

Erstellung einer eDISH-Grafik zur Beurteilung potentieller Leberschäden durch Arzneimittel

Murat Ipek
PAREXEL International
Spandauer Damm 130
14050 Berlin
murat.ipek@PAREXEL.com

Zusammenfassung

Zur Einschätzung der durch Arzneimittel induzierten Leberschäden, im englischen "drug-induced liver injury", kurz DILI genannt, existieren verschiedene Darstellungsmöglichkeiten. Hierbei können Tabellen, Shift-Tabellen, einfache oder komplizierte Grafiken zum Einsatz kommen. Ein Typ der grafischen Darstellung, der sich mehr oder weniger etabliert hat, sind eDISH Grafiken. eDISH steht im englischen für "Evaluation of Drug Induced Serious Hepatotoxicity" und wird von Zulassungsbehörden gerne angefragt. Dieser Vortrag präsentiert Ihnen die Erstellung einer eDISH-Grafik in SAS.

Schlüsselwörter: drug induced liver injury (DILI), eDISH, Leberschäden

1 Einführung

Lebertoxische Substanzen (auch hepatotoxisch genannt) finden sich in verschiedenen Lebensmitteln, Medikamenten und Chemikalien. Sie können in unterschiedlicher Weise die Leber angreifen und letztlich zu schweren Leberschädigungen, zur Leberzirrhose bis hin zum akuten Leberversagen führen.

Im Rahmen klinischer Studien werden unerwünschte Arzneimittelwirkungen an Leberfunktionen gesondert betrachtet, um durch Arzneimittel induzierte Leberschäden, kurz „DILI“ für „drug-induced liver injury“, so früh wie nur möglich zu identifizieren und behandelte sowie zukünftige Patienten zu schützen. Es ist ein kontinuierlicher Prozess, der in allen Phasen der Arzneimittelentwicklung unter Beobachtung ist.

In den letzten 50 Jahren waren DILI's die häufigste (Einzel-) Ursache für die Nicht-Gewährung von Arzneimittelzulassungen. Auch waren DILI's dafür verantwortlich bereits zugelassene Arzneimittel vom Markt zu nehmen. Beispielsweise wurden Arzneimittel in den Vereinigten Staaten nicht zugelassen, weil klinische Studien in Europa oder in anderen Teilen der Welt eine Hepatotoxizität gezeigt haben. [1]

Die Identifizierung von DILI-Fällen ist nicht einfach und kann zu falschen Aussagen führen, wenn das individuelle (Gesamt-) Profil der Patienten nicht berücksichtigt wird oder durch fehlende Daten nicht berücksichtigt werden kann.

Erhöhte Leberenzyme sind ein erster Indikator zur Identifizierung toxischer Substanzen, wie Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) oder alkalische

Phosphatase (ALP). Des Weiteren sind Daten über die Ernährung, Alkohol- und Drogenkonsum, Krankheiten sowie weitere Medikamenteneinnahmen zu berücksichtigen, um Leberschäden eindeutig einer Arznei zuschreiben zu können. Die folgende Abbildung gibt einen schönen Überblick der Einflüsse auf die Leber und zugleich führt sie „alle“ Risikofaktoren auf, die Leberschädigungen verursachen können:

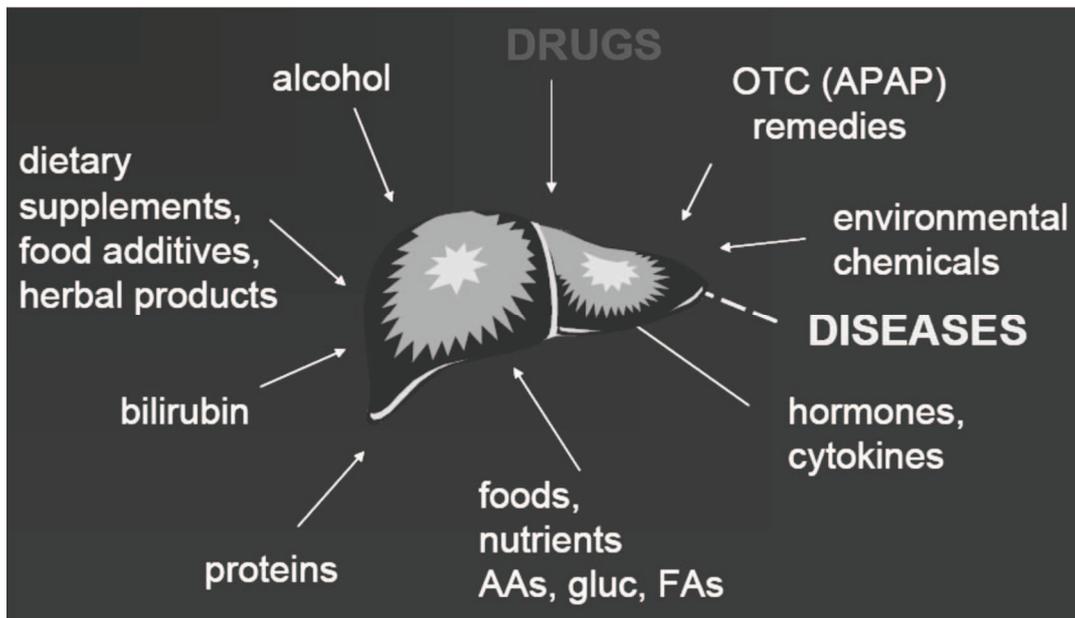


Abbildung 1: Einflüsse auf die Leber, aus [3]

Zur Darstellung von DILI-Fällen existieren verschiedene Darstellungsmöglichkeiten. Unter anderem können Tabellen, Shift-Tabellen, einfache oder komplizierte Grafiken zum Einsatz kommen. Ein Typ der grafischen Darstellung, der sich mehr oder weniger etabliert hat, sind verschiedene eDISH Grafiken. eDISH steht im englischen für "Evaluation of Drug Induced Serious Hepatotoxicity" und wird von Zulassungsbehörden angefragt. Eine schöne Übersicht der Methoden zur Darstellung von DILI-Fällen findet sich in der Arbeit von Michael Merz et. al in „Methodology to Assess Clinical Liver Safety Data“. [2]

In dieser Publikation wird die Erstellung einer eDISH-Grafik mit SAS vorgestellt. Es existieren verschiedene Definitionen der Lebertoxizität. Für diese Publikation werden die Richtlinien der amerikanischen Zulassungsbehörde FDA angewandt, die im nächsten Abschnitt erläutert wird.

2 Hy's Law

Das Hy's Law ist eine Faustregel, dass ein Patient einem hohen Risiko für mögliche arzneimittelinduzierte Leberschädigungen ausgesetzt ist. Die Regel geht zurück auf den Gastroenterologen Hyman J. Zimmermann (1916-1999), der in Beobachtungen feststellte, dass arzneimittelinduzierte hepatozelluläre Verletzungen mit Gelbsucht, einhergeht mit einer Mortalität von 10 bis 50 Prozent bei akutem Leberversagen. Er verknüpfte seine Beobachtungen mit Erhebungen der Leberenzyme ALT, AST und ALP, die von

Bob Temple in einer modifizierten Form Ende der 90er Jahre in die FDA Richtlinie als Hy's Law übernommen wurde.

Die Definition eines Hy's Law ist durch drei Komponenten gegeben, die sich primär über die obere Normalgrenze der Laborparameter definieren lässt. Was ist die obere Normalgrenze? Für fast jeden Laborparameter existieren Normalbereiche. Als Beispiel sei folgendes gegeben: Ihnen wird Blut abgenommen und der Parameter X analysiert. Vom Labor erhalten Sie den Befund mit dem Ergebnis 50g für den Parameter X. Der Befund enthält auch den Normalbereich und dieser liegt für den Parameter X zwischen 30g und 80g. Also ist Ihr Wert mit 50g innerhalb des Normalbereichs. In der folgenden Definition ist mit ULN (ULN=upper limit normal) genau die obere Grenze des Normalbereichs gemeint, in meinem Beispiel die 80g: [1]

1. *The drug causes hepatocellular injury, generally shown by a higher incidence of 3-fold or greater elevations above the ULN of ALT or AST than the (nonhepatotoxic) control drug or placebo*
2. *Among trial subjects showing such AT elevations, often with ATs much greater than 3xULN, one or more also show elevation of serum Total Bilirubin (TBIL) to >2xULN, without initial findings of cholestasis (elevated serum ALP)*
3. *No other reason can be found to explain the combination of increased AT and TBL, such as viral hepatitis A, B, or C; preexisting or acute liver disease; or another drug capable of causing the observed injury*

Innerhalb der Richtlinie findet sich auch eine Aussage hinsichtlich der „erlaubten“ Anzahl von Hy's Law Fällen. So schreibt die FDA:

“Finding one Hy's Law case in the clinical trial database is worrisome; finding two is considered highly predictive that the drug has the potential to cause severe DILI when given to a larger population. [...]”

Ungeachtet dessen ist die Identifizierung von DILI-Fällen nicht einfach. Die dritte Komponente des Hy's Law ist ohne einhergehende Recherche des Krankheitsbilds der Patienten nicht zu bestätigen. Fehlende Datengrundlage machen eine Bewertung nahezu unmöglich.

3 Umsetzung in SAS

Die Identifizierung von potentiellen Fällen sowie die Umsetzung der Grafik ist in SAS dank der neuen Grafikproduzieren (ab SAS Version 9.2) nicht mehr schwierig. In diesem Abschnitt wird die Aufbereitung der Daten und die Erstellung von Grafiken diskutiert. Die Programmierung erfolgte in SAS Version 9.3.

3.1 Untersuchung der ersten und zweiten Komponente

Zur Identifizierung der ersten und zweiten Komponente, wurde obige Definition aus der FDA Richtlinie wie folgt umgeschrieben:

- Komponente 1: ALT/AST-Werte $\geq 3 \cdot \text{ULN}$
- Komponente 2: TBL-Werte $> 2 \cdot \text{ULN}$

Die dritte Komponente ist programmatisch schwer zu erfassen bzw. bedarf komplexer Algorithmen, so dass dieser nur durch Mediziner untersucht und bestätigt werden kann.

Für die visuelle Darstellung ist die Definition des Hy's Law insofern irrelevant, weil jeder Patient mit seinem maximalen Verhältnis zur ULN dargestellt wird. Allerdings sind in der Regel separate Listen mit potentiellen Fällen zu erstellen. Diese Listen enthalten nur Fälle, die den obigen Bedingungen genügen.

Im ersten Schritt werden die Resultate der Leberenzyme ALT-, AST-, und TBIL zu ihrer ULN ins Verhältnis gesetzt. Vorher ist in der Regel eine „Korrektur“ nötig, falls bei Messungen der untersuchte Analyt nicht in ausreichender Menge vorhanden war. Diese sind in der Regel mit „<“ für unterhalb beziehungsweise mit „>“ für oberhalb der Nachweisgrenze gegeben und wurden für die Auswertung durch die Nachweisgrenze selbst ersetzt. Hierzu kam die COMPRESS-Funktion zum Einsatz, um anschließend mit der INPUT-Funktion die Typentransformation durchzuführen:

```
meinErgebnis = INPUT(COMPRESS(laborResultat, "<>"), BEST.)
```

Das Verhältnis zur ULN wurde wie folgt berechnet, unter der Annahme dass diese gegeben sind:

```
ratio = meinErgebnis / obereNormalGrenze
```

In der CDISC SDTM Terminologie wären die Variablen LBSTRESN und LBSTNRHI notwendig.

Im nächsten Schritt gilt es das maximale Verhältnis für jedes Arzneimittel (`trt`), jedes Leberenzym (`paramcd`), und für jeden Patienten (`subjid`) festzuhalten. Zur Vorbereitung der Grafik, werden die Maxima anschließend transponiert, um die darzustellenden Werte nebeneinander zu haben.

```
/*--- GET MAXIMUM BY PARAMETER ---*/  
PROC SORT DATA=fig00get OUT=fig01sort;  
  BY subjid trt paramcd;  
RUN;  
  
PROC MEANS DATA=fig01sort NOPRINT;  
  BY subjid trt paramcd;  
  VAR ratio;  
  OUTPUT OUT=fig05means MAX=max;  
RUN;
```

```

/*--- TRANSPOSE BY PATIENT AND TREATMENT ---*/
PROC TRANSPOSE DATA=fig05means OUT=fig10trans;
  BY subjid trt;
  VAR max;
  ID paramcd;
RUN;

```

Am Ende der Transponierung ist es nun soweit. Die Daten sind in der erforderlichen Struktur und die Grafik kann gezeichnet werden.

In der Regel wird ein Vergleich zwischen (mindestens) zwei Behandlungsgruppen angestrebt, im einfachsten Fall zwischen einer Kontrollgruppe (beispielsweise Placebo) und der zu untersuchenden Behandlungsgruppe. In den folgenden Abschnitten werden zwei verschiedene Möglichkeiten dargestellt, um DILI-Fälle getrennt nach der Behandlungsgruppe darzustellen. Beide Grafiken haben gemein, dass das maximale Verhältnis pro Patient mit $X=ALT$ und $Y=TBIL$ abgebildet wird.

3.2 Erstellen der Grafik mit SGPLOT

Die erste Möglichkeit wurde mit der Prozedur SGPLOT realisiert. Hierbei handelt es sich um eine einzelne Grafik, in der die Behandlungsgruppen „Control“ und „Treatment“ farblich, sowie durch verschiedene Symbole voneinander unterschieden werden. In SAS wurde dies innerhalb der Prozedur mit dem SCATTER-Statement realisiert:

```

SCATTER X=alt Y=ctbil / MARKERATTRS=(SYMBOL=CIRCLE COLOR=BLUE);
SCATTER X=alt Y=ttbil / MARKERATTRS=(SYMBOL=SQUARE COLOR=RED);

```

Dem aufmerksamen Leser fällt auf, dass das SCATTER-Statement zweimal ausgeführt wird. Dies ist notwendig, wenn eine Unterscheidung der Symbole zwischen den Ausprägungen der Gruppiervariable (hier den Behandlungsgruppen) gewünscht ist. In der Regel reicht ein SCATTER-Statement mit der Option GROUP=, um eine Gruppierung zu erwirken. Allerdings ist eine separate Definition der Symbole und Farben mit SYMBOL1, SYMBOL2 nicht möglich.

Des Weiteren wurden die Grenzen des zweifachen ULN für TBIL sowie das dreifache ULN für ALT durch Referenzlinien eingezeichnet:

```

REFLINE 2 / AXIS=Y LABEL="2xULN" LABELLOC=INSIDE;
REFLINE 3 / AXIS=X LABEL="3xULN" LABELLOC=INSIDE;

```

Die Achsen wurden in der Log-Ebene dargestellt und deren Beschriftung mit den Namen der Leberenzyme abgebildet. Ein Offset hilft, eine schönere Darstellung zu erreichen:

```

YAXIS LABEL="Peak Total Bilirubin (umol/L), xULN"
  TYPE=LOG LOGBASE=10 LOGSTYLE=LOGEXPAND
  MIN=0.01 MAX=100 OFFSETMIN=0.05 OFFSETMAX=0.001;
XAXIS LABEL="Peak Alanine Aminotransferase (U/L), xULN"
  TYPE=LOG LOGBASE=10 LOGSTYLE=LOGEXPAND
  MIN=0.01 MAX=100 OFFSETMIN=0.001 OFFSETMAX=0.001;

```

Das Resultat ist in Abbildung 2 gegeben. Jeder Patient geht in die Abbildung mit seinem maximal beobachteten Wert ein:

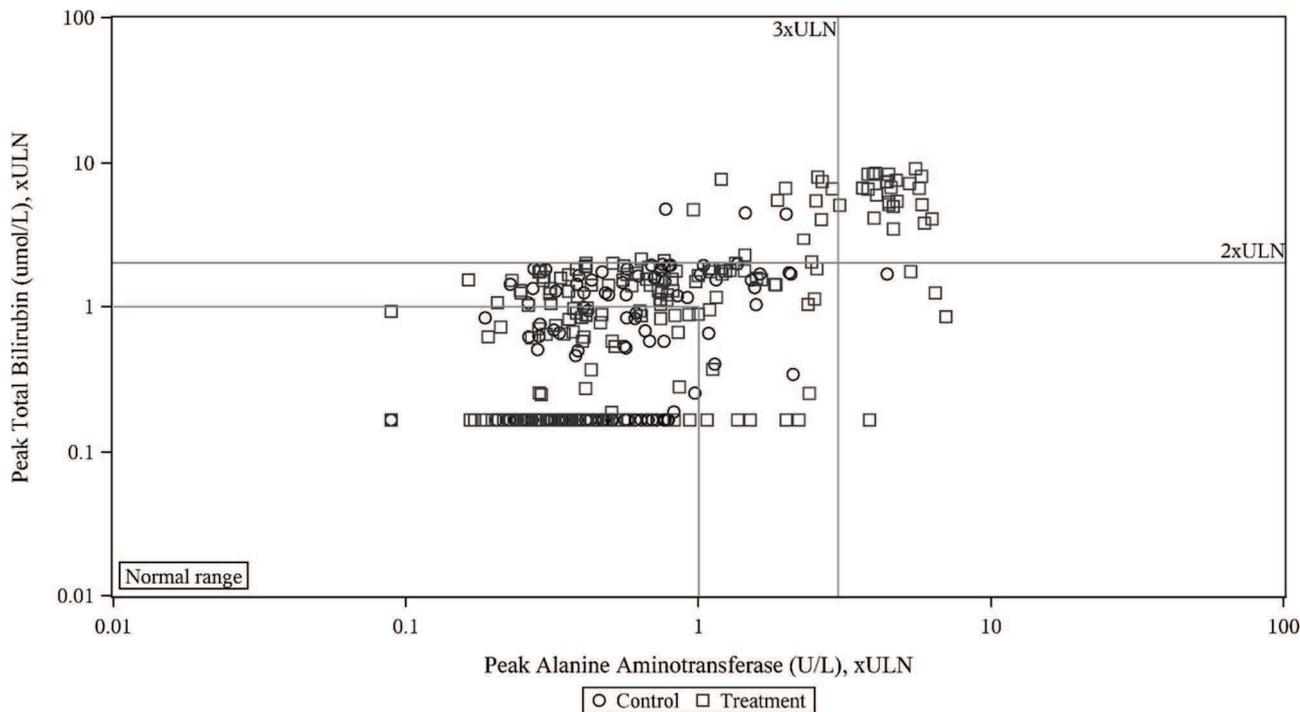


Abbildung 2: eDISH-Grafik (ALT vs TBIL) mit der Prozedur SGPLOT

Über das `INSET`-Statement wurde der Normalbereich mit „Normal range“ beschriftet. Dieser Bereich wurde durch Hinzunahme der SAS Annotate-Funktionalität eingezeichnet, um die Punktwolke zum Normalbereich hervorzuheben. Hierbei liegt die Betonung auf „zeichnen“. Es ist notwendig die einzelnen Schritte, wie hier das Zeichnen von zwei Linien, konkret anzugeben und die Koordinaten für den Beginn und das Ende der Geraden genau zu definieren. Der benutzte SAS-Code für die obige Abbildung 2 ist wie folgt gegeben:

```

/*--- CREATE AN ANNOTATE DATASET TO DRAW THE LINE AROUND 1XULN ---*/
DATA sganno;
  RETAIN function 'line' drawspace 'datavalue' linecolor 'gray'
         linethickness 1 laye 'back';
  x1=0.01 ; y1=1;
  x2=1    ; y2=1;
  OUTPUT;
  x1=1    ; y1=0.01;
  x2=1    ; y2=1;
  OUTPUT;
RUN;

```

In der Regel wird die Abbildung für weitere Leberenzyme wiederholt, wie beispielsweise um eine Abbildung für AST gegenüber TBIL zu erstellen.

3.3 Erstellen der Grafik mit SGPANEL

Bei der zweiten Möglichkeit wurde die Grafik mit der Prozedur SGPANEL realisiert. Hierbei wird ebenfalls eine einzige Grafik erstellt, die jedoch über zwei „Panele“ verfügt, in der Ausprägungen eines Merkmals dargestellt werden können, hier die Behandlungsgruppen.

Die Syntax ist nahezu identisch mit der der Prozedur SGPLOT. Die Plot-Anweisung wird auch hier mit dem SCATTER-Statement eingeführt, wobei hier eine einzelne ausreicht, da die Grafiken von Hause aus separat dargestellt werden. Die Teilung erfolgt über das PANELBY-Statement die die Anzahl der Panele benötigt:

```
PANELBY trta / COLUMNS=2 NOVARNAME;
```

Die Referenzlinien werden auf dieselbe Art und Weise definiert wie in der Prozedur SGPLOT. Die Definition der Achsen ist hier allerdings nicht unter YAXIS und XAXIS zu finden, sondern mit ROWAXIS und COLAXIS zu benennen.

Das Resultat ist in Abbildung 3 gegeben:

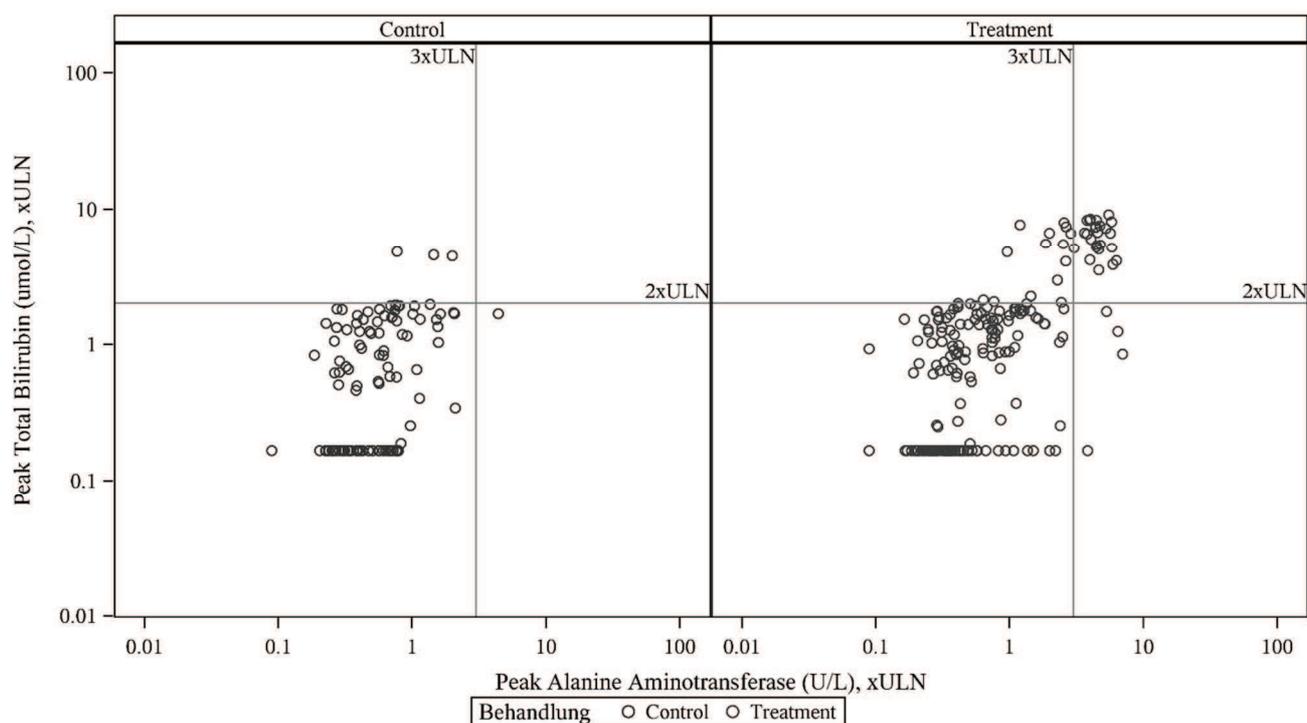


Abbildung 3: eDISH-Grafik (TBIL vs ALT) mit der Prozedur SGPANEL

Leider steht die Nutzung der SAS Annotate-Funktionalität in dieser Prozedur nicht zur Verfügung. Der vollständige SAS-Code ist im Anhang A abgebildet.

4 Zusammenfassung

Bei jeder klinischen Studie hat die Sicherheit und das Wohlbefinden der Studienteilnehmer oberste Priorität. Darunter fällt auch die Behandlung zukünftiger Patienten. Daher nimmt die Untersuchung unerwünschter Arzneimittelwirkungen im Rahmen klinischer Studien eine gesonderte Stellung ein und das über alle Phasen der klinischen Entwicklung. Auch nach der Zulassung einer Arznei.

Eine dieser Untersuchungen ist die Verhinderung von durch Arzneimittel induzierte Leberschäden. eDISH-Grafiken sind eine Möglichkeit, um potentielle Fälle zu identifizieren. In dieser Publikation wurden zwei Möglichkeiten vorgestellt. Beide Möglichkeiten ermöglichen den Vergleich zwischen (mindestens) zwei Behandlungsgruppen.

Abschließend ist festzuhalten, dass eDISH-Grafiken dazu genutzt werden,

- um „Risiko“-Arzneimittel zu identifizieren;
- Patienten vor Gefahren zu schützen;
- jeder Fall bedarf der Diskussion eines Teams: Biostatistiker, Mediziner, Experten, etc.;
- Ein Hy's Law Fall ist besorgniserregend. Zwei und mehr Fälle sind mit einem erhöhten Risiko verbunden, das die Arznei „schwere“ Leberschäden verursachen kann, wenn die Zielpopulation mit dieser behandelt wird.

Literatur

- [1] FDA Guidance for Industry – „Drug-Induced Liver Injury: Premarketing Clinical Evaluation“, Juli 2009.
- [2] M. Merz, K. R. Lee, G. A. Kullak-Ublick, A. Brueckner, P. B. Watkins; „Methodology to Assess Clinical Liver Safety Data“; Drug Safety; 2014, 37, P33-45; DOI: 10.1007/s40264-014-0184-5.
- [3] Clinical Investigator Training Course, 15. November 2012 vorgetragen von L. L. Pauls und J. R. Senior; „*Drug-Induced Liver Injury (DILI)*“

Anhang A SAS-Code zur Erzeugung der eDISH-Grafik mit der Prozedur SG PANEL

```

PROC SG PANEL DATA=fig10trans;
/* Hier werden die verschiedenen Bereiche in der Abbildung
   eingeleitet */
  PANELBY trta / columns=2 NOVARNAME;
  SCATTER X=alt Y=tbil / MARKERATTRS=(SYMBOL=CIRCLE)
          GROUP=trta
/* Die Option GROUP=trta dient der farblichen Unterscheidung der
   Behandlungsgruppen und ist im Grunde genommen nicht notwendig, da
   die Variable trta als Unterscheidung der Bereiche benutzt wird*/
;
/* Referenzlinien */
  REFLINE 2 / AXIS=Y LABEL="2xULN" ;
  REFLINE 3 / AXIS=X LABEL="3xULN" ;
/* Definition der waagerechten Achse */
  ROWAXIS LABEL="Peak Total Bilirubin (umol/L), xULN"
          TYPE=LOG LOGBASE=10 LOGSTYLE=LOGEXPAND
          MIN=0.01 MAX=100
          OFFSETMIN=0.001 OFFSETMAX=0.05
;
/* Definition der vertikalen Achse */
  COLAXIS LABEL="Peak Alanine Aminotransferase (U/L), xULN"
          TYPE=LOG LOGBASE=10 LOGSTYLE=LOGEXPAND
          MIN=0.01 MAX=100
          OFFSETMIN=0.05 OFFSETMAX=0.05
;
RUN;

```