

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
Sektion für Rheumatologie und Klinische Immunologie

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



*Abschätzung des Risikos einer Fibrose der Leber bei Patienten mit Methotrexat und
rheumatoider Arthritis mittels nicht-invasiver, ultraschallbasierter Elastographie
(ARFI-MetRA)*

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

Lisa Katharina Kraus

aus
Würzburg

Jahr

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: Prof. Dr. med. Hendrik Schulze-Koops

Zweiter Gutachter: Priv. Doz. Dr. med. Matthias Witt

Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. Alexander Gerbes

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.2022

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	6
2.	Allgemeiner Teil.....	8
2.1	Rheumatoide Arthritis.....	8
2.1.1	Epidemiologie und Pathogenese.....	8
2.1.2	Klinik, Diagnostik und Therapie	9
2.1.3	Rolle des Methotrexats in der Therapie der Rheumatoiden Arthritis.....	13
2.2	Leberfibrose	14
2.2.1	Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese.....	14
2.2.2	Klinik, allgemeine Diagnostik und Therapie.....	16
2.2.3	Leberfibrose als Ausdruck einer medikamentösen Hepatotoxizität	18
2.3	Spezifische Diagnoseverfahren bei Leberfibrose	19
2.3.1	Ultraschallbasierte Diagnostik.....	19
2.3.2	Invasive Verfahren.....	23
3.	Methodik, Patienten und Statistik.....	24
3.1	Methodik (Datenerfassung)	24
3.1.1	Fragestellung und Rationale dieser Studie	24
3.1.2	Leberelastizitätsmessung	25
3.2	Patienten.....	29
3.2.1	Patientenkollektiv	29
3.2.2	Einschlusskriterien.....	29
3.2.3	Ausschlusskriterien.....	29
3.3	Statistik	30
3.3.1	Design.....	30
3.3.2	Hauptzielkriterien	30

3.3.3 Nebenzielkriterien	31
3.3.4 Fallzahlschätzung	31
3.3.5 Methoden und Auswertung	32
3.3.6 Deskriptive Statistik und inferenzstatistische Testverfahren.....	32
4. Ergebnisse.....	33
4.1 Beschreibung des Gesamtkollektives	33
4.2 Geschlechtsverteilung und Begleiterkrankungen	35
4.3 Korrelationen	37
4.3.1 Korrelationen zwischen Laborparametern und ARFI-Mittelwert	37
4.3.2 Korrelationen zwischen MTX-Dauer und ARFI-Mittelwert.....	39
4.3.3 Korrelationen zwischen MTX-Dosierung (mg/Woche) und ARFI-Mittelwerten.....	40
4.3.4 Korrelationen zwischen BMI und ARFI-Mittelwerten.....	41
4.3.5 Korrelationen zwischen Alter und ARFI-Mittelwerten	41
4.3.6 Korrelationen zwischen Prednisolongabe und ARFI-Mittelwerten	42
4.3.7 Korrelationen zwischen NSAR-Einnahme und ARFI-Mittelwerten	42
4.3.8 Korrelation zwischen anderen Basistherapeutika (einschließlich Biologika) und Mittelwerten.....	43
5. Diskussion	44
5.1 Korrelation zwischen Dosierung und Applikationsdauer von MTX und Leberfibrose	44
5.2 Korrelation zwischen Transaminasenwerten und Leberfibrose (ARFI-Mittelwert)	47
5.3 Korrelation von Begleiterkrankungen und ARFI-Mittelwert	49
5.4 Korrelation von Begleitmedikamenten und Leberfibrose (ARFI-Mittelwert).....	51
5.5 Ausblick	53

6.	Zusammenfassung	55
7.	Anhang	56
8.	Abbildungsverzeichnis	57
9.	Tabellenverzeichnis	57
10.	Bilderverzeichnis	58
11.	Literaturverzeichnis	59
12.	Danksagung	67
13.	Affidavit	68
14.	Publikationsliste	69

1. Einleitung

Die rheumatoide Arthritis (RA) ist die häufigste entzündliche rheumatologische Systemerkrankung mit einer Prävalenz von 0,5 bis 1 Prozent in Deutschland.

Unbehandelt führt die Erkrankung u.a. zu strukturellen, irreversiblen Schäden in den Gelenken mit Funktionsdefiziten. In der Folge kommt es zu eingeschränkter Lebensqualität und einer erhöhten Mortalität.

Die Prognose hat sich in den letzten Dekaden durch eine frühe Diagnosestellung und konsekutiv frühe Therapie („Hit hard and early“) sowie innovativen Therapiestrategien („Treat to target“) erheblich verbessert. Dabei gilt die Remission als Therapieziel. Auch im Hinblick auf die gegenüber der Normalbevölkerung erhöhte Mortalität aufgrund von kardiovaskulären Ereignissen, Malignomen und Infektionen hat sich die Prognose verbessert.

Trotz zahlreicher, mittlerweile neu verfügbarer Wirkstoffe bleibt Methotrexat (MTX) seit seiner Einführung in Deutschland 1988 das zentrale Basistherapeutikum in der Behandlung der RA und ist auch heute noch Mittel der ersten Wahl bei der Einleitung einer Basistherapie (1, 2).

MTX überzeugt insbesondere aufgrund seiner guten Wirksamkeit und seiner niedrigen Nebenwirkungsrate als Langzeitmedikament. Insbesondere die überzeugende Langzeitsicherheit ist aufgrund der in der Regel lebenslang erforderlichen Basistherapie von entscheidender Bedeutung in der Behandlung. Voraussetzung hierfür ist eine konsequente Überwachung der Basistherapie durch klinische und labor-basierte Kontrollen und eine Aufklärung des Patienten im Vorfeld. Als potentielle Nebenwirkungen unter Langzeit-MTX Therapie werden in der Literatur unter anderem mögliche Veränderung des Blutbildes (Thrombozytopenie, Leukopenie), entzündliche Reaktionen (u.a. Stomatitis bei oraler Einnahme), aber auch gastrointestinale Nebenwirkungen (Bauchschmerzen, Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Durchfälle) aufgeführt (3). Als seltenere unerwünschte Wirkung wird ein erhöhtes Risiko einer Leberfibrose beschrieben (4). Die Lebertoxizität von MTX kann durch die Routinekontrollen der Transaminasen (GOT, GPT) bzw. der Cholestaseparameter (GGT, AP, Bilirubin) überwacht werden. Die Erhöhung dieser Werte hat jedoch eine geringe Aussagekraft zu einer bereits stattgefundenen bzw. sich entwickelnden Fibrosierung. Die Leberfibrose wäre eine ernste Komplikation, weshalb sich in den letzten Jahren mehrere Arbeitsgruppen mit diesem Thema (u.a. der Pathogenese, Auftretungsfrequenz, Relevanz, Biomarker, Prognose) beschäftigt haben.

Zur Detektion und Quantifizierung einer Leberfibrose ist in der Hepatologie bislang die Leberbiopsie der Goldstandard. Da bei dieser invasiven Maßnahme eine nicht zu vernachlässigende Komplikationsrate besteht, werden zunehmend nicht-invasive und damit risikoärmere Verfahren angewendet. Zur nicht-invasiven Abschätzung einer Leberfibrose gibt es einfache Indizes und Scores wie den APRI (AST-to-Platelet-Ratio-Index), sowie auch komplexe Scores, wie den ELF-Test (Enhanced Liver Fibrosis) oder den FibroTest. Hier gehen unter anderem Messgrößen des hepatischen (EZM-) Metabolismus in die Berechnung ein. Die letzteren Tests benötigen zudem einen kostenpflichtigen Zugang zur Berechnungsmethodik. Die Fibroseeinschätzung über Berechnungsalgorithmen von Laborparametern hat in den letzten Jahren durch die zwischenzeitlich breit verfügbaren Möglichkeiten der Leberelastometriemessung an Bedeutung verloren. In diesem Zusammenhang steht mit dem ultraschallgesteuerten Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Verfahren die Möglichkeit einer nicht-invasiven Diagnostik zur Verfügung.

Die Abschätzung der Leberfibrosierung mittels ARFI hat inzwischen bei einer Reihe von chronischen Hepatopathien (insbesondere chronisch virale Hepatitiden) Eingang in die Routinediagnostik gefunden, sodass postuliert werden kann, dass eine valide Fibrosemessung auch bei einer chronischen Medikamententoxizität (hier MTX) angewendet werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer Querschnittsuntersuchung anhand von nicht-invasiven ARFI-Messungen das Risiko einer erhöhten Leberdichte bei Patienten mit einer RA unter Langzeit-MTX-Einnahme untersucht. Als Vergleichskollektiv wurden RA-Patienten ohne bisherige MTX-Therapie (MTX-naiv) untersucht.

2. Allgemeiner Teil

2.1 Rheumatoide Arthritis

2.1.1 Epidemiologie und Pathogenese

Epidemiologie:

Die RA zählt zu den chronisch-entzündlichen Autoimmunerkrankungen. Mit einer jährlichen Inzidenzrate von ca. 54/100.000 für Frauen und 25/100.000 für Männer liegt die Prävalenz bei bis zu 1% in den westlichen Industrienationen (5). Das typische Manifestationsalter der Krankheit liegt im Erwachsenenalter, wobei auch eine juvenile Form bekannt ist, welche vor dem 16. Lebensjahr beginnt.

In einer Analyse anhand bundesweiter vertragsärztlicher Abrechnungsdaten wurde die Diagnoseprävalenz für die Jahre 2009–2015 als Quotient der Anzahl der RA-Fälle und der Gesamtheit aller gesetzlich Krankenversicherten im jeweiligen Jahr berechnet. Hier zeigte sich ein Anstieg der Diagnoseprävalenz von 0,87 % (N = 526.211) im Jahr 2009 auf 1,08 % (N = 666.220) im Jahr 2015 (1).

Pathogenese:

Die RA zählt zu den multifaktoriellen Autoimmunerkrankungen, in deren Pathogenese neben Umweltfaktoren auch genetische Faktoren eine wichtige Rolle spielen. Charakteristisch für die RA ist die chronische, proliferative und unbehandelt in der Regel erosiv-destruierend verlaufende Synovialitis (6). Diese wird getragen von Zellen des angeborenen (u.a. dendritische Zellen, Monozyten/Makrophagen) wie auch von Zellen des erworbenen, spezifischen Immunsystems (B- und T-Lymphozyten) sowie von synovialen Fibroblasten. Die Zellen fungieren dabei über ein komplexes Netzwerk aus überwiegend proinflammatorischen Zytokinen miteinander (7) und halten somit die Entzündungsreaktion aufrecht. Als die bislang wichtigsten Vertreter der proinflammatorischen Zytokine sind hierbei der Tumornekrosefaktor (TNF), das Interleukin-1(IL-1) und das Interleukin-6 (IL-6) zu nennen, welche auch als therapeutische Zielstrukturen dienen.

Ein weiterer wichtiger Faktor in der Pathogenese der RA ist die Assoziation mit HLA- Allelen. Trigger-Faktoren, wie zum Beispiel das Rauchen, führen bei entsprechend genetisch prädisponierten Menschen zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, an einer RA zu erkranken (8).

Die Identifikation proinflammatorischer Zytokine sowie deren Rolle in der Pathogenese der RA Anfang bis Mitte der 1990er Jahre und in der Folge auch die Erkenntnisse zur Funktion von

Zellen in der rheumatischen Entzündungsreaktion waren die Grundlage für die Entwicklung neuer Wirkprinzipien, wie z.B. die zielgerichtete Therapie mit Biologika.

2.1.2 Klinik, Diagnostik und Therapie

Klinik:

Die RA zeichnet sich klinisch in der Regel durch eine symmetrische Polyarthritits insbesondere der Hand, Finger- und Zehengelenke aus (9). Für den Patienten stehen Schmerzen, Schwellungen, Funktionseinschränkungen sowie eine Morgensteifigkeit in den Gelenken im Vordergrund. Zusätzlich kommt es häufig zu einem allgemeinen Krankheitsgefühl mit Fatigue-Symptomatik und Kraftlosigkeit, nicht nur in den betroffenen Gelenken.

In den letzten Jahren haben auch die Erkenntnisse über die extraartikulären Manifestationen an Bedeutung gewonnen. Durch Studien ist belegt, dass u.a. ein signifikant erhöhtes kardiovaskuläres Risiko zu einer in der Folge erhöhten vorzeitigen Sterblichkeit bei Patienten mit einer RA führt (10, 11). Ferner besteht das Risiko einer Vaskulitis mit Beteiligung parenchymatöser Organe (12). Hier sind insbesondere seropositive Patienten betroffen. Zu seropositiven Patienten zählen Patienten mit Nachweis von Antikörpern gegen citrullinierte Proteine (ACPA) und/oder Immunglobulinen (Rheumafaktoren, RF).

Eine besondere Verlaufsform der RA ist das sogenannte Felty-Syndrom. Neben der Gelenkbeteiligung zeigt sich sehr früh eine extraartikuläre Manifestation in Form einer Neutropenie, Rheumaknoten und häufig auch einer Splenomegalie.

Die RA wird deshalb zunehmend als Systemerkrankung angesehen, wodurch auch die Kontrolle extraartikulärer Manifestationen bzw. Risikofaktoren insbesondere kardiovaskulärer Art weiter an Bedeutung gewinnt (13-15).

Bleibt die RA unbehandelt, kann dies zu einer irreversiblen Destruktion von Knorpel und Knochen an den Gelenken sowie zum Schaden an vielen Organen wie der Lunge (Intestinal Lung Disease - ILD), dem Herzen (Koronare Herzkrankheit - KHK, Herzinsuffizienz - HI) oder den Gefäßen (Arteriosklerose) führen. Dies geht mit einem dauerhaften Verlust der Gelenkfunktion bis hin zur Invalidisierung der Patienten mit frühzeitigem Verlust der Arbeitsfähigkeit oder sogar Pflegebedürftigkeit einher. Eine Studie aus dem Jahr 2002 zeigt, dass 29% der Patienten mit einer RA (Krankheitsdauer bei Studieneinschluss weniger als zwei Jahre) aufgrund der rheumatologischen Erkrankung bereits nach fünf Jahren nicht mehr berufstätig waren (16).

Diagnostik:

Eine frühe Diagnose der Erkrankung bildet die Basis für eine frühzeitige Therapie und damit einen langfristig günstigen Verlauf. Idealerweise sollten die Diagnosestellung und die Einleitung einer Therapie noch vor dem Nachweis von irreversiblen Gelenkveränderungen erfolgen. Eine umgehende Einleitung einer spezifischen Therapie ist entscheidend für den Erhalt der Gelenkfunktion (17, 18). Die lange Zeit gültigen Klassifikationskriterien der RA des American College of Rheumatology (American College of Rheumatology, ACR) von 1987 wurden durch die 2010 publizierten Kriterien auf Basis einer Kooperation der amerikanischen (ACR) und der europäischen Fachgesellschaft (EULAR, European League against Rheumatism) abgelöst (18). Die Klassifikationskriterien dürfen jedoch nicht als Diagnosekriterien herangezogen werden. Sie erlauben lediglich die Annahme einer RA bei Vorliegen einer Arthritis, fehlenden anderen Ursachen dafür und die Erfüllung der bekannten Mindestkriterien. Diese wiederum müssen für die Diagnose nicht erfüllt sein, wenn ein typischer radiologischer Befund vorliegt.

Insbesondere wenn in frühen Stadien noch keine Erosion nachweisbar ist, werden Parameter wie Dauer der Synovialitis, Anzahl und Größe entzündlich veränderter Gelenke, der Nachweis von Rheumafaktoren und/oder Antikörper gegen citrullinierte Proteine (ACPA) sowie der Nachweis von serologischen Entzündungsmarkern (CRP, Blutsenkungsgeschwindigkeit) mit Punktwerten gewichtet und zur Klassifikation herangezogen. Ein wesentliches Ziel der Überarbeitung der Kriterien war es, die Erkrankung bereits vor Eintritt irreversibler struktureller Schäden im Gelenk als RA klassifizieren zu können. Dies ist, wie eine retrospektive Analyse britischer Registerdaten zeigt, auch gelungen. Die Zeit bis zur Diagnose einer RA durch die neuen ACR/EULAR Kriterien gegenüber den ACR Kriterien aus dem Jahr 1987 wurde um bis zu fünf Jahre verkürzt (19). Formal handelt es sich allerdings weiterhin um Klassifikations-, aber nicht um Diagnosekriterien.

Therapie:

In der Therapie der RA ist das Ziel die Remission der Erkrankung. Sollte dies nicht möglich sein, z.B. im Falle einer bereits weit fortgeschrittenen RA, gilt zumindest eine niedrige Krankheitsaktivität als Ziel (20). Es wird angestrebt, die Remission innerhalb von 3 Monaten, maximal aber innerhalb von 6 Monaten nach Diagnosestellung zu erreichen.

Die Remission ist als vollständiges Fehlen von Zeichen und Symptomen der Krankheitsaktivität sowie einen fehlenden Progress der radiologisch nachweisbaren Gelenkdestruktion definiert.

Die Therapie der RA fußt auf dem Prinzip der Immunmodulation. Die dabei eingesetzten Substanzen umfassen konventionelle Basistherapeutika (csDMARDS= conventional synthetic disease modifying anti-rheumatic drugs, wie MTX oder Leflunomid (LEF)) und Biologika (bDMARD= biological disease modifying anti-rheumatic drugs wie beispielsweise TNF-Inhibitoren, IL-6R-Inhibitoren, T-Zell-Aktivierungshemmer oder Substanzen, die B-Zellen depletieren).

Seit 2017 sind in Deutschland zudem Januskinasehemmer (tsDMARDS= targeted synthetic disease modifying anti-rheumatic drugs auch „small-molecules“ genannt) verfügbar.

Laut der S2-Leitlinie der DGRh sollte, sobald die Diagnose einer RA gestellt ist, eine Therapie mit einem csDMARD begonnen werden. Das Ziel dieser Therapie ist immer das Erreichen und die Erhaltung einer Remission. Kontrollen der Krankheitsaktivität werden bei aktiver Erkrankung häufig (alle 1-3 Monate) mit einem Composite Score empfohlen (z.B. CDAI, DAS28, SDAI). Der Clinical Disease Activity Index (CDAI) berechnet sich aus der Anzahl der geschwollenen Gelenken von 28 definierten Gelenken, der Zahl der druckschmerzhaften Gelenke von 28 definierten Gelenken sowie der Einschätzung der Krankheitsaktivität durch Patient und Arzt auf einer visuellen Analogskala (VAS). In den Disease Activity Score 28 (DAS28) fließen die oben genannten Parameter sowie die Berechnung der Blutsenkungsgeschwindigkeit mit ein. Ergänzt man den CDAI-Score noch um den CRP-Wert (C-reaktives Peptide) so erhält man den Simplified Disease Activity Index (SDAI).

Ist 3 Monaten nach Beginn der Therapie keine Verbesserung erkennbar oder nach 6 Monaten das Ziel der Remission noch nicht erreicht, sollte die Therapie angepasst werden (21).

Die Therapie wird in der Regel nach Ausschluss von Kontraindikationen mit MTX als erstem csDMARD begonnen, welches aufgrund seiner guten Wirksamkeit und der überzeugenden Langzeitsicherheit in einer Mono- oder Kombinationstherapie verwendet wird (22). Besteht eine Kontraindikation für MTX, soll eine Therapie z.B. mit LEF begonnen werden (21).

Zeigt ein Patient eine niedrige Krankheitsaktivität und ein geringes Risiko für einen gelenksdestruierenden Verlauf, werden auch Sulfasalazin (SSZ) oder Hydroxychloroquin angewendet. Die Wirkung der konventionellen Basistherapeutika setzt in der Regel um mehrere Wochen versetzt ein. Aufgrund dieser Wirkverzögerung werden die konventionellen Basistherapeutika initial mit Glucocorticoiden (GC) kombiniert. Empfehlenswert ist eine Initialdosis von bis zu 30 mg Prednisolonäquivalent/Tag mit Reduktion auf eine niedrige Dosis (Ziel <7,5 mg/d) binnen weniger Wochen. Die GC-Therapie sollte auf 3-6 Monate beschränkt

werden. Eine zusätzlich intraartikuläre Gabe erscheint oft als sinnvoll. Es zeigt sich allerdings, dass lediglich 25% der Patienten mit MTX in Kombination mit Glucocorticoiden nach einem Jahr eine Remission erreichen (23) oder auch längerfristig Glucocorticoide angewandt werden. Durch die Kombination von MTX z.B. mit TNF-Inhibitoren wird der Anteil der Patienten in Remission gegenüber MTX alleine auf über 50% verdoppelt. Neben der Reduktion der klinischen Krankheitsaktivität zeigt sich als wesentlicher Effekt zudem eine signifikant bessere Hemmung der radiologischen Progression (23). Zahlreiche Daten belegen mittlerweile, dass durch die konsequente Umsetzung der aktuellen Therapieempfehlungen und die Anwendung von Biologika ungünstige Systemeffekte der RA wie z.B. das erhöhte kardiovaskuläre Risiko abnehmen. Die vorzeitige Sterblichkeit von RA-Patienten wird somit reduziert (24, 25).

Für die Behandlung der mittelschweren und schweren RA stehen mehrere Biologika als Therapieoption zur Verfügung. Grundsätzlich lassen sich Biologika pharmakologisch gesehen in zwei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe beinhaltet die Anti-Zytokine wie die TNF-blockierenden Präparate Infliximab, Adalimumab, Etanercept, Certolizumab und Golimumab, die gegen den Interleukin-6-Rezeptor gerichteten Tocilizumab und Sarilumab und das gegen den Interleukin-1-Rezeptor gerichtete Anakinra. Zur zweiten Gruppe zählt man die zellgerichteten Biologika wie Rituximab (gegen CD20 auf B-Lymphozyten) oder das CTLA4-Ig Abatacept (Zielstruktur ist das CD80/86-Molekül und damit die Interaktion der antigenpräsentierenden Zellen und T-Lymphozyten). Trotz der sehr unterschiedlichen Zielstrukturen und Wirkprinzipien sind die genannten Biologika mit Ausnahme des Anakinra in der Kombination mit MTX allesamt vergleichbar effektiv. Die Biologika bieten im Vergleich zu den anderen Basistherapeutika die Möglichkeit, die Zielstruktur exakt zu benennen und ein gezieltes Eingreifen in den Entzündungsprozess zu ermöglichen. Seit 2017 sind in Deutschland sogenannte Januskinaseinhibitoren („small-molecules“) verfügbar. Diese haben mittels Modulation intrazellulärer Signalwege die therapeutischen Optionen nochmals erweitert (26).

Neben der Entwicklung neuer Wirkprinzipien und Substanzen fand auch ein Fortschritt im Hinblick auf die zugrundeliegenden Therapiestrategien statt (27). Es liegen mittlerweile zahlreiche nationale und internationale Empfehlungen zu den Therapiezielen und der sequentiellen Behandlung der RA mit immunmodulierenden Substanzen vor (28). Für Deutschland wurde die bereits zitierte S2e-Leitlinie zur Behandlung der RA publiziert (2). Einer der zentralen Punkte aller Empfehlungen ist das möglichst schnelle Erreichen einer Remission („treat-to-target“) (29, 30). Man versucht dies durch die konsequente Anpassung der

Medikation im Abstand weniger Wochen an die jeweilige Krankheitsaktivität zu erreichen (Konzept der „tight control“) (1, 28, 31).

Hierbei sind insbesondere individuelle Risikofaktoren des Patienten zu berücksichtigen, welche zu einem prognostisch ungünstigen Verlauf führen. Hierzu zählen Erosionen bereits bei Diagnosestellung, eine hohe Anzahl synovitischer veränderter Gelenke, Erhöhung serologischer Entzündungsmarker und der Nachweis von RF und/oder ACPA (32). ACPA sind hochspezifische (>96%) Marker für die RA, welche in der Routinediagnostik fest etabliert sind. Sie finden sich bei zirka 70% der Patienten mit einer RA (33). Der Nachweis von ACPA und/oder RF hat neben seinem diagnostischem auch einen hohen prognostischen Wert. Ihr Nachweis, insbesondere bei hohem Antikörpertiter, deutet auf einen rasch gelenkdestruktiven Verlauf und somit eine schlechte Prognose hin (32, 34). Gemäß den nationalen wie internationalen Therapieempfehlungen sollte nach optimiertem Einsatz eines konventionellen Basistherapeutikums (in der Regel MTX) bereits nach wenigen Wochen bis Monaten oder nach Nichterreichen einer Remission die Hinzunahme eines Biologikums erwogen werden. Ein früherer Einsatz von Biologika kann bei individuellen Risikofaktoren für einen prognostisch ungünstigen Verlauf gerechtfertigt sein (21, 35).

Konkrete Empfehlungen zur Deeskalation einer laufenden Therapie nach Erreichen der Therapieziele können noch nicht gegeben werden. Hierzu ist die vorliegende Datenlage (noch) zu gering. In einer der wenigen hierzu bislang publizierten Studien wurde gezeigt, dass bei 23% der Patienten im 5-Jahres-Verlauf der Status einer medikamentenfreien Remission erreicht wurde. Eine Therapiedeeskalation bzw. -beendigung war frühestens nach einer mindestens 6-monatigen Remission möglich (36, 37). Hierbei gilt es v.a. angesichts des Risikos einer inadäquat behandelten und damit potentiell zu irreversiblen strukturellen Defiziten führenden Erkrankung weitere Daten abzuwarten.

2.1.3 Rolle des Methotrexats in der Therapie der Rheumatoiden Arthritis

Trotz mehrerer Jahrzehnte der Verfügbarkeit und der Etablierung neuer therapeutischer Optionen bleibt MTX das meistverordnete Medikament bei der RA und damit die zentrale Substanz in der Behandlung der RA. Dies wird auch in mehreren internationalen Leitlinien wie z.B. denen der DGRh (2), des ACR oder der EULAR belegt (38). Bei Versagen der Monotherapie wird MTX in Kombination mit anderen Basistherapeutika, wie z.B. Biologika oder Januskinasehemmern, verabreicht (39, 40).

Eine der wichtigsten Nebenwirkungen des MTX ist die Hepatotoxizität, welche sich in den routinemäßigen Laborkontrollen unter MTX-Therapie häufig durch Erhöhung der Leberwerte zeigt. Mitunter zwingt dies zur Dosisreduktion oder zu einem gänzlichen Absetzen von MTX (41-45). Somit haben sich regelmäßige Laborkontrollen der Transaminasen und der Cholestaseparameter bei Patienten unter MTX-Therapie etabliert (46, 47). Bei Auffälligkeiten dieser Werte sind weitere diagnostische Maßnahmen wie Ultraschalldiagnostik, Leberbiopsie oder die nicht-invasive Elastometrie-Technologie durchzuführen.

Gleichzeitig muss auf die Einnahme anderer hepatotoxischer Medikamente sowie toxischer Effekte, z.B. im Rahmen eines Alkoholkonsums, geachtet werden, welche ebenfalls zu einem Anstieg der Leberwerte führen können (44). Ansonsten kann es zu potentiell irreversiblen Strukturveränderungen in der Leber, wie z.B. einer Leberfibrose und in der Folge einer Leberzirrhose als gefürchtete Komplikation kommen.

2.2 Leberfibrose

2.2.1 Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese

Epidemiologie:

Unter einer Leberfibrose versteht man einen Prozess, bei welchem Entzündungen in der Leber über fibrotische Umbauvorgänge zu einer Zerstörung der Läppchen- und Gefäßstruktur führen. Dieser Prozess gilt als Vorstadium der Leberzirrhose. Weltweit, auch in Deutschland, steigt die Zahl der Lebererkrankungen jährlich. Epidemiologische Daten für Deutschland aus dem Jahr 2010 zeigen, dass etwa jeder 5. Erwachsene eine Fettleber hat, die durch Übergewicht, Diabetes mellitus, Alkoholkonsum oder falsche Ernährung bedingt ist. Die Geschlechterverteilung liegt bei 2:1 mit doppelt so hohem Anteil beim männlichen Geschlecht, die Prävalenz bei 9,5% (48, 49).

Ätiologie:

Die Leberfibrose ist ein komplexer Prozess, welchem unterschiedliche Ätiologien zugrunde liegen. Noxen wie Alkoholabusus (Acute Liver Disease - ALD), virale Infektionen (insbesondere Hepatitis B und C), nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH) (häufig als Folge eines metabolischen Syndroms), Autoimmunerkrankungen, cholestatische Lebererkrankungen, Stoffwechselerkrankungen (u.a. Hämochromatose, M. Wilson, Mukoviszidose etc.), aber auch Toxine und bestimmte Medikamente führen zu einer Leberschädigung (49).

Pathogenese:

Die Pathogenese chronischer Lebererkrankungen ist im weiteren Verlauf weitgehend identisch. Sie ist gekennzeichnet durch ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Zelltypen und löslicher Faktoren. Die zuvor genannten Noxen führen alle zu einer chronischen Entzündungsreaktion in der Leber, bei der lebereigene parenchymatöse Zellen (Hepatozyten) absterben. Hierdurch wird eine Wundheilungsreaktion eingeleitet, welche zu einer Infiltration durch Immunzellen und einer Aktivierung von Leber-Makrophagen (Kupfer-Zellen) und hepatischen Sternzellen (HSC) führt. Diese hepatischen Sternzellen wandeln sich im Verlauf zu Bindegewebsmatrix-produzierenden Zellen (Myofibroblasten) um. Diese produzieren Kollagen, welches in das Lebergewebe eingelagert wird und somit zu einer bindegewebigen Vernarbung des Organs führt (siehe Abbildung 1). Es kommt im weiteren Verlauf zu einer Störung bis hin zur vollständigen Aufhebung der Leberarchitektur. Folglich wird auch die Funktion des Organs zunehmend angegriffen. Hierunter versteht man Einschränkungen in der Synthese von Gerinnungsfaktoren, Transportproteinen (z.B. Albumin), Globulinen, in der Detoxifikation von endogenen und exogenen Giftstoffen (Medikamente, Alkohol) sowie in der Verwertung von Vitaminen- und Spurenelementen. Im Endstadium der Leberzirrhose kommt es zu einer Störung der intrahepatischen Blutzirkulation mit der Folge der portalen Hypertension. Die Leberzirrhose stellt eine fakultative Präkanzerose dar, durch welche sich primäre Lebertumoren, wie das hepatozelluläre Karzinom (HCC) entwickeln können. Im Gegensatz zur fortgeschrittenen Leberzirrhose ist die Leberfibrose reversibel. Selbst in einem fortgeschrittenen Stadium kann es zu einer Regression der Fibrose kommen. Hierdurch wird die Bedeutung der genauen frühzeitigen Diagnostik und Behandlung deutlich, um die Entwicklung in eine Leberzirrhose zu verhindern (49, 50).

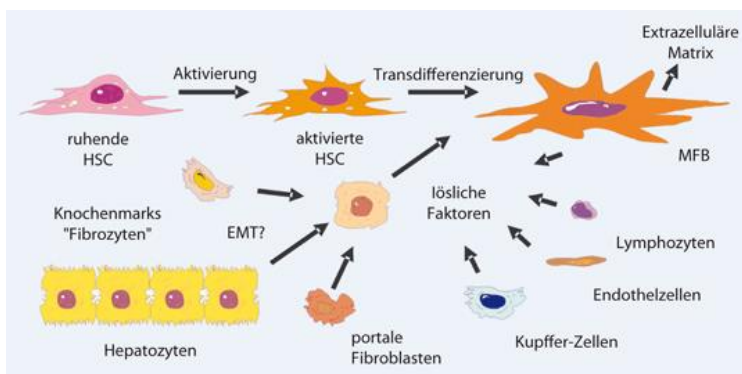


Abbildung 1: Pathophysiologisches Zusammenspiel zwischen Entzündungsreaktion und Fibrose

Tacke F, Weiskirchen R. Pathophysiologie der Leberfibrose. Der Internist. 2010;51(1):21-9

2.2.2 Klinik, allgemeine Diagnostik und Therapie

Klinik:

Die Leberfibrose ist klinisch oft unauffällig. Typischerweise stellen sich erst im Stadium der Leberzirrhose Symptome dar. Häufig sind unspezifische Allgemeinsymptome wie Abgeschlagenheit, Druck und Völlegefühl im Oberbauch, Bauchumfangszunahme, Ikterus und Pruritus. Im fortgeschrittenem Stadium der Leberzirrhose kann es zu den sogenannten Leberhautzeichen (Periumbilikale Erweiterung der subkutanen Venen: „Caput medusae“, Teleangiektasien wie Spider naevi, Lackzunge uvm.) oder Hormonveränderungen (Gynäkomastie, Amenorrhoe, Potenzstörungen) kommen.

Allgemeine Diagnostik:

Für die Diagnostik und Einschätzung des Schweregrades einer Leberfibrose gilt seit vielen Jahren die Leberbiopsie als „Goldstandard“. Die histologische Untersuchung des Biopsats erfolgt mithilfe einer speziellen Kollagenfärbung (z.B. Sirius-Rot, Ladewig-Färbung, Kollagenimmunhistochemie). Das hierdurch gewonnene Material wird nach bestimmten Scoring- Systemen (z.B. nach Desmet und Scheuer) eingeteilt, um das Ausmaß der Fibrose zu bestimmen. Die Leberbiopsie birgt jedoch prozedurbedingte Risiken wie Nachblutung oder Infektion. Darüber hinaus zeigt das Biopsat nur einen kleinen Gewebeanteil der Leber, welcher nicht immer repräsentativ für das gesamte Organ ist. In den letzten Jahren wurde aufgrund dieser Nachteile nach nicht-invasiven Techniken zur Diagnostik der Leberfibrose gesucht (51).

Als wichtiges Diagnostikverfahren werden beispielsweise neue Biomarker verwendet. Diese werden aus dem Serum gewonnen und korrelieren mit dem Kollagengehalt, der Fibroseaktivität und dem Entzündungsgrad der Leber. Die Marker sind nur kombiniert in einem Score miteinander als repräsentativ zu verwenden (52). Typische Scores sind der Enhanced Liver Fibrosis (ELF)-Score, der FibroTest und der Forns-Index (51). Der FibroTest beispielsweise besteht aus fünf Serum-Markern, dem Alpha 1-Makroglobulin, Apolipoprotein A1, Haptoglobin, γ -Glutamyltranspeptidase und dem Bilirubin. Dieser Test zeigt den Schweregrad der Leberschädigung. Es werden allerdings nur fortgeschrittene Fibrotestadien und Leberzirrhosestadien detektiert. Für die Diagnose von leichten bis mittelgradigen Fibrotestadien ist dieser Test nicht geeignet (50, 53).

Daneben gibt es neue physikalische Techniken, um den Fibrotestgrad zu bestimmen. Die transiente Leberelastometrie-Messung (Fibroscan) basiert auf einem ultraschall-gesteuerten Verfahren. Hierbei wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit niedrigfrequenter elastischer

Ultraschallwellen in der Leber gemessen. Hierdurch kann je nach Ausbreitungsgeschwindigkeit auf einen Steifigkeitsgrad des Lebergewebes geschlossen werden. Der Fibroscan ist nicht valide bei adipösen Patienten und beim Vorliegen von Aszites (49). Andere physikalische Methoden zur Detektion einer Leberfibrose sind der konventionelle Abdomenultraschall, der kontrastmittel-unterstützende Ultraschall, ein konventionelles MRT, eine MR Elastographie, ein kontrastmittel-unterstützendes MRT und das in dieser Arbeit verwendete ARFI-(Acoustic Radiation Force Impulse) Verfahren (49, 51).

Therapie:

Aktuell gibt es zwei Therapieansätze zur Behandlung einer Leberfibrose.

Der erste Ansatz richtet sich gegen die Ursache der zugrunde liegenden Lebererkrankung. Beispielsweise kann sich bei Patienten mit einer NASH durch erfolgreiche Gewichtsreduktion mit diätischen Maßnahmen und Sport die Fibrose zurückbilden. Bei Patienten, bei denen eine Hepatitis C Virusinfektion kausal für die Fibrose ist, kann diese durch erfolgreiche Viruseradikation reduziert werden (54).

Der zweite Ansatz bezieht sich auf das Endstadium der Leberzirrhose. Als kuratives Verfahren gibt es derzeit nur die Lebertransplantation als Organersatz. Diese operative Möglichkeit kommt aufgrund des bekannten, weltweiten Organmangels nur für wenige Patienten in Frage. Somit ist die Dringlichkeit gegeben, neue Therapieansätze zu entwickeln. Durch die Entdeckung der unterschiedlichen Signalwege und komplexen pathophysiologischen Vorgänge der Fibrose und des Zusammenspiels unterschiedlicher molekularer Mediatoren könnten sich neue Therapieansätze ergeben (51, 52). Deshalb gilt bis auf Weiteres primär die Entstehung der Zirrhose zu verhindern.

Bei Patienten, deren Fibrose durch eine NASH verursacht wird, werden derzeit mehrere Therapiemöglichkeiten in Phase I/II-Studien geprüft. Es scheint vielversprechend, die Infiltration von Makrophagen in die Leber und/oder ihre inflammatorische Funktion zu hemmen (47). In Phase-III-Studien wird hierfür aktuell der Hemmstoff Cenicriviroc erforscht, ein Chemokinrezeptor-Blocker (Hemmung des Chemokins CCL2 durch Blockierung der CCR5- und CCR2- Rezeptoren), der verhindert, dass die eingewanderten Monozyten sich zu Makrophagen umwandeln (47). In der bisher laufenden CENTAUR-Studie (Phase 2B, n=298) zeigte sich, dass sich der Fibrose-Score unter Cenicriviroc mindestens um eine Stufe besserte. Patienten im fortgeschrittenem Fibrorestadium profitierten von der Therapie am meisten (53). Ergebnisse der derzeit laufenden Phase-III-Studie stehen noch aus. Ebenfalls in der Diskussion

ist das halbsynthetische Gallensäurederivat Obeticholsäure, welches am Hormonrezeptor Farnesoid-X-Rezeptor (FXR) wirkt und diesen aktiviert. Diese Bindung führt zu einer Verbesserung der Insulinresistenz und des Glukosestoffwechsels sowie zu einer reduzierten hepatischen Lipogenese (48). Dieser Therapieansatz befindet sich ebenfalls noch in der Phase-III-Testung. Ergebnisse werden in den kommenden Jahren erwartet. Derzeit ist noch keine Empfehlung oder Zulassung zu einer medikamentösen Therapie der Leberfibrose möglich.

2.2.3 Leberfibrose als Ausdruck einer medikamentösen Hepatotoxizität

Neben der Synthese- und der Speicherfunktion ist eine weitere wichtige Aufgabe der Leber die Entgiftung und Ausscheidung von Metaboliten. Vor allem Alkohol, Medikamente und Stoffwechselabbauprodukte werden über die Leber ausgeschieden. Ein wichtiges Enzym zum Abbau von Giftstoffen und Medikamenten ist die Cytochrom P450 Monooxygenase, insbesondere ihre Unterform CYP3A4, über welche viele Arzneimittel verstoffwechselt werden (Biotransformation). Manche Medikamente und Stoffe, welche in ihrer Grundform im Organismus inaktiv (oder wenig aktiv) sind, werden durch die Enzyme der Biotransformation erst in wirksame Substanzen umgewandelt. Dies kann erwünschte, aber auch unerwünschte Folgen haben. Ein an sich harmloses Medikament kann in einen toxischen Metaboliten umgewandelt werden und die Hepatozyten der Leber angreifen. Eines der bekanntesten Beispiele für eine dieser „Giftreaktionen“ ist die Paracetamol-Intoxikation. Paracetamol ist ein häufig eingesetztes Schmerzmittel und Antipyretikum. Es wird zum größten Teil glucuronidiert und sulfatiert eliminiert. Ein kleiner Teil wird jedoch oxidiert und als Glutathion-S-Konjugat ausgeschieden. Bei einer Menge von >150 mg/ kg KG übersteigt die Menge des oxidierten Paracetamols die des Glutathions. Das oxidierte Paracetamol reagiert mit freien SH-Gruppen auf bestimmten Makromolekülen von Hepatozyten. Dies kann zu einer irreversiblen Zerstörung der Hepatozyten und einem lebensbedrohlichen Leberversagen führen (55).

Lebertoxische Stoffe werden in zwei Gruppen eingeteilt. Es gibt einmal die obligaten Hepatotoxine. Hierbei tritt die vorhersehbare Leberschädigung nach kurzer Latenz und dosisabhängig auf. Die zweite Gruppe besteht aus den fakultativen Hepatotoxinen. Diese Gruppe beinhaltet die Mehrzahl aller hepatotoxischen Medikamente. Hier erfolgt die Schädigung nach unterschiedlich langer Latenz dosisunabhängig. Sie ist nicht vorhersehbar. Ein erstes Warnsignal nach einer Medikamentenexposition ist meist ein Anstieg der Leberwerte. Bei einem Anstieg des GOT-Wertes liegt eine hepatozelluläre Schädigung vor. Arzneimittel, welche diese verursachen können, sind unter anderem Paracetamol, Amiodaron, MTX, NSAR, Omeprazol, Rifampicin, Statine und Tetrazycline. Eine cholestatische

Schädigung liegt bei einem Anstieg der Cholestaseparameter wie γ -GT, alkalische Phosphatase und Bilirubin vor. Hier können Medikamente wie Amoxicillin-Clavulansäure, anabole Steroide, Clopidogrel oder Östrogene verantwortlich sein (56, 57).

2.3 Spezifische Diagnoseverfahren bei Leberfibrose

2.3.1 Ultraschallbasierte Diagnostik

Sonographie:

Die Sonographie des Abdomens stellt bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen das am häufigsten verwendete diagnostische Verfahren zur Primärdiagnostik dar. Durch seine ständige Verfügbarkeit, die geringen Betriebskosten, die nicht vorhandene Strahlenbelastung und die Möglichkeit der wiederholten Durchführung gilt es auch als nicht-invasiver Goldstandard in der Verlaufsdagnostik (50).

In einer prospektiven Vergleichsstudie mit 85 Patienten, bei denen histologisch Leberveränderungen festgestellt wurden, zeigte sich, dass eine Fibrose mit einer Sensitivität von 57% und einer Spezifität von 88% durch Ultraschalldiagnostik detektiert wurde (58).

Die Leber wird beurteilt nach Größe, Form, Oberfläche, Binnenstruktur und Gefäßverlauf. Für die Feststellung einer Leberfibrose sind die genauere Betrachtung der Parameter Leberoberfläche, Binnenstruktur und Gefäßverlauf wichtig. Bei gesundem Leberparenchym ist die Oberfläche glatt, der kaudale Leberrand spitz (<45 Grad) und die Binnenstruktur homogen. Die Äste der Pfortader und der Vena hepatica breiten sich zart und ohne Kalibersprünge in die Peripherie aus.

Liegt eine Fibrose vor, so zeigt sich die Leberoberfläche knotig, der kaudale Leberrand ist abgerundet und die Binnenstruktur inhomogen. Es kommt zu einer Hypertrophie der Leber, insbesondere im Bereich des Lobus caudatus. Im weiteren Krankheitsverlauf (Leberzirrhose) atrophiert die Leber dann zunehmend. Nach den parenchymatösen Veränderungen tritt im Rahmen einer Leberzirrhose eine Rarefizierung der intrahepatischen Portalgefäße und Lebervenen auf.

Die noduläre Oberflächenstruktur ist der führende Parameter für die sonographische Festlegung einer fortgeschrittenen Leberfibrose. Die Sensitivität dieses Parameters liegt bei 54%, die Spezifität bei 95%. Die oben genannten anderen Parameter haben ebenfalls eine hohe Spezifität, jedoch eine geringe Sensitivität (59).

Im Stadium der Leberzirrhose kann mithilfe eines Dopplerultraschalls eine portale Hypertension an der Pfortader (Durchmesser > 13mm, verminderte Flussgeschwindigkeit < 15 cm/s) gemessen werden (51). Weitere sonographische Hinweise für eine portale Hypertension sind das Vorliegen von Aszites, einer Splenomegalie, einer Pfortaderthrombose oder eines ausgeprägten Shunts (z.B. eine rekanalisierte V. umbilicalis).

Die Domäne der Kontrastmittelsonographie ist in erster Linie die Darstellung und Differenzierung von fokalen Leberveränderungen. Sie findet bei der Diagnose einer Leberfibrose nur geringen Einsatz.

Transiente Elastographie:

Die Transiente Elastographie (TE, Fibroscan) ist eine nicht-invasive Methode zur Messung des Bindegewebsgrades in der Leber bei chronischen Lebererkrankungen. Die ersten klinischen Daten des Fibroscans wurden 2002 veröffentlicht (60, 61). Das Gerät der TE ist ausgestattet mit einer Kontrolleinheit bestehend aus Monitor und Tastatur, einem Computer und einer Sonde, die einem Vibrationsgenerator entspricht, auf dem ein 5-MHz-Ultraschallgerät montiert ist. Im Vibrationsgenerator werden langsame, elastische Transversalwellen (50Hz) erzeugt und mithilfe des Ultraschallkopfes in das Leberparenchym entsendet (61). Es wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Transversalwelle gemessen, welche mit dem Steifigkeitsgrad des Leberparenchyms korreliert und in Kilopascal (kPa) angegeben wird (siehe Abbildung 2).

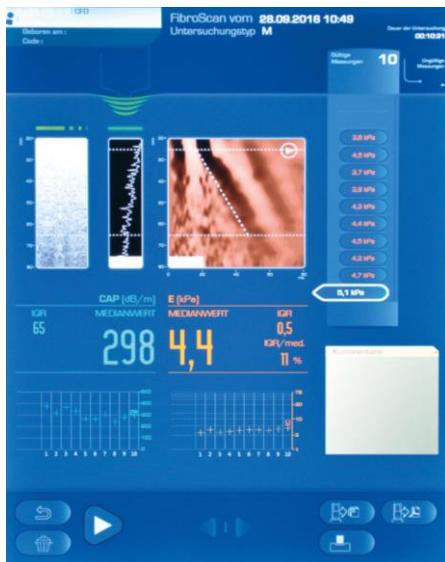


Abbildung 2: Fibroscan Methodik

Dietrich CF, et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med.* 2017;38(4):e16–e47.

In einer Metaanalyse von Friedrich-Rust im Jahr 2008 wurde ein Grenzwert für das Vorliegen einer signifikante Fibrose Grad 2 $F > 2$ von 7,65 kPa ermittelt. Von einer Zirrhose $F = 4$ wird ab einem Wert von 13.01 kPa gesprochen (60).

Die TE kommt häufig bei der Beurteilung des Fibrosegrades chronischer Lebererkrankungen wie Hepatitis C, Hepatitis B, ALD, NASH oder biliärer Zirrhose zum Einsatz (61).

Die Genauigkeit der TE ist abhängig von den Untersuchungsbedingungen. Sie sinkt bei geringem Fibroestadium, hohem Body Mass Index (BMI), Aszites und einer vorliegenden Leberverfettung (62).

Verglichen mit anderen nicht-invasiven Diagnostikverfahren erzielt die TE ähnlich gute Werte wie der APRI-Score oder der FibroTest. Empfohlen wird eine Kombination des Fibroscans mit dem FibroTest, um die diagnostische Genauigkeit zu erhöhen (62).

Acoustic Radiation Force Impulse:

Die Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)-Methodik stellt eine neue Möglichkeit dar, mithilfe eines Ultraschallgerätes während eines Abdominalschalls die Leberdichte zu messen. Hierfür wird zum Beispiel das Siemens ACUSON S300 verwendet, welches mit einem 4,5-MHz-Curved-Array-Schallkopf ausgestattet akustische Druckimpulse erzeugt. Diese Schallwellen werden in einen frei wählbaren Bereich des rechten Leberlappens, Segment 7 („region of interest“), entsendet (63). Die Ausbreitungsgeschwindigkeit dieser Scherwellen („shear waves“) wird mithilfe eines Erfassungsimpulses am Ultraschallkopf detektiert (siehe Abbildung 3). Eine Studie von Eiler et al. aus dem Jahr 2012 hat gezeigt, dass die Messwertstreuung unter Verwendung des rechten Leberlappens geringer war als unter Verwendung des linken (64). Die Methodik der Messdurchführung sowie die Auswertung der einzelnen Messergebnisse wird ausführlich im Kapitel 3 „Methodik, Patienten und Statistik“ erläutert.

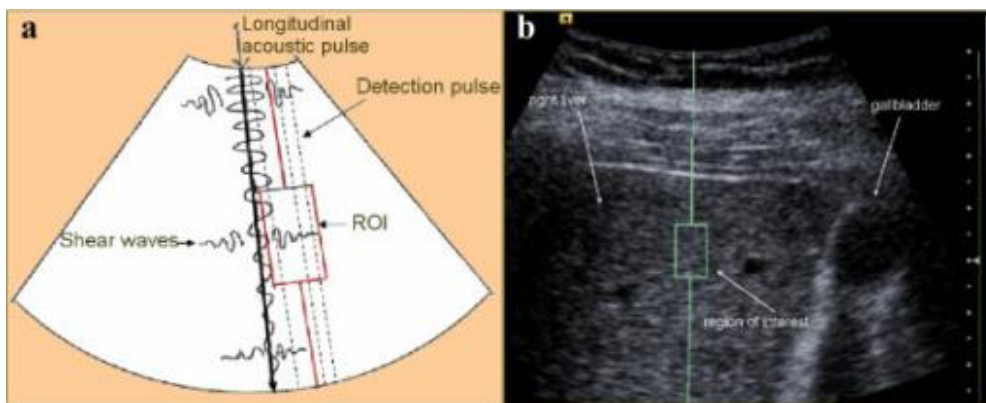


Abbildung 3: ARFI quantitative measurement

Fruhio N, Herve T, Perez P, Asselineau J, Vandenhende M, Hessamfar M, et al. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) and Transient Elastography (TE) for evaluation of liver fibrosis in HIV-HCV co-infected patients. BMC infectious diseases. 2014;14:405.

Bei der ARFI-Technologie können im Vergleich zur TE gleichzeitig in einer Untersuchung die Lebermorphologie und das Fibroestadium beurteilt werden. Auch in Bezug auf die Messeinstellung liegen Unterschiede bei beiden Verfahren vor. Während bei der FibroScan-Methode der Untersucher an eine bestimmte Messtiefe und ein festgelegtes Standardfenster gebunden ist, bietet das ARFI die Möglichkeit, mittels Cursors die Messtiefe festzulegen. Wie in einer Studie von Clevert et al. beschrieben, ist die Untersuchungszeit zur Bestimmung des Fibroestadiums mittel ARFI bis zu 60% kürzer als bei einer Messung durch FibroScan (65).

2.3.2 Invasive Verfahren

Leberpunktion:

Weltweit hat sich die perkutane, sonographisch kontrollierte Leberpunktion nach Menghini als Standard für die invasive Beurteilung des Lebergewebes durchgesetzt. Der Patient wird auf dem Rücken liegend punktiert. Dabei orientiert sich der durchführende Arzt mithilfe eines Ultraschalls oder eines Computertomogramms. Es wird ein geeigneter Interkostalraum unterhalb des Sinus phrenicocostalis (Zwerchfell-Rippen-Winkel) zwischen vorderer und mittlerer Axillarlinie in Atemmittellage aufgesucht. Nach Hautdesinfektion und lokaler Anästhesie (Lidocain 0,5-2%) erfolgt die Punktion.

Bei diffusen Hepatopathien wird die Biopsie mithilfe einer Menghini-Nadel (1,2-1,8 mm Durchmesser) durchgeführt, die über Vakuum-Aspiration einen Zylinder von bis zu 5 cm Länge entnehmen kann. Für fokale Läsionen wird die sogenannte Tru-Cut-Nadel als gezielte schneidende Biopsietechnik bevorzugt. Durch halbautomatische Schussapparate wird die Anwendung erleichtert.

Eine Beurteilung der Leberbiopsie ist nur bei einer optimalen Größe der Leberstanzzylinder und ausreichender Anzahl der Portalfelder möglich. Da jede Probenentnahme einen invasiven Eingriff darstellt, sind multiple Gewebeprobenentnahmen aus dem rechten und linken Leberlappen schwer durchführbar. Die Anzahl der Portalfelder sollte am Ende der Untersuchung > 10 pro Schnittebene betragen. Eine spezielle Kollagenfärbung (z.B. nach Ladewig, Sirius-Rot, Kollagenimmunhistochemie) dient der Beurteilung des gewonnenen Materials. Hierdurch wird das Ausmaß der Fibrose sichtbar. Anschließend wird anhand eines Scoring Systems (z.B. nach Desmet und Scheuer) das Stadium der Fibrose festgelegt (66).

Obwohl die Methode insgesamt sehr sicher ist, muss mit signifikanten Komplikationen bei etwa 1% der Punktionen gerechnet werden. Die Letalität liegt unter 0,1% (67). Als Komplikationen kann es zu Nachblutungen und Gallenleckagen, seltener zu Verletzungen anderer Organe (Gallenblase, Lunge, Niere) oder einer Bakteriämie kommen.

Neben dem geringen, aber nicht zu vernachlässigenden Komplikationsrisiko ist ein weiterer Nachteil dieser Diagnostik, dass nur ein kleiner Bruchteil des Lebergewebes gewonnen werden kann. Dies spiegelt nicht die Beschaffenheit der gesamten Leberstruktur wider und ist somit nicht immer repräsentativ für das Stadium der Leberfibrose. Aus diesen Gründen wird zunehmend nach neuen, nicht-invasiven Diagnostikmöglichkeiten gesucht, welche einen genaueren und umfassenderen Einblick in die Leberstruktur bieten.

3. Methodik, Patienten und Statistik

3.1 Methodik (Datenerfassung)

Für diese Studie wurde bei N= 119 Patienten mit einer RA im Alter von 18 - 80 Jahren mithilfe der ARFI-Technologie die Lebersteifigkeit gemessen. Diese Patienten wurden in der rheumatologischen Ambulanz der MED BAYERN OST MVZ GmbH (Krankenhausstraße 1, 84489 Burghausen, Deutschland) rekrutiert. Bei allen Patienten erfolgte zum Untersuchungszeitpunkt neben der Bestimmung des Leberfibrosegrades mittels ARFI die Erhebung der krankheitsspezifischen Aktivitätsparameter bezüglich der RA, der exakten Dosierung, Dauer und Anwendungsform des MTX sowie der Begleitmedikation und Begleiterkrankungen. Des Weiteren wurden Parameter des Leberstoffwechsels einschließlich Transaminasen, Cholestaseparameter, Lebersyntheseparameter und das Blutbild erfasst. Bei Auffälligkeiten erfolgte eine weitere Abklärung außerhalb dieser Studie gemäß lokalen Standards.

Alle Patienten haben nach ausführlicher Aufklärung in schriftlicher Form ihr Einverständnis für die Durchführung der Leberelastometrie-Messungen gegeben, des Weiteren ihre Zustimmung, dass ihre Daten im Rahmen dieser Studie verwendet werden dürfen. Für diese Arbeit war das positive Votum einer Ethikkommission erforderlich. Dieses erfolgte durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Würzburg am 12.07.2018 (Zeichen 2/18-me).

Die Formulierungen der Fragestellungen, der Studienziele, des Arbeitsprogramms, des Studiendesigns und –ablaufs, der Patientenrekrutierung, der Dokumentation und der Auswertung der erhobenen Daten sowie allgemeine Bestimmungen zu Datenschutz, Aufklärung, Vertraulichkeit, Aufbewahrung von Daten, Patientenaufklärung bzw. – einverständniserklärung richteten sich nach den Prinzipien des „Ordnungsgemäße klinische Prüfung Good Clinical Practice“ (68).

3.1.1 Fragestellung und Rationale dieser Studie

Ziel der Arbeit ist es, das Risiko einer potenziellen Hepatotoxizität in Form einer Fibrose in Zusammenhang mit MTX bei Patienten mit einer RA mittels ARFI-Technologie abschätzen zu können. Hierfür werden zwei Patientenkollektive verglichen.

3.1.2 Leberelastizitätsmessung

Die ARFI-Technologie ist eine in ein Ultraschallgerät (in diesem Fall Siemens ACUSON S3000) integrierte, quantitative, nichtinvasive Methode, eine Leberfibrosierung durch eine Leberelastizitätsmessung zu detektieren (69). Durch einen Ultraschallpuls wird eine Scherwelle im Gewebe erzeugt, deren Ausbreitungsgeschwindigkeit (angegeben in Metern pro Sekunde [m/s]) mittels Ultraschall gemessen wird. Mit dem Nachlassen der Elastizität der Leber, wie es beispielsweise bei einer Fibrosierung des Leberparenchyms der Fall ist, nehmen die Ausbreitungsgeschwindigkeit zu und die Schwingungsamplitude ab. Je mehr sich das Lebergewebe verhärtet, desto höher wird seine gemessene Steifigkeit, und folglich breiten sich die Scherwellen schneller aus und man misst höhere ARFI Werte. Aus mathematischer Sicht wird dies deutlich durch den Zusammenhang zwischen der Elastizität E , der Ausbreitungsgeschwindigkeit V und der Dichte des Gewebes p . Die Elastizität errechnet sich dabei wie folgt (63):

$$E = 3pV^2$$

Die Patienten werden in Rückenlage im nüchternen Zustand mit maximal abduzierten rechten Arm untersucht. Der Ultraschallkopf des Siemens ACUSON S3000 wird auf der rechten mittleren Axillarlinie auf Höhe des Processus Xiphoideus positioniert (s. Bild 1). Somit kann der Untersucher intercostal in den Lebersegmenten VII/VIII des rechten Leberlappens messen (s. Bild 2). Nach einer Leberuntersuchung im Sagittal- und Transversalschnitt werden die Patienten gebeten, halb tief einzuatmen und die Luft, solange es möglich ist, anzuhalten. In den Atempausen werden die Messungen durchgeführt. Hierbei ist darauf zu achten, ein gutes Schallfenster zu haben und Überlagerungen beispielsweise durch Rippen zu vermeiden. Die Messungen sollten vertikal bis leicht schräg erfolgen, da zu seitliche Messungen häufig zu Fehlmessungen führen (wird als XX m/s angezeigt). Ein Mindestabstand von 2 cm unter der Kapsel sollte eingehalten werden, da Messungen direkt an der Leberoberfläche zu falsch hohe Werten führen. In unmittelbarer Nähe der Messungen sollten sich keine Gefäße befinden (s. Bild 3). Ziel ist es, mindestens 12 valide Messungen durchzuführen. Es werden der angezeigte Medianwert, der Mittelwert und der Interquartilbereich (IQB) dokumentiert. Der IQB soll hierbei nicht mehr als 30% der gemessenen Lebersteifigkeit betragen (s. Bild 4) (69).

Zur genaueren Interpretation wurde eine Fibrose-Score-Tabelle von Friedrich-Rust et al. herangezogen (70). Diese definiert die Geschwindigkeit für den jeweiligen Fibrosegrad. Ab Geschwindigkeiten von 1,34 m/s spricht man beispielsweise von einem Fibrosegrad 2, ab 1,80 m/s von einem Grad 4 (s. Tabelle 1).

Tabelle 1: Einteilung in Fibrosegrade

Friedrich-Rust M, et al. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. Journal of viral hepatitis. 2012;19(2):e212-9.

ARFI	AUROC	Cut-off (m/s)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	+LR
$F \geq 2$	0.87	1.34	79	85	91	66	5.07
$F \geq 3$	0.91	1.55	86	86	82	89	5.94
$F = 4$	0.93	1.80	92	86	71	97	6.72

ARFI, Acoustic Radiation Force Impulse; F , fibrosis stage; AUROC, area under the ROC curve; CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; LR, likelihood ratio.



Bild 1: ARFI-Messung am Siemens ACUSON S3000



Bild 2: Interkostale Messung



Bild 3: Messung im Lebersegment 7

Unbekannt
 18.08.16-12:29:13-Sommerzeit-...
 Kreisklinik Burghausen Med.2
 12:31 16.08.2018

Lebersegment 7	
Vs (m/s)	Tiefe (cm)
0,95	5,6
1,01	5,3
1,31	6,2
0,93	5,6
1,03	5,8
1,30	5,3
1,16	5,4
1,05	6,1
1,08	4,6
1,12	5,3
1,31	6,7
1,22	4,7
1,19	5,6
Median	1,12
MW	1,13
Std-Abw.	0,13
IQB	0,24

Gesamtstatistik			
Median	1,12	Std-Abw.	0,13
MW	1,13	IQB	0,24

Bild 4: Einzelmessungen in m/s

3.2 Patienten

3.2.1 Patientenkollektiv

Es wurden Patienten in eine Querschnittsuntersuchung eingeschlossen, welche eine gesicherte RA haben und seit mindestens einem Jahr eine MTX-Therapie erhielten. Die Patienten des Vergleichskollektivs wiesen ebenfalls eine gesicherte RA auf, waren aber bezüglich MTX therapienaiv. Eine MTX-Medikation wurde bei dieser Patientengruppe erstmals kurz nach der ARFI-Messung verabreicht.

Statistische Betrachtungen zum optimalen Stichprobenumfang ergaben N = 65 Patienten unter MTX-Therapie und N = 51, welche zum Zeitpunkt der Messung noch keine Therapie begonnen hatten.

3.2.2 Einschlusskriterien

Als primäres Einschlusskriterium galt die gesicherte Diagnose einer RA nach den ACR-EULAR 2010- Kriterien (18).

Als weitere Kriterien für die Studienteilnahme wurden eine Altersspanne von 18-80 Jahren, die Einnahme von MTX länger als 12 Monate und beim Vergleichskollektiv noch keine MTX Applikation (MTX naiv) sowie das Vorliegen einer schriftlich unterschriebenen Einverständniserklärung festgelegt.

3.2.3 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien galten eine relative bzw. absolute Kontraindikation für eine Therapie mit MTX sowie eine vorbekannte Unverträglichkeit von MTX. Patienten, bei denen eine schwerwiegende Leberkomorbidität (Leberzirrhose [> 7 Child-Pugh-Punkten (Child-Pugh B, C)], eine chronische Hepatitis B/C, eine autoimmune Lebererkrankung, eine ALD oder eine schwere NASH (Steatose $> II$. Grades, Hämochromatose etc.) bestand, wurden ebenso von einer Studienteilnahme ausgeschlossen. Zusätzlich wurden auch individuell schwierige Schallbedingungen (z.B. adipöse Patienten) als Ausschlusskriterium gewertet.

3.3 Statistik

3.3.1 Design

Querschnittsdesign:

Hier wurden Patienten mit gesicherter RA und MTX-Medikation eingeschlossen und querschnittlich (d.h. unabhängige Stichproben zu einem Erhebungszeitpunkt) untersucht. Es wurden in einem deskriptiven Ansatz sowohl absolute und relative Häufigkeiten von Fibrosierungsprozessen erfasst, als auch korrelative Zusammenhangsmaße zwischen erhobenen ARFI-Werten und Parametern der Hepatotoxizität berechnet (z.B. Transaminasen). Weiterhin wurden in einem Vergleich zwischen unabhängigen Stichproben (mit vs. ohne MTX) Ausmaß und Häufigkeit von Fibrosierungsprozessen gegenübergestellt.

3.3.2 Hauptzielkriterien

Querschnittsdesign:

Abschätzung einer MTX-induzierten Leberfibrosierung unter Verwendung des nicht-invasiven ARFI-Verfahrens:

Hieraus ergibt sich die Formulierung von Null- und Alternativhypothese:

H_0 (Nullhypothese): Das ARFI-Verfahren liefert keine erhöhten Fibrosierungswerte im Rahmen der Querschnittsuntersuchung beim Vergleich der Gruppen mit und ohne Methotrexat [$m(\text{FG})_{\text{ARFI (mit MTX)}} = m(\text{FG})_{\text{ARFI (ohne MTX)}}$].

H_1 (Alternativhypothese): In der Querschnittsuntersuchung zeigt das ARFI-Verfahren signifikant erhöhte Fibrosierungswerte für die MTX-Gruppe im Vergleich zur MTX-naiven Gruppe [$m(\text{FG})_{\text{ARFI (mit MTX)}} > m(\text{FG})_{\text{ARFI (ohne MTX)}}$].

Entsprechend diesen Hypothesenformulierungen wurden die inferenzstatistischen Tests zur Entscheidung über die Annahme/Ablehnung der Nullhypothese einseitig zum 5 %-Niveau durchgeführt.

3.3.3 Nebenzielkriterien

Unter die Nebenzielkriterien der geplanten Studie fallen die folgenden ergänzenden Fragestellungen bzw. Variablen:

Erfassen zusätzlicher Parameter, die mit einer Tendenz zur Fibrosebildung bei Patienten mit einer RA in Zusammenhang stehen und einen entsprechenden prädiktiven Wert aufweisen können (z.B. Alter, Geschlecht, Komorbiditäten, Alkoholkonsum, Komedikation). Dieser Vorhersagewert wurde dann unter Verwendung von (u.a. logistischer) Regressionsanalysen ermittelt.

Erfassen zusätzlicher Parameter der Hepatotoxizität (z.B. Laborwerte wie Transaminasen, Cholestaseparameter, Lebersyntheseparameter, Blutbild). Hier wurde die Assoziation mit den ermittelten ARFI-Resultaten bestimmt und es erfolgte eine entsprechende Validierung.

3.3.4 Fallzahlschätzung

Der Schätzung der benötigten Fallzahl (bzw. Bestimmung des optimalen Stichprobenumfangs) liegen die folgenden Vorinformationen zu Grunde:

In Übereinstimmung mit der allgemeinen Praxis in der wissenschaftlichen Forschung wurde eine sogenannte Irrtumswahrscheinlichkeit (Konfidenzniveau) von 5 % zugrunde gelegt ($\alpha = 0.05$). Weiterhin wurde der Fehler Zweiter Art auf 20 % festgelegt ($\beta = 0.20$), was einer Teststärke oder Power von 80 % entspricht ($1-\beta$) (71-73).

Optimaler Stichprobenumfang für die Analysen im Querschnittsdesign:

Zur Absicherung einer mittleren Effektgröße ergab sich unter den oben genannten Rahmenbedingungen ein optimaler Stichprobenumfang von 64 Patienten. Weiterhin sollte es bei der Querschnittsanalyse auch um die statistische Absicherung von Differenzen von relativen Häufigkeiten gehen. Hierbei ergab sich ein optimaler Stichprobenumfang – ebenfalls bei mittlerer Effektstärke – von 49 Patienten.

Für den Mittelwertsvergleich unabhängiger Stichproben (mit MTX vs. initial MTX-naiv) errechnete sich bei einseitigem Vergleich eine ideale Stichprobengröße von 51 Patienten je Gruppe (insgesamt $N = 102$).

Zusammengenommen ergab sich hieraus für die Patientenstichprobe mit bereits laufender MTX-Medikation eine angestrebte Fallzahl von $N = 65$. Für die Patientenstichprobe ohne laufende Medikation ergab sich $N = 51$.

3.3.5 Methoden und Auswertung

Für die Dateneingabe und -analyse stand das Programmpaket SPSS für Windows (deutschsprachige Version 17.0.0) zur Verfügung (74). Alle deskriptiven wie auch prüfenden statistischen Verfahren und Berechnungen wurden mit Hilfe dieser Software durchgeführt.

Bei durchgeführten statistischen Tests zum Zwecke der weiteren Hypothesengenerierung (z.B. bei Subgruppenvergleichen) wurden explizite/berechnete p-Werte angegeben. Eine Adjustierung (z.B. nach Bonferroni) der Signifikanzniveaus wurde in diesen Fällen nicht vorgenommen.

3.3.6 Deskriptive Statistik und inferenzstatistische Testverfahren

Sämtliche Merkmale wurden zunächst mittels deskriptiver Verfahren beschrieben.

Im Falle von qualitativen bzw. kategorialen Daten (nominalskaliert) wurden die Häufigkeiten und/oder Prozentsätze der Kategorien der Variablen dargestellt. Eine graphische Veranschaulichung ist durch Säulendiagramme erfolgt.

Sind quantitative bzw. (quasi-) intervallskalierte Variablen beschrieben, so erfolgte dies über die Angabe der Mittelwerte mit Standardabweichungen. Im Rahmen des prospektiven Längsschnittansatzes dargestellte zeitliche Verläufe von quantitativen Maßen wurden – wenn angebracht bzw. relevant – als Liniendiagramme graphisch veranschaulicht.

Inferenzstatistische Testverfahren:

Gruppenvergleiche bezüglich Häufigkeiten von Merkmalsausprägungen oder zentraler Tendenz von Variablen:

Bei kategorialen Daten erfolgte die Erstellung von Kontingenztafeln (bei Alternativdaten 4-Felder-Tafeln) mit Auswertung nach der χ^2 -Statistik. Bei sehr geringen erwarteten Häufigkeiten (< 5) wurde der exakte Test nach Fisher durchgeführt.

Bei ordinalem Datenniveau erfolgte die Prüfung auf Gruppenunterschiede der zentralen Tendenz mittels des U-Tests nach Mann und Whitney (unabhängige Stichproben) bzw. des Wilcoxon-Tests (abhängige Stichproben bzw. Wiederholungsmessungen).

Ein großer Teil der Analysen wurde mit intervallskalierten Daten durchgeführt. Hier kamen die folgenden parametrischen Verfahren zum Einsatz:

Mittelwertevergleiche zwischen unabhängigen Stichproben (z.B. MTX vs. MTX-naiv) wurden mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt.

4. Ergebnisse

Die Messungen wurden in einem Zeitraum zwischen Juli 2018 und April 2019 von der Promovendin in der MED BAYERN OST MVZ GmbH in Burghausen durchgeführt.

4.1 Beschreibung des Gesamtkollektives

Das Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie umfasste N = 119 Patienten. Darunter 65 Patienten (54,62 %) unter laufender MTX-Therapie und 54 Patienten (45,37 %) unmittelbar vor Beginn einer MTX-Therapie. In Tabelle 2 sind relevante demografische Daten, medizinische Informationen bezüglich MTX-Einnahme und Laborparameter aufgeführt.

Als valider Parameter zur Beurteilung des Leberfibrosegrades mittels ARFI-Messungen wurde der Mittelwert der wiederholt durchgeführten Bestimmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Schallwellen im Lebergewebe festgelegt.

Der Mittelwert gibt den Querschnitt der Gesamtausbreitungsgeschwindigkeiten der einzelnen Messungen an. Hier zeigt sich in Tabelle 2 bei Patienten unter MTX-Einnahme ein Mittelwert aus allen Messungen von 1,11 m/s. Gegenüber MTX-naiven Patienten ist kein signifikanter Unterschied (Mittelwert von 1,06 m/s) zu erkennen. Beide Werte liegen weit unter dem Leberfibrosegrad 2. Von einem Leberfibrosegrad 2 geht man ab Werten von 1,34 m/s aus.

Tabelle 2: Demographische und medizinische Daten des Gesamtkollektivs

Umgewandelt aus Feuchtenberger M, et al. Methotrexate does not increase the risk of liver fibrosis in patients with rheumatoid arthritis: assessment by ultrasound elastography (ARFI-MetRA study). *Rheumatol Int.* 2021.

	MTX (n=65)	ohne MTX (n=54)	Signifikanz (P)
Alter (Jahre)	62,4	61,3	0,698
BMI (kg/m²)	26,1	27,23	0,207
MTX-Einnahmedauer (Jahre)	4,39	0	0
Dosierung MTX (mg/Woche)	15,46	0	0
GOT (U/l)	26,65	24,48	0,154
GPT (U/l)	24,37	24,81	0,07
GGT (U/l)	39,32	44,46	0,323
Bilirubin (mg/dl)	0,464	0,449	0,293
AP (U/l)	81,09	79	0,439
Quick (%)	106,3	97,39	0,734
Thrombozyten (/nl)	250,32	287,06	0,142
ARFI-Mittelwert (m/s)	1,113	1,062	0,228

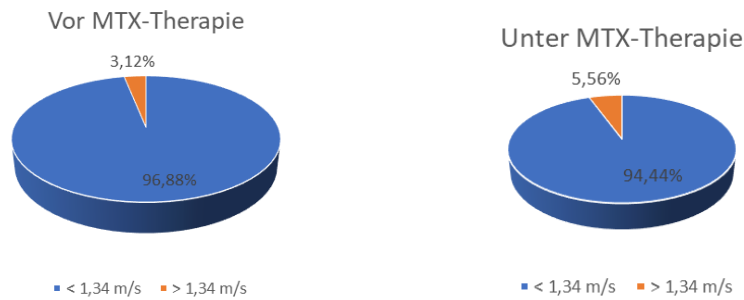


Abbildung 4: Mittelwertvergleiche zwischen Patienten vor MTX-Therapie und Patienten unter MTX-Therapie. Die Berechnung des Mittelwertes wurde jeweils aus mindestens 12 validen Messungen (Validitätskriterium IQB siehe 3.1.2.) pro Patient erhoben.

In der Abbildung 4 sind die jeweiligen Mittelwertverteilungen der Studiengruppen MTX-naive Patienten und unter MTX-Therapie dargestellt.

Betrachtet man die Mittelwerte genauer, kann eine Einteilung laut den vorgegebenen Fibrosegraden erfolgen. Auf die höheren Fibrosegrade kann im Detail verzichtet werden, da in unserer Studie lediglich ein Patient in dem Bereich über F2 lag.

In der Gruppe vor der MTX-Therapie wiesen 3,12 % der Patienten ($n = 2$) Mittelwerte über 1,34 m/s auf, wovon ein Patient vor MTX-Therapie eine F4-Fibrose hatte. 96,88 % ($n = 62$) zeigten Werte unter dieser Fibrosegrenze.

In der Gruppe unter MTX- Therapie fielen bei 5,56 % der Probanden ($n = 3$) Mittelwerte über 1,34 m/s auf. 94,44 % ($n = 51$) der Patienten lagen mit ihren Werten darunter. Dieser Unterschied zwischen beiden Gruppen ist nicht signifikant (2 von 64 vs. 3 von 54) ($p = 0,659$ nach Berechnung durch exakten Test nach Fisher).

4.2 Geschlechtsverteilung und Begleiterkrankungen

In beiden Gruppen wurden die Geschlechterverteilung sowie die Häufigkeit von Begleiterkrankungen untersucht (Tabelle 3 und 6). Hierfür wurden Kreuztabellen angelegt und der Chi-Quadrat-Test nach Pearson angewandt.

Tabelle 3: Geschlechtsverteilung und Häufigkeit von Begleiterkrankungen

	MTX naiv (n=54)	unter MTX (n=65)	Signifikanz (P)
Weibliches Geschlecht	66,67 % n=43	66,15 % n=36	0,953
Art. Hypertonie	44,44 % n=24	35,38 % n=23	0,422
Arthrose	24,1 % n=13	61,54 % n=40	0,000

Es zeigte sich, dass in beiden Gruppen das weibliche Geschlecht mehr vertreten ist (unter MTX: weiblich = 43, männlich = 22; MTX-naiv: weiblich = 36, männlich = 18).

Es lag kein Unterschied in der Anzahl der Patienten mit arterieller Hypertonie im Gruppenvergleich vor.

Es zeigte sich eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Patienten mit Arthrose in der MTX-Applikations-Gruppe als in der MTX-naiven Gruppe (unter MTX = 40; MTX-naiv = 13, $p < 0,001$).

Gruppenvergleich Geschlecht/Mittelwert

Tabelle 4: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich nach Geschlecht

Geschlecht	Mittelwert (m/s)	Standardabweichung	n
Frauen	1,0767	0,19130	79
Männer	1,1158	0,16658	40
Gesamt	1,0898	0,18359	119

Es zeigte sich kein Unterschied im ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich nach Geschlecht. Bei Frauen und Männern lag der Mittelwert im Durchschnitt bei 1,1 m/s ($p = 0,275$).

Gruppenvergleiche Arthrose/Mittelwert

Tabelle 5: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich Arthrose/ohne Arthrose

Arthrose	Mittelwert (m/s)	Standardabweichung	n
0	1,1029	0,20891	66
1	1,0736	0,14645	53
Gesamt	1,0898	0,18359	119

Patienten mit Arthrose bzw. ohne Arthrose wiesen keine unterschiedlichen ARFI-Mittelwerte auf. Bei Patienten mit einer Arthrose lag der Wert im Durchschnitt bei 1,1 m/s. Lag keine Arthrose als Begleiterkrankung vor, zeigte sich ebenfalls ein aufgerundeter Mittelwert von 1,1 m/s ($p = 0,389$).

Gruppenvergleich endokrinologische Erkrankungen/ Mittelwert

Tabelle 6: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich endokrinologischer Erkrankungen

endokrinologische Erkrankungen	Mittelwert (m/s)	Standardabweichung	n
keine Erkrankungen	1,0648	0,15117	63
Schilddrüsenerkrankungen	1,0563	0,10799	27
Diabetes mellitus	1,1085	0,13384	13
Fettstoffwechselstörungen	1,0850	0,19460	6
mehrere Erkrankungen	1,3170	0,37449	10
Gesamt	1,0898	0,18359	119

Patienten mit endokrinologischen Nebenerkrankungen zeigten bei den jeweils einzelnen Erkrankungen keine statistisch signifikant unterschiedlichen ARFI-Mittelwerte. Bei Patienten mit multiplen endokrinologischen Erkrankungen waren die ARFI-Mittelwerte jedoch signifikant erhöht (mehrere Erkrankungen: 1,31 m/s; $p = 0,001$).

Es fiel auf, dass sich bei Patienten unter MTX-Therapie signifikant mehr mit Diabetes mellitus ($N = 11$) befinden als bei MTX-naiven Patienten ($N = 2$). Im Chi-Quadrat-Test zeigte sich eine asymptotische Signifikanz ($p = 0,031$).

Bei den restlichen Erkrankungen lag kein weiterer Unterschied im Gruppenvergleich vor.

4.3 Korrelationen

4.3.1 Korrelationen zwischen Laborparametern und ARFI-Mittelwert

Ebenfalls näher betrachtet wurden die Korrelationen zwischen den gemessenen ARFI-Mittelwerten und den Laborwerten. Als Fibrosemarker wurden die Leberwerte GOT und GPT sowie die Cholestaseparameter GGT, Bilirubin und alkalische Phosphatase herangezogen.

Tabelle 7: Korrelation zwischen Laborparametern und ARFI-Mittelwert

Laborparameter		Mittelwert (m/s)
GOT (U/l)	Korrelation nach Pearson	0,485
	Signifikanz (2-seitig)	0,000
	n	119
GPT (U/l)	Korrelation nach Pearson	0,367
	Signifikanz (2-seitig)	0,000
	n	119
G-GT (U/l)	Korrelation nach Pearson	0,279
	Signifikanz (2-seitig)	0,002
	n	119
Bilirubin (mg/dl)	Korrelation nach Pearson	0,164
	Signifikanz (2-seitig)	0,074
	n	119
AP (U/l)	Korrelation nach Pearson	-0,031
	Signifikanz (2-seitig)	0,738
	n	119

Es zeigte sich eine signifikante Korrelation (r) zwischen den gemessenen Mittelwerten und der Höhe der GOT-Werte ($r = 0,485$; $p < 0,0001$; $N = 119$).

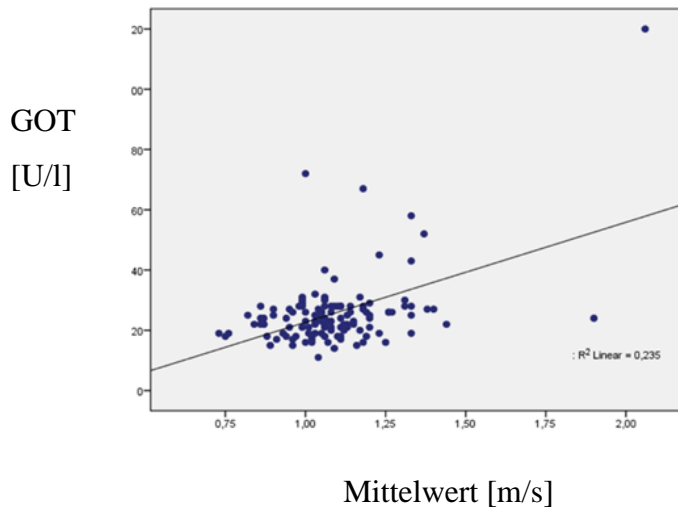


Abbildung 5: Lineare Regression zwischen Laborparameter GOT und ARFI-Mittelwert

Dazu passend ergab sich ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen den Mittelwerten und dem zweiten Leberparameter GPT ($r = 0,367$; $p < 0,0001$; $N = 119$). Hohe ARFI-Mittelwerte sind mit hohen GPT-Werten einhergegangen.

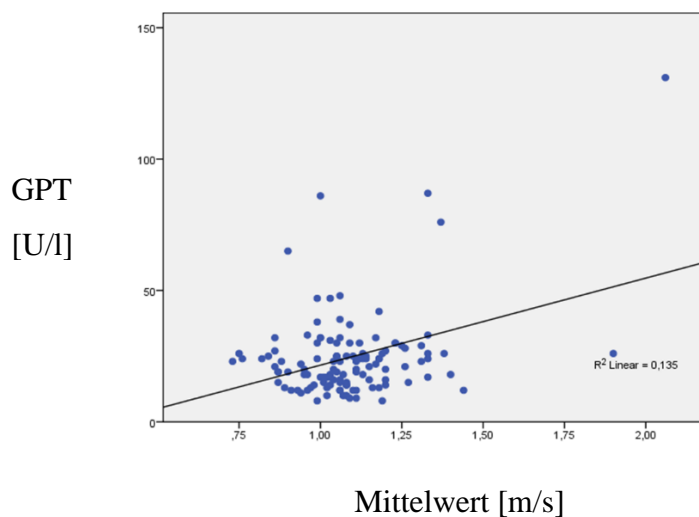


Abbildung 6: Lineare Regression zwischen Laborparameter GPT und ARFI-Mittelwert

Aus dem erhobenen Datensatz zeigte sich zusätzlich eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Cholestaseparameter GGT ($r = 0,279$; $p = 0,002$; $N = 119$) und den ARFI-Mittelwerten. Die beiden anderen gemessenen Cholestaseparameter Bilirubin und alkalische Phosphatase wiesen hingegen keine signifikanten Korrelationen mit den ARFI-Messungen auf (Bilirubin: $r = 0,164$; $p = 0,074$; $N = 119$; AP: $r = -0,031$; $p = 0,738$; $N = 119$).

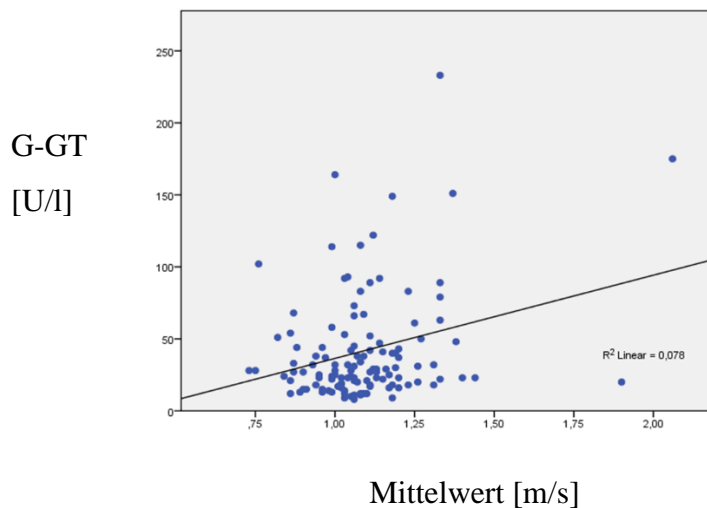


Abbildung 7: Lineare Regression zwischen Laborparameter GGT und ARFI-Mittelwert

4.3.2 Korrelationen zwischen MTX-Dauer und ARFI-Mittelwert

Näher betrachtet wurde außerdem, ob sich die ARFI-Mittelwerte zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher Dauer der MTX-Einnahme unterscheiden (4 Kategorien: 0 - > 10 Jahre). Es gab keinen statistisch bedeutsamen Unterschied. Die Mittelwertsunterschiede waren somit als nicht signifikant zu werten und die Nullhypothese beizubehalten ($p = 0,838$).

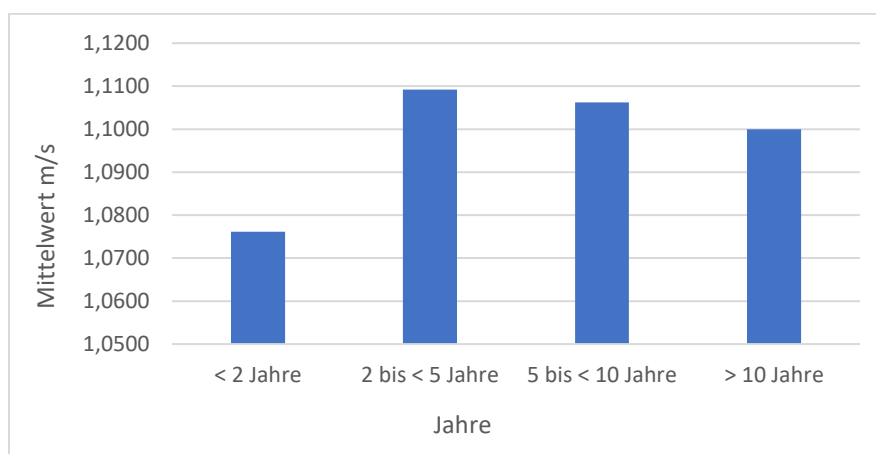


Abbildung 8: ARFI-Mittelwerte abhängig von Dauer der MTX-Einnahme (Jahre)

4.3.3 Korrelationen zwischen MTX-Dosierung (mg/Woche) und ARFI-Mittelwerten

Tabelle 8: Korrelation zwischen MTX-Dosierung/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
Dosierung MTX (mg)	Korrelation nach Pearson	-0,011
	Signifikanz (2-seitig)	0,929
	n	65

Bei den 65 Patienten, welche zum Messzeitpunkt unter laufender MTX-Medikation waren, ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen ARFI-Mittelwert und der MTX-Dosierung ($p = 0,929$).

Tabelle 9: Korrelation zwischen MTX-kumulativ Dosierung/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
MTX-kumulativ	Korrelation nach Pearson	0,000
	Signifikanz (2-seitig)	0,997
	n	65

Betrachtet man die kumulative Dosis der 65 Patienten unter MTX-Einnahme (es liegt eine vereinfachte Berechnung vor, da sich die Dosierung über die Jahre individuell je Patient geändert haben könnte), ergab sich ein Korrelationskoeffizient von gerundet 0 sowie kein statistisch relevanter Zusammenhang zwischen der MTX-Dosierung und dem Ergebnis der ARFI-Messungen ($p = 0,997$).

4.3.4 Korrelationen zwischen BMI und ARFI-Mittelwerten

Tabelle 10: Korrelation zwischen BMI/ARFI-Mittelwerten

BMI (kg/m²)		Mittelwert (m/s)
	Korrelation nach Pearson	0,034
	Signifikanz (2-seitig)	0,711
	n	119

Es wurde untersucht, ob höhere BMI-Werte mit höheren ARFI-Mittelwerten einhergehen. Es zeigte sich im Gesamtkollektiv keine statistisch signifikante Assoziation ($p = 0,711$). Auch eine getrennte Berechnung der Korrelation nach Subgruppen ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen BMI und ARFI-Mittelwert (z.B. Subgruppe der 65 Patienten mit bestehender MTX-Medikation: $r = -0,102$; $p = 0,421$).

Des Weiteren ergab sich nach einer kombinierten Einbeziehung der Variablen BMI ($p = 0,582$) und MTX-Medikation ($p = 0,123$) im Rahmen einer linearen Regressionsanalyse kein signifikanter Zusammenhang mit den erhobenen ARFI-Mittelwerten.

4.3.5 Korrelationen zwischen Alter und ARFI-Mittelwerten

Tabelle 11: Korrelation zwischen Alter/ARFI-Mittelwert

Alter		Mittelwert (m/s)
	Korrelation nach Pearson	0,068
	Signifikanz (2-seitig)	0,462
	n	119

Es zeigte sich keine statistisch bedeutsame Korrelation zwischen dem Alter der Probanden und dem Mittelwert der ARFI-Messungen ($p = 0,462$).

4.3.6 Korrelationen zwischen Prednisolongabe und ARFI-Mittelwerten

Tabelle 12: Korrelation zwischen Prednisolongabe/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
Prednisolon	Korrelation nach Pearson	-0,013
	Signifikanz (2-seitig)	0,889
	n	119

Neben der Gabe von MTX wurde die zusätzliche Gabe von Prednisolon (keine Dosisangabe, nur die Tatsache der Gabe) untersucht. Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den gemessenen ARFI-Mittelwerten und einer Prednisolongabe ($p = 0,889$).

4.3.7 Korrelationen zwischen NSAR-Einnahme und ARFI-Mittelwerten

Tabelle 13: Korrelation zwischen NSAR/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
NSAR	Korrelation nach Pearson	-0,053
	Signifikanz (2-seitig)	0,565
	n	119

Die zusätzliche Applikation von NSAR wurde ebenfalls in die statistische Auswertung einbezogen. Auch dieser Parameter stand in keinem statistisch signifikanten Zusammenhang mit den ARFI-Messungen ($p = 0,565$).

4.3.8 Korrelation zwischen anderen Basistherapeutika (einschließlich Biologika) und Mittelwerten

Tabelle 14: Korrelation zwischen konventionellen Medikamenten/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
csDMARDs	Korrelation nach Pearson	0,036
	Signifikanz (2-seitig)	0,698
	n	119

Schließlich waren auch die Einnahme von konventionellen Medikamenten und die Ergebnisse der ARFI-Messungen unabhängig voneinander ($p = 0,698$).

Tabelle 15: Korrelation zwischen Biologika/ARFI-Mittelwert

		Mittelwert (m/s)
Biologika	Korrelation nach Pearson	0,116
	Signifikanz (2-seitig)	0,210
	n	119

Es konnte keine statistische Korrelation zwischen den gemessenen Mittelwerten und den zusätzlich eingenommenen Biologika ermittelt werden ($p = 0,210$).

5. Diskussion

5.1 Korrelation zwischen Dosierung und Applikationsdauer von MTX und Leberfibrose

Die Methodik der ARFI-Messung zur Fibrose-Abschätzung gilt bei anderen Hepatopathien (chronisch virale Hepatitis) inzwischen als die Routinediagnostik, welche die Biopsie ersetzt. Auch zur Detektion einer Leberfibrose bei Patienten mit einer RA unter MTX-Therapie kann sie als valide Methodik herangezogen werden.

Die vorliegende Studie hat erstmals mit Hilfe der nicht-invasiven ARFI-Messung den Zusammenhang zwischen MTX-Anwendung bei der RA und dem Vorliegen einer Leberfibrose geprüft.

Als eines der meist verwendeten Medikamente in der Rheumatologie insbesondere zur Behandlung der RA werden dem MTX mehrere Nebenwirkungen zugeschrieben. Hierunter fallen unter anderem Transaminaseerhöhung, eine Mucositis, Haarausfall, Übelkeit und in seltenen Fällen eine MTX-induzierte und potentiell tödlich verlaufende Pneumonitis sowie eine Steatohepatitis, Leberfibrose bis hin zu einer Zirrhose (75).

In den Leitlinien gehört das Monitoring von Leberwerten zum Standard vor und während der Therapie mit MTX (41-43).

Aufgrund der notwendigen Langzeittherapie der RA ist die Langzeitsicherheit der verwendeten Basistherapeutika von großer Bedeutung. Hierfür wird insbesondere MTX als häufigstes csDMARD bei der RA in der Monotherapie oder in Kombination verwendet.

Insgesamt wurden in unserer Studie 119 Patienten untersucht. Hierbei waren 65 Patienten zum Messzeitpunkt mindestens 1 Jahr unter MTX-Therapie und 54 Patienten kurz vor Beginn der ersten MTX-Applikation, also MTX-naiv. Hier gab es keinen Hinweis darauf, dass bei Patienten mit einer RA eine Fibrose besteht. Ebenso zeigte sich bei den durchgeführten ARFI-Messungen keine erhöhte Prävalenz einer Leberfibrose bei Patienten unter MTX-Einnahme verglichen mit der MTX-naiven Gruppe (Abbildung 4).

In einer ähnlich angelegten Studie von Lertnawapan et al. aus dem Jahr 2019 wurden 108 Patienten mit einer RA mittels FibroScan untersucht. Hierbei galt als Einschlusskriterium eine MTX-Therapie mit einer minimalen Gesamtdosis von 1000 mg (kumuliert). Ausschlusskriterien waren ein erhöhter Alkoholkonsum, weitere hepatotoxische Medikamente neben dem MTX, andere DMARDs sowie das Vorhandensein einer schweren chronischen Erkrankung (chronisches Nierenversagen, chronische Herzerkrankungen etc.). Bei dieser

Studie wurde versucht, anhand von TE Patienten mit einer RA unter MTX-Therapie mit Leberfibrose zu detektieren und deren Assoziation zu weiteren klinischen Parametern, der kumulativen MTX-Dosis und Leberfibrose-Scores darzustellen. Von den 108 untersuchten Patienten zeigte sich bei 29 Patienten eine Leberfibrose. Als Vergleichsgruppe wurden die Daten der restlichen 79 Patienten mit einer RA unter MTX-Therapie ohne Leberfibrose verwendet. Hier zeigte sich, dass die Patienten mit Leberfibrose im Schnitt eine höhere Kumulativdosis an MTX einnahmen als die Vergleichsgruppe (3248 mg vs. 1836 mg). Des Weiteren fiel auf, dass Patienten mit einem metabolischen Syndrom (BMI, Steatohepatitis) ein höheres Risiko hatten, unter MTX- Therapie eine Leberfibrose zu entwickeln (76).

Vergleicht man diese Studie nun mit den hier vorliegenden Daten, wurden in unserer Erhebung im Durchschnitt eine MTX Dosis von 15,3 mg/w verabreicht. Die Patienten waren im Schnitt 4,39 Jahre unter MTX-Therapie, was pro Patient im Mittel eine kumulative Dosis von 3.492 mg MTX ergibt. Es zeigte sich bei uns keine signifikante Erhöhung des Fibrosescores in Abhängigkeit der kumulativen MTX-Dosis (Tabelle 9,10).

Da bei Lertnawapan et al. die Schwere der Leberschädigung mit der Höhe der kumulativen MTX-Dosierung in Kombination mit einem metabolischen Syndrom signifikant anstieg, ist hier möglicherweise das Augenmerk eher auf die Begleiterkrankung des metabolischen Syndroms zu legen, da auch diese bekanntermaßen das Risiko für eine Leberfibrose unabhängig von MTX erhöht. Dies deckt sich mit der klinischen Beobachtung, dass Patienten mit einer Steatosis hepatis im Rahmen eines metabolischen Syndroms früher und häufiger einen Transaminasenanstieg nach Einleitung von MTX zeigen.

In unserer Studie ergaben sich nach einer kombinierten Einbeziehung des BMI und der MTX-Medikation keine erhöhten ARFI-Mittelwerte.

Des Weiteren hat Lertnawapan et al. als Messmethodik die TE zur Detektion der Leberfibrose verwendet. Die unterschiedlichen Ergebnisse von Lertnawapan et al. und der hier vorliegenden Studie könnten auch durch die verschiedenen Messmethoden erklärbar sein. Friedrich-Rust et al. verglich 2011 in einer Studie die Validität der ARFI-Messung mit der Validität der TE Messung. Hierbei untersuchte sie 133 Patienten mit chronischer Hepatitis B und histologischem Fibrosenachweis (nicht älter als 4 Wochen). Alle Patienten erhielten sowohl eine Labordiagnostik, eine ARFI-Messung und zum Großteil eine TE-Messung (n = 104). Die ARFI-Messungen waren bei 126 Patienten verwertbar, die TE Messungen bei 98 Patienten. Insgesamt zeigte sich, dass die TE bei einer leichten Fibrose signifikant besser war als die

ARFI-Methode. Bei den restlichen Fibrosestadien zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Methoden (77). Auch Sporea et al. hat 2010 die ARFI-Messung mit der TE-Messung bei Patienten mit chronischer Hepatitis verglichen. Er kam zu dem Ergebnis, dass ARFI dem TE ebenbürtig ist. Beim ARFI ist vor allem die Position des Ultraschallkopfes, sowie die Messtiefe ausschlaggebend für eine valide Messung (78).

In mehreren Studien wurde das Leberfibrosierisiko unter MTX-Therapie bei Patienten mit einer Psoriasis untersucht. In einer retrospektiven Studie aus dem Jahr 2006 (Berends et al. (79)) wurden die Daten (1976-2006) von Patienten mit einer Psoriasis, welche eine oder mehrere Leberbiopsien unter MTX-Therapie erhalten hatten, ausgewertet. Die gewonnenen Histologien wurden anhand des Roenigk-Scores (siehe Anhang) klassifiziert. Es wurden insgesamt die Daten von 125 Patienten für diese Studie verwendet. Die durchschnittliche MTX- Gesamtdosis betrug 2113 mg mit einer wöchentlichen Applikationsdosis von 12,5 mg über einen Zeitraum von 228 Wochen. Hier zeigte sich, dass ab einer kumulativen MTX-Dosis zwischen 1500 mg und 6000 mg ein Progress der Leberschädigung (Roenigk Grad 2 oder höher) zu verzeichnen war. Auch in dieser Arbeit wurde die Assoziation zu Begleiterkrankungen (zusätzliche Risikofaktoren) gezogen (79).

Die Gruppe der Patienten mit Psoriasisarthritis ist möglicherweise als besondere Risikogruppe zu sehen. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Prävalenz metabolischer Begleiterkrankungen und auch das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse verglichen mit der RA bei Patienten mit Psoriasisarthritis erhöht sind. Insofern verwundert es nicht, wenn die Anzahl der Leberfibrosen bei Patienten mit einer Psoriasis unter MTX Therapie höher ist als bei Patienten mit einer RA.

Daraus formulierten die Leitlinien der American Association of Dermatology 2009 die Empfehlung, bei der Behandlung von Patienten mit einer Psoriasis mit MTX eine Leberbiopsie ab einer Gesamtdosis von 3,5 - 4,0 g bei Abwesenheit von Risikofaktoren oder grundlegendem Leberschaden durchzuführen (80).

Diese Empfehlung ist jedoch nicht auf die MTX-Therapie bei Patienten mit einer RA zu beziehen, da es ferner bei Patienten mit einer Psoriasis wohl unabhängig von MTX häufiger zu Leberkomplikationen kommt als bei Patienten mit einer RA (81). Die Leitlinien zur RA sehen deshalb lediglich ein regelmäßiges Monitoring der Lebertransaminasen vor (82).

Ebenfalls ist die Dauer der MTX-Einnahme von entscheidender Bedeutung. In der hier untersuchten Kohorte war die Mindesteinnahmedauer 12 Monate. Wie bereits oben

beschrieben, betrug die durchschnittliche Applikationsdauer bei der MTX-Langzeitgruppe 4,39 Jahre. In einer früheren Studie von Kremer JM et al. zeigte sich bei Patienten mit einer RA, welche über durchschnittlich 29,1 Monate eine mittlere MTX-Dosis von 12,4 mg/Woche eingenommen hatten, keine merkliche Leberschädigung. Hierbei wurden Leberbiopsien vor der ersten MTX-Einnahme, nach 2 Jahren unter MTX-Therapie und im Anschluss jährlich durchgeführt (83).

Wie bereits zahlreiche andere Studien (Langman et al., Boffa et al., Malatjalian et al., Themido et al, etc.) vorbeschrieben haben, bestätigt sich in unserer Studie, dass die Dauer und die Dosierung des MTX keine signifikanten Korrelationen mit dem Leberfibrosierisiko aufweisen (84-88). Dies steht jedoch im Widerspruch zur aktuellen und bereits weiter oben beschriebenen Studie von Lertnawapan et. al (76).

Es wäre sicher sinnvoll, eine weitere Studie an einer Patientenkohorte mit einer durchschnittlichen Applikationsdauer von 7-10 Jahren oder länger zu untersuchen. Es ist zu diskutieren, ob in der vorliegenden Studie das Einschlusskriterium von mind. 12 Monaten der MTX-Applikation zu niedrig angesetzt wurde.

Alternativ zur Anwendung könnte auch als Einschlusskriterium eine höhere kumulative Gesamtdosis des MTX verwendet werden. Auch hier müssten entsprechende Regressionsanalysen erfolgen, um Confounder wie Adipositas, chronische Hepatitis andere Genese etc. zu berücksichtigen, und das untersuchte Patientenkollektiv müsste auf die RA beschränkt werden.

5.2 Korrelation zwischen Transaminasenwerten und Leberfibrose (ARFI-Mittelwert)

Es ist bekannt, dass MTX zu einer Erhöhung der Transaminasen führen kann. Vor jeder ersten MTX-Applikation und während der Fortsetzung der Therapie wurden bei unseren Patienten in regelmäßigen Abständen die Transaminasen kontrolliert. Die Kontrollen erfolgten auch bei uns gemäß den nationalen und internationalen Empfehlungen.

Seit Einführung des kontinuierlichen Monitoring der Leberwerte wurde über die Jahre ein Rückgang der berichteten Leberschädigungen verzeichnet (89).

Sollte eine Transaminasenerhöhung unter MTX-Therapie auftreten, gilt es als Erstes, andere Ursachen neben MTX auszuschließen. Kann nach genauer Analyse jede andere Genese ausgeschlossen werden, muss der Grad der Erhöhung genauer betrachtet werden. Gemäß den Leitlinien wird ab einer Verdreifachung der oberen Normgrenze die MTX-Therapie umgehend

unterbrochen (38). Kommt es zu einer geringeren Erhöhung, ist sowohl die MTX-Dosis individuell als auch dementsprechend das Kontrollintervall anzupassen.

Sowohl Dirven et al. als auch Curtis et al. haben in zwei Studien gezeigt, dass es in 20 % der Fälle unter MTX-Therapie zu einem Anstieg der Transaminasen kam. Nur in 1 % der Fälle waren die Werte höher als das Doppelte der oberen Normgrenze (42, 90). Diese Erhöhung kann jedoch als harmlos gewertet werden, da eine Erhöhung dieser Werte (auch höher als das Doppelte der oberen Normgrenze) eine zu geringe Aussagekraft zu einer bereits stattgefundenen bzw. sich entwickelnden Fibrosierung hat. Sie gibt lediglich die Schädigung von Hepatozyten wieder.

Sollte jedoch dauerhaft eine Erhöhung der Leberwerte bestehen, ist bisher eine Leberbiopsie empfohlen worden (83, 91, 92).

In der bereits oben beschriebenen Psoriasis-Studie von Berends et al. konnte bei 40 % der Leberbiopsien mit einem Roenigk-Grad über 1 eine signifikant erhöhte GGT nachgewiesen werden. GOT und GPT lagen im Normbereich (79). Hier zeigt sich als klinische Konsequenz, dass man bei normwertigen Leberenzymen nicht automatisch einen Leberschaden ausschließen kann. 1/5 aller Patienten mit signifikanter Leberfibrose weisen beispielsweise normale GPT-Werte auf (76). In unserer Studie zeigte sich eine Korrelation zwischen den Lebertransaminasen GOT und GPT, sowie der Transferase GGT und den Mittelwerten (Tabelle 4).

Bei Patienten mit höheren Transaminasen-/Transferasewerten waren ebenfalls höhere Mittelwerte zu erkennen. Jedoch lagen die Mittelwerte nicht im Bereich einer Leberfibrose, sondern tendierten nur im Vergleich zu Patienten mit normalen Transaminasen und Transferasen zu höheren Werten.

Risikofaktoren für einen Anstieg der Transaminasen/Transferase während einer Therapie mit MTX sind Adipositas (hoher BMI), Hypercholesterinämie, prätherapeutisch erhöhte Transaminasenwerte, Begleitmedikation und fehlende Folsäure-Substitution (93, 94). In der vorliegenden Arbeit wurde das Augenmerk nicht auf die Assoziation der Transaminasen/Transferase mit Begleiterkrankungen gelegt.

Des Weiteren wurde kein Vergleich der Transaminasen-/Transferaseerhöhung vor und nach MTX-Applikation durchgeführt, sondern im Querschnittansatz untersucht, ob Patienten mit erhöhten Transaminasen-/Transferasewerten unter MTX-Therapie eine erhöhte Leberfibroserate aufwiesen. Dies konnte nicht bestätigt werden.

Unser Kollektiv enthielt keine Patienten mit Transaminasen-/Transferasewerten, die das Doppelte der oberen Normgrenze überstiegen. Sobald Patienten abnormal hohe Werte zeigten, wurde die Dosierung von MTX reduziert oder das Medikament umgestellt.

5.3 Korrelation von Begleiterkrankungen und ARFI-Mittelwert

In früheren Studien wurden die Begleiterkrankungen von Patienten mit einer RA als wichtiges Kriterium in der Wertung der Leberfibrose betrachtet.

Bei Lertnawapan et al. wurde vor allem der Symptomkomplex aus Adipositas, arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und Hypercholesterinämie, zusammengefasst das metabolische Syndrom- als Risikofaktor der Leberfibrose berücksichtigt (76). Hier zeigte sich nach ausführlicher Analyse, dass nur der BMI, das Vorhandensein einer Fettleber, die Höhe der GPT, sowie die kumulative MTX-Dosis als statistisch signifikante Prädiktoren bei der Entstehung einer Leberfibrose zu werten sind.

Sotoudehmanesh et al. hingegen zeigten in einer retrospektiven Studie, bei welcher die Inzidenz sowie die Risikofaktoren einer Leberfibrose bei Patienten mit einer RA unter MTX- Therapie bestimmt wurden, dass es keine signifikante Relation zwischen BMI, NASH und Transaminasenerhöhung gab. Insgesamt wurden hierbei Daten von 286 Patienten zwischen 1991 und 2006, welche eine MTX-Dosis von über 7,5 mg pro Woche über mindestens 1 Monat eingenommen hatten, untersucht. Die Überprüfung der Hepatotoxizität erfolgte durch regelmäßige Transaminasenbestimmung (95).

Bei Langman et al. wurden Leberbiopsien von 24 Patienten mit Psoriasis, welche unter niedrig dosierter MTX-Langzeittherapie waren, auf Prävalenz und Progress einer MTX- induzierten Leberschädigung bei zuvor bestehender NASH untersucht. Hier war bei NASH-Patienten eine Verschlechterung des Lebergewebes unter MTX-Gabe zu erkennen (84).

Vergleicht man diese drei Studien miteinander, so wurde bei Sotoudehmanesh et al. auf eine histologische Sicherung der Fibrose verzichtet und nur anhand der Laborparameter analysiert. Wie bereits oben erwähnt, kann man jedoch nicht aufgrund fehlender Transaminasenerhöhungen auf das Ausbleiben einer Leberfibrose schließen. Bei Langman et al. und Lertnawapan et al. hingegen beruhten die statistischen Auswertungen auf histologisch bzw. apparativ (TE) gesicherten Daten.

Das Patientenkollektiv bei Langman et al. umfasste jedoch Patienten mit Psoriasis, bei welchen allgemein eine höhere Inzidenz an Adipositas, NASH und Diabetes mellitus vorhanden ist (84).

Zusätzlich werden beim pathophysiologischen Mechanismus der Psoriasis vermehrt Wachstumsfaktoren freigesetzt, welche sowohl die Angiogenese, also auch die Proliferation von Keratinozyten, Fibroblasten und Synoviozyten, fördern. Diese Entzündungsmediatoren und Zytokine steigern die Proliferation und folglich möglicherweise auch die Leberfibrose (96). Bei der hier vorliegenden Studie wurde ebenfalls der BMI bei jedem Patienten bestimmt und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 2).

Es ließ sich statistisch nachweisen, dass es keine Korrelation zwischen BMI-Wert und ARFI-Mittelwert gab.

Allerdings wurden aufgrund von erschwerter Messbarkeit adipöse Patienten mit sehr hohem BMI ($>30 \text{ kg/ m}^2$) nicht in die Studie eingeschlossen. Die Messungen hierzu wären nicht als valide zu werten.

Es wurden neben dem metabolischen Syndrom auch endokrinologische Begleiterkrankungen (Schilddrüsenerkrankungen, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen) in unserer Kohorte berücksichtigt.

El-Serag et. al untersuchten in einer longitudinalen Studie im Jahr 2004 das Risiko von Patienten mit Diabetes mellitus, eine Lebererkrankung zu entwickeln. Es zeigte sich, dass Patienten mit Diabetes mellitus ein doppelt so hohes Risiko aufweisen, eine Lebererkrankung wie HCC oder CNLD (chronic-nonalcoholic liver disease) zu entwickeln wie Nichtdiabetiker (97).

Als pathophysiologischer Mechanismus wird die häufig bestehende Insulinresistenz (Diabetes mellitus) als einer der Hauptfaktoren angenommen. Die zunehmende Resistenz gegenüber Insulin im Fettgewebe fördert die Triacylglycerol-Lipolyse, welche zur Freisetzung von nicht-löslichen Fettsäuren in hohen Konzentrationen in der Leber führt (98).

In unserer Studie zeigte sich keine erhöhte Rate einer Leberfibrose (im Sinne erhöhter Mittelwerte) bei Patienten mit Diabetes mellitus. Kritisch anzumerken ist, dass in unserer Studie nur das Vorhandensein eines Diabetes mellitus und nicht dessen genauere Ätiologie (Typ I, II, III), Therapie und Behandlungserfolge analysiert wurden. Dies könnte einen möglichen Bias bedeuten.

Es konnte ebenfalls bei den miteingeschlossenen Erkrankungen der Schilddrüse und des Fettstoffwechsels kein höheres Risiko einer Leberfibrose detektiert werden (Tabelle 6).

Es fiel allerdings auf, dass Patienten mit mehreren endokrinologischen Erkrankungen im Schnitt höhere Mittelwerte und somit eine höhere Leberdichte aufwiesen als Patienten mit nur einer Begleiterkrankung (Abbildung 10,11). Eventuell lässt sich dieses Phänomen auch durch eine begleitende entzündliche Aktivität z.B. NASH (nicht-alkoholische Steatohepatitis) im Rahmen einer Adipositas bzw. eines Diabetes mellitus oder durch eine höhere Komedikation mit optional vermehrter medikamentöser Hepatotoxizität erklären.

Auch eine hohe Entzündungsaktivität kann die Elastizität der Leber beeinflussen.

Als weiteres Nebenzielkriterium wurde die Arthrose als Begleiterkrankung im Datensatz erfasst. Bei jedem Probanden wurde neben dem Vorhandensein einer RA auch das Vorhandensein einer Arthrose überprüft. Arthrose ist eine degenerative, nicht-entzündliche Erkrankung des Knorpels eines Gelenkes und tritt meist als Alterserscheinung nach jahrelanger Fehlbelastung oder als Folge einer Synovialitis z.B. bei der RA auf. Die Behandlung der Arthrose erfolgt über potentiell hepatotoxische Schmerzmittel.

Bei den 119 gemessenen Patienten hatten 66 (78,54 %) neben der RA zusätzlich eine Arthrose, statistisch signifikant häufiger in der MTX-Gruppe. Hierfür sind neben primären Arthrosen auch sekundäre Arthrosen in Folge der in MTX-Kohorte länger bestehenden RA wahrscheinlich ursächlich (Tabelle 5).

5.4 Korrelation von Begleitmedikamenten und Leberfibrose (ARFI-Mittelwert)

Als weiteres Nebenzielkriterium wurden bei allen Patienten ihre rheumatologischen/analgetischen Begleitmedikationen erfasst. Hierzu zählen Prednisolon, konventionelle Medikamente, Biologika und Analgetika (NSAR).

Prednisolon zählt nicht zu den lebertoxischen Medikamenten. Im Gegenteil, es wird unter anderem zur Behandlung der Autoimmunhepatitis angewandt.

Statistisch konnten keine erhöhten ARFI-Mittelwerte unter der Einnahme von Prednisolon nachgewiesen werden. Prednisolon wirkt nicht direkt lebertoxisch, kann jedoch als mögliche Komplikation sekundär eine Steatosis hepatis verursachen.

Nicht selten wenden Patienten bei vorübergehenden Schmerzen seitens der RA oder seitens einer zeitgleich bestehenden Arthrose Analgetika an. Hier werden insbesondere NSAR und Coxibe verwendet. NSAR führen neben MTX relativ häufig zu Transaminasenerhöhungen. Hierbei muss man allerdings genau unter den verschiedenen Substanzen unterscheiden. In einem Review aus dem Jahre 2005 wurden über 130 Studien ausgewertet, welche die

Hepatotoxizität durch NSAR-Einnahme bei RA und Arthrose untersuchten. Hierbei zeigte sich, dass insbesondere Diclofenac bei 3,55 % aller Patienten einen Transaminaseanstieg auf das über Dreifache der oberen Normgrenze verursachte (99) und in einer anderen Studie im direkten Vergleich mit Celecoxib und Placebo eine signifikant höhere Lebertoxizität aufzeigte (100).

In unserer Studie waren keine erhöhten ARFI-Mittelwerte bei Patienten, welche zusätzlich NSAR einnahmen, erkennbar. Dieser Parameter beruht jedoch auf der Aussage der Patienten. Da NSARs teilweise nicht verschreibungspflichtige Medikamente sind, werden sie häufig nach Belieben bzw. Bedarf durch die Patienten eigenständig und nicht regelmäßig eingenommen. Deshalb kann hierzu keine abschließende Aussage gemacht werden.

Als weitere Begleitmedikationen wurde die Einnahme wie LEF oder SSZ erfasst. Von 119 gemessenen Patienten nahmen nur 4 Patienten neben MTX weitere konventionelle DMARDs ein. Es konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die ARFI-Mittelwerterhöhung bei den Patienten mit weiteren konventionellen Medikamenten aufgezeigt werden. LEF wird meist bei Kontraindikation von MTX als Monotherapie oder in Kombination mit MTX appliziert. Im US-amerikanischen CORRONA-Register wurde bei Patienten der Transaminaseanstieg jeweils bei MTX und LEF sowie in Kombination der beiden betrachtet. Mit MTX alleine kam es zu 22 %, bei LEF zu 17 % und in Kombination beider zu 31 % erhöhter Transaminasen in der Episode zwischen Therapiebeginn und nächstem Arztbesuch (42). Pathophysiologisch ist dies der überwiegend biliären Ausscheidung des aktiven Metaboliten von LEF mit anschließender enterohepatischer Rezirkulation geschuldet. Durch diese Rezirkulation kann die Toxizität auch nach Absetzen des Medikamentes noch lange anhalten. LEF muss ggf. abgesetzt werden und im Anschluss auch mit Colestyramin 3×8 g/d für mindestens 5, in schweren Fällen über 11 Tage hinweg ausgewaschen werden (101).

SSZ gilt als gering hepatotoxisch und wird somit als Reservepräparat bei Patienten mit vorbestehendem Leberschaden eingesetzt. Man muss jedoch immer eine äußerst seltene, jedoch schwerwiegend verlaufende SSZ-induzierte Arzneimittelreaktion mit Beteiligung der Leber, das sogenannte DRESS-Syndrom (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) im Hinterkopf behalten. Diese zum Teil fatale Nebenwirkung zeichnet sich durch Fieber, Exanthembildung, Anstieg der Leberwerte bis hin zum Leberversagen sowie hämatologisch eine Eosinophilie, Thrombozytopenie oder atypischer Lymphozytose aus (102). Besonders in den ersten Wochen der Therapie mit SSZ kann diese Nebenwirkung auftreten, weshalb insbesondere zu Beginn auf solche schweren systemischen Reaktionen mit Leberbeteiligung geachtet werden sollte.

Ebenfalls wurden Patienten, welche zusätzlich Biologika (TNF-Blocker wie z.B. Adalimumab, Infliximab, Etanercept etc.) angewandt haben, erfasst. Hier zeigte sich eine Anzahl von 6 Patienten im Gesamtkollektiv. Auch hier war kein signifikanter Unterschied bei den ARFI-Mittelwerten im Vergleich zu den Patienten ohne Biologika zu verzeichnen. Biologika werden bei schweren Verlaufsformen der RA eingesetzt und werden in Kombination mit den klassischen Basistherapeutika verabreicht. TNF-Inhibitoren führen selten zu einem Transaminasenanstieg. Jedoch wurde in einer Kohortenstudie, ebenfalls aus dem CORRONA-Register aus den USA (siehe oben), die Leberwerterhöhung unter TNF-Hemmern getestet. Es wurden Transaminasenanstiege bei 5,9 % der Patienten und um mehr als das Doppelte der Norm bei 0,77 % der Patienten gefunden. Als Erklärung für den Leberwertanstieg wird das Expressieren von TNF auf Hepatozyten vermutet. Die monoklonalen Antikörper gegen TNF binden an das membranständige TNF und führen zur Zerstörung (Lyse) der Hepatozyten. Im CORRONA-Register wurden nur bei Infliximab und Adalimumab in sehr geringer Inzidenz Transaminasenanstiege detektiert (103). Zusätzlich mehren sich Berichte über eine Auslösung einer Medikamenten-assoziierten Autoimmunhepatitis unter Infliximab (104).

In dieser Studie war der Anteil der Patienten in der Kombination von MTX mit csDMARDs (N = 4) oder bDMARDs (N = 6) zu gering, um hier eine Aussage machen zu können.

5.5 Ausblick

Es bedarf weiterer prospektiver Studien an größeren Kollektiven, um die hier gefundenen Erkenntnisse zu bestätigen und die Dauer der MTX-Applikation (z.B. Kollektiv ab 5 Jahren Einnahmezeit) weiter zu analysieren.

Würde sich zeigen, dass nach 5 Jahren MTX-Applikation das Leberfibrosierisiko ansteigt, wäre die Empfehlung, weitere regelmäßige ARFI-Messungen ab diesem Zeitpunkt in die rheumatologische Verlaufsüberwachung aufzunehmen, eine Option.

Ein weiterer wegweisender Aspekt wäre eine prospektive Verlaufskontrolle der zum Zeitpunkt der Messungen noch MTX-naiven Patientengruppe im Wiederholungsdesign über einen Zeitraum von 4 Jahren mittels ARFI-Messungen. Hierbei sollte überprüft werden, ob und in welchem Umfang unter neu initiiertes MTX-Behandlung der ARFI-Mittelwert (Leberfibrosegrad) über die Jahre auch abhängig von der MTX-Dosierung sich intraindividuell ändert.

Diese Arbeit soll auch als Anstoß dienen, diagnostische Untersuchungsverfahren aus anderen Fachbereichen wie beispielsweise der Hepatologie vermehrt in der Rheumatologie einzusetzen

und die Bedeutung der interdisziplinären Zusammenarbeit (Hepatology und Rheumatologie) zu intensivieren.

6. Zusammenfassung

Die Ergebnisse der vorliegenden Querschnittsuntersuchung auf Basis der nicht-invasiven ARFI-Methode fanden keine erhöhte Rate einer Leberfibrose im Kollektiv von MTX-exponierten im Vergleich zu MTX-naiven Patienten mit einer RA. Da MTX weltweit das meist verwendete Medikament in der Behandlung der RA ist und häufig über viele Jahre oder gar Jahrzehnte angewandt wird, ist dies ein weiterer Beleg für das allgemein akzeptierte gute Sicherheitsprofil von MTX in der Rheumatologie.

7. Anhang

Tabelle 16: Roenigk-Score

Roenigk grade	Fatty change	Nuclear pleomorphism	Necroinflammatory damage	Fibrosis
I	Mild or none	Mild or none	Mild or none	None
II	Moderate or severe	Moderate or severe	Moderate or severe portal inflammation	None
IIIa	With or without	With or without	With or without	Mild
IIIb	With or without	With or without	With or without	Moderate or severe
IV	With or without	With or without	With or without	Cirrhosis

Berends, Maartje A M, Martijn G H van Oijen, Josje Snoek, Peter Cornelius Maria van de Kerkhof, Joost P H Drenth, Johan Hjm Han van Krieken and Elke M.G.J. de Jong. "Reliability of the Roenigk classification of liver damage after methotrexate treatment for psoriasis: a clinicopathologic study of 160 liver biopsy specimens." *Archives of dermatology* 143 12 (2007): 1515-9.

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildungen:

Abbildung 1: Pathophysiologisches Zusammenspiel zwischen Entzündungsreaktion und Fibrose	15
Abbildung 2: Fibroscan Methodik.....	20
Abbildung 3: ARFI quantitative measurement.....	22
Abbildung 4: Mittelwertvergleiche zwischen Patienten vor MTX-Therapie und Patienten unter MTX-Therapie. Die Berechnung des Mittelwertes wurde jeweils aus mindestens 12 validen Messungen (Validitätskriterium IQB siehe 3.1.2.) pro Patient erhoben.....	34
Abbildung 5: Lineare Regression zwischen Laborparameter GOT und ARFI-Mittelwert	38
Abbildung 6: Lineare Regression zwischen Laborparameter GPT und ARFI-Mittelwert	38
Abbildung 7: Lineare Regression zwischen Laborparameter GGT und ARFI-Mittelwert	39
Abbildung 8: ARFI-Mittelwerte abhängig von Dauer der MTX-Einnahme (Jahre).....	39

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung in Fibrosegrade	26
Tabelle 2: Demographische und medizinische Daten des Gesamtkollektivs	33
Tabelle 3: Geschlechtsverteilung und Häufigkeit von Begleiterkrankungen	35
Tabelle 4: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich nach Geschlecht.....	35
Tabelle 5: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich Arthrose/ohne Arthrose	36
Tabelle 6: ARFI-Mittelwert beim Gruppenvergleich endokrinologischer Erkrankungen	36
Tabelle 7: Korrelation zwischen Laborparametern und ARFI-Mittelwert.....	37
Tabelle 8: Korrelation zwischen MTX-Dosierung/ARFI-Mittelwert	40

Tabelle 9: Korrelation zwischen MTX-kumulativ Dosierung/ARFI-Mittelwert	40
Tabelle 10: Korrelation zwischen BMI/ARFI-Mittelwerten	41
Tabelle 11: Korrelation zwischen Alter/ARFI-Mittelwert	41
Tabelle 12: Korrelation zwischen Prednisolongabe/ARFI-Mittelwert.....	42
Tabelle 13: Korrelation zwischen NSAR/ARFI-Mittelwert.....	42
Tabelle 14: Korrelation zwischen konventionellen Medikamenten/ARFI-Mittelwert...	43
Tabelle 15: Korrelation zwischen Biologika/ARFI-Mittelwert.....	43
Tabelle 16: Roenigk-Score	56

10. Bilderverzeichnis

Bild 1: ARFI-Messung am Siemens ACUSON S3000	27
Bild 2: Interkostale Messung	27
Bild 3: Messung im Lebersegment 7	28
Bild 4: Einzelmessungen in m/s	28

11. Literaturverzeichnis

1. Combe B, Landewe R, Daien CI, Hua C, Aletaha D, Alvaro-Gracia JM, et al. 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):948-59.
2. Fiehn C, Holle J, Iking-Konert C, Leipe J, Weseloh C, Frerix M, et al. [S2e guideline: treatment of rheumatoid arthritis with disease-modifying drugs]. *Z Rheumatol*. 2018;77(Suppl 2):35-53.
3. Wang W, Zhou H, Liu L. Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review. *European journal of medicinal chemistry*. 2018;158:502-16.
4. Aithal GP. Hepatotoxicity related to antirheumatic drugs. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(3):139-50.
5. Hughes-Austin JM, Deane KD, Derber LA, Kolfenbach JR, Zerbe GO, Sokolove J, et al. Multiple cytokines and chemokines are associated with rheumatoid arthritis-related autoimmunity in first-degree relatives without rheumatoid arthritis: Studies of the Aetiology of Rheumatoid Arthritis (SERA). *Ann Rheum Dis*. 2013;72(6):901-7.
6. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2011;365(23):2205-19.
7. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):429-42.
8. Too CL, Yahya A, Murad S, Dhaliwal JS, Larsson PT, Muhamad NA, et al. Smoking interacts with HLA-DRB1 shared epitope in the development of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: results from the Malaysian Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis (MyEIRA). *Arthritis Res Ther*. 2012;14(2):R89.
9. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010;376(9746):1094-108.
10. Avina-Zubieta JA, Thomas J, Sadatsafavi M, Lehman AJ, Lacaille D. Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(9):1524-9.
11. Liao KP, Solomon DH. Traditional cardiovascular risk factors, inflammation and cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(1):45-52.
12. Turesson C, Jacobsson LT, Sturfelt G, Matteson EL, Mathsson L, Ronnelid J. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(1):59-64.
13. Barber CE, Smith A, Esdaile JM, Barnabe C, Martin LO, Faris P, et al. Best practices for cardiovascular disease prevention in rheumatoid arthritis: a systematic review of guideline recommendations and quality indicators. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2015;67(2):169-79.
14. Kleinert S. Komorbiditäten & Mortalität bei Patienten mit entzündlichen Gelenkerkrankungen. *Akt Rheumatol* 2018;43:156-60.
15. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with

- rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(2):325-31.
16. Young A, Dixey J, Kulinskaya E, Cox N, Davies P, Devlin J, et al. Which patients stop working because of rheumatoid arthritis? Results of five years' follow up in 732 patients from the Early RA Study (ERAS). *Ann Rheum Dis.* 2002;61(4):335-40.
 17. Aletaha D, Funovits J, Breedveld FC, Sharp J, Segurado O, Smolen JS. Rheumatoid arthritis joint progression in sustained remission is determined by disease activity levels preceding the period of radiographic assessment. *Arthritis Rheum.* 2009;60(5):1242-9.
 18. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1580-8.
 19. Humphreys JH, Verstappen SM, Hyrich KL, Chipping JR, Marshall T, Symmons DP. The incidence of rheumatoid arthritis in the UK: comparisons using the 2010 ACR/EULAR classification criteria and the 1987 ACR classification criteria. Results from the Norfolk Arthritis Register. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(8):1315-20.
 20. Kruger K, Wollenhaupt J, Albrecht K, Alten R, Backhaus M, Baerwald C, et al. [German 2012 guidelines for the sequential medical treatment of rheumatoid arthritis. Adapted EULAR recommendations and updated treatment algorithm]. *Z Rheumatol.* 2012;71(7):592-603.
 21. Fiehn C, Kruger K. [Treatment algorithm for rheumatoid arthritis : According to the S2e guidelines 2018]. *Z Rheumatol.* 2019;78(6):529-39.
 22. Pincus T, Yazici Y, Sokka T, Aletaha D, Smolen JS. Methotrexate as the "anchor drug" for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21(5 Suppl 31):S179-85.
 23. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, Cohen SB, Pavelka K, van Vollenhoven R, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):26-37.
 24. Westlake SL, Colebatch AN, Baird J, Curzen N, Kiely P, Quinn M, et al. Tumour necrosis factor antagonists and the risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(3):518-31.
 25. Westlake SL, Colebatch AN, Baird J, Kiely P, Quinn M, Choy E, et al. The effect of methotrexate on cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49(2):295-307.
 26. O'Shea JJ, Kontzias A, Yamaoka K, Tanaka Y, Laurence A. Janus kinase inhibitors in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis.* 2013;72 Suppl 2:ii111-5.
 27. Emery P, Buch MH. Towards an optimum strategy in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2012;379(9827):1682-4.
 28. Smolen JS, Landewe R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(6):960-77.

29. Schoels M, Knevel R, Aletaha D, Bijlsma JWW, Breedveld FC, Boumpas DT, et al. Evidence for treating rheumatoid arthritis to target: results of a systematic literature search. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(4):638-43.
30. Schoels M, Smolen JS. Treating rheumatoid arthritis to target: evidence-based recommendations for enhanced disease management. *Reumatol Clin*. 2012;8(1):1-2.
31. Grigor C, Capell H, Stirling A, McMahon AD, Lock P, Vallance R, et al. Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;364(9430):263-9.
32. Visser K, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Roodman CD, Seys PE, Kerstens PJ, et al. A matrix risk model for the prediction of rapid radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis receiving different dynamic treatment strategies: post hoc analyses from the BeSt study. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1333-7.
33. van Venrooij WJ, van Beers JJ, Pruijn GJ. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(7):391-8.
34. Saeki Y, Kudo-Tanaka E, Ohshima S, Matsushita M, Tsuji S, Maeda Y, et al. Baseline anti-citrullinated peptide antibody (ACPA) titers and serum interleukin-6 (IL-6) levels possibly predict progression of bone destruction in early stages of rheumatoid arthritis (ERA). *Rheumatol Int*. 2013;33(2):451-6.
35. Singh JA, Hossain A, Tanjong Ghogomu E, Kotb A, Christensen R, Mudano AS, et al. Biologics or tofacitinib for rheumatoid arthritis in incomplete responders to methotrexate or other traditional disease-modifying anti-rheumatic drugs: a systematic review and network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016(5):Cd012183.
36. Haschka J, Englbrecht M, Hueber AJ, Manger B, Kleyer A, Reiser M, et al. Relapse rates in patients with rheumatoid arthritis in stable remission tapering or stopping antirheumatic therapy: interim results from the prospective randomised controlled RETRO study. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(1):45-51.
37. Klarenbeek NB, van der Kooij SM, Guler-Yuksel M, van Groenendael JH, Han KH, Kerstens PJ, et al. Discontinuing treatment in patients with rheumatoid arthritis in sustained clinical remission: exploratory analyses from the BeSt study. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(2):315-9.
38. Visser K, Katchamart W, Loza E, Martinez-Lopez JA, Salliot C, Trudeau J, et al. Multinational evidence-based recommendations for the use of methotrexate in rheumatic disorders with a focus on rheumatoid arthritis: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad international panel of rheumatologists in the 3E Initiative. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(7):1086-93.
39. Hazlewood GS, Barnabe C, Tomlinson G, Marshall D, Devoe D, Bombardier C. Methotrexate monotherapy and methotrexate combination therapy with traditional and biologic disease modifying antirheumatic drugs for rheumatoid arthritis: abridged Cochrane systematic review and network meta-analysis. *BMJ*. 2016;353:i1777.
40. Rau R. [Methotrexate]. *Z Rheumatol*. 2016;75(6):599-603.
41. Bath RK, Brar NK, Forouhar FA, Wu GY. A review of methotrexate-associated hepatotoxicity. *J Dig Dis*. 2014;15(10):517-24.

42. Curtis JR, Beukelman T, Onofrei A, Cassell S, Greenberg JD, Kavanaugh A, et al. Elevated liver enzyme tests among patients with rheumatoid arthritis or psoriatic arthritis treated with methotrexate and/or leflunomide. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(1):43-7.
43. Davila-Fajardo CL, Swen JJ, Cabeza Barrera J, Guchelaar HJ. Genetic risk factors for drug-induced liver injury in rheumatoid arthritis patients using low-dose methotrexate. *Pharmacogenomics.* 2013;14(1):63-73.
44. Humphreys JH, Warner A, Costello R, Lunt M, Verstappen SMM, Dixon WG. Quantifying the hepatotoxic risk of alcohol consumption in patients with rheumatoid arthritis taking methotrexate. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(9):1509-14.
45. Takahashi C, Kaneko Y, Okano Y, Taguchi H, Oshima H, Izumi K, et al. Association of erythrocyte methotrexate-polyglutamate levels with the efficacy and hepatotoxicity of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a 76-week prospective study. *RMD Open.* 2017;3(1):e000363.
46. Duseja A, Singh SP, Saraswat VA, Acharya SK, Chawla YK, Chowdhury S, et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome-Position Paper of the Indian National Association for the Study of the Liver, Endocrine Society of India, Indian College of Cardiology and Indian Society of Gastroenterology. *J Clin Exp Hepatol.* 2015;5(1):51-68.
47. Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol.* 2016;22(48):10512-22.
48. Tacke F, Weiskirchen R. [Liver fibrosis - pathogenesis and novel therapeutic approaches]. *Internist (Berl).* 2010;51(1):21-9.
49. Wasmuth HE, Trautwein C. [Liver fibrosis : clinics, diagnostics and management]. *Internist (Berl).* 2010;51(1):14-20.
50. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2015;21(41):11567-83.
51. Tacke F, Trautwein C. Mechanisms of liver fibrosis resolution. *J Hepatol.* 2015;63(4):1038-9.
52. Laharie D, Zerbib F, Adhoute X, Boue-Lahorgue X, Foucher J, Castera L, et al. Diagnosis of liver fibrosis by transient elastography (FibroScan) and non-invasive methods in Crohn's disease patients treated with methotrexate. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23(11):1621-8.
53. Ratziu V SA, Francque S, Wong V, Loomba R, Goodman Z, Lefebvre , Aithal G, Harrison S, Abdelmalek M, Friedman S, Tacke F. Cenicriviroc treatment for adults non-alcoholic steatohepatitis: year 2 analysis of the phase 2b CENTAUR study. . *The International Liver Congress.* 2018.
54. Hsu WF, Lai HC, Su WP, Lin CH, Chuang PH, Chen SH, et al. Rapid decline of noninvasive fibrosis index values in patients with hepatitis C receiving treatment with direct-acting antiviral agents. *BMC Gastroenterol.* 2019;19(1):63.
55. O'Malley G OMR. Paracetamolvergiftungen 2018.
56. Lock G SJ. Arzneimittel-Nebenwirkungen an der Leber
Arzneimitteltherapie

2000;18:275-80.

57. Teschke R. [Drug-induced liver diseases]. *Z Gastroenterol.* 2002;40(5):305-26.
58. Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1986;292(6512):13-5.
59. Colli A, Fraquelli M, Andreoletti M, Marino B, Zuccoli E, Conte D. Severe liver fibrosis or cirrhosis: accuracy of US for detection--analysis of 300 cases. *Radiology.* 2003;227(1):89-94.
60. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology.* 2008;134(4):960-74.
61. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol.* 2003;29(12):1705-13.
62. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;128(2):343-50.
63. Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology.* 2010;256(2):640-7.
64. Eiler J, Kleinholdermann U, Albers D, Dahms J, Hermann F, Behrens C, et al. Standard value of ultrasound elastography using acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) in healthy liver tissue of children and adolescents. *Ultraschall Med.* 2012;33(5):474-9.
65. Clevert D FL, Zachoval R, Reiser M. Acoustic Radiation force Impulse (ARFI) Technologie und Fibroscan in der Evaluierung parenchymatöser Leberveränderungen. *Ultraschall in MED.* 2008:29-V1.
66. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology.* 1994;19(6):1513-20.
67. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver D. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009;49(3):1017-44.
68. K.D W. Ordnungsgemäße klinische Prüfung (GCP). In: Wagner W. (eds) *Arzneimittel und Verantwortung.* Berlin, Heidelberg: Springer; 1993.
69. *Vorgaben Bedienungsanleitung ARFI.*
70. Friedrich-Rust M, Nierhoff J, Lupsor M, Sporea I, Fierbinteanu-Braticevici C, Strobel D, et al. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *Journal of viral hepatitis.* 2012;19(2):e212-9.
71. Bortz J DN. *Forschungsmethoden und Evaluation.* Heidelberg: Springer; 2006.
72. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods.* 2009;41(4):1149-60.
73. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;39(2):175-91.

74. SPSS. SPSS for Windows Release 17.0. In Armonk, NY: IBM; 2008.
75. Patel V, Sanyal AJ. Drug-induced steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* 2013;17(4):533-46, vii.
76. Lertnawapan R, Chonprasertsuk S, Siramolpiwat S. Association between cumulative methotrexate dose, non-invasive scoring system and hepatic fibrosis detected by Fibroscan in rheumatoid arthritis patients receiving methotrexate. *Int J Rheum Dis.* 2019;22(2):214-21.
77. Friedrich-Rust M, Buggisch P, de Knecht R, Shi Y, Dries V, Matschenz K, et al. Nicht-invasive Beurteilung der Leberfibrose mittels Acoustic Radiation Force Impulse-Imaging bei chronischer Hepatitis B. *Z Gastroenterol.* 2011;49(08):P312.
78. Sporea I, Sirli RL, Deleanu A, Popescu A, Focsa M, Danila M, et al. Acoustic radiation force impulse elastography as compared to transient elastography and liver biopsy in patients with chronic hepatopathies. *Ultraschall Med.* 2011;32 Suppl 1:S46-52.
79. Berends MA, Snoek J, de Jong EM, van de Kerkhof PC, van Oijen MG, van Krieken JH, et al. Liver injury in long-term methotrexate treatment in psoriasis is relatively infrequent. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24(5):805-11.
80. American Academy of Dermatology Work G, Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: section 6. Guidelines of care for the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis: case-based presentations and evidence-based conclusions. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2011;65(1):137-74.
81. Laharie D, Seneschal J, Schaefferbeke T, Doutre MS, Longy-Boursier M, Pellegrin JL, et al. Assessment of liver fibrosis with transient elastography and FibroTest in patients treated with methotrexate for chronic inflammatory diseases: a case-control study. *J Hepatol.* 2010;53(6):1035-40.
82. Alarcon GS, Kremer J, Weinblatt M. Monitoring guidelines for methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients: comment on the article by Yazici et al. *Arthritis Rheum.* 2004;50(8):2710; author reply -1.
83. Kremer JM, Lee JK. The safety and efficacy of the use of methotrexate in long-term therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1986;29(7):822-31.
84. Langman G, Hall PM, Todd G. Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001;16(12):1395-401.
85. Boffa MJ, Chalmers RJ, Haboubi NY, Shomaf M, Mitchell DM. Sequential liver biopsies during long-term methotrexate treatment for psoriasis: a reappraisal. *Br J Dermatol.* 1995;133(5):774-8.
86. Malatjalian DA, Ross JB, Williams CN, Colwell SJ, Eastwood BJ. Methotrexate hepatotoxicity in psoriatics: report of 104 patients from Nova Scotia, with analysis of risks from obesity, diabetes and alcohol consumption during long term follow-up. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie.* 1996;10(6):369-75.
87. Themido R, Loureiro M, Pecegueiro M, Brandao M, Campos MC. Methotrexate hepatotoxicity in psoriatic patients submitted to long-term therapy. *Acta dermato-venereologica.* 1992;72(5):361-4.

88. Maybury CM, Jabbar-Lopez ZK, Wong T, Dhillon AP, Barker JN, Smith CH. Methotrexate and liver fibrosis in people with psoriasis: a systematic review of observational studies. *Br J Dermatol*. 2014;171(1):17-29.
89. Wilke WS, Biro JA, Segal AM. Methotrexate in the treatment of arthritis and connective tissue diseases. *Cleve Clin J Med*. 1987;54(4):327-38.
90. Dirven L, Klarenbeek NB, van den Broek M, van Groenendael JH, de Sonnaville PB, Kerstens PJ, et al. Risk of alanine transferase (ALT) elevation in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate in a DAS-steered strategy. *Clin Rheumatol*. 2013;32(5):585-90.
91. American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis G. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum*. 2002;46(2):328-46.
92. Visser K, van der Heijde DM. Risk and management of liver toxicity during methotrexate treatment in rheumatoid and psoriatic arthritis: a systematic review of the literature. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(6):1017-25.
93. Kent PD, Luthra HS, Michet C, Jr. Risk factors for methotrexate-induced abnormal laboratory monitoring results in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2004;31(9):1727-31.
94. Schmajuk G, Miao Y, Yazdany J, Boscardin WJ, Daikh DI, Steinman MA. Identification of risk factors for elevated transaminases in methotrexate users through an electronic health record. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66(8):1159-66.
95. Sotoudehmanesh R, Anvari B, Akhlaghi M, Shahraeeni S, Kollahdoozan S. Methotrexate hepatotoxicity in patients with rheumatoid arthritis. *Middle East J Dig Dis*. 2010;2(2):104-9.
96. Arena U, Stasi C, Mannoni A, Benucci M, Maddali-Bongi S, Cammelli D, et al. Liver stiffness correlates with methotrexate cumulative dose in patients with rheumatoid arthritis. *Dig Liver Dis*. 2012;44(2):149-53.
97. El-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;126(2):460-8.
98. Anderwald C, Bernroider E, Krssak M, Stingl H, Brehm A, Bischof MG, et al. Effects of insulin treatment in type 2 diabetic patients on intracellular lipid content in liver and skeletal muscle. *Diabetes*. 2002;51(10):3025-32.
99. Rostom A, Goldkind L, Laine L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hepatic toxicity: a systematic review of randomized controlled trials in arthritis patients. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3(5):489-98.
100. McKenna F, Borenstein D, Wendt H, Wallemark C, Lefkowitz JB, Geis GS. Celecoxib versus diclofenac in the management of osteoarthritis of the knee. *Scand J Rheumatol*. 2001;30(1):11-8.
101. Krüger K, Bolten W. Treatment with leflunomide in rheumatoid arthritis. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2005;64(2):96-101.
102. Queyrel V, Catteau B, Michon-Pasturel U, Fauchais AL, Delcey V, Launay D, et al. DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) syndrome after sulfasalazine and carbamazepine: report of two cases. *Rev Med Interne*. 2001;22(6):582-6.

103. Sokolove J, Strand V, Greenberg JD, Curtis JR, Kavanaugh A, Kremer JM, et al. Risk of elevated liver enzymes associated with TNF inhibitor utilisation in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(9):1612-7.
104. Rodrigues S, Lopes S, Magro F, Cardoso H, Horta e Vale AM, Marques M, et al. Autoimmune hepatitis and anti-tumor necrosis factor alpha therapy: A single center report of 8 cases. *World J Gastroenterol*. 2015;21(24):7584-8.

12. Danksagung

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk einer einzelnen Person. Deshalb ist es jetzt an der Zeit mich bei allen Menschen zu bedanken, welche mir die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht haben.

Allen voran gilt mein ganz besonderer Dank meinem Betreuer Herrn PD Dr. Martin Feuchtenberger, da ohne seine unermüdliche Unterstützung diese Arbeit in dem hier vorliegenden Rahmen nicht möglich gewesen wäre. Durch seine Geduld und Motivation sowie aufgrund der großartigen Hilfe auch seines Teams in der MED / BAYERN OST GmbH konnte die Rekrutierung der Patienten so reibungslos verlaufen. Während der gesamten Arbeit war auf ihn stets Verlass.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Schulze-Koops für die Überlassung des Themas, sowie die stets engagierte, unverzügliche und fachkundige Unterstützung in all meinen Fragen und Anliegen.

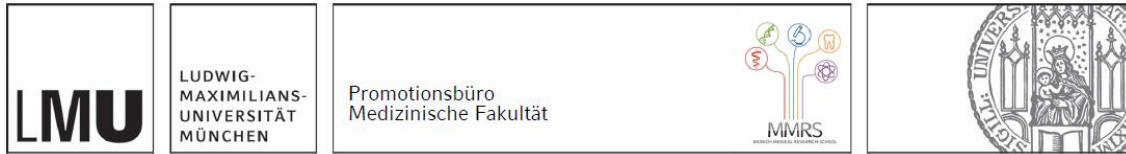
Danken möchte ich auch Herrn PD Dr. Matthias Witt für die Übernahme des Co-Referates.

Besonders möchte ich hier noch Herrn PD Dr. Arne Schäfer für seine herausragende und brillante statistische Beratung sowie seine immense Geduld bei immer wieder auftretenden Fragen oder kurzfristigen Änderungswünschen danken. Ohne seine stete Ansprechbarkeit und immer wieder mutmachenden Worte würde diese Arbeit nicht hier vorliegen.

Für die Durchsicht dieser Arbeit in stilistischer Sicht danke ich meinem Onkel Josef Kraus.

Ganz besonders danke ich natürlich meinen Eltern, die mir das Studium der Humanmedizin erst ermöglicht haben, mich jederzeit unterstützten und mir bei meiner Arbeit bei allen Höhen und Tiefen viel Verständnis und Geduld entgegenbrachten.

13. Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Kraus, Lisa Katharina

Name, Vorname

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

Abschätzung des Risikos einer Fibrose der Leber bei Patienten mit Methotrexat und rheumatoider Arthritis mittels nicht-invasiver, ultraschallbasierter Elastographie (ARFI-MetRA)

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.

Augsburg, den 06.2.2022

Ort, Datum

Lisa Katharina Kraus

Unterschrift Doktorandin

14. Publikationsliste

Feuchtenberger M, Kraus L, Nigg A, Schulze-Koops H, Schafer A. Methotrexate does not increase the risk of liver fibrosis in patients with rheumatoid arthritis: assessment by ultrasound elastography (ARFI-MetRA study). *Rheumatol Int.* 2021

