf Vorinformationen über das beobachtete Schädigungsmuster und den zeitlichen Zusammenhang von Einnahme und Auftreten des Leberschadens ist essentiell. Zudem kommt es bei ca. 1/3 der Fälle zu keiner Übereinstimmung zwischen den Experten.⁸⁵

Tabelle 3: Bewertungssystem des Experten, DILIN

	iDILI			nonDILI	
	1	2	3	4	5
	Eindeutig	Sehr Wahrscheinlich	Wahrscheinlich	Möglich	Unwahrscheinlich
Andere Ursachen für Leberschaden ausgeschlossen	Eindeutig ausgeschlossen	Eindeutig ausgeschlossen	Unwahrscheinlich	Wahrscheinlich	Sehr wahrscheinlich
Klinische und Pathologische Charakteristika des Medikaments	Typisch	Atypisch oder Komedikation mit passenden Eigenschaften	Atypisch und Komedikation mit passenden Eigenschaften	Vereinbar mit iDILI	Atypisch

1.6.4 Diagnostik in Patienten mit Polymedikation

Falls der Patient nur ein Medikament eingenommen hat ist das ursächliche Medikament mit der Expertenmeinung und dem RUCAM relativ leicht zu identifiziert. Jedoch nimmt ein großer Teil von Patienten mehrere Substanzen ein.⁸⁹ Bei Polymedikation sind die bisherigen Diagnostikverfahren in ihrer Objektivität eingeschränkt, da z.B. die im RUCAM vorgegebenen Zeitintervalle in denen eine Reaktion als mehr oder weniger wahrscheinlich angesehen wird, nicht durch experimentelle Daten untermauert sind.^{85,86} Die Expertenmeinung wird zum Beispiel fehleranfällig, wenn die Medikation des Patienten aus häufigen iDILI Auslösern besteht und aus solchen, die weniger typisch dafür sind.⁹⁰ Der Prüfer tendiert dann eher dazu, den typischen Auslöser auszuwählen, anstatt den vielleicht weniger typischen in Erwägung zu ziehen. Zudem sind neu entwickelte Medikamente problematisch, da das Muster des Leberschadens, die Latenz und die Symptome noch nicht bekannt sind.^{72,85} Wie wichtig es jedoch ist, das tatsächlich auslösende iDILI Medikament zu identifizieren, liegt auf der Hand. Es besteht die Gefahr einer Reexposition und wie bereits erwähnt, äußert sich der

darauffolgende Leberschaden schwerwiegender, als zu Beginn.⁷² Zusätzlich steigt das Risiko therapieessentielle Medikamente fälschlicherweise abzusetzen.

1.6.5 Diagnose durch den MH Zell- Test

Um mit Sicherheit die Hepatotoxizität eines Medikaments bestimmen zu können ist eine weitere Methode die *in vitro* Testung an Leberzellen. Anfänglich wurde versucht die Hepatotoxizität an tierischen Leberzellen nachzuweisen. Es konnte jedoch gezeigt werden das Tierleberzellen ungeeignet sind,⁹¹ da die Unterschiede der Spezies in Bezug auf den Metabolismus von Medikamenten zu verschieden sind. Somit hatten sich primäre humane Hepatozyten aus Spenderlebern von z. B. Tumorresektionen als Standard entwickelt.⁹² Da diese Zellen aber in der Kultur keine hohe Stabilität aufweisen, es nur eine geringe Anzahl an Spendern gibt und vor allem zusätzlich die individuellen genetischen Charakteristika des Patienten fehlen, ist diese Methode in gewisser Hinsicht beschränkt. Genau diese individuellen Eigenschaften des Lebermetabolismus scheinen bei iDILI eine wichtige Komponente zu sein. Somit ist eine neue Art von Test nötig welcher die persönlichen Eigenschaften jedes einzelnen Patienten reflektiert.

Der MH Zell- Test stellt eine vielversprechende Methode zum Nachweis der individuellen Suszeptibilität gegenüber Medikamenten nach abgelaufenem iDILI und der Identifikation des kausalen Medikaments dar. Es handelt sich hierbei um periphere Monozyten die aus dem Blut des jeweiligen Patienten gewonnen wurden.⁹³ Diese Methode der Zellgewinnung kann während einer Routineblutentnahme erfolgen, ist somit ohne zusätzlichen Aufwand möglich und schont den Patienten. Die Zellen werden nun so verändert, dass sie Hepatozyten ähnliche Eigenschaften exprimieren (näheres hierzu siehe *Benesic et. Al, Human monocyte-derived cells with individual hepatocyte characteristics: a novel tool for personalized in vitro studies*⁹³). Nun werden die Zellen mit den jeweiligen Medikamenten inkubiert und im Anschluss daran die Laktatdehydrogenase- Aktivität (LDH) gemessen. So kann nun beurteilt werden welches der Medikamente eine toxische Reaktion auf die Leber auslöst.⁸⁰

Der MH Zell- Test stellt das erste objektive Verfahren dar, das zusätzlich die spenderspezifischen Eigenschaften der Zellen widerspiegeln kann. In einer vorhergehenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass er mit einer ähnlichen Sensitivität wie die klinische Beurteilung eines Experten und mit besserer Sensitivität und Spezifität als der RUCAM, die iDILI Fälle diagnostizieren kann. Außerdem stellt er eine Verbesserung zum Ausschluss eines iDILI dar.⁷

1.7 Therapie

Der erste Schritt in der Therapie des iDILI ist das Absetzen des auslösenden Medikaments. Dies wird als kausalste Maßnahme primär empfohlen, ist aber in seiner Evidenz bisher noch nicht nachgewiesen. Es erscheint jedoch logisch, dass das leberschädigende Medikament pausiert werden sollte.⁹⁴ Im Fall von Paracetamol würde die Therapie mit dem Antidot Acetylcystein erfolgen.⁹⁵ Medikamente wie Erythromycin, Penicilline oder Phenytoin, die in ihrer Präsentation einer Autoimmunhepatitis ähneln, werden wie diese mit Kortikosteroiden und Azathioprin behandelt.^{96,73} Der Großteil der iDILI Fälle kann jedoch letztlich nur symptomatisch therapiert werden, da durch den variablen Verlauf der Erkrankung keine Standardtherapie existiert. Generell ist wichtig, dass der Beginn der Therapie nicht unnötig verzögert wird und das Absetzen des Medikaments erfolgt.⁹⁷ Diese Behandlung kann jedoch nur erfolgen wenn iDILI eindeutig diagnostiziert wurde.

1.8 Ziel der Studie

Bisher gibt es kaum Meldesysteme speziell für medikamenten- induzierte Leberschäden, somit ist die Inzidenz nur bedingt einschätzbar.⁵³ Der Aufbau eines solchen Systems ist zusätzlich durch die schwierige Diagnose und vor allem die Kausalitätsbestimmung erschwert: Zwar kann durch den Ausschluss anderer Ursachen ein DILI mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden, jedoch ist die Bestimmung des Auslösers bei Patienten mit Exposition gegenüber mehreren Medikamenten häufig extrem schwierig.

Bislang wird als Goldstandard für die Diagnose und Kausalität die Expertise erfahrener Hepatologen herangezogen. Die Diagnose fußt hier vor allem auf dem Ausschluss nicht-medikamentöser Ursachen für den Leberschaden. Auf der Basis von vorhandenen Daten zur Häufigkeit von publizierten Fällen, in welchen das Medikament involviert war, sowie Schädigungsmuster und Latenzzeit wird die kausale Substanz bestimmt. Auch bei Wirkstoffkombinationen (wie Amoxicillin/ Clavulansäure) wird auf das vorhandene Wissen zurückgegriffen. Allerdings sind durch dieses Vorgehen neu auf den Markt gekommene Wirkstoffe oder bis dato unbekannte Wirkstoffinteraktionen schwer beurteilbar, bis genug Informationen im Rahmen der klinischen Verwendung zustande gekommen sind. Bei Medikamenten, für welche DILI-Ereignisse gut dokumentiert sind, besteht umgekehrt die Gefahr, dass sie allein aufgrund ihres bekannten Risikos vorschnell als Ursache gewertet werden.

Der RUCAM, der als objektiver Test zur Unterstützung der Experteneinschätzung dient, ist ebenfalls dafür bekannt bei komplexen Fällen wie es bei Polymedikation der Fall ist, ungenauere Ergebnisse zu liefern. Somit besteht ein dringender Bedarf weitere und objektivere Verfahren zur Kausalitätsbestimmung bei DILI zu entwickeln und zu evaluieren. Der MH Zell- Test scheint ein vielversprechendes Verfahren zu sein, welches insbesondere bei Polymedikation häufiger einen Auslöser identifizieren kann, als der RUCAM. Durch ihn könnte die Experteneinschätzung in unschlüssigen Fällen besser unterstützt werden.

Durch die prospektive Gewinnung der Daten von Patienten mit akuter Leberschädigung und Verdacht auf DILI soll in dieser Arbeit ein Vergleich zwischen der Genauigkeit des RUCAM-Scores und dem MH Zell- Test als in vitro System gemacht werden. Als Goldstandard für die Diagnose von DILI und die Identifizierung der auslösenden Substanz wurde die Expertenmeinung verwendet. Es erfolgte eine Gegenüberstellung von RUCAM und MH-Zell Test zur Kausalitätsbestimmung. Speziell wurden auch Patienten mit Polymedikation betrachtet. In einer früheren Studie konnte die Aussagekraft des MH Zell- Tests bereits belegt werden (Datensatz 1)⁷. Zunächst sollte im Vergleich mit einer größeren Patientenkohorte (Datensatz 2) überprüft werden, inwieweit eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu Sensitivität und Spezifität für MH Zell- Test und RUCAM gegeben ist. Im weiteren Verlauf der Analyse bilden die beiden Datensätze dann ein gemeinsames Kollektiv, in welchem der MH Zell- Test dem RUCAM gegenübergestellt wird.

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit betrachtet prospektive Daten von Patienten die mit einem akuten Leberschaden in das Klinikum der LMU Großhadern eingeliefert wurden. Diese Patienten wurden durch die Ärzte der Medizinischen Klinik II, als auch durch das klinikinterne Klinische Arbeitsplatzsystem (KAS) ausfindig gemacht. Sofern iDILI als relevante Differentialdiagnose in Betracht kam, und die Einschlusskriterien (siehe 2.1) als erfüllt galten konnten die Patienten in die Studie NCT 02453455 eingeschlossen werden. Das Protokoll wurde von der medizinischen Ethikkommission der LMU bewilligt (Projekt Nummer 55 - 13) und ist mit den ethischen Richtlinien der Deklaration von Helsinki konform.

2.1 Einschlusskriterien

Um die Einschlusskriterien zu erfüllen, musste ein Leberschaden vorliegen. Die Kriterien hierfür waren neu aufgetretene Leberenzym erhöhungen wie:⁹⁸

- ALT Wert $\geq 5x$ ULN
- Kombination aus ALT $\geq 3x$ ULN und zusätzlich Bili $\geq 2x$ ULN
- AP $\geq 2x$ ULN

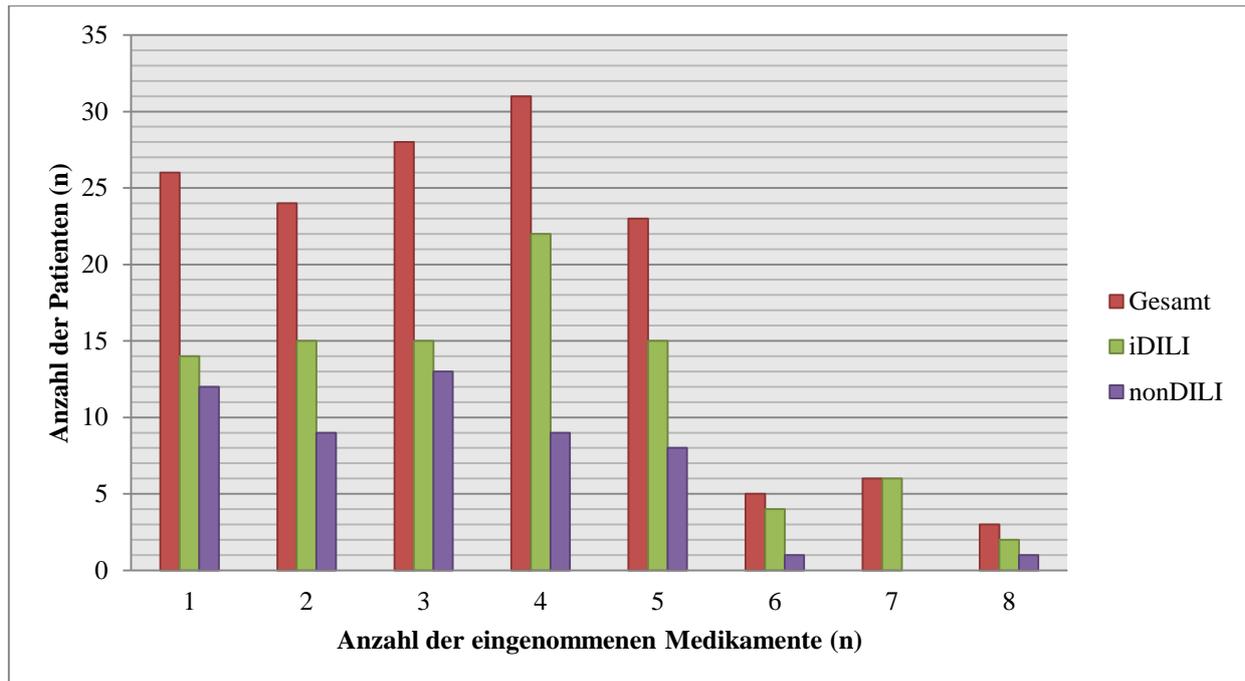
Zusätzlich musste, in einem Zeitraum von bis zu sechs Monate vor dem Leberschaden, die Einnahme von mindestens einem Medikament erfolgt sein. Der erste Tag des Leberschadens wurde als erstmals dokumentierte Erhöhung der Leberparameter definiert. Alternativ können, statt der erhöhten Laborparameter, typische Symptome eines Leberschadens, wie Ikterus oder dunkler Urin, vorgelegen haben. Nachdem die schriftliche Einwilligung des Patienten vorlag, wurden die Patientendaten und eine Blutprobe für den MH Zell- Test entnommen (20 – 40ml EDTA Blut).⁹³

2.2 Patientenkollektiv

Die Einschlusskriterien erfüllten 146 Probanden. Davon stammten 54 Patienten aus Datensatz 1. Die Patienteninformationen stammen aus früheren Recherchen⁹⁹ die in einem Zeitraum von 24 Monaten bis Mai 2016 rekrutiert wurden. Eine eigenständige Analyse dieser Patienten ist bereits erfolgt.⁷ Weitere 92 Patienten stammten aus Datensatz 2, dieser wurde ebenfalls über 24 Monate bis Mai 2018 erhoben.

Zusammengenommen aus Beiden Datensätzen waren nun 79 Patienten männlich und 67 weiblich. Es gab 93 iDILI Fälle und 53 Fälle die einer anderen Ursache geschuldet waren (hier bezeichnet als nonDILI). Die teilnehmenden Patienten hatten ein durchschnittliches Alter von 55 Jahre, die Altersverteilung erstreckte sich von 2 – 85 Jahren. 85 % der iDILI Patienten und 77 % der nonDILI Patienten nahmen mehr als ein Medikament ein. Die genaue Anzahl an Medikamenten die von den Patienten eingenommen wurden ist in Abbildung 1 zu sehen.

Abbildung 1: Anzahl der eingenommenen Medikamente von iDILI und nonDILI Probanden



2.3 Datenerhebung Patienten

Von allen Patienten wurde eine ausführliche Anamnese erhoben (Anh. Tabelle 1). Hierzu zählten zum einen die demographischen Daten (Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Geburts- und Aufenthaltsland, Ethnizität). Die ausführliche Patientengeschichte wurde von den jeweiligen rekrutierenden Mitarbeitern mit einem einheitlichen Fragebogen dokumentiert. Weitere Aspekte die abgefragt wurden waren Alkohol und Nikotinkonsum, Vorerkrankungen, Symptome zum Zeitpunkt des Leberschadens (Fatigue, Schwäche, Übelkeit, Appetitlosigkeit, Bauchschmerzen, dunkler Urin, Pruritus, Fieber, Exanthem, Ikterus, Enzephalopathie) sowie der Ausschluss anderer Einflussfaktoren die Leberwertveränderungen bzw. Leberschäden verursachen können (Ischämie, Hypotonie, Hypoxämie, Herzinsuffizienz, Sepsis, Schwangerschaft). Diese Kriterien wurden gemäß eines Experten Konsensus definiert, um die

Diagnose iDILI möglichst eingrenzen oder ausschließen zu können.^{100,101} Die Nachbearbeitung der Patienten bestand aus der Entnahme von Routine Leberwerten (ALT, AST, Bili, AP) bis zur vollständigen Normalisierung dieser Werte, mindestens aber bis sechs Monate nach dem Ereignis. Somit konnte der weitere klinische Verlauf der Patienten dokumentiert werden (Remission, Chronizität, Lebertransplantation oder Tod). Anhaltende Bili und AP Werte für 30 – 60 Tage nach iDILI Diagnose wurden als chronischer Verlauf gewertet.⁵⁹

2.4 Medikamentenanamnese

Die Medikamentenanamnese umfasste die aktuelle und vorausgegangene Medikation des Patienten. Hierzu zählten zum einen verschreibungspflichtige sowie frei verkäufliche Medikamente als auch Phytopharmaka und Nahrungsergänzungsmittel. Es wurde sowohl die tägliche Dosis in Milligramm (mg) als auch die zeitliche Einnahme dokumentiert. Darunter fiel der Start, das Ende und eventuelle Einnahmepausen des Medikaments. Falls der zeitliche Verlauf nicht mehr exakt erinnerlich war und ein vages Datum wie Oktober 2015 angegeben wurde, notierten wir dies als 01.01.2015. Das Ende der Medikamenteneinnahme wurde im selben Stil dokumentiert. Wenn die Einnahme bis zum Tag der Anamnese weitergeführt wurde und auch in Zukunft voraussichtlich weitergeführt wird, wurde ein in der Zukunft liegendes Datum, z. B. 01.01.2030 gewählt. In manchen Fällen war die tägliche Dosis oder der genaue zeitliche Verlauf der Medikamenteneinnahme nicht eruierbar. Unter solchen Umständen wurde angenommen dass das Medikament gemäß der Krankheit entsprechenden Standarddosierung eingenommen wurde, sowie über den dafür vorgesehenen, im Beipackzettel beschriebenen Zeitraum. Anhand der angegebenen Medikamente wurden im nächsten Schritt diejenigen identifiziert, die als plausible Ursache für den Leberschaden in Frage kamen. Medikamente die nicht im zeitlichen Zusammenhang mit dem Leberschaden standen wurden nicht berücksichtigt. Dies betraf alle Substanzen die zeitlich nach dem Beginn des Leberschadens zum ersten Mal eingenommen wurden. Zudem wurden alle Opioid- artigen Medikamente ausgeschlossen. Diese sind trotz weit verbreiteter Anwendung nicht dafür bekannt, in physiologischen, analgesierenden Dosen Leberschäden zu verursachen.^{102,103} Passte nun sowohl der zeitliche Verlauf zwischen der medikamentösen Einnahme und dem Leberschaden, das klinische Bild und der klinische Verdacht, so wurde mit den gewonnenen MH- Zellen des Patienten die entsprechenden Testungen durchgeführt.⁹³

2.5 Berechnung des RUCAM

Als nächstes wurde der RUCAM für jedes Medikament des Patienten berechnet. Ein Medikament galt im RUCAM als iDILI Auslöser, wenn der Wert ≥ 6 war. Dies wurde dem Standard entsprechend durchgeführt.¹⁰⁴ Lediglich die sechste Kategorie des RUCAM wurde von uns soweit spezifiziert, dass das Medikament als hepatotoxisch galt, falls ein Vermerk darüber im entsprechenden Beipackzettel zu finden war (Tabelle 4). Um zu überprüfen ob Fallberichte über die Toxizität des jeweiligen Medikaments publiziert wurden, wurde die Webseite <http://livertox.com> verwendet und eine Literaturrecherche in PubMed durchgeführt.

Tabelle 4: RUCAM Kategorie 6: Vorinformationen über die Lebertoxizität des Medikaments

Vorinformationen über die Lebertoxizität des Medikaments	Punkte
Hepatotoxizität in Packungsbeilage beschrieben	+ 2
Fälle von Hepatotoxizität veröffentlicht aber nicht in Packungsbeilage beschrieben	+ 1
Hepatotoxizität nicht bekannt	+ 0

Die Einteilung des Leberschadens in hepatozellulär, cholestatisch oder gemischt wurde mithilfe des im RUCAM enthaltenen R- Quotienten durchgeführt.

2.6 Erhobene Laborparameter

Die laborparametrischen Normwerte entsprachen denen des Klinikums der Universität München. Folgende Routineparameter wurden bestimmt: Alanin- Aminotransferase, Aspartat- Aminotransferase, Gesamtbilirubin, Alkalische Phosphatase, Gamma GT, Leukozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, INR. Eine geschlechterspezifische Anpassung der Normwerte wurde nicht vorgenommen. Als Referenzwert der Leberparameter wurde der ULN angegeben, der bei AST und ALT bei 35 U/ L bei Frauen, bzw. 50 U/ L bei Männern lag. Der AP Wert war für Frauen als 105 U/ L und für Männer als 135 U/ L festgelegt. Der Bilirubin ULN lag bei beiden Geschlechtern bei 1 mg/ dl.

Zum Ausschluss virologischer Ursachen wurden Testungen für Hepatitis A, B, C und E, HIV, Cytomegalie- und Epstein- Barr- Virus veranlasst. Autoimmune Ursachen wurden mittels Antinukleäre Antikörper (ANA), Antikörper gegen glatte Muskulatur (Anti- smooth muscle

antibodies, ASMA), LKM1- Antikörper (Liver- kidney microsomal antibodies, LKM1), Anti- SLA- Antikörper (soluble liver antigen, SLA) und Immunglobulin G (IgG) ausgeschlossen. Wenn indiziert, wurde eine Leberbiopsie durchgeführt. Eine Erweiterung der laborparametrischen Diagnostik wurde, wenn indiziert, ebenfalls durchgeführt (Anh. Tabelle 2). Dies diente zur Identifikation von möglichen Differentialdiagnosen von iDILI sowie zur Berechnung des RUCAM.

2.7 Schweregrad des Leberschadens

Aus der Gesamtheit der Labordaten wurden fünf Tage mit den dazugehörigen Laborwerten ausgewählt. Diese standen repräsentativ für den Verlauf der Erkrankung und mit ihnen wurde der Schweregrad der Leberschädigung bestimmt (Tabelle 5).⁹⁸ Die Kriterien hierfür lauteten wie folgt:

1. Es wurden ausschließlich Laborwerte ausgewählt die nach dem Ereignis des Leberschadens abgenommen wurden
2. Wenn dokumentiert, wurde der erste Tag der Leberwerterhöhung als Referenzwert ausgewählt
3. Falls der Zeitpunkt des Leberschadens im Labor nicht erfasst wurde, wurden die Werte des ersten stationären bzw. ambulanten Aufenthaltes des Patienten genommen
4. Die Laborwerte der Tage mit dem höchsten ALT, dem höchsten gesamt Bilirubin, der höchsten AP und des höchsten INR wurden ausgewählt

Zusätzlich als fünfte Kategorie wurde ein Schweregrad „Minimal“ hinzugenommen. Dieser reflektierte die Fälle mit einem Leberwertanstieg der nicht die Kriterien der Kategorie „Mild“ erfüllte, jedoch klinisch von den behandelnden Ärzten als abklärungsbedürftig eingestuft worden war. In dieser Kategorie finden sich vor allem Fälle mit führender Erhöhung der Gamma-GT.

Tabelle 5: Schweregrad des Leberschadens

Kategorie	Schweregrad	
1	Minimal	ALT ≥ 3 und $< 5 \times$ ULN, AP $< 2 \times$ ULN und/ oder GGT $\geq 2 \times$ ULN; Bili $< 2 \times$ ULN
2	Mild	ALT $\geq 5 \times$ ULN oder AP $\geq 2 \times$ ULN mit Bili Erhöhung $> 2 \times$ ULN
3	Moderat	ALT und/oder AP Erhöhung mit Bili $\geq 2 \times$ ULN oder Symptome
4	Schwer	ALT und/ oder AP Erhöhung mit Bili $\geq 2 \times$ ULN und eines der folgenden Aspekte: - Aszites und/ oder Enzephalopathie, < 26 Wochen und keine zugrundeliegende Leberzirrhose - INR $\geq 1,5$ - Andere Organschäden die DILI zugeordnet werden können
5	Tödlich/ Transplantation	Tod oder Transplantation aufgrund von einem akuten Leberschaden

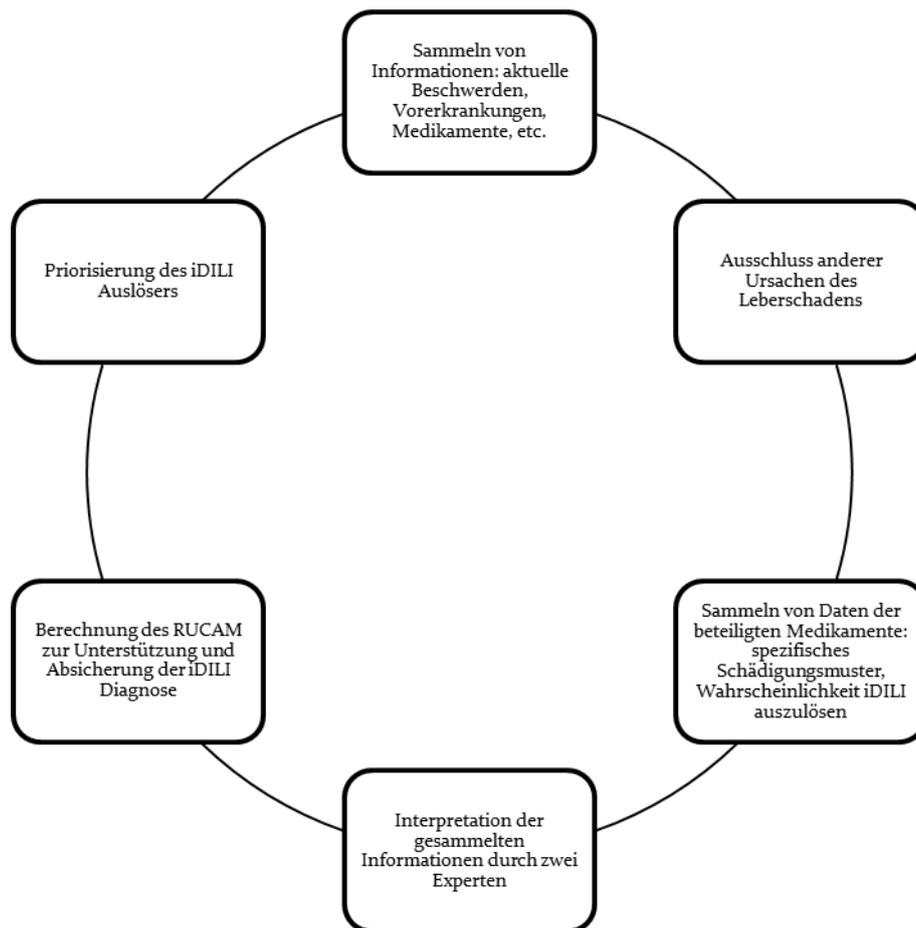
2.8 Bildgebung

Um eine Cholestase als mögliche Differentialdiagnose auszuschließen, wurde bei jedem der Patienten ein abdomineller Ultraschall der Leber durchgeführt. Falls auch hier weitere Diagnostik indiziert schien, wurde diese durchgeführt (CT, MRT oder MRCP).

2.9 Diagnose iDILI

Die finale Diagnose eines iDILI wurde anhand des DILIN Ansatzes gestellt. Dies bedeutete, dass mindestens zwei Experten den Fall mit Hilfe des RUCAM bewerteten. Bei den zwei Experten handelte es sich um Andreas Benesic (Experte der LMU im Bereich Arzneimittel Leberschäden) und Isabelle Rotter (Doktorarbeit über Arzneimittel- induzierte Leberschäden). Diese Beurteilung wurde mit jedem der involvierten Medikamente durchgeführt ohne die Ergebnisse des MH Zell- Test zu kennen.

Durch die Elimination von möglichen Differentialdiagnosen und der Beurteilung der gesammelten Informationen (z. B. über das Schädigungsmuster des jeweiligen Medikaments, die Anamnese, die Serologie, etc.), wurde für jedes Medikament die Möglichkeit geprüft, den iDILI verursacht zu haben (Tabelle 3). Informationen über das typische Schädigungsmuster der Medikamente und dessen Neigung iDILI zu verursachen wurden mittels Daten aus der Literatur, der *LiverTox* Webseite, als auch aus dem Beipackzettel gesammelt und beurteilt. Zudem wurde geprüft, ob Informationen über eine positive oder negative Reexposition vorlagen. Dies wurde dann in die Bewertung mitberücksichtigt. Die klinische Experteneinschätzung wurde später als Referenz für den RUCAM und den MH Zell- Test herangezogen. Das genaue Vorgehen ist auf Abbildung 2 gezeigt.

Abbildung 2: Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf iDILI

2.10 MH Zell- Test

Während einer Routineblutabnahme wurde nach Aufklärung und schriftlichem Einverständnis des Patienten zusätzliches EDTA Blut abgenommen und die daraus isolierten Monozyten wurden unter den publizierten Bedingungen kultiviert.⁹³ Daraufhin wurden die Zellen mit den in Frage kommenden Medikamenten inkubiert und die Toxizität nach 48 h gemessen. Die Ergebnisse wurden mit denen von gesunden Spenderzellen abgeglichen, um sicherzustellen, dass die Toxizitätssignale individuelle Unterschiede repräsentieren.⁹³ Die Ergebnisse galten als positiv, wenn die normierten Werte ≥ 2 waren. Um eine Verzerrung zu vermeiden, wurden die Experimente ohne Wissen über den RUCAM oder die Kausalbewertung der Experten durchgeführt.

2.11 Statistische Methoden

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 24.0.0.1). Die deskriptiven Daten wurden als Median und Spannweite dargestellt. Alle quantitativen Variablen wurden zunächst auf ihrer Normalverteilung hin untersucht. Im Anschluss wurden parametrische und nicht-parametrische Tests angewandt (Chi-Quadrat Test, Exakter Fisher Test, Student-t-Verteilung, Mann-Whitney-U Test). Die Ergebnisse wurden als signifikant eingestuft, wenn $p < 0,05$ war. Mithilfe von Kreuztabellen wurde die Leistung der verschiedenen Tests überprüft. Hierzu zählten die Berechnung der Sensitivität, Spezifität, des positiven prädiktiven Wertes (PPV) und des negativen prädiktiven Wertes (NPV).

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich beider Datensätze

Der Vergleich der beiden Datensätze erfolgt um sicherzustellen, dass der MH- Zell- Test auch in einer zweiten Testgruppe mit höheren Fallzahlen gute Ergebnisse erbringt.

Die Patientencharakteristika der zwei Kollektive sind in Tabelle 6 (Anh. Tabelle 3) aufgeführt. Im ersten Datensatz hatte die Mehrzahl ein hepatozelluläres Verteilungsmuster (65 % vs. 47 %; $p = 0,016$). Zudem präsentierte sich ein schwererer Leberschaden, es gab häufiger Lebertransplantationen zu verzeichnen und mehr verstorbene Patienten (37 % vs. 24 %; $p = 0,020$). Der weitere Krankheitsverlauf unterschied sich jedoch nicht. Bei einem Großteil konnte eine Remission beobachtet werden (70 % vs. 87 %). Im zweiten Datensatz gab es unterdessen mehr gemischte (18 %) und cholestatische Leberschäden (36 %). Der Verlauf der Erkrankung war unterdessen meist moderat (62 %). Ein signifikanter Unterschied ließ sich in der Anzahl der eingenommenen Medikamente nachweisen ($p = 0,046$). Im Datensatz 1 waren 74 % polymediziert, 26 % der Patienten nahmen nur ein Medikament ein. Im Mittel waren es drei Substanzen pro Person. Im Datensatz 2 waren 87 % polymediziert und 13 % mit nur einem Medikament. Hier waren es im Mittel vier Substanzen pro Person.

Tabelle 6: Patientencharakteristika; Vergleich Datensatz 1 und Datensatz 2

	Datensatz 1	Datensatz 2	p- Wert
	(n = 54)	(n = 92)	
Alter, Jahre \bar{x}	55	53	
Weiblich, %	44	47	0,788
Kaukasisch, %	96	99	0,408
BMI (kg/ m²), \bar{x}	22	24	
ALF, %	30	21	0,776
Leberzellschaden			
Hepatozellulär, %	65	47	0,016*
Gemischt, %	4	18	
Cholestatisch, %	31	36	
Schweregrad			
Minimal, %	0	5	0,020*
Leicht, %	20	9	
Moderat, %	43	62	
Schwer, %	20	16	
Tod/ LTx, %	17	8	
Verlauf			
Remission, %	70	86	0,113
Chronisch, %	11	8	
Tod, %	6	2	
LTx, %	13	4	
Anzahl der			
Medikamente			
1, %	26	13	0,046*
2 – 3, %	43	32	
\geq 4, %	31	55	
Polymedikation (\geq 2), %	74	87	
Median, n	3	4	

*p < 0,05

Der MH Zell- Test konnte 94 % der iDILI Patienten im Datensatz 1 korrekt identifizieren, im Datensatz 2 waren es 97 %. Gleichmaßen konnte der Test die nonDILI Fälle mit 100 % im

Ersten und 97 % im Zweiten korrekt identifizieren. Der RUCAM schnitt im Vergleich dazu bei beiden Datensätzen schlechter ab (Tabelle 7, Anh. Tabelle 4).

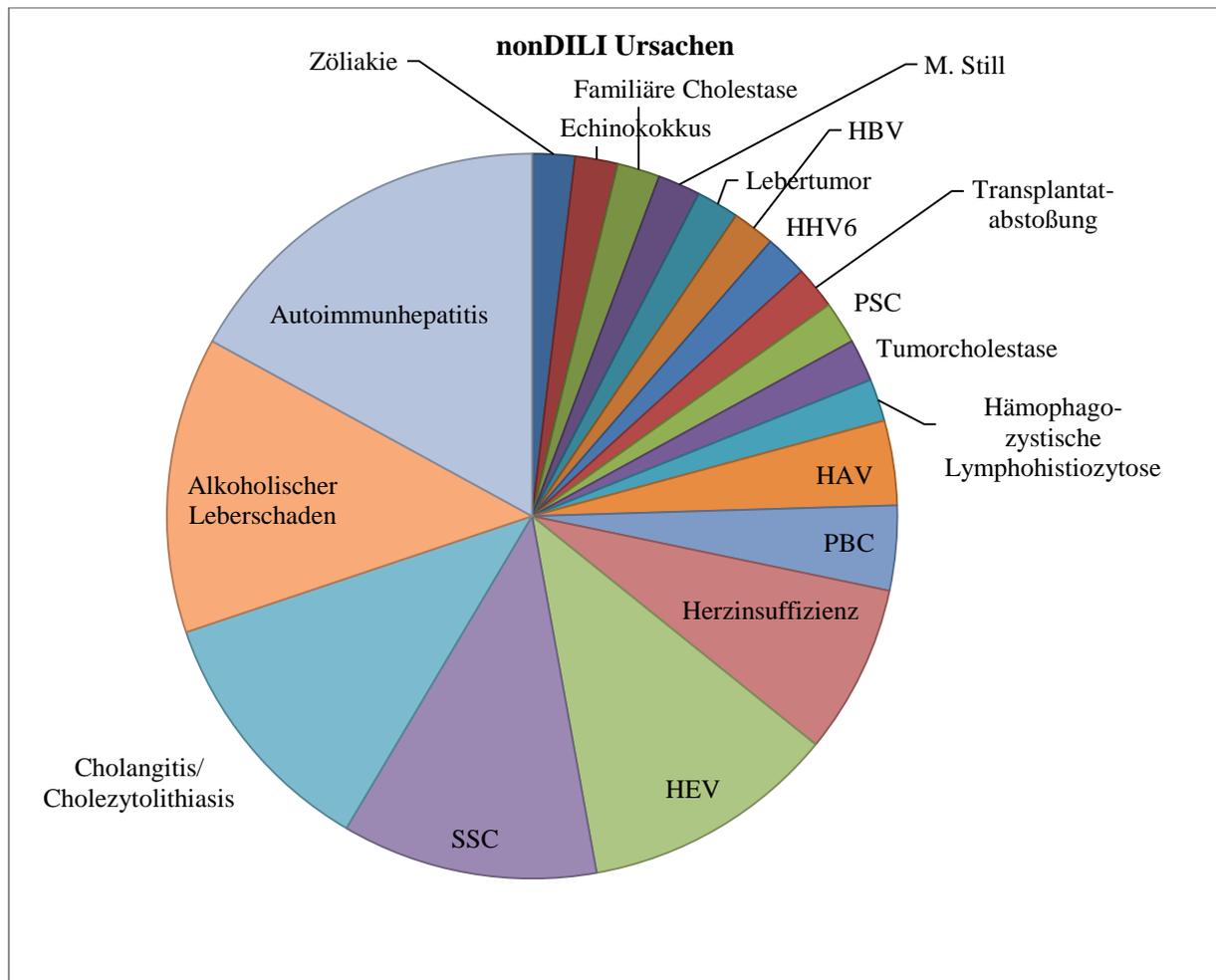
Tabelle 7: Vergleich der Ergebnisse des MH Zell- Test und des RUCAM beider Datensätze

	Datensatz 1	Datensatz 2	Datensatz 1	Datensatz 2
	iDILI	iDILI	nonDILI	nonDILI
MH Zell- Test	94	97	100	97
korrekt, %				
RUCAM	97	66	74	87
korrekt, %				

3.2 Vergleich des Gesamtkollektives zwischen iDILI und nonDILI

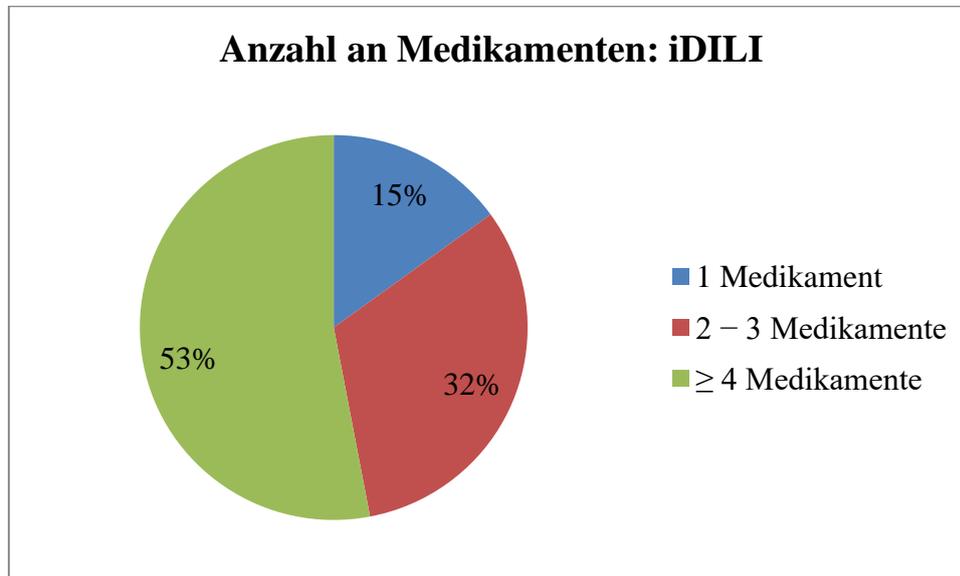
Von den insgesamt 146 Patienten mit Leberschädigung unbekannter Ursache konnten bei 64 % ein medikamentös induzierter Leberschaden im Sinne eines iDILI diagnostiziert werden. Die restlichen 36 % waren nonDILI Leberschäden, wobei die häufigsten Ursachen folgende waren: Autoimmunhepatitis (n = 9), Alkohol induzierter Leberschaden (n = 7), sekundär sklerosierende Cholangitis (n = 6), Infektion mit Hepatitis E (n = 6), Cholezystitis/Cholelithiasis (n = 6), Herzinsuffizienz (n = 4) (Abbildung 3, Anh. Tabelle 5).

Abbildung 3: Ursachen für nonDILI Leberschäden



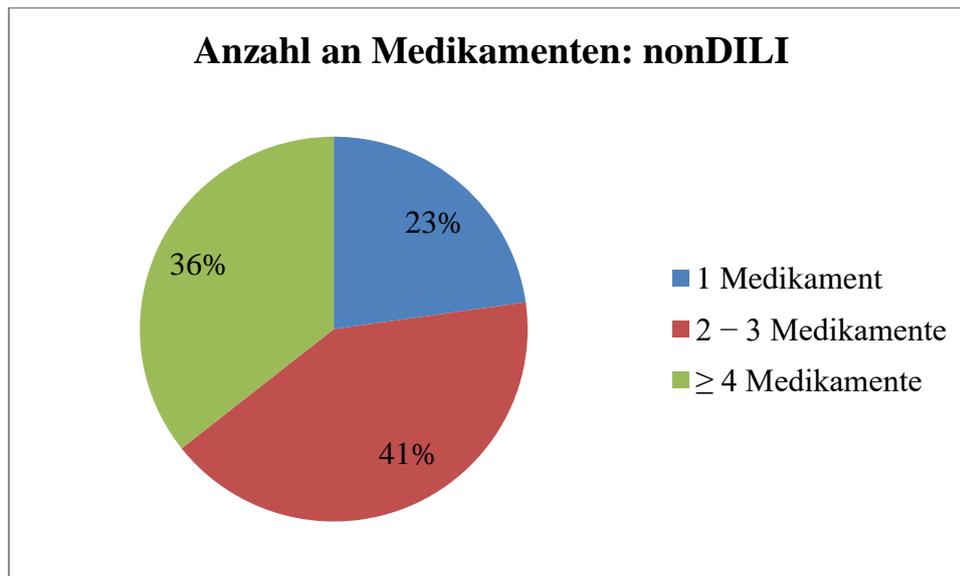
85 % der iDILI Patienten waren zum Zeitpunkt des Leberschadens polymediziert, wobei 53 % mehr als vier verschiedene Medikamente einnahmen (Abbildung 4).

Abbildung 4: Anzahl an eingenommenen Medikamenten; iDILI Gruppe



Dabei belief es sich meist auf einen moderaten Schaden (57 %) und das Verteilungsmuster war hauptsächlich hepatozellulärer Art (61 % vs. 38 %; $p = 0,012$).

Von den nonDILI Fällen waren 77 % polymediziert, der Großteil nahm zwischen zwei bis drei Medikamenten ein (41 %, Abbildung 5).

Abbildung 5: Anzahl an eingenommenen Medikamenten; nonDILI Gruppe

Auch hier belief sich der Leberschaden meist auf ein moderates Level (57 %). Hauptsächlich handelte es sich um cholestatische Leberschäden (49 % vs. 26 %; $p = 0,012$). Bei beiden Gruppen stellt sich meist eine Remission der zugrundeliegenden Erkrankung ein (Tabelle 8).

Tabelle 8: Vergleich iDILI und nonDILI: Schädigungsmuster, Schweregrad, Verlauf und Anzahl der Medikamente

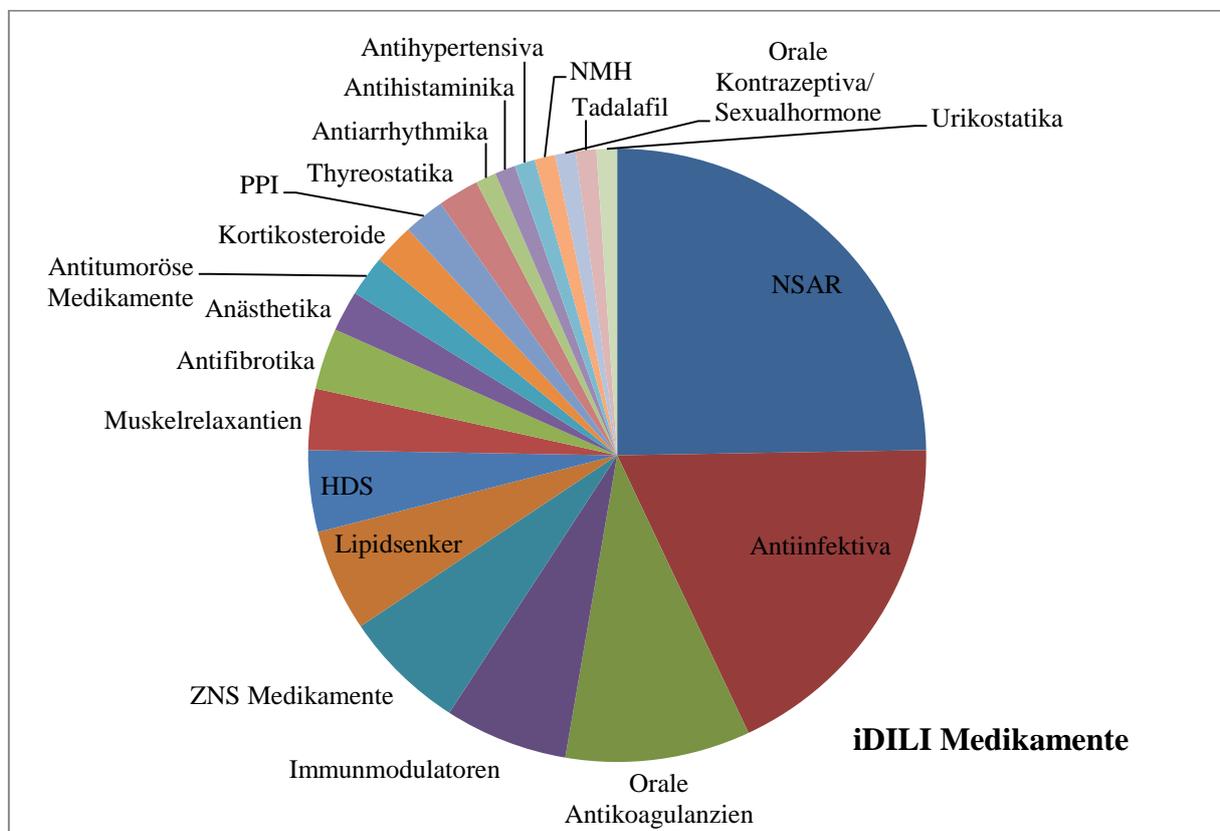
	iDILI (n = 93)	nonDILI (n = 53)	p- Wert
Alter, Median (Bereich)	55 (2-79)	53 (20-85)	0,836
Weiblich, %	48	42	0,423
Kaukasisch, %	98	98	0,408
BMI (kg/ m²), ø	23	25	0.037*
Schädigungsmuster			
Hepatozellulär, %	61	38	0,012*
Gemischt, %	13	13	
Cholestatisch, %	26	49	
Schweregrad			
Minimal, %	4	2	0,134
Leicht, %	15	9	
Moderat, %	54	57	
Schwer, %	13	26	
Tod/ LTx, %	13	6	
ALF, %	25	23	
Verlauf			
Remission, %	82	77	0,154
Chronisch, %	5	15	
Tod durch Leberschaden, %	2	4	
Tod nicht Leber-assoziert, %	1	0	
LTx, %	10	4	
Anzahl der Medikamente			
1, %	15	23	0,420
2 – 3, %	32	42	
≥ 4, %	53	36	
Polymedikation (≥ 2), %	85	77	
Median, n	3,5	3	

*p < 0,05

3.3 iDILI Auslöser

Insgesamt waren 52 unterschiedliche Medikamente Ursache für iDILI, davon waren 8 % HILI Fälle. Die häufigste Ursache stellten mit 25 % die NSAR dar (Abbildung 6, Anh. Tabelle 6). Innerhalb dieser Gruppe fielen mehr als die Hälfte der Fälle auf Diclofenac zurück (52 %), gefolgt von Metamizol als zweithäufigstes NSAR (35 %). An zweiter Stelle als iDILI Auslöser kamen mit 18 % die Antiinfektiva. Hier war der häufigste Wirkstoff das Antibiotikum Amoxicillin/ Clavulansäure (35 %).

Abbildung 6: Häufigsten Medikamentengruppen für iDILI

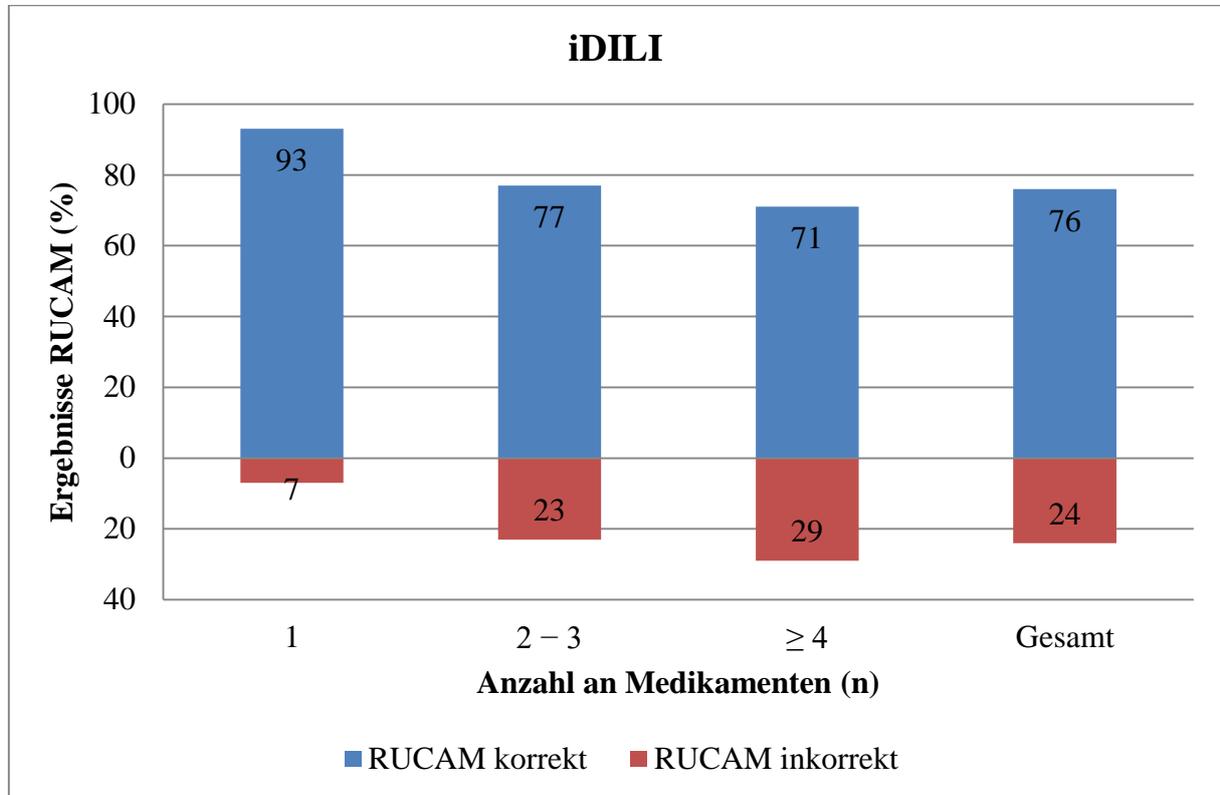


3.4 Diagnose und Kausalitätsbewertung mit Hilfe des RUCAM

Um den diagnostischen Nutzen des RUCAM und dem MH Zell- Test bei Patienten mit Polymedikation sinnvoll abschätzen zu können, wurden das Ergebnis beider Tests mit dem Ergebnis der Kausalitätsbewertung zweier Experten verglichen. Deren Ergebnis wurde als Standardreferenz herangezogen. Hierbei lieferte der RUCAM in 76 % der Fälle ebenfalls positive Ergebnisse für das von den Experten identifizierte iDILI Medikament. Dabei zeigte er

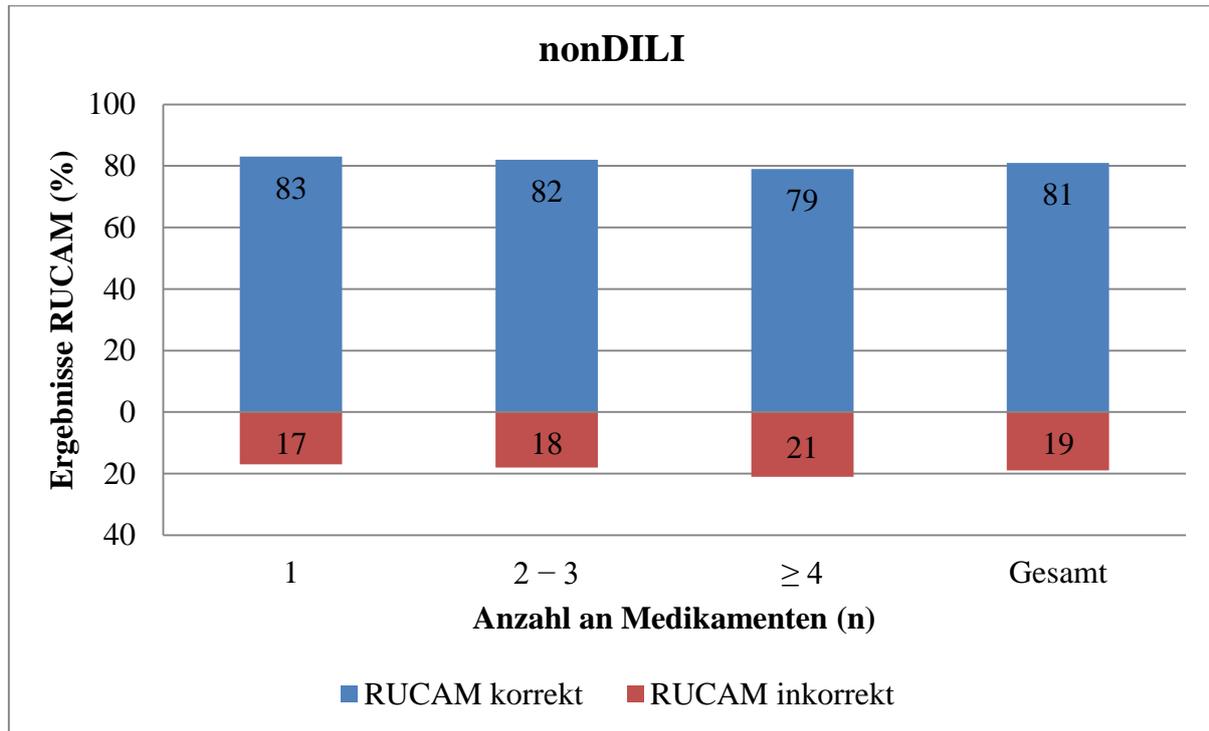
bei Einzelmedikation mit 93 % ein besseres Ergebnis als bei Polymedikation: 77 % bei 2 – 3, und 71 % bei ≥ 4 Medikamenten (Abbildung 7, Anh. Tabelle 7).

Abbildung 7: Ergebnisse des RUCAM in der iDILI Gruppe; unterschiedlicher Anzahl an Medikamenten



Bei den nonDILI Fällen lieferte der RUCAM insgesamt in 81 % der Fälle ebenfalls negative Ergebnisse (Abbildung 8, Anh. Tabelle 8).

Abbildung 8: Ergebnisse des RUCAM in der nonDILI Gruppe; unterschiedlicher Anzahl an Medikamenten



Betrachtete man das Ergebnis des RUCAM aller Patienten, kam man auf eine Sensitivität von 73 % und eine Spezifität von 81 % (Tabelle 9).

Tabelle 9: RUCAM in allen Patienten

Sensitivität & Spezifität; Positiv prädiktiver Wert (PPV) & Negativ prädiktiver Wert (NPV)

RUCAM gesamt	iDILI (n)	nonDILI (n)	
RUCAM ≥ 6	71	10	PPV 88 %
RUCAM < 6	22	43	NPV 66 %
	Sensitivität 83 %	Spezifität 81 %	Treffergenauigkeit 78 %

Betrachtete man andererseits die Patienten mit Polymedikation (≥ 2 Medikamente) schnitt der RUCAM mit einer Sensitivität von 73 % und eine Spezifität von 81 % ab (Tabelle 10).

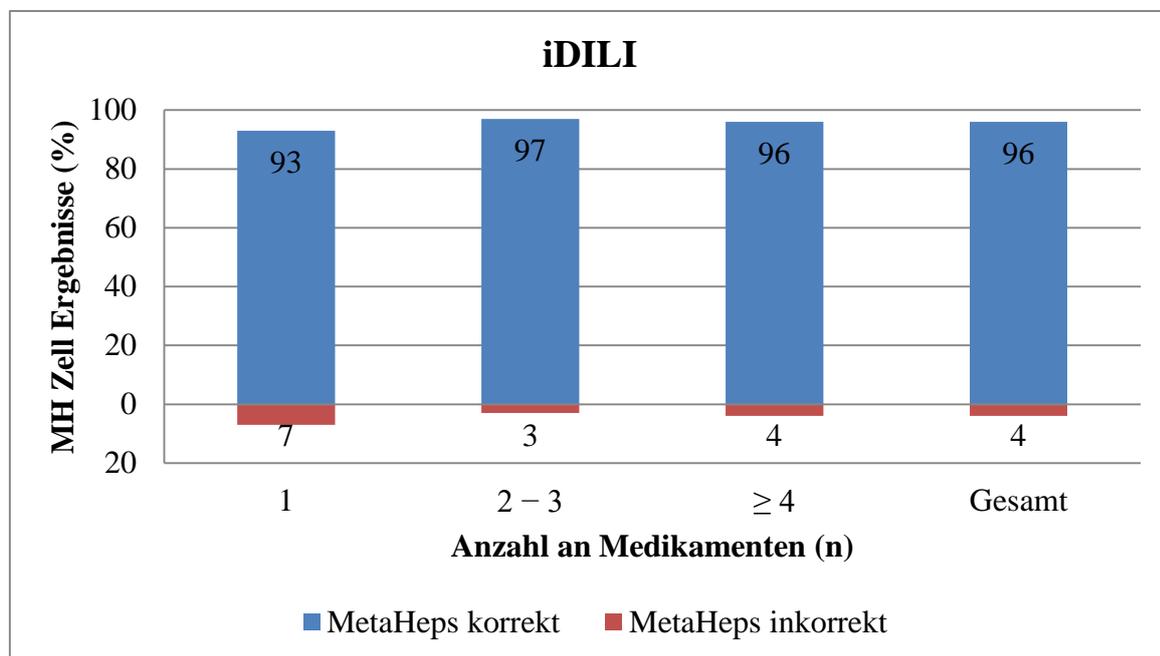
Tabelle 10: RUCAM bei Polymedikation**Sensitivität & Spezifität; PPV & NPV**

RUCAM bei Polymedikation	iDILI (n)	nonDILI (n)		
RUCAM \geq 6	58	8	PPV	88 %
RUCAM < 6	21	33	NPV	61 %
	Sensitivität	Spezifität	Treffergenauigkeit	
	73 %	81 %	76 %	

3.5 Diagnose und Kausalitätsbestimmung mit Hilfe des MH Zell- Test

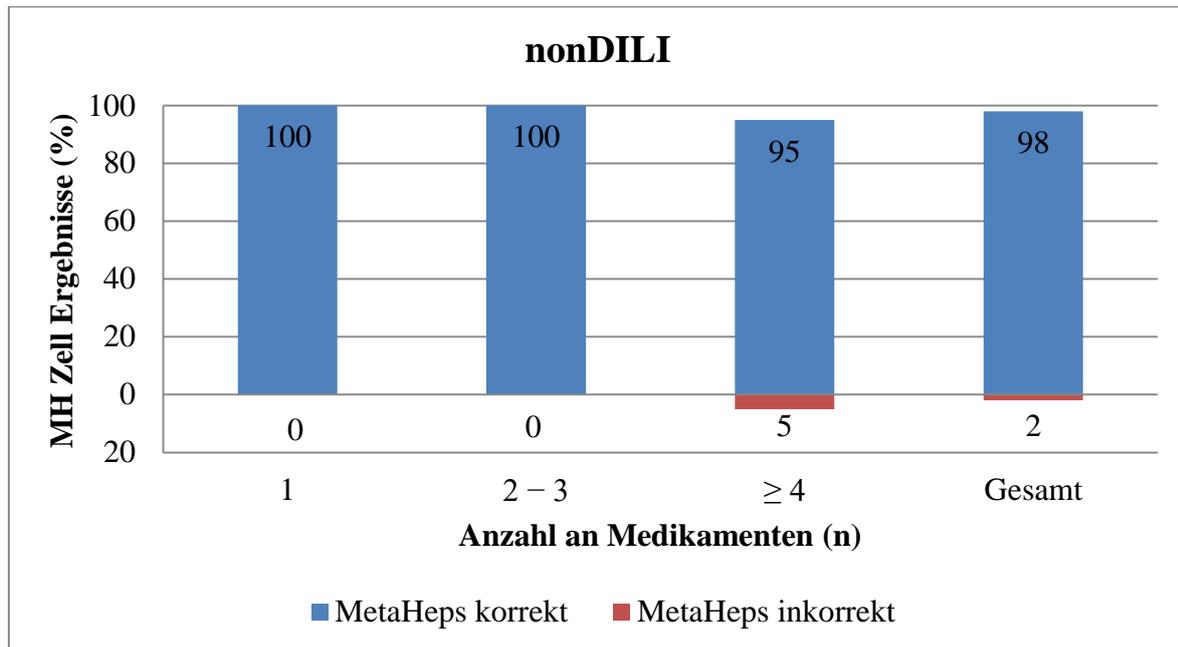
Der MH Zell- Test ist in der Lage, das durch die Experten identifizierte iDILI Medikament in 96 % der Fälle zu verifizieren. Auch bei Polymedikation blieb die diagnostische Qualität erhalten (Abbildung 9, Anh. Tabelle 9).

Abbildung 9: Ergebnisse des MH Zell- Test in der iDILI Gruppe; unterschiedlicher Anzahl an Medikamenten



Genauso ist es dem Test möglich in 98% der Fälle nonDILI korrekt zu erkennen. Davon wurden 100 % der Patienten mit nur einem Medikament und 98 % der Polymedizierten richtig klassifiziert (Abbildung 10, Anh. Tabelle 10).

Abbildung 10: Ergebnisse des MH Zell- Test in der nonDILI Gruppe; unterschiedlicher Anzahl an Medikamenten



Die falsch negativen Fälle betrafen zum einen Flupirtin (DILIN Einschätzung „Sehr Wahrscheinlich“), Potaba (DILIN Einschätzung „Eindeutig“), Methylprednisolon (DILIN Einschätzung „Sehr Wahrscheinlich“) und Apixaban (DILIN Einschätzung „Wahrscheinlich“). Bei den nonDILI Fällen war der falsch negative Fall durch eine biliäre Cholangitis verursacht, wohingegen der MH Zell- Test positiv für Clopidogrel testete. Bei der Betrachtung aller Patienten lag die Sensitivität des MH Zell- Test bei 96 %, die Spezifität bei 98 % (Tabelle 11).

Tabelle 11: MH Zell- Test gesamt

Sensitivität & Spezifität, PPV & NPV

MH Zell- Test	iDILI (n)	nonDILI (n)	
MH Zell positiv	89	1	PPV 99 %
MH Zell negativ	4	52	NPV 93 %
	Sensitivität 96 %	Spezifität 98 %	Teffergenauigkeit 97 %

Betrachtet man nur die Patienten mit Polymedikation ergab sich die selbe Sensitivität und Spezifität (Tabelle 12).

Tabelle 12: MH Zell- Test Polymedikation
Sensitivität & Spezifität, PPV & NPV

MH Zell- Test bei Polymedikation	iDILI (n)	nonDILI (n)	
MH Zell positiv	76	1	PPV 99 %
MH Zell negativ	3	40	NPV 93 %
	Sensitivität 96 %	Spezifität 98 %	Teffergenauigkeit 97 %

3.6 Identifikation eines einzelnen iDILI Medikaments

In unserer Studie gab es mit 85 % mehr polymedizierte iDILI Patienten als Patienten die nur ein einzelnes Medikament einnahmen. Von diesen polymedizierten Fällen konnte die Kausalitätsbewertung der Experten 62 % (n = 49) einem einzelnen iDILI Auslöser zuordnen (100 % mit „Eindeutig“, 76 % mit „Sehr Wahrscheinlich, 17 % mit „Wahrscheinlich“, (Tabelle 13). Bei den restlichen 30 Fällen wurden mehrere Medikamente mit der gleichen Kausalität beurteilt.

Der MH Zell- Test konnte in 91 % ein einzelnes Medikament als iDILI Auslöser identifizieren. Dabei stimmte in 86 % der Fälle das Ergebnis des Tests mit dem Ergebnis der Experten überein: in den 49 in welchen die Expertenmeinung ein einzelnes Medikament identifizieren konnte, identifizierte der MH Zell Test in 42 Fällen dasselbe Medikament als Auslöser. In 7 Fällen war das MH Test Ergebnis unterschiedlich: Ampicillin/Sulbactam (MH Zell Test) statt Amoxicillin/Clavulansäure bei einer Patientin die in Folge mit beiden Antibiotika behandelt worden war, Estriol statt Amoxicillin/ Clavulansäure bei gleichzeitiger Einnahme, Propofol statt Sevofluran bei gleichzeitiger Einnahme, Amoxicillin/ Clavulansäure statt Diclofenac bei gleichzeitiger Einnahme, Tinzaparin statt Azathioprin bei gleichzeitiger Einnahme und in 2 Fällen die Kombination zweier Medikamente statt einer Einzelsubstanz.

Der RUCAM konnte in 47 % der polymedizierten Fälle einen einzelnen Auslöser feststellen und identifizierte dabei in 76 % der Fälle das gleiche Medikament wie die Kausalitätsbewertung der Experten.

Tabelle 13: Übersicht: Vergleich Experteneinschätzung, MH Zell- Test und RUCAM

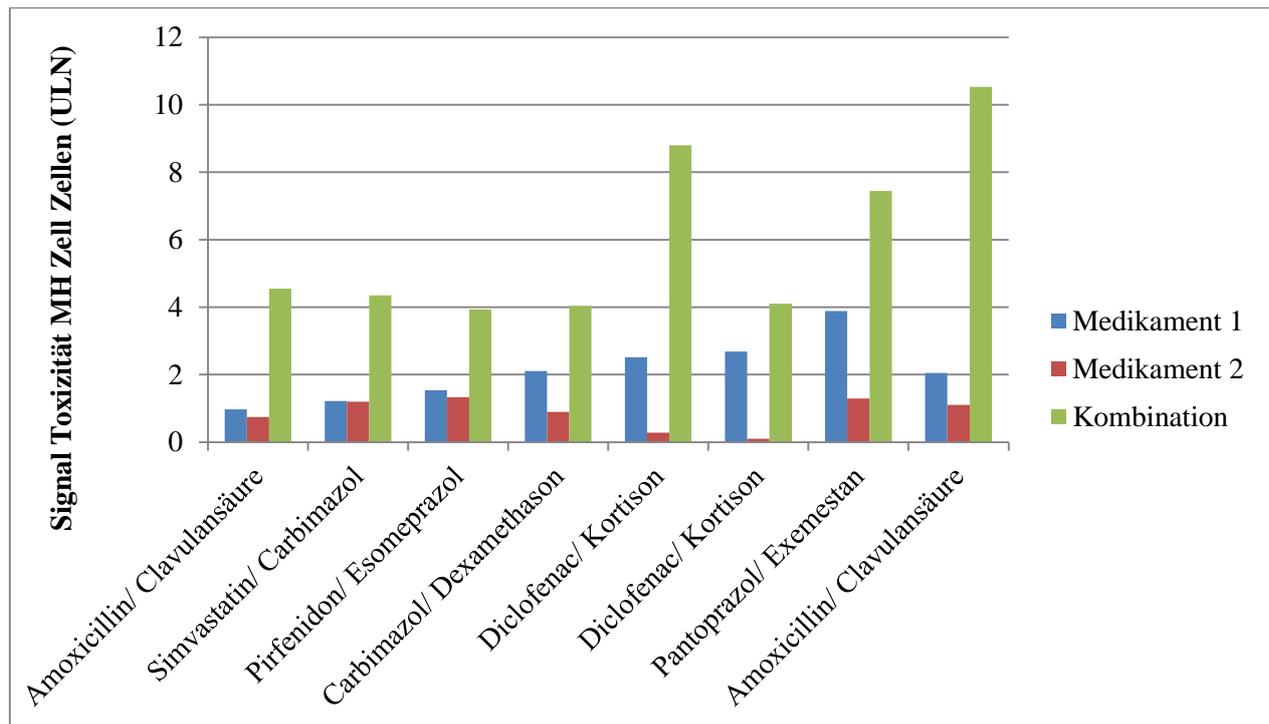
Wahrscheinlichkeit	iDILI Fälle (n)	Identifikation eines einzelnen Auslösers; Kausalitätsbewertung Experten (%)	Identifikation eines einzelnen Auslösers; MH Zell- Test (%)	Identifikation eines einzelnen Auslösers; RUCAM (%)
Eindeutig	13	100	92	92
Sehr Wahrscheinlich	42	76	90	40
Wahrscheinlich	24	17	88	38
Gesamt	79	62	91	47

3.7 Reexposition bei polymedizierten Patienten

Um die Ergebnisse des MH Zell- Test nochmals unabhängig zu überprüfen, wurden die Patienten mit bekannter Reexposition von Medikamenten separat betrachtet. 91 % der positiven und 100 % der negativen Reexpositionen konnten mit dem MH Zell- Test korrekt identifiziert werden. Siehe näheres hierzu im Journal *Clinical Gastroenterology and Hepatology* in dem die entsprechenden Ergebnisse publiziert wurden.⁸⁰

3.8 Medikamentenkombinationen im MH Zell- Test

Die häufigsten Auslöser für iDILI waren die NSAR. Die Gruppe der Antiinfektiva war mit 18 % die zweithäufigste iDILI auslösende Medikamentengruppe. Amoxicillin/ Clavulansäure stellte mit 35 % (n = 6) hierbei den häufigsten Auslöser dar. Von den sechs betroffenen Patienten konnte der MH Zell- Test vier Fälle korrekt identifizieren (67 %). Es wurde sowohl Amoxicillin und Clavulansäure jeweils separat, als auch die Kombination beider Substanzen getestet. Dabei kam es zu einer Verstärkung des Signals bei der Kombination beider Wirkstoffe. Im Gegensatz dazu waren die Signale der einzelnen Komponenten gering und deuteten nicht auf diese Substanz als Auslöser hin. Dies konnte auch an weiteren Medikamentenkombinationen beobachtet werden (Abbildung 11, Anh. Tabelle 11).

Abbildung 11: Testung verschiedener Medikamentenkombinationen mit dem MH Zell- Test

Drei dieser Fälle stellten eine Besonderheit dar, da der MH Zell- Test diese nicht als einzelne Komponenten identifizieren konnte, jedoch die Wirkstoffe in Kombination ein Signal erzeugten. Da wir in unserer Analyse nur eindeutige Ergebnisse mit einbeziehen wollten wurden diese Fälle, trotz des teilweise richtigen Ergebnisses, als „falsch“ gewertet.

Der erste Fall handelte von Pirfenidon.⁴⁸ Dieses wurde von den Experten mit „Wahrscheinlich“ beurteilt, genau wie das zweite Medikament des Patienten Esomeprazol. Der RUCAM schätzte Pirfenidon mit sechs Punkten, ebenfalls wie das zweite Medikament Esomeprazol. Der MH Zell- Test testete für beide Medikamente negativ, jedoch erzeugte die Kombination beider ein Signal. Im zweiten Fall wurde Simvastatin mit „Sehr Wahrscheinlich“ bewertet, der RUCAM kam auf fünf Punkte. Das zweite Medikament des Patienten war Carbimazol, dies wurde mit „Wahrscheinlich“ von den Experten beurteilt, der RUCAM kam auch hier auf fünf Punkte. Der MH Zell- Test zeige bei den einzelnen Komponenten kein Signal, jedoch bei deren Kombination. Bei dem dritten Fall kamen die Experten auf Doxycyclin als Auslöser, mit der Bewertung „Sehr Wahrscheinlich“. Das zweite Medikament Carbamazepin wurde ebenfalls mit „Sehr Wahrscheinlich“ bewertet. Der RUCAM kam bei Doxycyclin auf sieben Punkte und beim zweiten auf fünf Punkte. Der MH Zell- Test testete positiv auf Carbamazepin und ebenfalls auf die Kombination beider.

4 Diskussion

Der idiosynkratische medikamenteninduzierte Leberschaden ist und bleibt eine große Herausforderung für die Hepatologie. Die Diagnosestellung, genau wie die Identifizierung des dazugehörigen Medikaments, gestaltet sich in der Mehrzahl der Fälle aufgrund fehlender *in vitro* Tests als schwierig. Dies wird noch komplexer bei Patienten, die mehr als ein Medikament einnehmen, da hier mehrere Agenzien als Ursache in Frage kommen können. Bisher etablierte Verfahren wie der RUCAM sind nicht darauf ausgelegt *iDILI* bei vorhandener Begleitmedikation zu beurteilen.⁸⁶ Zurzeit stellt das Krankheitsbild daher eine Ausschlussdiagnose dar, die im Idealfall durch einen Beschluss mehrerer Experten gestellt werden sollte. Jedoch kann dies durch Nicht-Hepatologen oder an kleineren Zentren nicht immer gewährleistet werden. Trotzdem sollte die Möglichkeit bestehen, die Erkrankung zu erkennen und die entsprechenden therapeutischen Maßnahmen einleiten zu können. Neue objektive Methoden mit guter Sensitivität und Spezifität sind von Nöten, um bei dem Verdacht eines *iDILI* entsprechend handeln zu können.

Die Studie untersuchte prospektiv 146 Probanden, von diesen wiesen 93 ein *iDILI* auf. Untersucht wurden zwei diagnostische Tests, der RUCAM und der MH Zell- Test, und deren Nutzen den aktuellen Goldstandard der Diagnose, die Experten Einschätzung, objektivierbarer zu machen. Der MH Zell- Test ist ein individuell auf den Patienten abgestimmtes *in vitro* Verfahren zur *iDILI* Diagnose und Identifikation des auslösenden Medikaments. Dieser stellte sich in vorherigen Studien bereits als sehr sensitiv und spezifisch heraus.⁷ Die Reproduzierbarkeit wurde nun an einem zweiten Datensatz mit einem größeren Patientenkollektiv überprüft, wobei der Test genauso gut abschneiden konnte wie in der vorherigen Studie. Zusätzlich wurde untersucht, wie gut *iDILI*- auslösende Medikament bei den polymedizierten Patienten (85 %) identifizieren werden konnte. Hierbei kam der MH Zell- Test in 96 % der Fälle zu demselben Ergebnis wie die klinische Kausalitätsbeurteilung der Experten. Zudem konnte dieser aus den polymedizierten Patienten in 91 % der Fälle einen einzelnen Auslöser für den idiosynkratischen Leberschaden ausmachen (wobei er in 91 % der Fälle mit der Expertenmeinung übereinstimmte). Im Gegensatz dazu konnten die Experten in lediglich 62 %, und der RUCAM in 47 % einen einzelnen Auslöser feststellen.

4.1 Datenerhebung

Für die Erhebung der Patientendaten nutzen wir einen standardisierten Anamnesebogen, der sich an empfohlenen Kriterien der DILIN Gruppe orientierte.^{98,100} Die gewonnenen Daten wurden gemeinsam mit dem Patienten vervollständigt und mit den zusätzlichen Untersuchungsergebnissen (Labor, Virologie, MH- Testergebnisse) in ein ebenfalls standardisiertes Excel- Dokument eingetragen. Dies gewährleistete eine gute Vergleichbarkeit der Patientendaten. Die Laborparameter wurden entsprechend der Normwerte des Klinikums der Universität München beurteilt. Es wurde außer bei ALT, AST, AP und GGT keine Anpassung in Bezug auf das Geschlecht vorgenommen.

4.2 Medikamentenanamnese

Die Medikamentenanamnese umfasste sowohl die angewendeten Substanzen (frei verkäufliche und rezeptpflichtige Arzneimittel, Phytopharmaka und Nahrungsergänzungsmittel), die Dosierung, sowie die zeitlichen Aspekte der Einnahme (Beginn, Ende und Einnahmepausen). Hierbei kam es vor, dass die genaue Einnahmedosierung oder Einnahmedauer für den Patienten nicht mehr erinnerlich war. Wenn dies der Fall war, wurde versucht, mit Hilfe der Befragung des davor behandelnden Arztes und den vorliegenden alten und neuen Arztbriefen die Medikamentenanamnese möglichst vollständig zu erheben. Dennoch kam es vor, dass es in diesem Punkt bei lückenhaften oder nur ungenauen Angaben blieb. Unter solchen Umständen wurde eine ungefähre Schätzung des Zeitraumes toleriert. Alternativ wurde die gemäß der Krankheit entsprechende Standarddosierung und Einnahmedauer (aus dem Beipackzettel entnommen) herangezogen und angenommen. Unter solch einer Ungenauigkeit litt vor allem die Berechnung des RUCAM. Dieser ist auf die genaue Angabe des zeitlichen Zusammenhangs angewiesen. Schon eine Abweichung weniger Tage (< 5 Tage, +1 Punkt; > 5 Tage, +2 Punkte) konnte Auswirkung auf die errechnete Punktzahl haben. Im selben Maße war auch die Experteneinschätzung betroffen. Auch hierbei ist die Genauigkeit der zeitlichen Angaben ein wichtiger Bestandteil der Beurteilung des iDILI Auslösers. Dies konnte zur Folge haben, dass vermeintliche iDILI Auslöser nicht identifiziert oder verfälscht wurden. Der MH Zell- Test ist hingegen rein objektiv und somit von der Anamnese oder zeitlichen Ungenauigkeiten unabhängig. Dieser wurde somit durch vage Angaben in seinem Ergebnis nicht beeinflusst. Um im Fall von iDILI eine möglichst genaue Bewertung vornehmen zu können sollte daher auf eine möglichst vollständige Medikamentenanamnese geachtet werden. Wenn möglich sollte mit dem

Patienten Vorbefunde oder Einnahmepläne Schritt für Schritt durchgegangen werden, um mögliche Unklarheiten zu beseitigen. Für die Zukunft würde die Beurteilung durch einen Experten und den MH Zell- Test, anstelle des RUCAM, durchaus Sinn ergeben. Hiermit würde ein flexibles, subjektives Verfahren, mit einem objektiven aber zeitlich ungebundenem Verfahren kombiniert und dadurch die oben genannten potenziellen Fehler besser kontrollierbar.

4.3 Diagnose iDILI und Festlegung auf einen Auslöser

Das von uns verwendete Schema zur Identifikation eines iDILI und des dazugehörigen Medikaments wurde anhand von den hierfür empfohlenen Diagnostikkriterien gestellt.^{100,101} Diese bestanden aus einer Anamnese, Blutuntersuchungen und bildgebenden Verfahren, die Entscheidung wurde letzten Endes von einem Experten getroffen.¹² Der Ermessensspielraum der durch die subjektive Interpretation eines einzelnen Untersuchers entsteht, wurde in unserer Untersuchung durch den obligaten Konsens mindestens zweier Experten reduziert. Wie bereits besprochen ist diese Methode (trotz ihrer relativ guten Standardisierung) ein subjektives Verfahren, wodurch sich einzelne Fehldiagnosen nicht ausschließen lassen. Unterstützt wurde die Entscheidung zusätzlich durch den Einsatz des aktualisierten RUCAM.¹⁰⁵ Dessen Anwendung wurde jedoch durch die komplexen und teils ungenauen Kategorien erschwert, worunter auch die Ergebnisse litten.⁸⁴ Daher nahmen wir eine Modifizierung der sechsten Kategorie des RUCAM („Vorherige Hepatotoxizität des Medikaments“) vor. Das Medikament galt als hepatotoxisch, sobald darüber Informationen in der Packungsbeilage enthalten waren, die Punkteverteilung wurde somit erleichtert. Die Spezifizierung einzelner Kategorien könnte die Handhabung des Tests einfacher gestalten. Dies würde die Diagnostik von iDILI mit Hilfe des RUCAM für alle Anwender und vor allem Nicht- Hepatologen erleichtern.

4.4 Involvierte Medikamente

Die fünf häufigsten Medikamentengruppen, die iDILI verursachten, waren NSAR (23 %), Antiinfektiva (18 %), orale Antikoagulanzen (10 %), ZNS- Medikamente (7 %) und immunmodulatorische Wirkstoffe (7 %). Unter den NSAR war der häufigste Wirkstoff Diclofenac²⁸, von den Antiinfektiva war es Amoxicillin/ Clavulansäure. Dies korreliert weitestgehend mit den Ergebnissen aus anderer Beobachtungen.^{24,50,106} Wieso

jedoch genau diese Medikamentengruppen eine Tendenz dazu haben iDILI zu verursachen, bleibt ungewiss. Einen Erklärungsversuch stellt der zahlreiche Gebrauch von Antiinfektiva und NSAR in der Bevölkerung dar. Bei Beiden handelt es sich um die meist verschriebenen Medikamentengruppen weltweit, mit Diclofenac als häufigstem NSAR in der Rheumatologie.¹⁰⁷ Bei den Antiinfektiva gilt als mögliche Erklärung, dass die zugrundeliegende Infektion bzw. entzündliches Geschehen die Störanfälligkeit der Leber erhöht. Dies gilt es in weiteren Untersuchungen herauszufinden.

4.5 Vergleich beider Datensätze

Der erste Vergleich erfolgte zwischen den Beiden Datensätzen an sich. Hiermit sollte die Reproduzierbarkeit des MH Zell- Tests an einem größeren Patientenkollektiv gezeigt werden. In beiden Datensätzen unterschieden sich die Patientencharakteristika nur marginal, jedoch gab es im Datensatz 2 wesentlich häufiger Patienten mit mehr als zwei Medikamenten (87 % vs. 74 %, $p = 0,046$). Der RUCAM schnitt, wie es zu erwarten war, in dieser komplexeren Patientenpopulation schlechter ab. Nur noch 66 % der iDILI Fälle und 87 % der nonDILI Fälle konnten als solche erkannt werden. Demgegenüber konnte der MH Zell- Test zeigen, dass auch in Patienten mit Polymedikation mit Hilfe dieses objektiven Verfahrens eine sehr gute Treffergenauigkeit erreicht wird. Sowohl bei den iDILI (Richtig positiv für iDILI: Datensatz 1, 94 % vs. Datensatz 2, 97 %), als auch bei den nonDILI Fällen (Richtig negativ für iDILI: Datensatz 1, 100 % vs. Datensatz 2, 97 %) lieferte er sehr gute Ergebnisse. Folglich konnte die Reproduzierbarkeit des Tests an einem größeren Patientenkollektiv bewiesen werden.

4.6 Polymedikation

Eine immer älter werdende Bevölkerung, wie es in Europa der Fall ist, steht in direktem Zusammenhang mit Multimorbidität und somit steigender Anzahl an Medikamenten, die einzelne Personen einnehmen. Dies spiegelt sich auch in unserem Patientenkollektiv wieder. 56 % der Patienten mit iDILI nahmen mehr als vier Medikamente ein, 30 % zwischen 2 – 3 Medikamenten und lediglich 15 % nahmen nur eine Substanz ein. Insgesamt waren somit 85 % der Patienten polymediziert. Dieses Ergebnis macht deutlich, dass es in den wenigsten Fällen von iDILI ohne weiteres möglich ist, ein kausales Medikament zu identifizieren. Anderen Studien zeigten ebenfalls, dass ein

Großteil der Patienten eine Kombination von mehr als vier Medikamenten einnahm.²³ Die existierenden Diagnostikverfahren können allerdings oft keine definitiven Auslöser zuordnen, besonders wenn es sich um Fälle mit mehreren Medikamenten handelt.¹⁰⁸ In unserem Kollektiv konnte die Expertenmeinung in 62 % einen eindeutigen Auslöser bei den polymedizierten Patienten finden. Bei den restlichen 38 % wurden mehrere Medikamente mit der gleichen Wahrscheinlichkeit bewertet. Hier konnte sich zwar ebenfalls auf einen Auslöser geeinigt werden (durch weitere Begutachtung des Falls), aber eine absolute Sicherheit ergab sich daraus nicht. Der MH Zell- Test konnte im Vergleich dazu in 91 % einen einzelnen Auslöser identifizieren. Die Kausalitätsbewertung durch den RUCAM konnte dies nur in 47 %. Unsere Hypothese, dass der MH Zell- Test eine gute Möglichkeit bei Polymedizierten darstellt, ist somit belegt. In Zukunft könnte der Test, vor allem bei komplexer Medikation mit multiplen Agenzien, ein hilfreiches Werkzeug zur Identifikation des iDILI Medikaments darstellen.

4.7 Ergebnisse des RUCAM

Der RUCAM konnte in 76 % der Fälle mit dem Ergebnis der Experten übereinstimmen. Vor allem bei iDILI Patienten mit Einzelmedikation zeigte er mit 93 % ein sehr gutes Ergebnis. Auch bei den nonDILI Fällen schnitt er, wiederum bei Einzelmedikation, mit 83 % gut ab. Es ist bekannt, dass der RUCAM bei Einnahme von einem einzelnen Medikament sehr gute Ergebnisse liefert. Dies geht auf die Entwicklung des Tests zurück, da er konzipiert wurde um ein einzelne chemische Komponente zu identifizieren.¹⁰⁵ Sobald allerdings mehrere Medikamente ins Spiel kamen beliefen sich die korrekt identifizierten Medikamente bei Einnahme von 2 – 3 Medikamenten auf lediglich 77 % bei ≥ 4 Medikamenten und nur noch auf 71 %. Des Weiteren richteten wir das Augenmerk zusätzlich darauf, wie gut der RUCAM einen einzelnen iDILI Auslöser identifizieren konnte. Bei den polymedizierten Patienten konnte er sich in nur 47 % der Fälle auf ein einzelnes mögliches Medikament als Ursache festlegen. Bei den restlichen 43 % wurden gleich mehrere Medikamente als mögliche iDILI Auslöser (also mit gleich hoher Punktezahl) identifiziert. Er erreicht dabei eine deutlich niedrigere Sensitivität und Spezifität als wenn es sich um Patienten mit Einzelmedikation handelte.¹⁰⁵ Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich der exklusive Gebrauch des RUCAM nicht eignet, vor allem bei Patienten mit Polymedikation.^{71,87} Zwar handelt es sich bei ihm um einen strukturierten, standardisierten und validierten Test, jedoch lässt er in einigen Punkten zu viel Spielraum zu. Es gibt z. B. keine Möglichkeit histologische

Befunde in die Bewertung mit einfließen zu lassen. Das gleiche gilt für die Interaktion von verschiedenen Medikamenten. Auch werden die unterschiedlichen metabolischen Wege der Komedikation nicht berücksichtigt¹⁰⁹ und für die Beurteilung von iDILI bei einem bereits vorhandenem Leberschaden oder chronischem iDILI ist der RUCAM nicht entwickelt worden.¹⁰⁵ Daher lautet auch weiterhin die Empfehlung, die Diagnose iDILI nicht nur auf das Ergebnis des RUCAM zu stützen. Die Kombination der Experteneinschätzung mit den Ergebnissen des RUCAM ist empfohlen, insbesondere in komplexen Patientenfällen. Im Hinblick auf die für den RUCAM verwendeten Risikofaktoren ergab sich in unserer Studie kein Hinweis auf ein Überwiegen von weiblichen Patienten. Zwar weisen verschiedene Studien darauf hin, dass iDILI häufiger bei Frauen vorkommt, eindeutige Hinweise stehen allerdings aus.^{110,111} Die im RUCAM verwendeten Risikofaktoren sollten in zukünftigen Studien einer weiteren Prüfung unterzogen werden.

4.8 Ergebnisse des MH Zell- Test

Betrachtet man die Einschätzung der Experten und deren Wahrscheinlichkeit, sich auf einen einzelnen iDILI Auslöser festzulegen, zeigte sich in unserem Kollektiv, dass dies in 62 % der Patientenfälle möglich war. Betrachtet man den MH Zell- Test, konnte dieser in 91 % der iDILI Fälle ein eindeutiges Ergebnis aufweisen. Die Ergebnisse des Tests stimmten außerdem zum Großteil mit den von den Experten als wahrscheinlichsten Auslöser identifizierten überein (86 %). Auch ließ sich beim MH Zell- Test keine Beeinflussung durch eine steigende Anzahl an Medikamenten beobachten. Bei Patienten mit einem Medikament lag er in 100 % richtig, bei Patienten mit 2 – 3 ebenfalls in 100 % und bei Patienten mit ≥ 4 Medikamenten in 95 % der Fälle. Dass der Test sich häufiger auf einen einzigen Auslöser festlegen konnte lag daran, dass die klinische Kausalitätsbestimmung im Wesentlichen auf dem Ausschlussverfahren basiert und Medikamente mit ähnlichem DILI-Risiko, die zeitgleich eingenommen werden, zwangsläufig mehrere mögliche Auslöser nennen muss. Der Test könnte somit vor allem in Fällen, in denen Unsicherheit besteht, einen entscheidenden Beitrag zur Identifikation des iDILI Auslösers beitragen. Er stellt somit eine bessere Alternative als der RUCAM dar. Dieser konnte sich in nicht mehr als 47 % auf einen einzelnen Auslöser festlegen. Da vor allem die Polymedikation bei den meisten Patienten zum Alltag gehört, wäre eine Etablierung dieses Tests ein besonders großer Schritt, der Ungewissheit der Diagnose von iDILI entgegen zu wirken. Durchaus ist die bisher aufwändigere Durchführung des MH

Zell- Tests ein Defizit im Vergleich zu dem jederzeit durchführbaren RUCAM. Die Blutentnahme, gefolgt von der Gewinnung der Zellen als auch der Kultivierung, kostet Zeit (14 Tage von der Blutentnahme bis zur Durchführung des Tests) und Geld. Besonders in Patientenfällen, in denen jedoch das Absetzen von therapiessentiellen Medikamenten zur Debatte steht, könnte der Test einen wichtigen Bestandteil zum richtigen weiteren Vorgehen beitragen. Zudem entwickelt sich die Medizin immer weiter in Richtung personalisierter Therapien und Diagnostiken. Vor allem bei komplexen Krankheitsbildern wie iDILI, die stark von persönlichen Einflussfaktoren abhängen, könnte der Test den ersten Schritt in diese Richtung darstellen. Da es sich um eine geringe Patientenanzahl handelt, sollte eine Wiederholung mit mehr Probanden durchgeführt werden, ebenfalls um eine Reproduzierbarkeit bei Polymedikation zu testen. Eine weitere wichtige Patientengruppe die mit in die Beurteilung einbezogen werden sollte wären ambulante Patienten bzw. Patienten aus kleineren Kliniken um die Selektion von besonders schweren und komplexen Fällen zu verhindern. Die Validität des MH Zell- Test wurde zusätzlich durch Beurteilung anhand der Fälle mit Reexposition von Medikamenten bestätigt. Dabei konnten alle Medikamente richtig identifiziert werden, bei denen es nach Reexposition nicht erneut zu einem Leberschaden kam (negative Reexposition). Außerdem wurde bei 92 % der positiven Reexpositionen das auslösende Medikament richtig bestimmt.⁸⁰ Der Test stellt somit eine gute Möglichkeit dar, komplexere Fälle bei der Diagnosefindung zu unterstützen.

Zusammengefasst kamen die Ergebnisse des MH Zell- Test bei den iDILI als auch bei den nonDILI Fällen fast komplett auf das gleiche Ergebnis wie das der Kausalitätsbewertung der Experten (Sensitivität 96 %, Spezifität 98 %). Die hohe Spezifität ist ein wichtiger Punkt in der Entwicklung neuer Diagnostikverfahren. Vor allem falsch positive getestete Medikamente stellen ein großes Problem in der Arzneimittelentwicklung der pharmazeutischen Industrie dar. In Zukunft könnten diese Unternehmen vom MH Zell- Test profitieren. Außerdem beeinträchtigen sie die Entdeckung und Validierung von neuen Biomarkern.¹¹²

4.9 Medikamentenkombinationen

Ein Problem der klinischen Kausalitätsbewertung ist, dass einige Systeme die Festlegung auf eine Einzelsubstanz bzw. ein Medikament fordern (so z.B. der DILIN – Ansatz)¹¹³. Die Rolle der Komedikation bei iDILI wird aber zunehmend anerkannt und stellt die Forschung und auch die klinische Bewertung vor zusätzliche Herausforderungen.¹¹⁴ Im MH Zell- Test können nicht nur die einzelnen Komponenten, sondern auch

Medikamentenkombinationen getestet werden. In Einzelfällen kam es dabei zu keinem Signal der einzelnen Wirkstoffe, jedoch bei deren Kombination. Dies war z. B. der Fall für eine der häufigsten iDILI Auslöser, Amoxicillin/ Clavulansäure.⁴⁸ Für die Zukunft eröffnen sich hiermit ganz neue Möglichkeiten. Pharmafirmen die bis jetzt Substanzen vom Markt nehmen mussten aufgrund von erhöhten Leberwerten und somit iDILI Verdacht könnten mit dem MH Zell- Test diese Patientenfälle überprüfen. Dabei könnte der Test zeigen, ob es sich wirklich um das Medikament als Auslöser handelt, oder aber ob vielleicht die Kombination mit einem anderen Medikament des Patienten diese Leberwerterhöhungen verursacht. Somit könnte lediglich eine Modifikation der Empfehlung in der Einnahme des Wirkstoffes entstehen, als den kompletten Verlust der Zulassung.

5 Zusammenfassung

Bislang gibt es noch keine standardisierten Labortests oder Biomarker welche die Diagnose eines iDILI mit Sicherheit feststellen können. Aktuell ist die Anwendung des RUCAM in Kombination mit der Einschätzung erfahrener Experten der Goldstandard. Besonders in komplexen Fällen mit multiplen involvierten Medikamenten, sowie bei neuen oder unbekanntem Wirkstoffen von denen kaum Erfahrungswerte bekannt sind, sind die aktuellen Diagnostikverfahren häufig fehlerhaft. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob der MH Zell- Test, vor allem in komplexen Patientenfällen, eine bessere Alternative zu den herkömmlichen Verfahren darstellt.

Hierfür wurden Patienten mit akuter Schädigung der Leber und iDILI als Ursache untersucht. Differentialdiagnosen wurden ausgeschlossen und bei den iDILI Patienten wurden die einzelnen Medikamente auf ihre Wahrscheinlichkeit untersucht, den Leberschaden verursacht zu haben. Hierfür wurden auf der Basis der Einschätzung zweier Experten als Goldstandard der RUCAM sowie der MH Zell- Test verglichen.

Der MH Zell- Test überzeugt im Vergleich zum RUCAM mit seiner besseren Sensitivität und Spezifität. In Situationen in denen sich die Experten nicht auf einen iDILI Auslöser festlegen konnten, konnte der MH Zell- Test den ausschlaggebenden Hinweis für die toxische Substanz liefern. Ebenfalls wurden die nonDILI Fälle stets als solche erkannt. Die Ergebnisse des MH Zell- Tests konnten auch bei steigender Medikamentenzahl des betroffenen Patienten reproduziert werden. Patienten mit Polymedikation stellten kein Problem dar. Die Aussagekraft des RUCAM hingegen sank proportional mit steigenden Medikamentenzahlen. Mit dem MH Zell- Test konnte zudem aufgedeckt werden, dass es in einigen Fällen zu einer stärkeren Leberschädigung führte wenn Arzneimittel kombiniert wurden, als wenn diese für sich eingenommen wurden.

Der MH Zell- Test könnte bei zukünftigen Entwicklungen von Medikamenten mit vermeintlichem iDILI- Risiko eine Möglichkeit darstellen, im Verdachtsfall die Kausalität nachzuweisen oder zu widerlegen. Zudem könnte er als hilfreiches diagnostisches Werkzeug im klinischen Alltag genutzt werden.

6 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALF	Acute liver failure
ALT	Alanin- Aminotransferase
ANA	Antinukleäre Antikörper
Anh.	Anhang
AP	Alkalische Phosphatase
ASMA	Anti- smooth muscle antibodies
AST	Aspartat- Aminotransferase
Bili	Bilirubin
BMI	Body- Mass- Index
CMV	Cytomegalievirus
CT	Computertomographie
DILI	Drug- induced liver injury
DILIN	Drug induced liver injury network
EBV	Epstein- Barr- Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GGT	Gamma- GT
HAV	Hepatitis- A- Virus
HBsAg	HBs- Antigen
HBV	Hepatitis- B- Virus
HCV	Hepatitis- C- Virus
HDS	Herbal and dietary supplements
HEV	Hepatitis- E- Virus
HHV6	Humanes Herpesvirus 6
HILI	Herb- induced liver injury
HIV	Humane Immundefizienz- Virus
HLA	Human leucocyte antigen
iDILI	Idiosynkratischer DILI
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
INR	International Normalized Ratio
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht

LDH	Laktatdehydrogenase
LKM1	Liver- kidney microsomal antibodies
LTx	Lebertransplantation
Mg	Milligramm
MRT	Magnetresonanztomographie
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
MH	MetaHeps
NAPQUI	N-Acetyl-p-benzochinonimin
NMH	Niedermolekulare Heparine
NPV	Negativ prädiktiver Wert
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PBC	Primär biliäre Cholangitis
PCR	Polymerase- Kettenreaktion
PPI	Protonenpumpen Inhibitor
PPV	Positiv prädiktiver Wert
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
RNA	Ribonukleinsäure
RUCAM	Roussel Uclaf Causality Assessment Method
SLA	Soluble liver antigen
SSC	Sekundär sklerosierende Cholangitis
Tbl.	Tabletten
ULN	Upper Limit Normal
v.s.	Versus
ZNS	Zentrales Nervensystem

7 Literaturverzeichnis

1. Gunawan B, Kaplowitz N. Clinical perspectives on xenobiotic-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Rev.* 2004;36(2):301-312. doi:10.1081/DMR-120034148
2. Alempijevic T, Zec S, Milosavljevic T. Drug-induced liver injury: Do we know everything? *World J Hepatol.* 2017;9(10):491-502. doi:10.4254/wjh.v9.i10.491
3. Calitz C, du Plessis L, Gouws C, et al. Herbal hepatotoxicity: current status, examples, and challenges. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015;11(10):1551-1565. doi:10.1517/17425255.2015.1064110
4. Frenzel C, Teschke R. Herbal Hepatotoxicity: Clinical characteristics and listing compilation. *Int J Mol Sci.* 2016;17(5). doi:10.3390/ijms17050588
5. Fontana R. Pathogenesis of Idiosyncratic Drug- Induced Liver Injury and Clinical Perspectives. *Gastroenterology.* 2014;146(4):914-928. doi:10.1016/j.jmb.2008.10.054
6. Cavalieri L, D'Agostino D. Drug-, herb- and dietary supplement- induced liver injury. *Arch Argent Pediatr.* 2017;115(6):397-403. doi:10.5546/aap.2017.eng.e397
7. Benesic A, Leitl A, Gerbes AL. Monocyte-derived hepatocyte-like cells for causality assessment of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Gut.* 2015:1-9. doi:10.1136/gutjnl-2015-309528
8. Iasella CJ, Johnson HJ, Dunn MA. Adverse Drug Reactions: Type A (Intrinsic) or Type B (Idiosyncratic). *Clin Liver Dis.* 2017;21(1):73-87. doi:10.1016/j.cld.2016.08.005
9. Roth RA, Ganey PE. Intrinsic versus Idiosyncratic Drug-Induced Hepatotoxicity-Two Villains or One? *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;332(3):692-697. doi:10.1124/jpet.109.162651
10. Navarro VJ, Senior JR. Drug-Related Hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 2006;354(7):731-739. doi:10.1056/NEJMra052270
11. Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Prysopoulos N. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *J Clin Transl Hepatol.* 2016;4(2):131-142. doi:10.14218/JCTH.2015.00052
12. Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, Navarro VJ, Lee WM, Fontana RJ. ACG Clinical Guideline: the diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(7):950-966. doi:10.1038/ajg.2014.131
13. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schlødt F V, et al. Results of a Prospective Study of Acute Liver Failure at 17 Tertiary Care Centers in the United States. *Ann Intern Med.* 2002;137(15):947-955. doi:10.7326/0003-4819-137-12-200212170-00007
14. Lee WM, Squires RH, Nyberg SL, Doo E, Hoofnagle JH. Acute liver failure: Summary of a workshop. *Hepatology.* 2008;47(4):1401-1415. doi:10.1002/hep.22177
15. Blieden M, Paramore LC, Shah D, Ben-Joseph R. A perspective on the epidemiology

- of acetaminophen exposure and toxicity in the United States. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2014;7(3):341-348. doi:10.1586/17512433.2014.904744
16. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: Recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm Res*. 2013;30(9):2174-2187. doi:10.1007/s11095-013-1007-6
 17. Knowles SR, Uetrecht J, Shear NH. Idiosyncratic drug reactions: The reactive metabolite syndromes. *Lancet*. 2000;356(9241):1587-1591. doi:10.1016/S0140-6736(00)03137-8
 18. Teschke R. Toxische Leberschäden durch Arzneimittel. *Deut Med Wochenschr*. 2002;127(38):1953-1957. doi:10.1055/s-2002-34204
 19. Lee WM. Drug-induced acute liver failure. *Clin Liver Dis*. 2013;17(4):575-586. doi:10.1016/j.cld.2013.07.001
 20. de Boer YS, Kosinski AS, Urban TJ, et al. Features of Autoimmune Hepatitis in Patients with Drug-induced Liver Injury. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;15(1):103-112. doi:10.1016/j.cgh.2016.05.043
 21. Kaplowitz N. Idiosyncratic drug hepatotoxicity. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(6):489-499. doi:10.1038/nrd1750
 22. Devarbhavi H, Patil M, Reddy VV, Singh R, Joseph T, Ganga D. Drug-induced Acute Liver Failure in Children and Adults: Results of a Single Center Study of 128 Patients. *Liver Int*. 2017;12(10):3218-3221. doi:10.1111/liv.13662
 23. Reuben A, Koch DG, Lee WM. Drug-induced acute liver failure: Results of a U.S. multicenter, prospective study. *Hepatology*. 2010;52(6):2065-2076. doi:10.1002/hep.23937
 24. Björnsson E, Jerlstad P, Bergqvist A, Olsson R. Fulminant drug-induced hepatic failure leading to death or liver transplantation in Sweden. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40(9):1095-1101. doi:10.1080/00365520510023846
 25. Hussaini SH, O'Brien CS, Despott EJ, Dalton HR. Antibiotic therapy: a major cause of drug-induced jaundice in southwest England. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007;19(1):15-20. doi:10.1097/01.meg.0000250581.77865.68
 26. Lucena MI, García-Cortés M, Cueto R, Lopez-Duran J, Andrade RJ. Assessment of drug-induced liver injury in clinical practice. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22(2):141-158. doi:10.1111/j.1472-8206.2008.00566
 27. Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, et al. Causes, Clinical Features, and Outcomes From a Prospective Study of Drug-Induced Liver Injury in the United States. *Gastroenterology*. 2008;135(6):1924-1934. doi:10.1053/j.gastro.2008.09.011
 28. Björnsson ES, Bergmann OM, Björnsson HK, Kvaran RB, Olafsson S. Incidence, Presentation and Outcomes in Patients with Drug-Induced Liver Injury in the General Population of Iceland. *Gastroenterology*. 2013;144(7):1419-1425. doi:10.1053/j.gastro.2013.02.006
 29. Björnsson ES. Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents. *Int J Mol Sci*. 2016;17(2):224-231. doi:10.3390/ijms17020224

30. Devarbhavi H. An Update on Drug-induced Liver Injury. *J Clin Exp Hepatol*. 2012;2(3):247-259. doi:10.1016/j.jceh.2012.05.002
31. Thomas SHL. Paracetamol (Acetaminophen). *Pharmac Ther*. 1993;60(1):91-120. doi:10.1016/0163-7258(93)90023-7
32. Kaplowitz N. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis*. 2002;22(2):137-144. doi:10.1055/s-2002-30100
33. Ye H, Nelson LJ, Del Moral MG, Martínez-Naves E, Cubero FJ. Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2018;24(13):1373-1385. doi:10.3748/wjg.v24.i13.1373
34. Boelsterli UA, Lim PLK. Mitochondrial abnormalities-A link to idiosyncratic drug hepatotoxicity? *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;220(1):92-107. doi:10.1016/j.taap.2006.12.013
35. Alfirevic A, Gonzalez-Galarza F, Bell C, 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;4(6):51. doi:10.1186/gm350
36. O'Donohue J, Oien KA, Donaldson P, et al. Co-amoxiclav jaundice: Clinical and histological features and HLA class II association. *Gut*. 2000;47(5):717-720. doi:10.1136/gut.47.5.717
37. Gunawan BK, Kaplowitz N. Mechanisms of Drug-Induced Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2007;11(3):459-475. doi:10.1016/j.cld.2007.06.001
38. Stephens C, Lucena MI, Andrade RJ. Genetic variations in drug-induced liver injury (DILI): Resolving the puzzle. *Front Genet*. 2012;3(1):3-4. doi:10.3389/fgene.2012.00253
39. George N, Chen M, Yuen N, Hunt CM, Suzuki A. Interplay of gender, age and drug properties on reporting frequency of drug-induced liver injury. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018;94(1):101-107. doi:10.1016/j.yrtph.2018.01.018
40. Jüngst C, Gräber S, Klahn D, Wedemeyer H, Lammert F. Häufigkeit und Risikofaktoren medikamentös- toxischer Leberschäden : eine umfragebasierte Studie in Apotheken. *Gastroenterol*. 2016;54(1):131-138. doi:10.1055/s-0041-104024
41. Levy M. Role of Viral Infections in the Induction of Adverse Drug Reactions. *Drug Saf*. 1997;16(1):1-8. doi:10.2165/00002018-199716010-00001
42. Caamaño F, Pedone C, Zuccalà G, Carbonin P. Socio-demographic factors related to the prevalence of adverse drug reaction at hospital admission in an elderly population. *Arch Gerontol Geriatr*. 2005;40(1):45-52. doi:10.1016/j.archger.2004.05.005
43. Hajjar ER, Hanlon JT, Artz MB, et al. Adverse drug reaction risk factors in older outpatients. *Am J Geriatr Pharmacother*. 2003;1(2):82-89. doi:10.1016/S1543-5946(03)90004-3
44. Stine JG, Lewis JH. Drug-induced liver injury: a summary of recent advances. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2011;7(7):875-890. doi:10.1517/17425255.2011.577415
45. Fernández-Liz E, Modamio P, Catalán A, Lastra CF, Rodríguez T, Mariño EL.

- Identifying how age and gender influence prescription drug use in a primary health care environment in Catalonia, Spain. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65(3):407-417. doi:10.1111/j.1365-2125.2007.03029.x
46. Yu Y, Mao Y, Chen C, et al. CSH guidelines for the diagnosis and treatment of drug-induced liver injury. *Hepatol Int*. 2017;11(3):221-241. doi:10.1007/s12072-017-9793-2
 47. Yazici C, Mutlu E, Bonkovsky HL, Russo MW. Liver injury from amoxicillin-clavulanic acid. *Hepatol Res*. 2014;45(6):676-682. doi:10.1111/hepr.12410
 48. Benesic A, Jalal K, Gerbes AL. Drug-Drug Combinations Can Enhance Toxicity as Shown by Monocyte-Derived Hepatocyte-like Cells From Patients With Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Toxicol Sci*. 2019;171(2):296-302. doi:10.1093/toxsci/kfz156
 49. Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders Report of an International Consensus Meeting. *J Hepatol*. 1990;11(1):272-276. doi:10.1016/0168-8278(90)90124-A
 50. Leise MD, Poterucha JJ, Talwalkar JA. Drug-induced liver injury. *Mayo Clin Proc*. 2014;89(1):95-106. doi:10.1016/j.mayocp.2013.09.016
 51. Hamilton LA, Collins-Yoder A, Collins RE. Drug-Induced Liver Injury. *AACN*. 2016;27(4):430-440. doi:10.1016/B978-0-12-386882-4.00022-0
 52. Jinjuvadia K, Kwan W, Fontana RJ. Searching for a needle in a haystack: Use of ICD-9-CM codes in drug-induced liver injury. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(11):2437-2443. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01456.x
 53. Bell LN, Ph D, Chalasani N. Epidemiology of Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Semin Liver Dis*. 2009;29(4):337-347. doi:10.1055/s-0029-1240002
 54. Goodman ZD. Phenotypes and Pathology of Drug-Induced Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2017;21(1):89-101. doi:10.1016/j.cld.2016.08.006
 55. Sgro C, Clinard F, Ouazir K, et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: A French population-based study. *Hepatology*. 2002;36(2):451-455. doi:10.1053/jhep.2002.34857
 56. Khandelwal N, James LP, Sanders C, Larson AM, Lee WM. Unrecognized acetaminophen toxicity as a cause of indeterminate acute liver failure. *Hepatology*. 2011;53(2):567-576. doi:10.1002/hep.24060
 57. Koch DG, Tillman H, Durkalski V, Lee WM, Reuben A. Development of a Model to Predict Transplant-free Survival of Patients With Acute Liver Failure. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14(8):1199-1206. doi:10.1016/j.cgh.2016.03.046
 58. Chalasani N, Bonkovsky HL, Fontana R, et al. Features and outcomes of 899 patients with drug-induced liver injury: The DILIN prospective study. *Gastroenterology*. 2015;148(7):1340-1352. doi:10.1053/j.gastro.2015.03.006
 59. Medina-Caliz I, Robles-Diaz M, Garcia-Muñoz B, et al. Definition and risk factors for chronicity following acute idiosyncratic drug-induced liver injury. *J Hepatol*. 2016;65(3):532-542. doi:10.1016/j.jhep.2016.05.003

60. Hayashi PH, Rockey DC, Fontana RJ, et al. Death and liver transplantation within 2 years of onset of drug-induced liver injury. *Hepatology*. 2017;66(4):1275-1285. doi:10.1002/hep.29283
61. Fontana RJ, Hayashi PH, Gu J, et al. Idiosyncratic drug-induced liver injury is associated with substantial morbidity and mortality within 6 months from onset. *Gastroenterology*. 2014;147(1):96-108. doi:10.1053/j.gastro.2014.03.045
62. Russo MW, Galanko JA, Shrestha R, Fried MW, Watkins P. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States. *Liver Transplant*. 2004;10(8):1018-1023. doi:10.1002/lt.20204
63. Lee WM. Drug-induced Hepatotoxicity. *N Engl J Med*. 2003;349(1):474-485. doi:10.1002/9781119251316.ch27
64. FDA. Guidance for Industry Drug-Induced Liver Injury : Premarketing Clinical Evaluation. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/drug-induced-liver-injury-premarketing-clinical-evaluation>. Accessed July 19, 2019.
65. Van Norman GA. Drugs, Devices, and the FDA: Part 1: An Overview of Approval Processes for Drugs. *J Am Coll Cardiol Basic Trans Sci*. 2016;1(3):170-179. doi:10.1016/j.jacbts.2016.03.002
66. Morgan S, Grootendorst P, Lexchin J, Cunningham C, Greyson D. The cost of drug development: A systematic review. *Health Policy (New York)*. 2011;100(1):4-17. doi:10.1016/j.healthpol.2010.12.002
67. Baciú A, Stratton K, Burke SP. *The Future of Drug Safety: Promoting and Protecting the Health of Public*. Washington, DC: The National Academies Press; 2006. doi:10.17226/11750
68. Murphy EJ, Davern TJ, Shakil AO, et al. Troglitazone-Induced Fulminant Hepatic Failure. *Dig Dis Sci*. 2000;45(3):549-553. doi:10.1023/a:1005405526283
69. Roth AD, Lee MY. Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury (IDILI): Potential Mechanisms and Predictive Assays. *Biomed Res Int*. 2017;2017(1):1-23. doi:10.1155/2017/9176937
70. Stevens JL, Baker TK. The future of drug safety testing: expanding the view and narrowing the focus. *Drug Discov Today*. 2009;14(3/4):162-167. doi:10.1016/j.drudis.2008.11.009
71. García-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug induced liver injury: Strengths and weaknesses. *J Hepatol*. 2011;55(3):683-691. doi:10.1016/j.jhep.2011.02.007
72. Andrade RJ, Robles M, Lucena MI. Rechallenge in drug-induced liver injury: the attractive hazard. *Expert Opin Drug Saf*. 2009;8(6):709-714. doi:10.1517/14740330903397378
73. deLemos A, Foureau D, Jacobs C, Ahrens W, Russo M, Bonkovsky H. Drug-Induced Liver Injury with Autoimmune Features. *Semin Liver Dis*. 2014;34(2):194-204. doi:10.1055/s-0034-1375959

74. Verma S, Kaplowitz N. Diagnosis, management and prevention of drug-induced liver injury. *Gut*. 2009;58(11):1555-1564. doi:10.1136/gut.2008.163675
75. Hodgman MJ, Garrard AR. A Review of Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin*. 2012;28(4):499-516. doi:10.1016/j.ccc.2012.07.006
76. Kaplowitz N. Causality assessment versus guilt-by-association in drug hepatotoxicity. *Hepatology*. 2001;33(1):308-310. doi:10.1053/jhep.2001.21083
77. Watkins PB. How to Diagnose and Exclude Drug-Induced Liver Injury. *Dig Dis*. 2015;33(4):472-476. doi:10.1159/000374091
78. Fontana RJ. Acute Liver Failure Due to Drugs. *Semin Liver Dis*. 2008;2(28):175-187. doi:10.1055/s-2008-1073117
79. Andrade RJ, Robles M, Fernández-Castañer A, López-Ortega S, López-Vega MC, Lucena MI. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: A challenge for gastroenterologists. *World J Gastroenterol*. 2007;13(3):329-340. doi:10.3748/wjg.v13.i3.329
80. Benesic A, Rotter I, Dragoi D, Weber S, Buchholtz M-L, Gerbes AL. Development and Validation of a Test to Identify Drugs That Cause Idiosyncratic Drug- induced Liver Injury. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;9(16):1488-1494. doi:10.1016/j.cgh.2018.04.049
81. Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs-I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: Application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol*. 1993;46(11):1323-1330. doi:10.1016/0895-4356(93)90101-6
82. Benichou C, Danan G, Flahault A. An Original Model For Validation of Drug Causality Assessment Methods: Case Reports with Positive Rechallenge. 1993;46(11):1331-1336. doi:10.1016/0895-4356(93)90102-7
83. LiverTox. Clinical and Research Information on Drug- Induced Liver Injury. website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548272/> Updated May 04,2019. Accessed October 15, 2018.
84. Rochon J, Protiva P, Seeff LB, et al. Reliability of the rousel uclaf causality assessment method for assessing causality in drug-induced liver injury. *Hepatology*. 2008;48(4):1175-1183. doi:10.1002/hep.22442
85. Rockey DC, Seeff LB, Rochon J, et al. Causality assessment in drug-induced liver injury using a structured expert opinion process: Comparison to the Roussel-Uclaf causality assessment method. *Hepatology*. 2010;51(6):2117-2126. doi:10.1002/hep.23577
86. Lim R, Choudry H, Conner K, Karnsakul W. A challenge for diagnosing acute liver injury with concomitant/sequential exposure to multiple drugs: can causality assessment scales be utilized to identify the offending drug? *Case Rep Pediatr*. 2014;2014(1):156389. doi:10.1155/2014/156389
87. Lewis JH. Causality assessment: Which is best-expert opinion or RUCAM? *Clin Liver Dis*. 2014;4(1):4-8. doi:10.1002/cld.365

88. Aithal GP, Rawlins MD, Day CP. Accuracy of hepatic adverse drug reaction reporting in one English health region. *Br Med J*. 1999;319(7224):1541. doi:10.1136/bmj.319.7224.1541
89. DeLemos AS, Ghabril M, Rockey DC, et al. Amoxicillin- Clavulanate-Induced Liver Injury. *Dig Dis Sci*. 2016;61(8):2406-2416. doi:10.1007/s10620-016-4121-6
90. Anderson N, Borlak J. Correlation versus causation? pharmacovigilance of the analgesic flupirtine exemplifies the need for refined spontaneous adr reporting. *PLoS One*. 2011;6(10). doi:10.1371/journal.pone.0025221
91. Olson H, Betton G, Robinson D, et al. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2000;32(1):56-67. doi:10.1006/rtp.2000.1399
92. Lecluyse EL, Alexandre E. Isolation and Culture of Primary Hepatocytes from Resected Human Liver Tissue. In: *Methods in Molecular Biology*. Vol 640. ; 2010:52-82. doi:10.1007/978-1-60761-688-7_3
93. Benesic A, Rahm NL, Ernst S, Gerbes AL. Human monocyte-derived cells with individual hepatocyte characteristics: a novel tool for personalized in vitro studies. *Lab Investig*. 2012;92(6):926-936. doi:10.1038/labinvest.2012.64
94. Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, Navarro VJ, Lee WM, Fontana RJ. ACG Clinical Guideline: The Diagnosis and Management of Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(7):950-966. doi:10.1038/ajg.2014.131
95. Keays R, Harrison PM, Wendon JA, et al. Intravenous acetylcysteine in paracetamol induced fulminant hepatic failure: a prospective controlled trial. *BMJ*. 1991;303(6809):1026-1029. doi:10.1136/bmj.303.6809.1026
96. Gleeson D, Heneghan MA. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *Gut*. 2011;60(12):1611-1629. doi:10.1136/gut.2010.235259
97. Teschke R, Frenzel C, Wolff A, Eickhoff A, Schulze J. Drug induced liver injury: Accuracy of diagnosis in published reports. *Ann Hepatol*. 2014;13(2):248-255. doi:10.1016/S1665-2681(19)30888-9
98. Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, et al. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(6):806-815. doi:10.1038/clpt.2011.58
99. Leitl A. Untersuchung von Patienten mit akuter Leberschädigung medikamentös-toxischer beziehungsweise nicht-medikamentöser Genese – Diagnoseprozess, klinische Merkmale, Folgen. [Disseratation]. LMU München, 2019.
100. Agarwal VK, McHutchison JG, Hoofnagle JH. Important Elements for the Diagnosis of Drug-Induced Liver Injury. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010;8(5):463-470. doi:10.1016/j.cgh.2010.02.008
101. Avigan MI, Bjornsson ES, Pasanen M, et al. Liver Safety Assessment: Required Data Elements and Best Practices for Data Collection and Standardization in Clinical Trials. *Drug Saf*. 2014;37(1):19-31. doi:10.1007/s40264-014-0183-6

102. Hoofnagle JH, Serrano J, Knoblen JE, Navarro VJ. Liver Tox: A Web Site on Drug Induced Liver Injury. *Hepatology*. 2013;57(3):873-874. doi:10.1002/hep.26175.
103. LiverTox. Clinical and Research Information on Drug- Induced Liver Injury. website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547864/>. Updated April 25, 2019. Accessed October 16, 2018.
104. Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs - I: A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: Application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol*. 1993;46(11):1323-1330. doi:10.1016/0895-4356(93)90101-6
105. Danan G, Teschke R. RUCAM in Drug and Herb Induced Liver Injury: The Update. *Int J Mol Sci*. 2015;17(1):1-33. doi:10.3390/ijms17010014
106. Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, et al. Drug-induced liver injury: An analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology*. 2005;129(2):512-521. doi:10.1016/j.gastro.2005.05.006
107. Bessone F. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? *World J Gastroenterol*. 2010;16(45):5651-5661. doi:10.3748/wjg.v16.i45.5651
108. Hayashi PH, Barnhart HX, Fontana RJ, et al. Reliability of Causality Assessment for Drug, Herbal and Dietary Supplement Hepatotoxicity in the Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN). *Liver Int*. 2015;35(5):1623-1632. doi:10.3109/10641955.2015.1046604.
109. Lim R, Choudry H, Conner K, Karnsakul W. A challenge for diagnosing acute liver injury with concomitant/sequential exposure to multiple drugs: can causality assessment scales be utilized to identify the offending drug? *Case Rep Pediatr*. 2014;2014:156389. doi:10.1155/2014/156389
110. Lucena MI, Andrade RJ, Kaplowitz N, et al. Phenotypic characterization of idiosyncratic drug-induced liver injury: The influence of age and sex. *Hepatology*. 2009;49(6):2001-2009. doi:10.1002/hep.22895
111. Wysowski DK, Swartz L. Adverse Drug Event Surveillance and Drug Withdrawals in the United States, 1969-2002. *Arch Intern Med*. 2005;165(12):1363. doi:10.1001/archinte.165.12.1363
112. Senior JR. Evolution of the Food and Drug Administration Approach to Liver Safety Assessment for New Drugs: Current Status and Challenges. *Drug Saf*. 2014;37(1):9-17. doi:10.1007/s40264-014-0182-7
113. Hayashi PH. Overview of Causality Assessment in Drug- Induced Liver Injury. *Clin Liver Dis*. 2017;29(2):348-356. doi:10.1055/s-0029-1240003
114. Andrade RJ, Aithal GP, Björnsson ES, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Drug-induced liver injury. *J Hepatol*. 2019;70(6):1222-1261. doi:10.1016/j.jhep.2019.02.014

8 Anhang Abbildungen

Anh. Abbildung 1: RUCAM, Teil 1

RUCAM Causality Assessment					
Drug: _____ Initial ALT: _____ Initial Alk P: _____ R ratio = [ALT/ULN] ÷ [Alk P/ULN] = _____ ÷ _____ = _____					
The R ratio determines whether the injury is hepatocellular (R > 5.0), cholestatic (R < 2.0), or mixed (R = 2.0 – 5.0)					
	Hepatocellular Type		Cholestatic or Mixed Type		Assessment
1. Time to onset					
	Initial Treatment	Subsequent Treatment	Initial Treatment	Subsequent Treatment	Score (check one only)
<ul style="list-style-type: none"> ○ From the beginning of the drug: <ul style="list-style-type: none"> • Suggestive • Compatible 	5 – 90 days < 5 or > 90 days	1 – 15 days > 15 days	5 – 90 days < 5 or > 90 days	1 – 90 days > 90 days	<input type="checkbox"/> +2 <input type="checkbox"/> +1
<ul style="list-style-type: none"> ○ From cessation of the drug: <ul style="list-style-type: none"> • Compatible 	≤ 15 days	≤ 15 days	≤ 30 days	≤ 30 days	<input type="checkbox"/> +1
Note: If reaction begins before starting the medication or >15 days after stopping (hepatocellular), or >30 days after stopping (cholestatic), the injury should be considered unrelated and the RUCAM cannot be calculated.					
2. Course					
	Change in ALT between peak value and ULN		Change in Alk P (or total bilirubin) between peak value and ULN		Score (check one only)
After stopping the drug:					
<ul style="list-style-type: none"> • Highly suggestive 	Decrease ≥ 50% within 8 days		Not applicable		<input type="checkbox"/> +3
<ul style="list-style-type: none"> • Suggestive 	Decrease ≥ 50% within 30 days		Decrease ≥ 50% within 180 days		<input type="checkbox"/> +2
<ul style="list-style-type: none"> • Compatible 	Not applicable		Decrease < 50% within 180 days		<input type="checkbox"/> +1
<ul style="list-style-type: none"> • Inconclusive 	No information or decrease ≥ 50% after 30 days		Persistence or increase or no information		<input type="checkbox"/> 0
<ul style="list-style-type: none"> • Against the role of the drug 	Decrease < 50% after 30 days OR Recurrent increase		Not applicable		<input type="checkbox"/> -2
<ul style="list-style-type: none"> ○ If the drug is continued: <ul style="list-style-type: none"> • Inconclusive 	All situations		All situations		<input type="checkbox"/> 0
3. Risk Factors:					
	Ethanol		Ethanol or Pregnancy (either)		Score (check one for each)
<ul style="list-style-type: none"> ○ Alcohol or Pregnancy 	Presence Absence		Presence Absence		<input type="checkbox"/> +1 <input type="checkbox"/> 0
<ul style="list-style-type: none"> ○ Age 	Age of the patient ≥ 55 years Age of the patient < 55 years		Age of the patient ≥ 55 years Age of the patient < 55 years		<input type="checkbox"/> +1 <input type="checkbox"/> 0

Anh. Abbildung 2: RUCAM, Teil 2

4. Concomitant drug(s):		Score (check one only)	
o None or no information or concomitant drug with incompatible time to onset		<input type="checkbox"/> 0	
o Concomitant drug with suggestive or compatible time to onset		<input type="checkbox"/> -1	
o Concomitant drug known to be hepatotoxic with a suggestive time to onset		<input type="checkbox"/> -2	
o Concomitant drug with clear evidence for its role (positive rechallenge or clear link to injury and typical signature)		<input type="checkbox"/> -3	
5. Exclusion of other causes of liver injury:		Score (check one only)	
Group I (6 causes):			
o Acute viral hepatitis due to HAV (IgM anti-HAV), or			
o HBV (HBsAg and/or IgM anti-HBc), or			
o HCV (anti HCV and/or HCV RNA with appropriate clinical history)			
o Biliary obstruction (By imaging)			
o Alcoholism (History of excessive intake and AST/ALT \geq 2)			
o Recent history of hypotension, shock or ischemia (within 2 weeks of onset)			
Group II (2 categories of causes):			
o Complications of underlying disease(s) such as autoimmune hepatitis, sepsis, chronic hepatitis B or C, primary biliary cirrhosis or sclerosing cholangitis; or			
o Clinical features or serologic and virologic tests indicating acute CMV, EBV, or HSV.			
o All causes in Group I and II ruled out		<input type="checkbox"/> +2	
o The 6 causes of Group I ruled out		<input type="checkbox"/> +1	
o Five or 4 causes of Group I ruled out		<input type="checkbox"/> 0	
o Less than 4 causes of Group 1 ruled out		<input type="checkbox"/> -2	
o Non drug cause highly probable		<input type="checkbox"/> -3	
6. Previous information on hepatotoxicity of the drug:		Score (check one only)	
o Reaction labeled in the product characteristics		<input type="checkbox"/> +2	
o Reaction published but unlabeled		<input type="checkbox"/> +1	
o Reaction unknown		<input type="checkbox"/> 0	
7. Response to readministration:		Score (check one only)	
o Positive	Doubling of ALT with drug alone	Doubling of Alk P (or bilirubin) with drug alone	<input type="checkbox"/> +3
o Compatible	Doubling of the ALT with the suspect drug combined with another drug which had been given at the time of onset of the initial injury	Doubling of the Alk P (or bilirubin) with the suspect drug combined with another drug which had been given at the time of onset of the initial injury	<input type="checkbox"/> +1
o Negative	Increase of ALT but less than ULN with drug alone	Increase of Alk P (or bilirubin) but less than ULN with drug alone	<input type="checkbox"/> -2
o Not done or not interpretable	Other situations	Other situations	<input type="checkbox"/> 0
TOTAL (add the checked figures)			

Abbreviations used: ALT, alanine aminotransferase; Alk P, alkaline phosphatase; ULN, upper limit of the normal range of values
 Modified from: Danan G and Benichou C. *J Clin Epidemiol* 1993; 46: 1323-30.

9 Anhang Tabellen

Anh. Tabelle 1: Anamnesebogen Patient

	Name	X, Y
Demographie	Code	ZMUXY
	Geburtstag	xx.yy.zzzz
	Alter	
	Geschlecht	Weiblich/ Männlich
	Geburtsland	
	Aufenthaltsland	
	Ethnizität	
	Größe (m)	
	Gewicht (kg)	
Eingenommene Medikamente	Name	Medikament
	Tägliche Dosis (mg)	
	Anfangs Datum	
	End Datum	
	Beginn Leberschaden	
Komedikation/ Phytopharmaka	Name	
	Tägliche Dosis (mg)	
	Start	
	Ende	
Komorbidityäten		
Medizinische Begleiterscheinungen		(j/ n) Beginn Ende
	Ischämie	
	Hypotonie	
	Hypoxämie	
	Herzinsuffizienz	
	Sepsis	
	Schwangerschaft	
Alkohol	Getränke pro Woche	
	Start	

	Ende			
Nikotin	Dauer			
	Pack Years			
	Start			
	Ende			
Klinische Symptome	Dauer			
		(j/ n)	Beginn Ende	
	Fieber			
	Exanthem			
	Ikterus			
	Enzephalopathie			
	Fatigue			
	Schwäche			
	Übelkeit			
	Appetitlosigkeit			
	Bauchschmerzen			
	Dunkler Urin			
	Pruritus			
	Klinischer Verlauf	Remission		
		Chronizität		
		Lebertransplantation		
		Tod		

Anh. Tabelle 2: Laborwerte

Laborwerte	Wert	Einheit	Normwerte
Biochemie	ALT	U/ l	35
	AST	U/ l	35
	Bilirubin gesamt	mg/ dl	1
	Direktes Bilirubin	mg/ dl	< 0,3
	Alkalische Phosphatase	U/ l	105
	Gamma- GT	U/ l	40
Blutbild	Leukozyten	g/ l	3,9 – 11,0
	Hämoglobin	g/ dl	13,9 – 17,5
	Eosinophile	%	1 – 5
	Lymphozyten	%	22 – 45
Blutgerinnung	Thrombozyten	g/ l	150 – 400
	INR	-	0,8 – 1,2
Virologie	Anti HAV- IgM	-	
	Anti HAV- IgG	-	
	HBsAg	-	
	Anti HBsAg	-	
	Anti HCV	-	
	HVC RNA	-	
	Anti HEV- IgM	-	
	Anti HEV- IgG	-	
	HEV RNA	-	
	EBV VCA- IgM	-	
	CMV- IgM	-	
	CMV PCR	-	
	HIV	-	
	Autoimmun Serologie	IgG	g/ l
ANA		-	
ASMA		-	
LKM1		-	
SLA		-	
Bildgebende Verfahren	Abdomineller Ultraschall		
	CT		

Histologie	MRT
	Sonstiges
	Leberbiopsie
Sonstiges	Explantierte Leberbiopsie

Anh. Tabelle 3: Erweiterung "Patientencharakteristika"; Vergleich iDILI und DILI Patienten zwischen Datensatz 1 und Datensatz 2

	Datensatz 1	Datensatz 2	p- Wert	Datensatz 1	Datensatz 2	p- Wert
	iDILI (n = 31)	iDILI (n = 62)		nonDILI (n = 23)	nonDILI (n = 30)	
Alter, Jahre \bar{x}	55	55	0,858	55	51	0,700
Weiblich, n	15 (48 %)	30 (48 %)	1,000	9 (39 %)	13 (43 %)	0,758
Kaukasisch, n	30 (97 %)	61 (98 %)	0,286	22 (96 %)	30 (100 %)	0,249
BMI (kg/ m²), \bar{x}	22	24	0,026*	25	24	0,920
ALF, n	10 (32 %)	13 (21 %)	0,237	6 (26 %)	6 (20 %)	0,603
Leberzellschaden			0,301			0,009*
Klassifizierung						
Hepatozellulär, n	22 (71%)	35 (57 %)		13 (57 %)	7 (23 %)	
Gemischt, n	2 (7 %)	10 (16 %)		0 (0 %)	7 (23 %)	
Cholestatisch, n	7 (23 %)	17 (27 %)		10 (44 %)	16 (53 %)	
Anzahl der			0,047*			0,774
Medikamente						
1, n	7 (23 %)	7 (11 %)		7 (30 %)	5 (17 %)	
2 – 3, n	15 (48 %)	15 (24 %)		8 (35 %)	14 (47%)	
≥ 4 , n	9 (29 %)	40 (65 %)		8 (35 %)	11 (37 %)	
Polymedikation	24 (77 %)	55 (89 %)		16 (70 %)	25 (83 %)	
(≥ 2)	3	4		3	3	
Median, n						
Verlauf			0,070			0,664
Remission, n	22 (71 %)	54 (87 %)		16 (70 %)	25 (83 %)	
Chronisch, n	1 (3 %)	4 (7 %)		5 (22 %)	3 (10 %)	
Tod durch	1 (3 %)	1 (2 %)		0 (0 %)	1 (3 %)	
Leberschaden, n						
Tod, nicht durch	1 (3 %)	0 (0 %)		1 (4 %)	0 (0 %)	
Leberschaden, n						
LTx, n	6 (19 %)	3 (5 %)		1(4 %)	1 (3 %)	
Schweregrad			0,011*			0,765

Minimal (0)	-	4 (6 %)	-	1 (3 %)
Leicht (1)	8 (26 %)	6 (10 %)	3 (13 %)	2 (7 %)
Mittel (2)	11(35 %)	39 (63 %)	12 (52 %)	18 (60 %)
Schwer (3)	4 (13 %)	8 (13 %)	7 (30 %)	7 (23 %)
Tod/ LTx (4)	8 (26 %)	5 (8 %)	1 (4 %)	2 (7 %)

* p < 0,05

Anh. Tabelle 4: Erweiterte Tabelle „Vergleich MH Zell- Test und RUCAM, Datensatz 1 vs. Datensatz 2“

	Datensatz 1		Datensatz 2	
	(n = 54)		(n = 92)	
	iDILI	nonDILI	iDILI	nonDILI
	(n = 31)	(n = 23)	(n = 62)	(n = 30)
MH Zell- Test positiv, n	29	0	60	1
MH Zell- Test negativ, n	2	23	2	29
RUCAM positiv, n	30	6	41	4
RUCAM negativ, n	1	17	21	26
MH Zell- Test korrekt, %	94	100	97	97
RUCAM korrekt, %	97	74	66	87

Anh. Tabelle 5: nonDILI Ursachen

nonDILI Ursache	Absolute Häufigkeit (n)	Relative Häufigkeit (%)
Autoimmunhepatitis	9	17
Alkoholischer Leberschaden	7	13
SSC	6	11
Cholangitis/ Cholezytolithiasis	6	11
HEV	6	11
Herzinsuffizienz	4	8
HAV	2	4
PBC	2	4
Zöliakie	1	2
Echinokokkose	1	2
Familiäre Cholestase	1	2
M. Still	1	2
Lebertumor	1	2
HBV	1	2
HHV6	1	2
Transplantatabstoßung	1	2
PSC	1	2
Tumorcholestase	1	2
Hämophagozytische	1	2
Lymphohistiozytose		

Anh. Tabelle 6: iDILI verursachende Medikamente

iDILI verursachende Medikamente	Absolute Häufigkeit (n)	Relative Häufigkeit (%)
NSAR	23	24
Antiinfektiva	17	18
Orale Antikoagulanzen	9	10
Immunmodulatoren	6	7
ZNS Medikamente	6	7
Lipidsenker	5	5
HDS	4	4
Muskelrelaxantien	3	3
Antifibrotika	3	3
Anästhetika	2	2
Antitumoröse Medikamente	2	2
Kortikosteroide	2	2
PPI	2	2
Thyreostatika	2	2
Antiarrhythmika	1	1
Antihistaminika	1	
Antihypertensiva	1	1
NMH	1	1
Orale Kontrazeptiva/ Sexualhormone	1	1
Tadalafil	1	1
Urikostatika	1	1

Anh. Tabelle 7: Ergebnisse des RUCAM bei iDILI Diagnose

Anzahl an Medikamenten	DILIN	RUCAM < 6 (n)	RUCAM ≥ 6 (n)	RUCAM korrekt (%)	Gesamt korrekt (%)
1	Eindeutig	0	6	100	93
	Sehr Wahrscheinlich	0	7	100	
	Wahrscheinlich	1	0	0	
2 – 3	Eindeutig	0	4	100	77
	Sehr Wahrscheinlich	5	13	72	
	Wahrscheinlich	2	6	75	
≥ 4	Eindeutig	1	8	89	71
	Sehr Wahrscheinlich	7	17	71	
	Wahrscheinlich	6	10	63	
Gesamt					76

Anh. Tabelle 8: Ergebnisse des RUCAM bei nonDILI Diagnose

Anzahl an Medikamenten	DILIN	RUCAM < 6 (n)	RUCAM ≥ 6 (n)	RUCAM korrekt (%)	Gesamt korrekt (%)
1	Möglich	5	1	83	83
	Unwahrscheinlich	5	1	83	
2 – 3	Möglich	15	3	83	82
	Unwahrscheinlich	3	1	75	
≥ 4	Möglich	12	3	80	79
	Unwahrscheinlich	3	1	75	
Gesamt					81

Anh. Tabelle 9: Ergebnisse des MH Zell- Test bei iDILI Diagnose

Anzahl an Medikamenten	DILIN	MH positiv (n)	Zell MH negativ (n)	MH Zell korrekt (%)	MH Zell korrekt (%)	Gesamt korrekt (%)
1	Eindeutig	6	0	100	93	
	Sehr Wahrscheinlich	6	1	86		
	Wahrscheinlich	1	0	100		
	Wahrscheinlich	1	0	100		
2 – 3	Eindeutig	3	1	75	97	
	Sehr Wahrscheinlich	18	0	100		
	Wahrscheinlich	8	0	100		
	Wahrscheinlich	8	0	100		
≥ 4	Eindeutig	9	0	100	96	
	Sehr Wahrscheinlich	23	1	96		
	Wahrscheinlich	15	1	94		
	Wahrscheinlich	15	1	94		
Gesamt						96

Anh. Tabelle 10: Ergebnisse des MH Zell- Test bei nonDILI Diagnose

Anzahl an Medikamenten	DILIN	MH positiv (n)	Zell MH negativ (n)	MH Zell korrekt (%)	MH Zell korrekt (%)	Gesamt korrekt (%)
1	Möglich	0	6	100	100	
	Unwahrscheinlich	0	6	100		
2 – 3	Möglich	0	18	100	100	
	Unwahrscheinlich	0	4	100		
≥ 4	Möglich	1	14	93	95	
	Unwahrscheinlich	0	4	100		
Gesamt						98

Anh. Tabelle 11: Testung Medikamentenkombinationen mit dem MH Zell- Test

Medikament 1	Medikament 2	Kombination
---------------------	---------------------	--------------------

MH Zell Signal			
ULN	Amoxicillin	Clavulansäure	Amoxicillin/ Clavulansäure
	2,05	1,1	10,53
	Amoxicillin	Clavulansäure	Amoxicillin/ Clavulansäure
	0,97	0,74	4,55
	Carbimazol	Dexamethason	Carbimazol/ Dexamethason
	2,11	0,9	4,04
	Diclofenac	Kortison	Diclofenac/ Kortison
	2,51	0,28	8,8
	Diclofenac	Kortison	Diclofenac/ Kortison
	2,68	0,1	4,1
	Pantoprazol	Exemestan	Pantoprazol/ Exemestan
	3,89	1,29	7,44
	Simvastatin	Carbimazol	Simvastatin/ Carbimazol
	1,22	1,2	4,35
Pirfenidon	Esomeprazol	Pirfenidon/ Esomeprazol	
1,54	1,33	3,62	

ULN cut- off Wert = 2