

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II – Großhadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. B. Göke

# **Der Effekt von Ursodeoxycholsäure auf den Cytochrom P450 3A-Metabolismus bei primär biliärer Zirrhose und gesunden Probanden**

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

vorgelegt von  
Annette Carola Denk

aus  
Aichach

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. U. Beuers

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. A. Eigler  
Priv. Doz. Dr. H. Mückter

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: ---

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 15. November 2005

Meinen Eltern  
in Dankbarkeit und Liebe

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>3</b>
1.1	THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....	3
1.1.1	Pathophysiologie und Therapie der Cholestase.....	3
1.1.2	Wirkungsmechanismus von UDCA bei chronischen cholestatischen Leberkrankheiten.....	4
1.1.2.1	Protektive Wirkung gegen Schädigung der Gallengänge durch hydrophobe Gallensäuren.....	5
1.1.2.2	Stimulation der hepatozellulären Sekretion von hydrophoben Gallensäuren und anderen potentiellen Hepatotoxinen.....	5
1.1.3	Effekte des Glukokortikoids Budesonid.....	6
1.1.4	Bedeutung von Cytochrom P450 3A als Stoffwechsellenzym.....	6
1.1.5	UDCA als Induktor von Cytochrom P450 3A.....	7
1.2	FRAGESTELLUNG.....	8
<b>2</b>	<b>METHODIK.....</b>	<b>9</b>
2.1	ZIEL DER STUDIE.....	9
2.2	ART DER STUDIE.....	9
2.2.1	Ablauf der Studie im Detail.....	10
2.3	STUDIENPOPULATION.....	19
2.3.1	Einschlusskriterien.....	19
2.3.2	Ausschlusskriterien.....	20
2.4	VORGEHENSWEISE ZUR PROBENGWINNUNG.....	22
2.4.1	Blutentnahme zur Bestimmung von Budesonid und dessen Phase-I- Metaboliten.....	22
2.4.2	Sammlung von 12-h-Urin zur Bestimmung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol und freiem Cortisol.....	23
2.5	ANALYSEMETHODEN.....	23
2.5.1	Budesonid und Metabolitenkinetik.....	24
2.5.2	6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin.....	24
2.5.3	Pharmakokinetische Analyse.....	25
2.6	STATISTIK.....	26

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>27</b>
3.1	PHARMAKOKINETIK VON BUDESONID.....	28
3.2	AUSSCHEIDUNG VON 6 $\beta$ -HYDROXYCORTISOL IM URIN.....	33
3.3	PHARMAKODYNAMISCHE EFFEKTE VON UDCA UND RIFAMPICIN.....	35
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:.....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF.....</b>	<b>54</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNGEN.....</b>	<b>55</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Theoretische Grundlagen

### 1.1.1 Pathophysiologie und Therapie der Cholestase

Die primär biliäre Zirrhose ist eine chronische cholestatische autoimmune Leberkrankheit, die vorwiegend Frauen in mittlerem Alter betrifft. Die PBC ist durch eine progressive entzündliche Destruktion der interlobularen und septalen Gallengänge charakterisiert, die zu portalen und periportal Entzündungen (Stadium I und II), Fibrose (Stadium III) und eventuell Zirrhose (Stadium IV) der Leber führt. Die Diagnose wird heute meist gestellt, wenn die Patienten noch keinerlei Symptome aufweisen (29).

Ein cholestatisches Serum-Enzym-Muster, der Nachweis antimitochondrialer Antikörper im Serum (Untergruppe M2) und histologische Befunde, die mit der PBC vereinbar sind, sind Wegweiser für die Diagnose einer PBC. Die Krankheit schreitet im Allgemeinen langsam voran, die mittlere Lebenserwartung bei unbehandelten Patienten liegt bei etwa zehn Jahren (55).

Eine Schädigung der Epithelzellen der Gallengänge und der Hepatozyten durch hydrophobe Gallensäuren scheint für die Pathogenese dieser langsam fortschreitenden entzündlichen Krankheit von Bedeutung zu sein. Diese Gallensäuren verursachen bei Versuchstieren eine hepatozelluläre Cholestase und Leberschädigung (34, 39, 44), des Weiteren verstärken sie vorbestehende Gallengangsschäden (75). Seit fast 40 Jahren wird eine hepatische Retention von hydrophoben Gallensäuren als wesentliche Ursache für die progrediente Leberschädigung bei chronischen cholestatischen Krankheiten diskutiert. Damals konnten Holsti und Javitt erstmals zeigen, dass die hydrophobe Lithocholsäure (LCA) und ihr Konjugat Taurolithocholsäure (TLCA) Cholestase und Zirrhose bei Versuchstieren verursachen (38, 39).

Unter den fünf wichtigsten Gallensäuren des Menschen [LCA, Deoxycholsäure (DCA), Chenodeoxycholsäure (CDCA), Cholsäure (CA), Ursodeoxycholsäure (UDCA)] ist LCA die am stärksten cholestatisch wirkende (37, 39). Die hepatischen Spiegel der beiden hydrophoben Dihydroxygallensäuren CDCA und DCA korrelieren mit dem Grad der Leberschädigung (23, 24, 67). Trotz großer Fortschritte im

Verständnis der Pathophysiologie der Cholestase in den vergangenen Jahren (2, 36, 60, 65) sind die genauen molekularen Mechanismen, die zu einer gallensäureninduzierten Cholestase und Leberschädigung führen, in vielen Aspekten ungeklärt.

Es hat sich gezeigt, dass die Konjugate der hydrophilen Gallensäure UDCA bei Versuchstieren, in der isoliert perfundierten Rattenleber und in isolierten Hepatozyten vor Leberschädigung und Cholestase schützen, die von den Konjugaten der CA (44) und von anderen hydrophoben Gallensäuren wie CDCA (34, 44, 16, 35), DCA (16) und LCA (6, 68) verursacht werden. Für den protektiven Effekt der UDCA scheint eine Amidierung eine wichtige Voraussetzung zu sein (6, 35, 74). Erstmals wurde UDCA vor etwa 15 Jahren als Medikament bei Patienten mit chronischen cholestatischen Leberkrankheiten wie der PBC verabreicht. Die Vorstellung war, dass Veränderungen der Zusammensetzung des endogenen Gallensäuren-pools zugunsten von UDCA einer durch hydrophobe Gallensäuren ausgelösten Leberschädigung entgegenwirken könnten (63).

Zurzeit stellt UDCA die einzige etablierte Therapie chronischer cholestatischer Leberkrankheiten dar (7). In randomisierten, placebokontrollierten Studien stellte sich heraus, dass UDCA bei Patienten mit PBC neben einer Verbesserung der Serumleberwerte die histologische Progression und Zirrhosebildung aufhält, die Komplikationen einer Leberzirrhose vermindert und das transplantationsfreie Überleben verlängert. Über nennenswerte Nebenwirkungen der Behandlung wurde nicht berichtet (7). Die PBC verläuft progredient, unbehandelt letal und betrifft oft jüngere Patienten, daher kommt einer effektiven Therapie entscheidende Bedeutung zu.

### **1.1.2 Wirkungsmechanismen von UDCA bei chronischen cholestatischen Leberkrankheiten**

Bisherige experimentelle Untersuchungen haben auf zwei hauptsächliche Wirkungsmechanismen von UDCA bei chronischen cholestatischen Leberkrankheiten hingewiesen:

### **1.1.2.1      Protektive Wirkung gegen Schädigung der Gallengänge durch hydrophobe Gallensäuren**

Die Mdr2-Knockout-Maus ist zur Sekretion von Phospholipiden, die die potentiell membranschädigenden Effekte der hydrophoben Gallensäuren abpuffern könnten, in die Gallenflüssigkeit nicht fähig, und sie entwickelt deshalb eine chronische, nicht eitrige Cholangitis (71). Durch die Verabreichung von UDCA wird bei diesem Modell die Entwicklung einer chronischen cholestatischen Leberkrankheit verhindert, was auf einen protektiven Effekt der UDCA-Konjugate auf der Ebene der Gallengänge hinweist (75). Werden artifizielle oder biologische Membranen millimolaren Konzentrationen von hydrophoben Gallensäuren ausgesetzt, haben UDCA-Konjugate *in vitro* einen membranprotektiven Effekt (26, 31, 32, 35). Wahrscheinlich bedeutender als eine direkte Membraninteraktion ist für diese Effekte die Wirkung der UDCA auf die Bildung und Struktur von einfachen und gemischten Mizellen (33).

### **1.1.2.2      Stimulation der hepatozellulären Sekretion von hydrophoben Gallensäuren und anderen potentiellen Hepatotoxinen**

Eine entscheidende Rolle beim cholestaseassoziierten Leberschaden scheint die hepatische Akkumulation von potentiellen Hepatotoxinen, wie hydrophoben Gallensäuren, zu spielen (2, 23, 24, 36, 67). Zuerst äußerte Kitani die Hypothese, dass der zytoprotektive Effekt von UDCA höchstwahrscheinlich über eine Stimulation der Leberzellsekretion vermittelt wird (42). Diese Annahme wurde in letzter Zeit experimentell und klinisch untermauert. Bei Patienten mit PBC und PSC (primär sklerosierende Cholangitis) wird durch UDCA-Amide die Sekretion von Gallensäuren ebenso stimuliert (39, 72), wie am Modell der Gallenfistelratte (34, 44) und in isolierten Hepatozyten (57). In Übereinstimmung hiermit senkt UDCA die Serumspiegel von CDCA bei Patienten mit PBC (62) und von Bilirubin bei Patienten mit PBC und PSC (8, 12, 29, 49, 50). Mittels hepatobiliärer Szintigraphie wurde festgestellt, dass UDCA ebenso die biliäre Sekretionskapazität bei Patienten mit Leberkrankheiten, welche mit zystischer Fibrose assoziiert werden, stimuliert (11).



### 1.1.3 Effekte des Glukokortikoids Budesonid

Es wurde nachgewiesen, dass Kortikosteroide die Serumleberwerte und histologischen Befunde bei Patienten mit PBC verbessern, wenn sie alleine (53) oder in Kombination mit UDCA (47) verabreicht werden. Trotz allem könnten Langzeitbehandlungen mit konventionellen Kortikosteroiden wie Prednisolon von schweren systemischen Nebenwirkungen beeinträchtigt sein.

Budesonid ist ein nicht-halogeniertes Glukokortikoid, das ebenso für die lokale Behandlung bei Schnupfen und Asthma wie für die Behandlung entzündlicher Darmerkrankungen verwendet wird (5, 22). Nach oraler Gabe wird Budesonid fast vollständig vom Intestinum absorbiert und in hohem Maße von der Leber aufgrund des extensiven First-pass-Effektes, der zu einer niedrigen Bioverfügbarkeit von etwa 10% führt (66), extrahiert. Budesonid wird über Cytochrom P450 3A (CYP3A) zu 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon und 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid verstoffwechselt. Die Glukokortikoidaktivität der beiden Hauptmetaboliten beträgt nur 1 – 10% der Ausgangssubstanz (41). Der Effekt von Budesonid auf entzündliche Vorgänge in der Leber erscheint größer als der von Prednisolon, da Budesonid eine 15 – 20mal höhere Affinität an Glukokortikoidrezeptoren (54) aufweist. Es hat sich gezeigt, dass bei der oralen Gabe von Budesonid bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen weniger systemische Nebenwirkungen als bei herkömmlichen Kortikosteroiden auftreten (22).

Daher erscheint es probat, Budesonid bei der Behandlung von nichtinfektiösen chronisch entzündlichen Lebererkrankungen wie der PBC (1, 47) einzusetzen.

### 1.1.4 Bedeutung von Cytochrom P450 3A (CYP3A) als Stoffwechsellenzym

Die Familie der Cytochrom P450-abhängigen Enzyme (CYP) ist beim Menschen für die Phase I-Biotransformation verantwortlich (27). Die CYP3A-Unterfamilie vermittelt die Biotransformation von mehr als 50% der Medikamente in klinischem Gebrauch, (z.B. Makrolid-Antibiotika, Benzodiazepine, Kalziumkanalblocker, Immunsuppressiva und Chemotherapeutika) (73), sowie unzähligen endogenen Substraten. CYP werden in verschiedenen Geweben exprimiert. 60% aller CYP in der menschlichen Leber sind der CYP3A-Unterfamilie zuzurechnen (70). Bei Erwachsenen besteht die CYP3A-Unterfamilie aus CYP3A4, welches in jeder menschlichen Leber exprimiert

wird, und dem polymorphen CYP3A5, das in circa 25% aller menschlichen Lebern zu finden ist (78). CYP3A ist das quantitativ bedeutendste CYP der Intestinalschleimhaut des Erwachsenen (14).

### **1.1.5 UDCA als Induktor von Cytochrom P450 3A**

In Lebermikrosomen von Mäusen wurde erstmals gezeigt, dass UDCA hepatisches CYP3A induziert (58, 59). In einer menschlichen Hepatom-Zelllinie aktivierte UDCA den nukleären PXR/SXR (pregnane X receptor/steroid and xenobiotic receptor), einen heterodimeren Transkriptionsfaktor, der die CYP3A-Expression stimuliert. UDCA war wirksamer als die meisten anderen untersuchten Gallensäuren einschließlich Cholsäure, Deoxycholsäure und des Taurinkonjugats von UDCA (69). In primären menschlichen Hepatozyten wurde über einen zehnfachen Anstieg der Aktivität von CYP3A-abhängiger Testosteron 6 $\beta$ -Hydroxylase unter UDCA (100  $\mu$ mol/L) im Vergleich zum wesentlich geringeren Effekt diverser anderer Gallensäuren und einem fast zwanzigfachen Anstieg unter Rifampicin (10  $\mu$ mol/L) berichtet (69).

Bei vier Patienten mit Gallensteinen erhöhte die Behandlung mit UDCA (1500 mg/Tag für drei Wochen) die Plasmaspiegel von 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol um 45% (23,0  $\pm$  3,8 ng/ml vs. 33,6  $\pm$  6,8 ng/ml) (9). Da SF9-Insektenzellen, die mit rekombinantem menschlichem CYP3A transfiziert waren, Cholesterin in 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol umwandeln, wurde diese Beobachtung als Induktion des CYP3A-Stoffwechsels interpretiert. Bisher wurde der Effekt von UDCA auf CYP3A nicht in einer vergleichenden Studie am Menschen untersucht, so dass die klinische Relevanz der oben beschriebenen Beobachtungen unklar bleibt.

## 1.2 Fragestellung

Mit der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist die Gallensäure UDCA ein klinisch relevanter CYP3A-Induktor bei Patienten mit primär biliärer Zirrhose und Gesunden?
2. Ist der CYP3A-Metabolismus bei Patienten mit PBC im Frühstadium gegenüber Gesunden eingeschränkt?

## **2 Methodik**

### **2.1 Ziel der Studie**

Das Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob UDCA den CYP3A-Metabolismus bei Patienten mit PBC (primär biliärer Zirrhose) im Frühstadium I/II und gesunden Probanden beeinflusst. Eine mögliche Induktion von Cytochrom P450 3A (CYP3A) wurde durch Bestimmung der Pharmakokinetik des exogenen CYP3A-Substrats Budesonid und seiner Phase I-Metabolite 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon und 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid sowie der renalen Exkretion von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol, einem CYP 3A-Metaboliten von Cortisol, vor und während der Behandlung mit UDCA und dem potenten CYP3A-Induktor Rifampicin ermittelt.

### **2.2 Art der Studie**

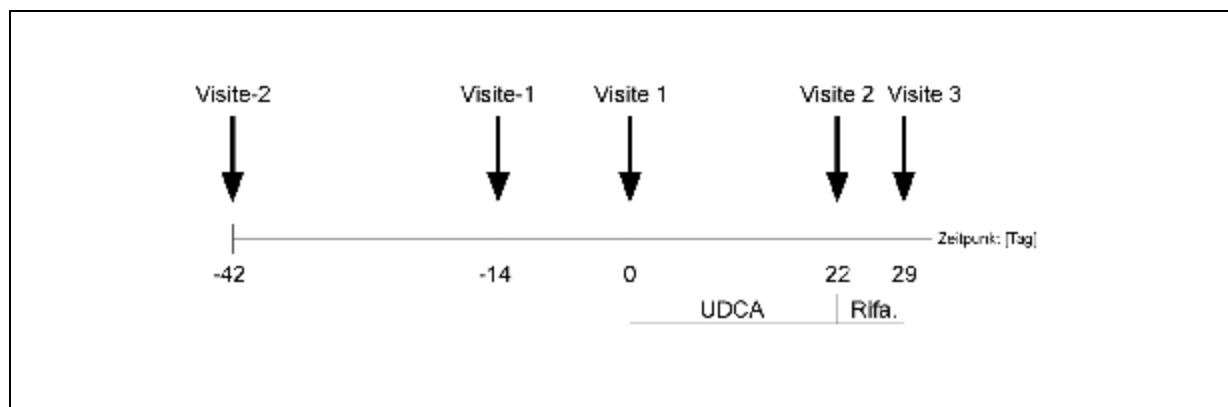
Diese offene, nicht randomisierte pharmakokinetische Studie wurde mit acht gesunden männlichen Probanden und zwölf Patienten mit PBC im Frühstadium durchgeführt. Bei beiden Gruppen wurden die gleichen pharmakologischen Untersuchungen durchgeführt. Über drei Wochen hinweg wurde kontrolliert UDCA in einer bei der Behandlung der PBC empfohlenen Dosis (15 mg/kg Körpergewicht/Tag) verabreicht. In der darauf folgenden vierten Woche wurde UDCA durch Rifampicin (600 mg/Tag) ersetzt.

Während dreier eintägiger stationärer Aufenthalte (Visiten) wurde jeweils 3 mg Budesonid gegeben, um die Serumspiegel dieses Medikaments und seiner CYP3A-Metaboliten und deren renale Elimination vor Gabe von UDCA (Tag 1), während UDCA-Verabreichung (Tag 22) und unter Gabe von Rifampicin (Tag 29) zu erfassen. Zur Erhebung der pharmakologischen Daten wurden während dieser stationären Aufenthalte jeweils über einen Zeitraum von zwölf Stunden engmaschig Blutproben genommen und der Urin gesammelt.

In den Einnahmeperioden, die zwischen den Visiten lagen, wurden keine Untersuchungen durchgeführt.

### 2.2.1 Ablauf der Studie im Detail

Patienten, die an PBC erkrankt sind und bereits mit UDCA behandelt wurden, hatten vor Beginn der klinischen Prüfung zwei Besuchstermine (**Abb. 1**):



**Abb. 1: Zeitablauf der Studie**

In einem ersten Ambulanztermin (Visite -2) wurden sie auf die Eignung für die Teilnahme an der Studie voruntersucht, bei einem zweiten ambulanten Besuch (Visite -1) wurde nach vierwöchigem Absetzen (Auswaschphase) von UDCA die Eignung für die Teilnahme bestätigt.

Bei unbehandelten, an PBC erkrankten Patienten entfielen die Auswaschphase und damit auch der zweite Ambulanztermin.

Nach eingehender medizinischer Befragung und körperlicher Untersuchung, inklusive EKG und Abdomensonographie, erfolgte beim ersten Ambulanztermin eine Blutentnahme für eine ausführliche Laboruntersuchung (**Tabelle 1**)

	Parameter	Visite -2	Visite -1	Visite 1	Visite 2	Visite 3
<b>Klinische Chemie</b>						
1	Bilirubin gesamt	X	X	X	X	X
2	Alk. Phosphatase	X	X	X	X	X
3	Gamma GT	X	X	X	X	X
4	GPT (ALT)	X	X	X	X	X
5	GOT (AST)	X	X	X	X	X
6	GLDH	X	X	X	X	X
7	Gallensäuren	X	X	X	X	X
8	Cholinesterase	X	X	X	X	X
9	Gesamtprotein	X	X	X	X	X
10	Albumin	X	X	X	X	X
11	Alpha-1-globulin	X	X	X	X	X
12	Alpha-2-globulin	X	X	X	X	X
13	Beta-globulin	X	X	X	X	X
14	Gamma-globulin	X	X	X	X	X
15	IgM	X				
16	ANA	X				
17	ASMA	X				
18	LKM-1	X				
19	AMA	X				
20	Natrium	X	X			X
21	Kalium	X	X			X
22	Kreatinin	X	X	X	X	X
23	Harnstoff	X	X			X
24	Harnsäure	X	X			X
25	CK-Gesamt	X	X			X
26	Glucose (nüchtern)	X	X			X
27	Ferritin	X	X			X
28	hCG (bei gebärfähigen Frauen)	X	X	X	X	X

<b>Kleines Blutbild</b>						
29	Leukozyten	X	X	X	X	X
30	Erythrozyten	X	X	X	X	X
31	Hämoglobin	X	X	X	X	X
32	Hämatokrit	X	X	X	X	X
33	MCV	X	X	X	X	X
34	MCH	X	X	X	X	X
35	Thrombozyten	X	X	X	X	X
<b>Differentialblutbild</b>						
36	Neutrophile Granuloz.	X	X			X
37	Lymphozyten	X	X			X
38	Monozyten	X	X			X
39	Eosinophile Granuloz.	X	X			X
40	Basophile Granuloz.	X	X			X
<b>Gerinnung</b>						
41	Thromboplastinzeit	X	X			X
42	INR	X	X			X

**Tabelle 1: Schema der zu messenden Parameter an den jeweiligen Visiten**

Entsprachen alle Untersuchungs- und Laborwerte den Einschlusskriterien und trafen keine Ausschlusskriterien zu, mussten die Studienteilnehmer, die schon mit UDCA behandelt worden waren, dieses für mindestens sechs Wochen bis nach dem ersten stationären Aufenthalt (Visite 1) absetzen (Auswaschphase). Zwei Wochen vor Visite 1 wurde eine zweite Voruntersuchung (Visite -1) durchgeführt, bei der wiederum eine Blutentnahme für die Labordiagnostik erfolgte, und wie bei Visite -2 wurde auch hier der Urin mittels Stix untersucht. Entsprachen bei dieser Visite sowohl die Labor- als auch die Untersuchungsergebnisse wiederum den Richtlinien für den Studieneinschluss und trafen keine Ausschlusskriterien zu, wurde mit dem Patienten ein Termin für die stationäre Aufnahme zum ersten Studientag (Visite 1) vereinbart. Am Vorabend des ersten Studientages wurde der Studienteilnehmer stationär aufgenommen, und es wurde noch einmal überprüft, ob keine Ereignisse aufgetreten waren, die zum Ausschluss aus der Studie hätten führen können. Ebenso wurde versucht, eine eventuelle Müdigkeit und Juckreiz, die Patienten mit PBC häufig

empfinden, mittels eines validierten Fragebogens (**Tabelle 2**) zu objektivieren. Dieser Fragebogen war schon bei Visite -2 mit den Patienten, die unter UDCA-Medikation standen, durchgegangen worden.



**Intensität der Müdigkeit**

*Kreisen Sie bitte die jeweils am ehesten zutreffende Antwort ein:*

*0 = kein Problem*

*1 = geringes Problem*

*2 = mittleres Problem*

*3 = großes Problem*

*4 = enormes Problem*

Auf Grund meiner Müdigkeit:

1.	Fühle ich mich nicht so munter	0 1 2 3 4
2.	Fühle ich mich eher sozial isoliert	0 1 2 3 4
3.	Muss ich mein Arbeitspensum herabsetzen oder meine Verpflichtungen beschränken	0 1 2 3 4
4.	Bin ich launischer	0 1 2 3 4
5.	Habe ich Schwierigkeiten mich länger zu konzentrieren	0 1 2 3 4
6.	Habe ich das Gefühl, dass ich nicht klar denken kann	0 1 2 3 4
7.	Arbeite ich weniger effektiv	0 1 2 3 4
8.	Muss ich mich mehr auf andere verlassen, die mir helfen oder Dinge für mich erledigen	0 1 2 3 4
9.	Habe ich Schwierigkeiten im voraus zu planen	0 1 2 3 4
10.	Bin ich ungeschickter und bewege mich unkoordinierter	0 1 2 3 4
11.	Habe ich das Gefühl, vergesslicher zu sein	0 1 2 3 4
12.	Bin ich leicht reizbar und verärgert	0 1 2 3 4
13.	Muss ich aufpassen, meine körperlichen Aktivitäten nicht zu vernachlässigen	0 1 2 3 4
14.	Bin ich weniger motiviert etwas zu tun, das körperliche Anstrengung erfordert	0 1 2 3 4
15.	Bin ich weniger motiviert, mich an sozialen Aktivitäten zu beteiligen	0 1 2 3 4

16. Ist meine Fähigkeit, mich außer Haus zu bewegen, eingeschränkt	0 1 2 3 4
17. Habe ich Schwierigkeiten, mich lange Zeit körperlich zu betätigen	0 1 2 3 4
18. Finde ich es schwierig, Entscheidungen zu treffen	0 1 2 3 4
19. Habe ich außerhalb meines eigenen Hauses wenige soziale Kontakte	0 1 2 3 4
20. Bedeuten gewöhnlich wiederkehrende Tagesgeschehnisse für mich Stress	0 1 2 3 4
21. Bin ich weniger motiviert, jegliche Art von Dingen zu tun, die geistige Arbeit erfordern	0 1 2 3 4
22. Vermeide ich Situationen, die Stress für mich bedeuten	0 1 2 3 4
23. Fühlen sich meine Muskeln viel schwächer an, als sie sich eigentlich anfühlen sollten	0 1 2 3 4
24. Erhöht sich mein körperliches Unbehagen	0 1 2 3 4
25. Habe ich Schwierigkeiten, mit etwas Neuem umzugehen	0 1 2 3 4
26. Habe ich das Gefühl, den Anforderungen, die Leute mir gegenüber stellen, nicht entsprechen zu können	0 1 2 3 4
27. Habe ich Schwierigkeiten, mich und meine Familie finanziell zu versorgen	0 1 2 3 4
28. Führe ich ein weniger ausgefülltes Sexualleben	0 1 2 3 4
29. Empfinde ich es als schwierig meine Gedanken zu ordnen, wenn ich mich zu Hause oder in der Arbeit mit etwas beschäftige	0 1 2 3 4
30. Habe ich Schwierigkeiten Aufgaben zu beenden, die körperliche Anstrengung erfordern	0 1 2 3 4
31. Mache ich mir Sorgen, was für einen Eindruck ich auf andere Leute mache	0 1 2 3 4
32. Habe ich Schwierigkeiten, mit emotionalen Problemen umzugehen	0 1 2 3 4
33. Habe ich das Gefühl, dass meine Denkvorgänge langsamer ablaufen	0 1 2 3 4
34. Habe ich das Gefühl, dass es mir schwer fällt mich zu konzentrieren	0 1 2 3 4

35. Habe ich Schwierigkeiten, mich voll am Familienleben zu beteiligen	0 1 2 3 4
36. Muss ich meine körperlichen Aktivitäten einschränken	0 1 2 3 4
37. Brauche ich öfter oder längere Ruhezeiten	0 1 2 3 4
38. Bin ich nicht in der Lage, mich so um meine Familie zu kümmern, wie ich es sollte	0 1 2 3 4
39. Kommen mir kleinere Probleme wie große vor	0 1 2 3 4
<b>Total</b> (max. 160)	<b>Score</b>  _ _ _
<b>Intensität des Juckreizes</b>	
Kein Juckreiz	Stärkster vorstellbarer Juckreiz
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10

**Tabelle 2: Fragebogen zur Evaluation der Intensität von Müdigkeit und Juckreiz**

Die Teilnehmer erhielten ein leichtes Abendessen, danach durften sie außer Wasser und Kamillen-, Fenchel- oder Malventee keinerlei Nahrung oder Getränke zu sich nehmen, damit eine Fastenphase von mindestens 10 Stunden vor der Einnahme von Budesonid gewährleistet war.

Dieses Procedere wurde ebenfalls an den Vorabenden zu den Studientagen 22 (Visite 2) und 29 (Visite 3) wiederholt.

Bei Visite 1 begann der Tag mit Messung von Blutdruck, Puls und Temperatur. Danach wurde dem Patienten eine Venenverweilkanüle in eine Armvene gelegt, welche über den gesamten Studientag dort verblieb. Kurz vor Einnahme der Prüfmedikation 1 (Budesonid) um circa 8.00 Uhr wurde daraus erstmals Blut für Routine-Laboruntersuchungen (**Tabelle 1**) und zur Bestimmung des Spiegels von Budesonid und dessen Metaboliten gewonnen. Weitere Blutentnahmen erfolgten 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 7, 8, 10 und 12 Stunden nach Verabreichung von Budesonid (**Tabelle 3**). Nach der letzten Blutabnahme wurde die Verweilkanüle entfernt, und die Patienten konnten die Klinik verlassen, sofern keine Komplikationen aufgetreten waren.

Zeit (nach Gabe der Studienmedikation [h])	0	2	2½	3	3½	4	4½	5	5½	6	7	8	10	12
BE für Routinelabor, Cortisol, Gallensäuren	X													
BE für Budesonid und Metaboliten (1)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
US für Budesonid-Metabolite	X													
US für Cortisol und 6β-Hydroxycortisol	X													

(1) 16α-Hydroxyprednisolon und 6β-Hydroxybudesonid  
 BE = Blutentnahme  
 US = Urinsammlung

**Tabelle 3: Schema der Blutentnahmen und Urinsammlungen**

Bevor die Prüfmedikation 1 verabreicht wurde, mussten die Patienten ihre Blase entleeren; von diesem Urin wurden 10 ml entnommen, der Rest verworfen. Über die Dauer von 12 Stunden wurde nun der Urin gesammelt und am Ende des Studientages die Menge bestimmt. Davon wurden 2 x 10 ml entnommen, um den Spiegel von Cortisol und die Ausscheidung von Budesonid zu bestimmen.

4, 7 und 10 Stunden nach Einnahme von Budesonid erhielten die Teilnehmer eine standardisierte Mahlzeit mit Getränken (**Tabelle 4**). Die Energiezufuhr war auf circa 1500 kcal pro Tag begrenzt.

### **Mittagessen**

Brühe mit Einlage (z.B. Fadennudelsuppe)

Fettarmes Fleisch mit legierter Soße (120 g Fleisch, 80 ml Soße)

Legiertes Gemüse (150 g Gemüse, 30 ml Soße)

Petersilienkartoffeln (160 g )

Salat ( 30 g Blattsalat, klare Marinade mit 5 g Rapsöl)

Fruchtjoghurt (3,5 % Fett, 150 g)(ohne Mandarinen, Orangen, Grapefruit, Schokolade, Kaffee)

### **Zwischenmahlzeit**

Butterkekse (3 St. / 15 g)

Banane (140 g)

Apfelsaft (200 ml, ohne Zuckerzusatz)

### **Abendessen**

Fettarme Wurst (80 g)

Käse 30 % F.i.Tr. (20 g)

Tomaten ( 2 St.)

Brötchen (1 St.)

Mischbrot (50 g)

Diät-Margarine (10 g)

Tee, Zucker (ohne Schwarztee)(Fenchel- Kamillen- und Malventee)

**Tabelle 4: Mahlzeitenplan für die stationären Aufenthalte an den Studientagen 1, 22 und 29**

Während des stationären Aufenthalts war der Verzehr von zusätzlicher Nahrung, sowie von Kaffee, schwarzem Tee und Früchtetee nicht erlaubt.

Der Ablauf der einzelnen stationären Aufenthalte war bis auf die unterschiedliche Verabreichung der verschiedenen Prüfmedikationen (**Tabelle 5**) identisch.

	Visite 1 (Tag 1)	Tage 2 – 21	Visite 2 (Tag 22)	Tage 23 – 28	Visite 3 (Tag 29)
Budesonid 3 mg CYP3A-Substrat	X		X		X
UDCA 15 mg/kg/Tag CYP3A-Induktor		X	X		
Rifampicin 600 mg/Tag CYP3A-Induktor				X	X

**Tabelle 5: Medikation an den einzelnen Studientagen**

Um die Compliance während der Studie zu überwachen, mussten die Probanden zu jeder Medikamentengabe im Prüfzentrum erscheinen (mouth-check). Die Patienten wurden täglich angerufen und mussten außerdem ein Tagebuch führen, in das die Einnahme- und Essenszeiten sowie etwaige Probleme eingetragen wurden. Die Medikamente wurden den Patienten in Dosierhilfen abgezählt mit nach Hause gegeben.

Das Studienprotokoll wurde von zwei medizinischen Ethikkommissionen überprüft. Die Studie wurde in Anlehnung an die ethischen Richtlinien der Deklaration von Helsinki und der Internationalen Konferenz für Richtlinien für „Good Clinical Practice“ durchgeführt.

## 2.3 Studienpopulation

In die Gruppe der Patienten wurden Frauen und Männer mit PBC im Alter von 18 – 80 Jahren eingeschlossen, in die Gruppe der Probanden gesunde Männer zwischen 18 und 65 Jahren.

### 2.3.1 Einschlusskriterien

Für Patienten und Probanden:

- Body-Mass-Index zwischen 18 und 30 kg/m<sup>2</sup>. Mindestkörpergewicht 50 kg, Höchstgewicht 100 kg
- Normales EKG und normale Vitalparameter
- Kaukasier

- Fähigkeit, mit dem Untersucher zu kommunizieren und die Erfordernisse der gesamten Studie zu erfüllen
- Vorliegende datierte und unterzeichnete Einverständniserklärung zur Prüfungsteilnahme

Für Patienten:

- Frauen und Männer
- Alkalische Phosphatase oder Gamma GT  $\geq 1,5$  der Norm
- Innerhalb von fünf Jahren vor Einschluss in die Studie keine histologisch nachgewiesene Leberzirrhose, d. h. nur PBC-Patienten mit einer Histologie der frühen Stadien I, II, II – III oder, falls die Histologie fehlt, keine Hinweise für einen Pfortaderhochdruck (Oesophagusvarizen oder Aszites und/oder eine Pfortaderdilatation  $> 15$  mm)
- Positive AMA (Antimitochondriale Antikörper) im Serum

Für Probanden:

- Nichtraucher, Nikotin im Urin unter 500 ng/ml
- Akzeptable Blutdruckwerte (100 – 145 mmHg systolisch, 60 – 90 mmHg diastolisch) und Pulsfrequenz (50 – 100/min)

### **2.3.2 Ausschlusskriterien**

Für Patienten und Probanden:

- Bakterielle, virale oder Pilzinfektion
- Akute Hepatitis
- Positiver HIV-, HBV- und/oder HCV-Test
- Gastrointestinale Erkrankung und/oder pathologische Befunde, die nicht mit der Lebererkrankung im Zusammenhang stehen
- Chronische Krankheit, welche die Resorption oder den Metabolismus der Studienmedikation beeinträchtigen könnte
- Bekannte Überempfindlichkeit auf Inhaltsstoffe der zu verabreichenden Medikamente

- Vorbestehende Herz- oder Blutkrankheiten oder pathologische Befunde, welche die Sicherheit, die Verträglichkeit, die Resorption und/oder Pharmakokinetik beeinträchtigen
- Exzessiver Alkoholkonsum ( $\geq 35$  g/Tag bei Männern und  $\geq 25$  g/Tag bei Frauen)
- Akute Entzündung der Gallenblase oder der Gallengänge
- Andere Lebererkrankungen außer PBC
- Klinisch relevante pathologische Laborbefunde, die nicht mit der untersuchten Leberkrankheit in Zusammenhang stehen
- Histologisch nachgewiesene Leberzirrhose oder ein Bilirubinwert  $> 3$  mg/dl oder Pfortaderhochdruck
- Pfortaderthrombose
- Starke Raucher (mehr als 10 Zigaretten pro Tag)
- Schwangere, stillende Frauen oder Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen, da Ethinylestradiol ein CYP3A Substrat ist und die Untersuchung stören würde
- Einnahme von UDCA oder Glukokortikoiden („Cortison“) innerhalb der letzten 6 Wochen vor Visite 1
- Zunahme von mindestens zwei der folgenden Laborparameter um das Vierfache des Normalwertes nach vierwöchigem Absetzen von UDCA: AST, ALT, Gamma GT, Bilirubin gesamt, alkalische Phosphatase
- Fragliche Kooperationsfähigkeit
- Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung oder innerhalb der letzten 30 Tage vor Studienbeginn
- Vier Wochen vor Visite 1 Einnahme von Medikamenten, deren Wirkstoffe CYP3A beeinflussen könnten (**Tabelle 6**)
- Vier Wochen vor Visite 1 Einnahme von grapefruihaltiger Nahrung oder Getränken
- Drei Tage vor Visite 1 Einnahme von  $H_2$ -Antagonisten und cholestyraminhaltigen Medikamenten oder Medikamenten, welche die Magen-Darm-Tätigkeit beeinflussen (z. B. Metoclopramid)
- Zwölf Stunden vor Visite 1 Einnahme von Medikamenten zur Neutralisation der Magensäure (Antazida)



<b>CYP3A-Induktoren</b>	<b>CYP3A-Inhibitoren</b>
Barbiturate	Nefazodone
Cimetidin	Troleandomycin
Phenytoin	Ethinylestradiol
Rifampicin	Ciclosporin
Amiodaron	Carbamazepin
Clarithromycin	Corticosteroide
Erythromycin	Rifabutin
Fluoxetin	Johanniskraut
Fluvoxamin	Diltiazem
Ciprofloxacin	Verapamil
Norfloxacin	Pioglitazone
Fluconazol	Troglitazone
Itraconazol	Modafinil
Ketoconazol	

**Tabelle 6: CYP3A-Induktoren und –Inhibitoren**

## **2.4 Vorgehensweise zur Probengewinnung**

### **2.4.1 Blutentnahme zur Bestimmung von Budesonid und dessen Phase-I-Metaboliten**

Nach jeder Blutentnahme in eine 4,9 ml EDTA-Monovette wurde die Venenverweilkanüle mit genau 2 ml physiologischer Kochsalzlösung gespült. Ebenso waren unmittelbar vor der Blutentnahme genau 2 ml Blut aus der liegenden Kanüle in eine Spritze zu entnehmen und zu werfen. Zweck der Spülung war eine Vorbeugung der Thrombosierung in der Kanüle.

Die Anwendung von Heparin zum Offenhalten der Kanüle war nicht erlaubt.

Das Vollblut wurde unmittelbar nach der Blutentnahme, jedoch spätestens innerhalb von 10 Minuten, zentrifugiert (1500 x g, 10 min, 4°C) und das gewonnene Plasma sofort bei –20°C eingefroren. Die Lagerung bis zur Analytik erfolgte bei –20°C.

## 2.4.2 Sammlung von 12-h-Urin zur Bestimmung von 6 $\beta$ -OH-Cortisol und freiem Cortisol

Startzeitpunkt (nach Verwerfen der ersten Urinprobe) und Ende der Sammelperiode (Sammeln der letzten Fraktion) sowie das gesammelte Urinvolumen wurden dokumentiert. Die Volumenbestimmung erfolgte über Abwiegen des Sammelurins unter der Annahme, dass 1 g Urin = 1 ml Urin ist. Waren innerhalb der Sammelperiode mehrere Gefäße mit Urin gefüllt worden, wurde der Gesamturin vor der Aliquotierung in ein einziges großes Gefäß geschüttet, um Rechenfehler durch Teilmengen zu vermeiden, d. h. es wurden keine Urinanteile aus verschiedenen Gefäßen in Abhängigkeit von diversen Teilvolumina entnommen. Die Lagerung bis zur Analytik erfolgte bei  $-20^{\circ}\text{C}$  in einer 10 ml Urinmonovette.

## 2.5 Analysemethoden

Die Konzentrationen von Budesonid, 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid und 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon in Plasma und Urin wurden mittels Flüssiggaschromatographie/Tandemmassenspektrometrie (LC/MS/MS) bestimmt. Nach Extraktion aus der Matrix wurden Budesonid und seine Metabolite mittels eines Drei-Phasen-Massenspektrometers SCIEX API III PLUS (SCIEX, Thornhill, Ontario, Canada) quantifiziert. Die Chromatographiesäule war über eine heizbare Nebularschnittstelle an eine normoatmosphärische Ionisationskammer des Massenspektrometers gekoppelt. Für die Bestimmung von 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon wurde hingegen eine Turboionensprayschnittstelle verwendet. Die untere Nachweisgrenze im Plasma [Urin] war 0,1 ng/mL [0,5 ng/mL] für Budesonid und 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid, sowie 0,4 ng/mL [2 ng/mL] für 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon. Die Variationskoeffizienten der Qualitätskontrollen lagen sowohl zwischen den Visiten als auch innerhalb der Visiten unter 15%. Die Bestimmung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin wurde mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie mit ultravioletter Aufdeckung durchgeführt (65). Die Untergrenze der Quantifizierung waren 20,4 ng/mL. Die Konzentration der Gallensäuren im Serum wurde mittels Kapillargaschromatographie gemessen (13). UDCA-Spiegel wurden als Prozentsatz der Gesamtgallensäuren ausgedrückt.

### 2.5.1 Budesonid- und Metabolitenkinetik

Pharmakokinetisch relevante Parameter wurden mittels modellunabhängiger Methoden bestimmt (WinNonlin v.3.1A, Pharsight Corporation, CA, USA). Spitzenkonzentrationen ( $C_{max}$ ) im Plasma und der Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration ( $C_{max}$ ) wurden direkt von der Konzentrations-Zeit-Kurve genommen. Die Fläche unter der Plasma-Konzentrations-Zeit-Kurve innerhalb von 12 Stunden ( $AUC_{0-12h}$ ) wurde über eine Kombination von linearen und logarithmischen Trapezoidmethoden mit Extrapolation gegen unendlich ( $AUC_{0-\infty}$ ) bestimmt. Die Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) für die Endausscheidung wurde aus der abschließenden Steigung der log-linearen Konzentrations-Zeit-Kurve über least-squares lineare Regression berechnet. Die Clearance ( $CL_{oral}$ ) von oral gegebenem Budesonid wurde aus der Gleichung  $CL_{oral} = \text{Dosis} / AUC_{0-\infty}$  abgeleitet und für Körpergewicht normalisiert. Die AUC-Relationen ( $AUC_{0-12h}$  während Induktion/ $AUC_{0-12h}$  vor Induktion) von Budesonid und seinen Metaboliten wurden jeweils berechnet, um den Umfang der Induktion zu charakterisieren. Die Verhältnisse der Metabolitenbildung ( $AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$ , wobei Met den Metaboliten beschreibt), beispielsweise  $AUC_{0-12h}$  von  $6\beta$ -Hydroxybudesonid/ $AUC_{0-12h}$  von Budesonid wurden als Hinweis für die Aktivität von CYP3A verwendet. Die Bestimmung der Ausscheidung der analysierten Substanzen im Urin basierte auf der kumulativen Menge der jeweiligen Substanz, die über 12 Stunden ( $Ae_{0-12h}$ ) ausgeschieden wurde, und wurde in Prozent der verabreichten Budesoniddosis beschrieben. Die Clearance der Metaboliten ( $CL_{Met}$ ) wurde berechnet, indem  $Ae_{0-12h}$  des jeweiligen Metaboliten durch  $AUC_{0-12h}$  von Budesonid im Plasma dividiert wurde.

### 2.5.2 $6\beta$ -Hydroxycortisol im Urin

Die Induktion von CYP3A-Enzymen durch UDCA und Rifampicin wurde während der Visiten 1, 2 und 3 über die Messung der kumulativen Menge von  $6\beta$ -Hydroxycortisol, welches innerhalb von 12 Stunden über den Urin ausgeschieden wurde, bestimmt. Bei allen Patienten wurde während der Hospitalisierung die Intensität der Müdigkeit und die Intensität des Juckreizes mittels eines Score, der mit einem validierten Fragebogen, bestehend aus 39 Fragen, ermittelt wurde (max. Wert = 156), und über eine visuelle Skala (1 – 10) bestimmt (64).

### 2.5.3 Pharmakokinetische Analyse

Für Budesonid wurden die folgenden pharmakokinetischen Parameter von jedem einzelnen Plasmakonzentration-Zeitprofil mittels modellunabhängiger Methoden (WinNonlin v.3.1A) abgeleitet:

$C_{\max}$ (ng/mL)	maximal beobachtete Plasmakonzentration
$t_{\max}$ (h)	Zeit, um maximale Plasmakonzentration zu erreichen
$AUC_{0-12h}$ (h*ng*mL <sup>-1</sup> )	Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve im Plasma innerhalb von 12 Stunden, die mittels einer Kombination von linearen und logarithmischen Trapezoidmethoden mit Extrapolation gegen Unendlich ( $AUC_{0-\infty}$ ) berechnet wird.
$t_{1/2}$ (h)	Halbwertszeit, die mittels der log-linearen Steigung des Plasmakonzentration-Zeitprofils als $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda_z$ berechnet wird
$\lambda_z$	Konstante der Endphase, die über die log-lineare Regression am Ende des Plasmakonzentration/Zeitprofils ermittelt wird. Um die Eliminierungskonstante $\lambda_z$ zu bestimmen, sind mindestens drei Zeitpunkte notwendig
$CL_{\text{oral}}$ (L*min <sup>-1</sup> *kg <sup>-1</sup> )	Clearance von oral gegebenem Budesonid, die aus der Gleichung $CL_{\text{oral}} = \text{Dosis}/AUC_{0-\infty}$ abgeleitet und für Körpergewicht normalisiert wird

## 2.6 Statistik

Die Studie hatte eine Power von 80%, einen Unterschied von 20% in der Plasma-AUC von Budesonid zwischen Studientag 1 und Studientag 22 mit  $P < 0,05$  in jeder Gruppe zu entdecken. Die Kalkulation der Probengröße basierte auf dem Variationskoeffizienten der AUC von Budesonid einer früheren Studie mit Patienten mit PBC Stadium I – II (42). Der Effekt von UDCA und Rifampicin auf den CYP3A Metabolismus wurde durch das Softwarepaket GraphPad InStat (San Diego, CA, USA) analysiert. Unterschiede zwischen Patienten und Probanden zu Beginn wurden mittels Mann-Whitney-Test auf Signifikanz getestet. Um die Parameter zwischen den einzelnen Studientagen zu vergleichen, wurde die parametrische Varianzanalyse (ANOVA) für alle pharmakokinetischen Parameter außer der Zeit von  $C_{max}$  und  $t_{1/2}$  verwendet. Hierfür kam die nichtparametrische ANOVA zur Anwendung. Pharmakodynamische Parameter wurden ebenfalls mittels nichtparametrischer ANOVA bestimmt. Die Resultate der parametrischen Parameter wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung wiedergegeben und die Ergebnisse der nichtparametrischen Parameter als Median (95% Konfidenzintervall). Daneben wurde die Überprüfung von Ab- oder Anwesenheit jeglicher signifikanten Arzneimittelinteraktion als Äquivalenzproblem behandelt. 90% Konfidenzintervalle der logarithmisch transformierten Parameter  $AUC_{0-12h}$  und  $C_{max}$  von Budesonid vor und während der Induktion stammten von der residualen Varianz multifaktorieller ANOVA. Signifikante Interaktion wurde angenommen, wenn diese 90% Konfidenzintervalle außerhalb der Äquivalenzbreite von 0,8 – 1,25 ( $AUC_{0-12h}$ ) bzw. 0,7 – 1,43 ( $C_{max}$ ) waren.

### 3 Ergebnisse

Alle Patienten mit PBC im Frühstadium (elf Frauen und ein Mann;  $51,8 \pm 10,4$  Jahre;  $62,7 \pm 11,3$  kg, Serumbilirubin  $0,69 \pm 0,32$  mg/dL [Normalwert  $<1,00$ ], alkalische Phosphatase  $247 \pm 251$  U/L [ $<135$ ], ALT  $91 \pm 114$  U/L [ $<35$ ]) und alle gesunden Probanden (acht Männer;  $44,4 \pm 8,6$  Jahre;  $78,3 \pm 5,0$  kg) beendeten die Studie gemäß Protokoll mit exzellenter Compliance. UDCA-Werte im Serum waren an Studientag 1 niedrig ( $1,3 \pm 2,9\%$  bei Patienten;  $4,6 \pm 5,9\%$  bei Probanden) und stiegen merklich bis Studientag 22 an ( $86,9 \pm 4,2\%$  bei Patienten;  $80,8 \pm 4,9\%$  bei Probanden). Nach einer Woche Auswaschphase von UDCA, an Studientag 29, waren die UDCA-Werte noch nicht auf den Ausgangswert zurück gefallen ( $25,9 \pm 17,2\%$  bei Patienten;  $26,1 \pm 5,6\%$  bei Probanden).

### 3.1 Pharmakokinetik von Budesonid

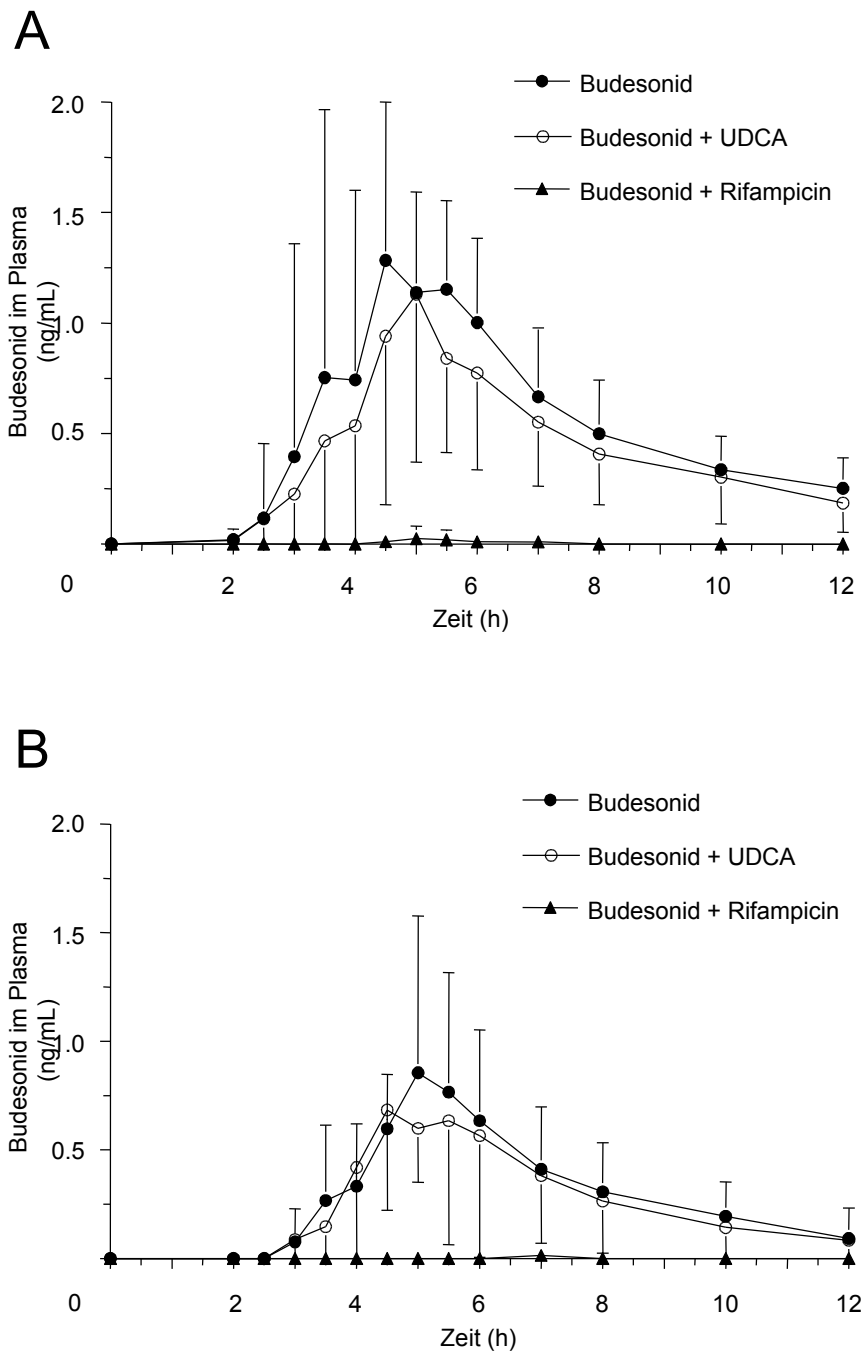
Parameter	Visite 1: vor Behandlung	Visite 2: UDCA	Visite 3: Rifampicin
<i>Patienten mit primär biliärer Zirrhose im Frühstadium (n=12)</i>			
AUC <sub>0-12h</sub> (h*ng*mL <sup>-1</sup> )	5.86 ± 2.85	4.67 ± 2.50	0.04 ± 0.09***
C <sub>max</sub> (ng/mL)	1.76 ± 0.92	1.47 ± 0.85	0.03 ± 0.06***
t <sub>max</sub> (h)	5.0 (4.5 - 5.3)	5.0 (4.3 – 5.6)	5.5 (4.6–6.1, n=3)
CL <sub>oral</sub> (L*min <sup>-1</sup> *kg <sup>-1</sup> )	0.14 ± 0.07	0.18 ± 0.09	19.31 ± 6.88***
t <sub>1/2</sub> (h)	3.3 (3.0 – 4.0)	3.3 (2.5 – 4.4)	----
<i>Probanden (n=8)</i>			
AUC <sub>0-12h</sub> (h*ng*mL <sup>-1</sup> )	3.31 ± 1.90 <sup>#</sup>	2.92 ± 2.18	0.01 ± 0.02***
C <sub>max</sub> (ng/mL)	1.07 ± 0.63 <sup>##</sup>	0.84 ± 0.54	0.01 ± 0.04***
t <sub>max</sub> (h)	5.0 (4.2 – 5.3)	4.5 (4.1 – 5.1)	7.0 ( n=1)
CL <sub>oral</sub> (L*min <sup>-1</sup> *kg <sup>-1</sup> )	0.22 ± 0.11	0.27 ± 0.13	81.41 ± 28.55***
t <sub>1/2</sub> (h)	2.4 (1.9 – 3.4)	2.4 (1.9 – 3.2)	----

**Tabelle 7: Pharmakokinetik von Budesonid unter Basalbedingungen, nach 3-wöchiger Gabe von UDCA und 1-wöchiger Gabe von Rifampicin bei 12 Patienten mit PBC und 8 Probanden. Die Ergebnisse sind dargestellt als Mittelwert ± SD oder Median (95% Konfidenzintervall).**

\*\*\**P*<0.001 vs. Ausgangswert (ANOVA); #*P*<0.05, ##*P*<0.01 vs. Patienten (Mann-Whitney Test).

Die pharmakokinetischen Parameter der CYP3A-Testsubstanz Budesonid sind in **Tabelle 7** unter Basalbedingungen sowie nach Gabe von UDCA und Rifampicin zusammengefasst. Die maximal beobachtete Plasmakonzentration von Budesonid sank sowohl bei Patienten als auch Probanden während der Gabe von UDCA nicht signifikant, während der Verabreichung von Rifampicin jedoch fast in den nicht quantifizierbaren Bereich (z.B. Patienten, Visite 1: 1,76 ± 0,92; Visite 2: 1,47 ± 0,85; Visite 3: 0,03 ± 0,01). Im Gegensatz dazu war die Clearance von oral gegebenem Budesonid während der Medikation mit UDCA im Vergleich zum Kontrollwert nahezu konstant, während der Gabe von Rifampicin stieg sie um ein Vielfaches an, wobei der Effekt bei den Probanden wesentlich ausgeprägter war als bei den Patienten.

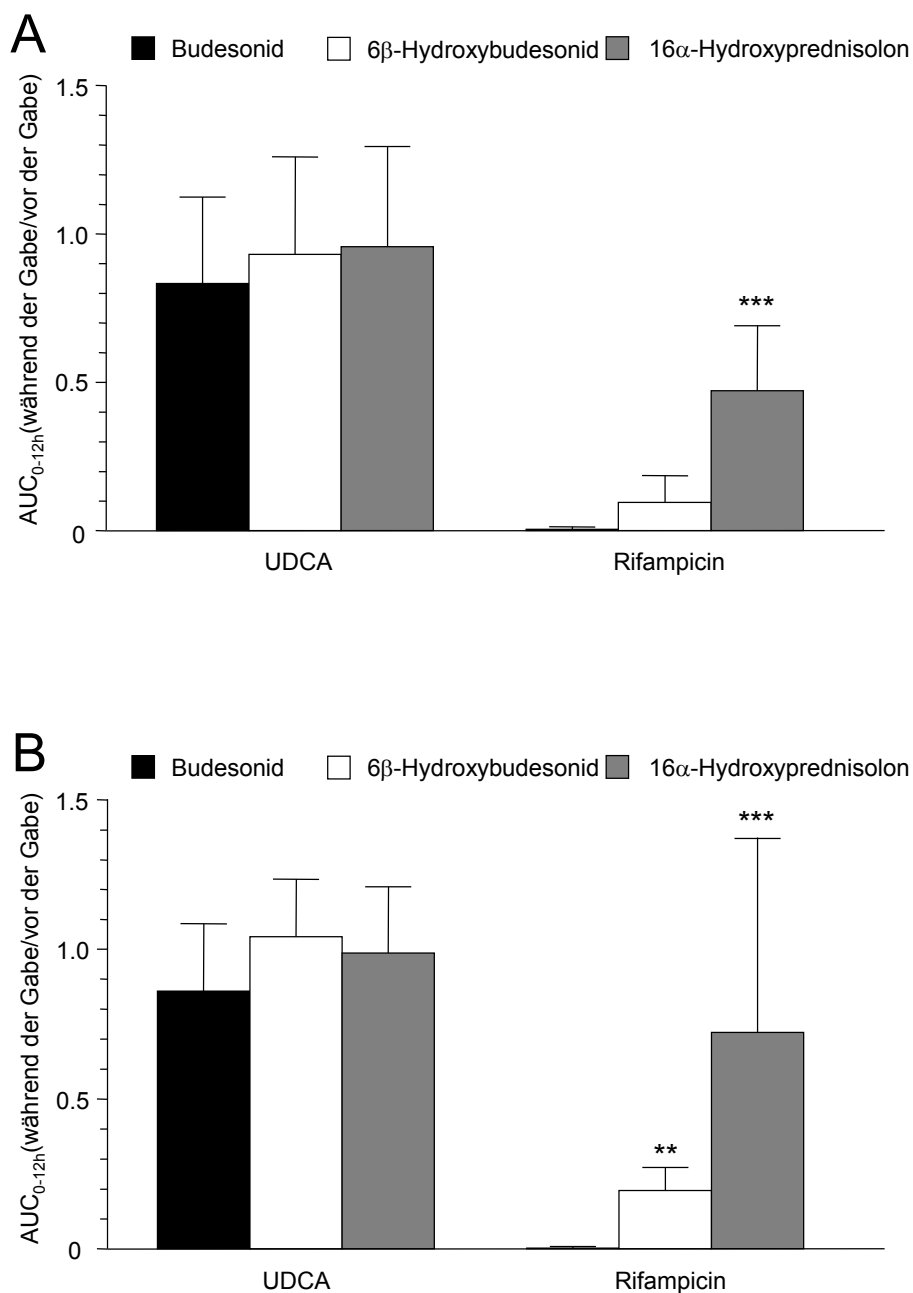
Konzentrations-Zeitkurven von Budesonid im Plasma an den Studientagen 1, 22 und 29 sind in **Abb. 2** gezeigt.



**Abb. 2: Konzentrations-Zeit-Kurve von Budesonid im Plasma nach der Gabe einer Einzeldosis (3 mg) Budesonid vor (schwarzer Kreis) und während der Gabe von UDCA (weißer Kreis) oder Rifampicin (schwarzes Dreieck) bei 12 Patienten (A) und 8 Probanden (B). Die Daten sind Mittelwerte  $\pm$  SD.**



Der CYP3A-Metabolismus war bei Patienten mit PBC im Frühstadium im Vergleich zu den gesunden Probanden beeinträchtigt. Patienten hatten 63% der durchschnittlichen  $CL_{\text{oral}}$  von Budesonid und 53% ( $6\beta$ -Hydroxybudesonid) bzw. 47% ( $16\alpha$ -Hydroxyprednisolon) der  $CL_{\text{Met}}$  von Probanden. Die Gabe von UDCA beeinflusste den Metabolismus von Budesonid via CYP3A nicht signifikant. Die AUC Relationen ( $AUC_{0-12h}$  an Tag 22/  $AUC_{0-12h}$  an Tag 1) beider Phase I-Metaboliten von Budesonid (z.B. Patienten,  $6\beta$ -Hydroxybudesonid:  $0,87 \pm 0,33$ ;  $16\alpha$ -Hydroxyprednisolon:  $0,87 \pm 0,32$ ) waren nicht signifikant höher als das AUC-Verhältnis von Budesonid allein ( $0,74 \pm 0,25$ , **Abb. 3**).



**Abb. 3: Effekt von UDCA und Rifampicin auf die Plasmaspiegel von Budesonid (schwarz), 6β-Hydroxybudesonid (weiß) und 16α-Hydroxyprednisolon (grau), bestimmt als Verhältnis der Flächen unter den Plasma-Konzentrations-Kurven (AUC<sub>0-12h</sub>) während der Gabe bzw. vor der Gabe von UDCA/Rifampicin. Die Daten sind Mittelwerte ± SD bei 12 Patienten (A) und acht Probanden (B). \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  vs. Budesonid (ANOVA).**

Die Metabolitenbildung wurde nicht signifikant von UDCA erhöht.  $AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$  sowohl von 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid als auch von 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon erhöhte sich nicht wesentlich während der Gabe von UDCA (z.B. Patienten, 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid,  $AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$ :  $1,5 \pm 0,4$  bei Visite 1;  $1,8 \pm 0,7$  bei Visite 2, **Tabelle 8**). Im Gegensatz dazu wurde  $AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$  beider Metaboliten während der Gabe von Rifampicin signifikant erhöht (z.B. Patienten 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon,  $AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$   $527,0 \pm 248,7$  bei Visite 3). Entsprechend dazu änderte sich die Halbwertszeit von Budesonid durch die Einnahme der Gallensäure nicht.

<i>Metabolitenkinetik</i>	<i>Visite 1: vor der Behandlung</i>	<i>Visite 2: UDCA</i>	<i>Visite 3: Rifampicin</i>
<i>Patienten mit primär biliärer Zirrhose im Frühstadium (n=12)</i>			
<i>a) 6<math>\beta</math>-Hydroxybudesonid</i>			
$AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$	$1.5 \pm 0.4$	$1.8 \pm 0.7$	$23.8 \pm 21.2^{***}$
$CL_{Met}$ (L/h)	$6.8 \pm 3.9$	$7.6 \pm 4.6$	$101.4 \pm 93.4^{***}$
<i>b) 16<math>\alpha</math>-Hydroxyprednisolon</i>			
$AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$	$8.6 \pm 3.9$	$10.7 \pm 7.1$	$527.0 \pm 248.7^{***}$
$CL_{Met}$ (L/h)	$46.5 \pm 31.3$	$48.3 \pm 34.2$	$3097.5 \pm 2542.0^{***}$
<i>Probanden (n=8)</i>			
<i>a) 6<math>\beta</math>-Hydroxybudesonid</i>			
$AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$	$1.9 \pm 0.9$	$2.4 \pm 0.9$	$142.6 \pm 36.5^{***}$
$CL_{Met}$ (L/h)	$12.8 \pm 6.7^{\#}$	$14.9 \pm 5.6$	$949.3 \pm 352.1^{***}$
<i>b) 16<math>\alpha</math>-Hydroxyprednisolon</i>			
$AUC_{Met}/AUC_{Budesonid}$	$12.7 \pm 7.2$	$14.5 \pm 7.1$	$3281.7 \pm 919.1^{***}$
$CL_{Met}$ (L/h)	$98.1 \pm 71.1^{\#}$	$117.6 \pm 76.4$	$25926 \pm 9972.1^{***}$

**Tabelle 8: Effekt von UDCA (15 mg/kg/Tag) und Rifampicin (600 mg/Tag) auf die Pharmakokinetik der Budesonidmetaboliten 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid und 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon bei Patienten mit PBC im Frühstadium und Probanden. An jedem Studientag wurden 3 mg Budesonid/Test gegeben. Die Ergebnisse sind dargestellt als Mittelwerte  $\pm$  SD;  $^{***}P < 0.001$  vs. Ausgangswert (ANOVA);  $^{\#}P < 0.05$  vs. Patienten (Mann-Whitney Test).**

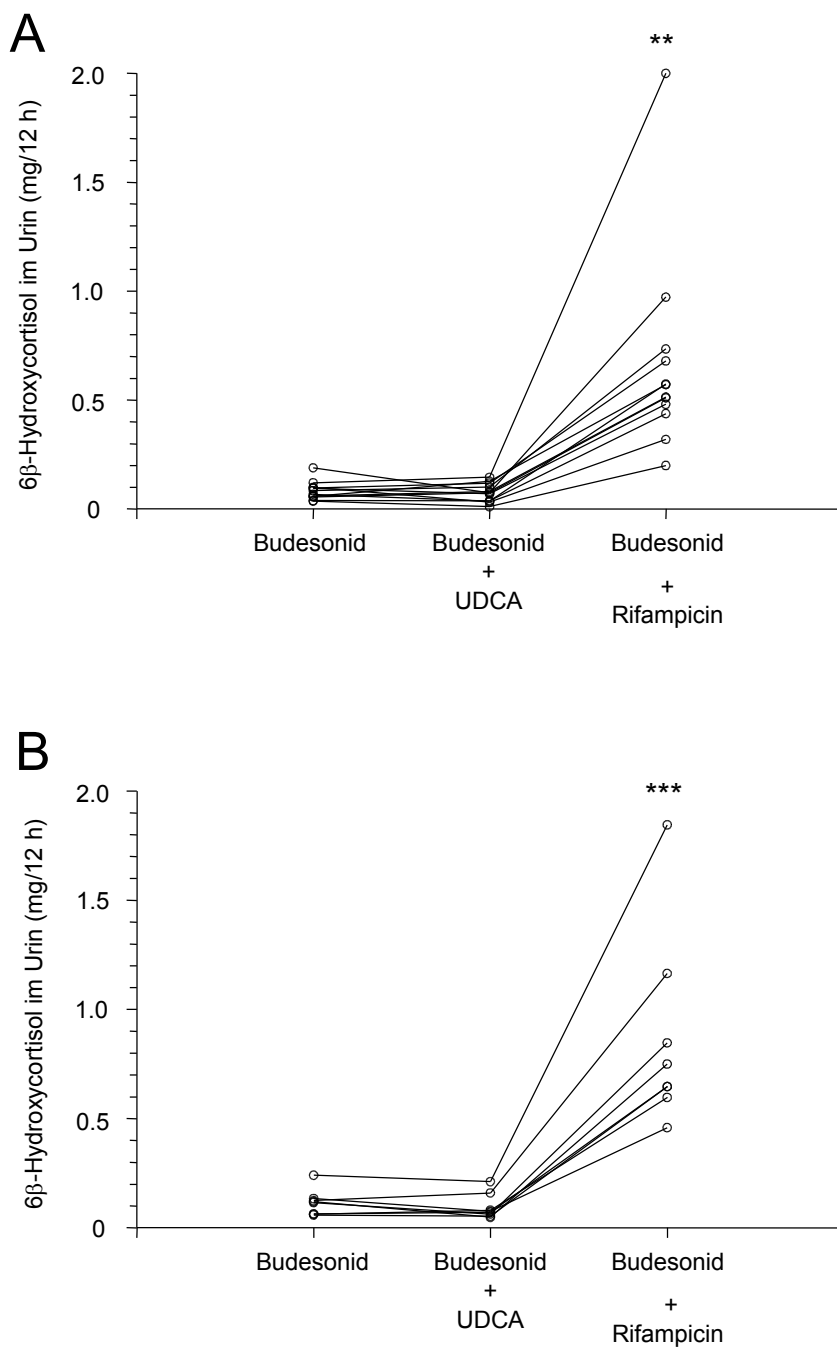
90% Konfidenzintervalle der Relationen von  $AUC_{0-12h}$  und  $C_{max}$  von Budesonid während UDCA-Gabe lagen im Vergleich zum Kontrollwert nicht vollständig innerhalb des Äquivalenzbereichs (Patienten:  $AUC_{0-12h}$  0,53 – 110,4,  $C_{max}$  0,63 – 0,96; Probanden:  $AUC_{0-12h}$  0,61 – 0,95,  $C_{max}$  0,68 – 101,0).

Im Gegensatz dazu induzierte Rifampicin dramatisch den Metabolismus von Budesonid, was sich in nicht mehr nachweisbaren Plasmaspiegeln des Ausgangsmedikamentes zeigte. Bei neun von zwölf Patienten und sieben von acht Probanden lag am Studientag 29 die Spitzenplasmakonzentration von Budesonid unter der Nachweisgrenze.  $CL_{oral}$  von Budesonid wurde durch Rifampicin deutlich stimuliert ( $P < 0,001$ ).

Die orale Clearance erhöhte sich mehr als hundertfach bei Patienten und mehr als dreihundertfach bei Probanden. Die mittleren AUC-Verhältnisse ( $AUC_{0-12h}$  an Studientag 29/  $AUC_{0-12h}$  an Studientag 1) der zwei Metaboliten (Bsp.: PBC Patienten, 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid:  $0,10 \pm 0,09$ , 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon:  $0,47 \pm 0,22$ ) waren mehr als 25fach bzw. hundertfach höher als jenes von Budesonid ( $0,004 \pm 0,01$ , **Abb. 3**). Die Relationen der Metabolitenbildung wurde durch Rifampicin wesentlich erhöht ( $P < 0,001$ , **Tabelle 8**). 90% Konfidenzintervalle der Verhältnisse sowohl von  $AUC_{0-12h}$  als auch von  $C_{max}$  waren während der Rifampicingabe im Vergleich zum Ausgangswert weit außerhalb des Äquivalenzbereichs (Bsp.: Patienten 0,003 – 0,06; 0,003 – 0,19). Zum Ausgangszeitpunkt war das Auftreten von Budesonid im Urin (Summe von Budesonid und beiden Metaboliten) im Mittelwert bei Patienten 10% der verabreichten Dosis und 11% bei den Probanden. Der Trend war, dass Rifampicin, aber nicht UDCA, das Auftreten der Metaboliten im Urin erniedrigt. Nichtverstoffwechseltes Budesonid wurde im Urin keines Studienteilnehmers entdeckt.

### 3.2 Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin

Die Behandlung mit UDCA beeinflusste die Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin in keiner Gruppe, während die Behandlung mit Rifampicin in einem steilen Anstieg dieses Markers der CYP3A-Induktion resultierte ( $P < 0,001$  bei Patienten,  $P < 0,01$  bei Probanden; **Abb. 4**).



**Abb. 4: Effekt von UDCA und Rifampicin auf die Ausscheidung von 6β-Hydroxycortisol im Urin. Die Ergebnisse sind für jeden Patienten mit PBC im Frühstadium (A) und jeden Probanden (B) an den drei Studientagen pharmakokinetischer Profilerstellung von Budesonid dargestellt. \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  vs. Budesonid (ANOVA).**

### 3.3 Pharmakodynamische Effekte von UDCA und Rifampicin

Bei den Patienten verringerte sich die Intensität der Müdigkeit (Tag 1: 16 [10-51]; Tag 22: 17 [8-54]; Tag 29: 16 [8-57]; Mittelwert mit 95% Konfidenzintervall) und des Juckreizes (Tag 1: 1 [1-4]; Tag 22: 1 [1-3]; Tag 29: 1 [1-3]) während der drei Wochen UDCA und der einen Woche Rifampicin nicht (**Tabelle 9**).

	Visite 1	Visite 2	Visite 3
Müdigkeit	16 [10 – 51]	17 [8 – 54]	16 [8 – 57]
Juckreiz	1 [1 – 4]	1 [1 - 3]	1 [1 - 3]

**Tabelle 9: Effekt von UDCA (Visite 2) und Rifampicin (Visite 3) auf die Intensitäten der Müdigkeit (Mittelwert mit 95% Konfidenzintervall) und des Juckreizes.**

## 4 Diskussion

Ursodeoxycholsäure stellt derzeit die einzige effektive medikamentöse Therapie chronischer cholestatischer Leberkrankheiten wie der primär biliären Zirrhose dar (7). Bisherige experimentelle Untersuchungen wiesen, wie in der Einleitung detailliert dargestellt, auf zwei hauptsächliche Wirkungsmechanismen von UDCA hin: (a) einen membranprotektiven Effekt auf der Ebene der Gallengangsepithelien (26, 31, 32, 33, 35, 75) gegen Schädigung durch hydrophobe Gallensäuren; (b) die Stimulation der gestörten hepatobiliären Sekretion von hydrophoben Gallensäuren und anderen potentiellen Hepatotoxinen (34, 39, 42, 44, 57, 72). Kürzlich war von mehreren Arbeitsgruppen auf dem Boden experimenteller Untersuchungen *in vitro* die Induktion der Biotransformation Phase I über Cytochrom P450 3A als ein weiterer potentieller Wirkmechanismus von UDCA postuliert worden (9, 58, 59, 69). Die klinische Relevanz dieser Beobachtungen *in vitro* blieb jedoch unklar, da der Effekt von UDCA auf CYP3A nie in einer klinischen Studie am Menschen untersucht wurde. Die vorliegende Arbeit zeigt erstmals in einer offenen, nicht randomisierten, pharmakokinetischen Studie an Patienten mit cholestatischer Leberkrankheit und Gesunden, dass UDCA *in vivo* kein klinisch relevanter Induktor von CYP3A-Enzymen ist.

Bei Patienten mit PBC im Frühstadium und Probanden steigerte UDCA (15 mg/kg/Tag) die Biotransformation von oral gegebenem Budesonid über CYP3A nicht. Die Halbwertszeit von Budesonid im Plasma, die Geschwindigkeit und Ausmaß der Metabolisierung widerspiegelt, wurde nicht von UDCA beeinflusst. Die umfangreiche pharmakokinetische Analytik in Plasma und Urin zeigt, dass UDCA die Bildung der zwei CYP3A-abhängigen Metaboliten 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid und 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon nicht moduliert. In gleicher Weise wurde auch kein Effekt von UDCA auf die Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin beobachtet, einem validierten endogenen Marker für die CYP3A-Induktion (8). Der Enzyminduktor Rifampicin zeigte eine neue, klinisch bedeutsame Arzneimittelinteraktion mit Budesonid zu UDCA. Plasmaspiegel von Budesonid waren nach der Behandlung mit Rifampicin nicht mehr nachweisbar. Die Bildung sowohl von 6 $\beta$ -Hydroxybudesonid als auch von 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon wurde von Rifampicin gesteigert.

Diese Ergebnisse unterstützen nicht die in der Einleitung erwähnten Daten, die darauf hindeuteten, dass UDCA ein relevanter CYP3A-Induktor sein könnte (9, 58, 59, 69). Ein kürzlich veröffentlichter Bericht über erhöhte Plasmaspiegel von 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol bei vier Patienten mit Gallensteinen (9) muss mit Vorsicht interpretiert werden: (i) es wurde nicht erwiesen, dass 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol im Plasma im Gegensatz zu 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol im Urin ein Marker für die CYP3A-Induktion ist; (ii) 4 $\beta$ -Hydroxycholesterolspiegel im Plasma waren circa achtmal höher bei Patienten in Behandlung mit Antiepileptika als solche in Behandlung mit UDCA (9); und (iii) eine adäquate statistische Analyse erweist sich bei nur vier Patienten als schwierig.

Patienten mit PBC im Frühstadium zeigten eine beeinträchtigte Biotransformation über CYP3A-Enzyme im Vergleich zu Vergleichspersonen ohne Lebererkrankung. Dies könnte am ehesten durch eine reduzierte CYP3A-Aktivität bei chronischer Lebererkrankung erklärt werden (19). In der vorliegenden Untersuchung war die Mehrzahl der Patienten weiblich, während die Probanden männlich waren. Dies erklärt allerdings nicht die verminderte CYP3A-Aktivität bei den Patienten. Obwohl geschlechtsspezifische Unterschiede der CYP3A-Expression *in vitro* beschrieben wurden – in Lebern von Frauen wurde eine zweifach höhere CYP3A-Expression gemessen als bei Männern – konnten *in vivo* keine geschlechtsabhängigen Effekte bei der Clearance von Midazolam, welches ein klassisches Substrat für CYP3A in Darm und Leber ist, beschrieben werden (19,77).

Der Ausgangsbefund ist für die ärztliche Behandlung der Patienten mit PBC im Frühstadium wichtig. Es wäre ratsam, CYP3A-Substrate mit einem engen therapeutischen Index wie etwa Antiarrhythmika oder Benzodiazepine in einschleichender Dosierung zu verabreichen, um toxische Nebenwirkungen bei diesen Patienten zu vermeiden. Leider stehen keine detaillierten pharmakokinetischen Untersuchungen mit diesen Arzneimitteln bei frühen cholestatischen Lebererkrankungen zur Verfügung. Eine kürzlich publizierte Studie unserer Arbeitsgruppe warnte vor Budesonid bei PBC im Spätstadium, da unvorhergesehene Nebenwirkungen aufgetreten waren (30).

Rifampicin wird zur Therapie des Juckreizes bei PBC verwendet (3, 52), wenn Anionenaustauscherharze wie Cholestyramin und Antihistaminika nicht ausreichend



effektiv sind. Rifampicin ist ein potenter Induktor von CYP3A in Darm und Leber über Aktivierung von PXR/SXR (pregnane X receptor/steroid and xenobiotic receptor) (20). Die Aktivierung dieses nukleären Rezeptors erklärt die gleichgeschaltete Induktion des Transporters P-Glykoprotein im Darm (18). Daneben induziert Rifampicin CYP2C, Enzyme der Biotransformation Phase II und die Konjugatexportpumpe Mrp2 (multidrug resistance protein 2). Rifampicin hemmt *in vitro* die Gallensäurenexportpumpe Bsep (10). Die ausgeprägtesten Effekte von Rifampicin in Studien zur Interaktion von Arzneimitteln wurden bei oral verabreichten Medikamenten gezeigt, da die Substanzen Darm und Leber passieren müssen, bevor sie die systemische Zirkulation erreichen (56).

Die Biotransformation in der Darmmukosa hat einen wesentlichen Anteil am First-pass Metabolismus vieler CYP3A Metaboliten (15). Es ist bemerkenswert, dass der Umfang an CYP3A4 Proteinen ungefähr dreimal höher in Enterozytenhomogenaten als in gepaarten Leberhomogenaten ist (76). Es bleibt unklar, in welchem Ausmaß intestinales und hepatisches CYP3A für die unter Rifampicin beobachteten Effekte verantwortlich sind.

Budesonid ist ein Substrat sowohl von CYP3A als auch von P-Glykoprotein, von dem es nach Aufnahme in die Darmmukosazelle zurück in das Darmlumen transportiert wird (13, 41). Der dramatische Effekt von Rifampicin auf Budesonid mit einer Reduktion der AUC um 99 – 100% könnte durch die Induktion sowohl von Medikamententransport als auch Biotransformation erklärt werden. Bei PBC im Stadium II – III war die Expression von P-Glykoprotein im Vergleich zu Probanden nicht vermindert (45).

In der vorliegenden Studie konnten die relativen Effekte von Rifampicin auf Transportproteinexpression und CYP3A-abhängige Biotransformation nicht differenziert werden, da die Plasmaspiegel von Budesonid nach Gabe von Rifampicin zu niedrig bzw. nicht messbar waren. Es wurde berichtet, dass der Effekt von Rifampicin auf andere Kortikosteroide wie Prednisolon mit einer AUC von 60% viel niedriger ist (46). Wurde Midazolam, ein Substrat von CYP3A, aber nicht von P-Glykoprotein, nach einer Kurzzeitbehandlung mit Rifampicin (600 mg/Tag) oral verabreicht, ging die AUC von Midazolam um 98% zurück (4). Die AUC von oral gegebenen Digoxin, einem Substrat von P-Glykoprotein, aber nicht von CYP3A, verminderte sich nach zweiwöchiger Rifampicingabe um 42% (25). Somit könnte der

Effekt von Rifampicin auf die Metabolisierung von Budesonid auf der Induktion von CYP3A und P-Glykoprotein beruhen.

Zusammenfassend schließt die vorliegende Arbeit eine auf dem Boden experimenteller Untersuchungen propagierte, relevante Modulation des CYP3A-Metabolismus durch die therapeutisch wirksame Gallensäure UDCA bei Patienten mit cholestatischer Leberkrankheit und gesunden Probanden aus.

## 5 Zusammenfassung

Cytochrom P450 3A ist für die Metabolisierung von über 50 % aller verfügbaren Medikamente und vieler endogener Substrate von Bedeutung. Die physiologische Gallensäure Ursodeoxycholsäure, die eine effektive Behandlung chronischer cholestatischer Leberkrankheiten darstellt, zeigte *in vitro* einen CYP3A-induzierenden Effekt.

Die vorliegende Arbeit sollte klären, ob UDCA *in vivo* ein relevanter Induktor von CYP3A ist. Das Induktionspotential von UDCA wurde daher mit dem des bekannten Induktors Rifampicin bei Patienten mit primär biliärer Zirrhose (PBC) und Probanden verglichen. Die Metabolisierung des exogenen CYP3A-Substrats Budesonid und des endogenen CYP3A-Substrats Cortisol wurde untersucht.

Zwölf Patienten mit PBC im Frühstadium und acht gesunde männliche Probanden wurden mit UDCA (15 mg/kg/Tag) für drei Wochen und anschließend mit Rifampicin (600 mg/Tag) für eine Woche behandelt. Das pharmakokinetische Profil von oral verabreichtem Budesonid (3 mg) wurde durch die Bestimmung von Budesonid und seiner Phase-I-Metaboliten (6 $\beta$ -Hydroxybudesonid, 16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon) in Plasma und Urin zum Ausgangszeitpunkt und dem Ende jeder Behandlung erstellt. Außerdem wurde 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin, ein validierter endogener Marker der Induktion von Cytochrom P450 3A, bestimmt.

Der CYP3A-Metabolismus war bei Patienten mit PBC im Frühstadium im Vergleich zu den gesunden Probanden beeinträchtigt. Patienten hatten 63% der durchschnittlichen Clearance von Budesonid ( $CL_{\text{oral}}$ ) und 68% (6 $\beta$ -Hydroxybudesonid) bzw. 79% (16 $\alpha$ -Hydroxyprednisolon) der Clearance der Metabolite ( $CL_{\text{Met}}$ ) von Probanden. UDCA beeinflusste die Biotransformation von Budesonid und die Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin nicht wesentlich. Die Relationen der Flächen unter der Plasma-Konzentrations-Zeit-Kurve ( $AUC_{0-12h}$  während UDCA/  $AUC_{0-12h}$  vor UDCA) beider Metabolite waren nicht höher als jene von Budesonid selbst. Im Gegensatz dazu induzierte die Verabreichung von Rifampicin deutlich den Metabolismus von Budesonid und Cortisol, was in nicht quantifizierbaren Plasmaspiegeln der Ausgangssubstanz und der hohen Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxycortisol im Urin resultierte.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass UDCA kein klinisch relevanter Induktor der CYP3A-abhängigen Biotransformation ist.

## 6 Literaturverzeichnis

- 1 Angulo P, Jorgensen RA, Keach JC, Dickson ER, Smith C, Lindor KD. Oral budesonide on the treatment of patients with primary biliary cirrhosis with a suboptimal response to ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2000;31: 318 – 323.
- 2 Attili AF, Angelico M, Cantafora A, Alvaro D, Capocaccia L. Bile acid-induced liver toxicity: relation to the hydrophobic-hydrophilic balance of bile acids. *Med Hypotheses* 1986;19: 57 – 69.
- 3 Bachs L, Pares A, Elena M, Piera C, Rodes J. Effects of long-term rifampicin administration in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1992;102: 2077 – 2080.
- 4 Backman JT, Kivisto KT, Olkkola KT, Neuvonen PJ. The area under the plasma concentration-time curve for oral midazolam is 400-fold larger during treatment with itraconazole than with rifampicin. *Eur J Clin Pharmacol* 1998;54: 53 – 58.
- 5 Bar-Meir S, Chowers Y, Lavy A, Abramovitch D, Sternberg A, Leichtmann G, Reshef R, et al. Budesonide versus prednisone in the treatment of active Crohn's disease. The Israeli Budesonide Study Group. *Gastroenterology* 1998;115: 835 – 840.
- 6 Baumgartner U, Schölmerich J, Sellinger M, Reinhardt M, Ruf G, Farthmann EH. Different protective effects of tauroursodeoxycholate, ursodeoxycholate, and 23-methyl-ursodeoxycholate against tauroolithocholate induced cholestasis. *Dig Dis Sci* 1996;41: 250 – 255.
- 7 Beuers U, Boyer JL, Paumgartner G, Ursodeoxycholic acid in cholestasis: potential mechanisms of action and therapeutic applications. *Hepatology* 1998;28: 1449 – 1453.

- 8 Beuers U, Spengler U, Kruis W, Aydemir Ü, Wiebecke B, Heldwein W, Weinzierl M, Pape GR, Sauerbruch T, Paumgartner G. Ursodeoxycholic acid for treatment of primary sclerosing cholangitis: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1992;16: 707 – 714.
- 9 Bodin K, Bretillon L, Aden Y, Bertilsson L, Broome U, Einarsson C, Diczfalusy. Antiepileptic drugs increase plasma levels of 4beta-hydroxycholesterol in humans: evidence for involvement of cytochrome p450 3A4. *J Biol Chem* 2001;276: 38685 – 38689.
- 10 Byrne JA, Strautnieks SS, Mieli-Vergani G, Higgins CF, Linton KJ, Thompson RJ. The human bile salt export pump: characterization of substrate specificity and identification of inhibitors. *Gastroenterology* 2002;123: 1649 – 1658.
- 11 Colombo C, Castellani MR, Balistreri WF, Seregni E, Assaisso ML, Giunta A. Scintigraphic documentation of an improvement in hepatobiliary excretory function after treatment with ursodeoxycholic acid in patients with cystic fibrosis and associated liver disease. *Hepatology* 1992;15: 677 – 684.
- 12 Combes B, Carithers RL, Jr., Maddrey WC, Lin D, Mc Donald MF, Wheeler DE, Eigenbrodt EH, Munoz SJ, Rubin R, Garcia-Tsao G, Bonner GF, West AB, Boyer JL, Luketic VA, Shiffman ML, Mills AS, Peters MG, White HM, Zetterman RK, Rossi SS, Hofmann AF, Markin RS. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1995;22: 759 – 766.
- 13 Dilger K, Schwab M, Fromm MF. Identification of budesonide and prednisone as substrates of the intestinal drug efflux pump P-glycoprotein. *Inflamm Bowel Dis* (Publikation in Vorbereitung).

- 14 Doherty MM, Charman WN. The mucosa of the small intestine: how clinically relevant as an organ of drug metabolism? *Clin Pharmacokinet* 2002;41: 235 – 253.
- 15 Fromm MF, Busse D, Kroemer HK, Eichelbaum M. Differential induction of prehepatic and hepatic metabolism of verapamil by rifampicin. *Hepatology* 1996;24: 796 – 801.
- 16 Galle PR, Theilmann L, Raedsch R, Otto G, Stiehl A. Ursodeoxycholate reduces hepatotoxicity of bile salts in primary human hepatocytes. *Hepatology* 1990;12: 486 – 491.
- 17 Galteau MM, Shamsa F. Urinary 6 $\beta$ -hydroxycortisol: a validated test for evaluating drug induction or drug inhibition mediated through CYP3A in humans and animals. *Eur J Clin Pharmacol* 2003;59: 713 – 739.
- 18 Geick A, Eichelbaum M, Burk O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampicin. *J Biol Chem* 2001;276: 14581 – 14587.
- 19 George J, Murray M, Byth K, Farrell GC. Differential alterations of cytochrome P450 proteins in livers from patients with severe chronic liver disease. *Hepatology* 1995;21: 120 – 128.
- 20 Goodwin B, Redinbo MR, Kliewer SA. Regulation of CYP3A gene transcription by the pregnane X receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42: 1 – 23.
- 21 Gorski JC, Vannaprasaht S, Hamman MA, Ambrosius WT, Bruce MA, Haehner-Daniels B, Hall SD. The effect of age, sex, and rifampicin administration on intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity. *Clin Pharmacol Ther* 2003;74: 275 – 287.

- 22 Greenberg GR, Feagan BG, Martin F, Sutherland LR, Thomson AB, Williams CN, Nilsson LG, et al. Oral budesonide for active Crohn's disease. Canadian Inflammatory Bowel Disease Study Group. *N Engl J Med* 1994;331: 836 – 841.
- 23 Greim H, Trülzsch D, Czygan P, Rudick J, Hutterer F, Schaffner F, Popper H. Mechanisms of cholestasis. 6. Bile acids in human livers with or without biliary obstruction. *Gastroenterology* 1972;63: 846 – 850.
- 24 Greim H, Trülzsch D, Roboz J, Dressler K, Czygan P, Hutterer F, Schaffner F, Popper H. Mechanism of cholestasis. 5. Bile acids in normal rat livers and in those after bile duct ligation. *Gastroenterology* 1972;63: 837 – 845.
- 25 Greiner B, Eichelbaum M, Fritz P, Kreichgauer HP, von Richter O, Zundler J, Kroemer HK. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampicin. *J Clin Invest* 1999;104: 147 – 153.
- 26 Güldütuna S, Zimmer G, Imhof M, Bhatti S, You T, Leuschner U. Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology* 1993;104: 1736 – 1744.
- 27 Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39: 1 – 17.
- 28 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2003;31: 1005 – 1013.
- 29 Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Walker V, Bailey RJ, Blendis LM, Ghent CN, Michieletti P, Minuk GY, Pappas SC, Scully LJ, Steinbrecher UP, Sutherland LR, Williams CN, Witt-Sullivan H, Worobetz LJ, Milner RA, Wanless IR. The Canadian multicenter double-blind randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1994;19: 1149 – 1156.

- 30 Hempfling W, Grunhage F, Dilger K, Reichel C, Beuers U, Sauerbruch T. Pharmacokinetics and pharmacodynamic action of budesonide in early- and late-stage primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2003;38: 196 – 202.
- 31 Heuman DM. Disruptive and protective interactions of bile salts, cholesterol: lecithin vesicles, and canalicular membranes. In: Hofmann AF, Paumgartner G, Stiehl A (Hrsg.). *Bile acids in gastroenterology basic and clinical advances*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1995: 283 – 289.
- 32 Heuman DM, Bajaj R. Ursodeoxycholate conjugates protect against disruption of cholesterol-rich membranes by bile salts. *Gastroenterology* 1994;106: 1333 – 1341.
- 33 Heuman DM, Bajaj RS, Lin Q. Adsorption of mixtures of bile salt taurine conjugates to lecithin-cholesterol membranes: implications for bile salt toxicity and cytoprotection. *J Lipid Res* 1996;37: 562 – 573.
- 34 Heumann DM, Mills AS, Mc Call J, Hylemon PB, Pandak WM, Vlahcevic ZR. Conjugates of ursodeoxycholate protect against cholestasis and hepatocellular necrosis caused by more hydrophobic bile salts. *In vivo* studies in the rat. *Gastroenterology* 1991;100: 203 – 211.
- 35 Heumann DM, Pandak WM, Hylemon PB, Vlahcevic ZR. Conjugates of ursodeoxycholate protect against cytotoxicity of more hydrophobic bile salts: *in vitro* studies in rat hepatocytes and human erythrocytes. *Hepatology* 1991;14: 920 – 926.
- 36 Hofmann AF. Bile acid hepatotoxicity and the rationale of UDCA therapy in chronic cholestatic liver disease: some hypotheses. In: Paumgartner G, Stiehl A, Barbara L, Roda E (Hrsg.). *Strategies for the treatment of hepatobiliary diseases*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London 1990: 13 – 33.



- 37 Hofmann AF. Bile acids. In: Arias IM, Jakoby WB, Popper H, Schachter D, Shafritz DA (Hrsg.). *The liver: biology and pathobiology*. 2. Auflage. Raven Press, New York, 1988: 553 – 572.
- 38 Holsti P. Cirrhosis of the liver induced in rabbits by gastric instillation of 3-monohydroxycholanic acid. *Nature* 1960;186: 250.
- 39 Javitt NB. Cholestasis in rats induced by taurolithocholate. *Nature* 1966;210: 1262 – 1263.
- 40 Jazrawi RP, De Caestecker JS, Goggin PM, Britten AJ, Joseph AEA, Maxwell JD, Northfield TC. Kinetics of hepatic bile acid handling in cholestatic liver disease: effect of ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 1994;106: 134 – 142.
- 41 Jonsson G, Astrom A, Andersson P. Budesonide is metabolized by cytochrome P450 3A (CYP3A) enzymes in human liver. *Drug Metab Dispos* 1995;23: 137 – 142.
- 42 Kitani K. Hepatoprotective effect of ursodeoxycholate in experimental animals. In: Paumgartner G, Stiehl A, Barbara L, Roda E (Hrsg.). *Strategies for the treatment of hepatobiliary diseases*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1990: 43 – 56
- 43 Kitani K, Kanai S. Tauroursodeoxycholate prevents taurocholate induced cholestasis. *Life Sci* 1982;30: 515 – 523.
- 44 Kitani K, Ohta M, Kanai S. Tauroursodeoxycholate prevents biliary protein excretion induced by other bile salts in the rat. *Am J Physiol* 1985;248: G407 – G417.
- 45 Kojima H, Nies AT, Konig J, Hagmann W, Spring H, Uemura M, Fukui H, Keppler D. Changes in the expression and localization of hepatocellular

- transporters and radixin in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2003;39: 693 – 702.
- 46 Lee KH, Shin JG, Chong WS, Kim S, Lee JS, Jang JI, Shin SG. Time course of the changes in prednisolone pharmacokinetics after co-administration or discontinuation of rifampicin. *Eur J Clin Pharmacol* 1993;45: 287 – 289.
- 47 Leuschner M, Maier KP, Schlichting J, Strahl S, Herrmann G, Dahm HH, Ackermann H, et al. Oral budesonide and ursodeoxycholic acid for treatment of primary biliary cirrhosis: results of a prospective double-blind trial. *Gastroenterology* 1999;117: 918 – 925.
- 48 Leuschner U, Fischer H, Kurtz W, Güldütuna S, Hübner K, Hellstern A, Gatzem M, Leuschner M. Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: results of a controlled double-blind trial. *Gastroenterology* 1989;97: 1268 – 1274.
- 49 Lindor KD. Ursodiol for primary sclerosing cholangitis. *N Engl J Med* 1997;336: 691 – 695.
- 50 Lindor KD, Dickson ER, Baldus WP, Jorgensen RA, Ludwig J, Murtaugh PA, Harrison JM, Wiesner RH, Anderson ML, Lange SM, Le Sage G, Rossi SS, Hofmann AF. Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1994;106: 1284 – 1290.
- 51 Lykkesfeldt J, Loft S, Poulsen HE. Simultaneous determination of urinary free cortisol and 6beta-hydroxycortisol by high-performance liquid chromatography to measure human CYP3A activity. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994;660: 23 – 29.
- 52 Mela M, Mancuso A, Burroughs AK. Review article: pruritus in cholestatic and other liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17: 857 – 870.

- 53 Mitchison HC, Bassendine MF, Malcolm AJ, Watson AJ, Record CO, James OF. A pilot, double-blind, controlled 1-year trial of prednisolone treatment in primary biliary cirrhosis: hepatic improvement but greater bone loss. *Hepatology* 1989;10: 420 – 429.
- 54 Möllmann HW, Barth J, Hochhaus G, Möllmann AC, Derendorf H, Tromm A. Principles of topical versus systemic corticoid treatment in inflammatory bowel disease. In: Möllmann HW, May B, eds. *Glucocorticoid Therapy in Chronic Inflammatory Bowel Disease. From Basic Principles to Rational Therapy*. Boston: Kluwer, 1996: 42 – 60.
- 55 Neuberger J. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1997;350: 875 – 879.
- 56 Niemi M, Backman JT, Fromm MF, Neuvonen PJ, Kivisto KT. Pharmacokinetic interactions with rifampicin. Clinical relevance. *Clin Pharmacokinet* 2003;42: 819 – 850.
- 57 Ohiwa T, Katagiri K, Hoshino M, Hayakawa T, Nakai T. Tauroursodeoxycholate and tauro- $\beta$ -muricholate exert cytoprotection by reducing intrahepatocyte taurochenodeoxycholate content. *Hepatology* 1993;17: 470 – 476.
- 58 Paolini M, Pozzetti L, Montagnani M, Potenza G, Sabatini L, Antelli A, Cantelli-Forti G, Roda A. Ursodeoxycholic acid (UDCA) prevents DCA effects on male mouse liver via up-regulation of CYP [correction of CYP] and preservation of BSEP activities. *Hepatology* 2002;36: 305 – 314.
- 59 Paolini M, Pozzetti L, Piazza F, Cantelli-Forti G, Roda A. Bile acid structure and selective modulation of murine hepatic cytochrome P450-linked enzymes. *Hepatology* 1999;30: 730 – 739.
- 60 Patel T, Spivey J, Vadakekalam J, Gores GJ. Apoptosis – an alternative mechanism of bile salt hepatotoxicity. In: Paumgartner G, Beuers U

- (Hrsg.). Bile acids in liver diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1995: 88 – 95.
- 61 Poupon RE, Balkau B, Eschwège E, Poupon R, UDCA-PBC study group. A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1991;324: 1548 – 1554.
- 62 Poupon RE, Chretien Y, Poupon R, Paumgartner G. Serum bile acids in primary biliary cirrhosis: effect of ursodeoxycholic acid therapy. *Hepatology* 1993;17: 599 – 604.
- 63 Poupon R, Poupon RE, Calmus Y, Chretien Y, Ballet F, Darnis F. Is ursodeoxycholic acid an effective treatment for biliary cirrhosis? *Lancet* 1987;1: 834 – 836.
- 64 Prince MI, James OF, Holland NP, Jones DE. Validation of a fatigue impact score in primary biliary cirrhosis: towards a standard for clinical and trial use. *J Hepatol* 2000;32: 368 – 373.
- 65 Reichen J, Simon FR. Cholestasis. In: Arias IM, Boyer JL, Fausto N, Jakoby WB, Schachter DA, Shafritz DA (Hrsg.). *The liver. Biology and pathobiology*. 3. Auflage. Raven Press, New York, 1994: 1291 – 1326.
- 66 Ryrfeldt A, Andersson P, Edsbacker S, Tonnesson M, Davies D, Pauwels R. Pharmacokinetics and metabolism of budesonide, a selective glucocorticoid. *Eur J Respir Dis Suppl* 1982;122: 86 – 95.
- 67 Schmucker DL, Ohta M, Kanai S, Sato Y, Kitani K. Hepatic injury induced by bile salts: correlation between biochemical and morphological events. *Hepatology* 1990;12: 1216 – 1221.
- 68 Schölmerich J, Baumgartner U, Miyai K, Gerok W. Tauroursodeoxycholate prevents tauroolithocholate-induced cholestasis and toxicity in rat liver. *J Hepatol* 1990;10: 280 – 283.

- 69 Schuetz EG, Strom S, Yasuda K, Lecureur V, Assem M, Brimer C, Lamba J, Kim RB, Ramachandran V, Komoroski BJ, Venkataramanan R, Cai H, Sinal CJ, Gonzalez FJ, Schuetz JD. Disrupted bile acid homeostasis reveals an unexpected interaction among nuclear hormone receptors, transporters, and cytochrome P450. *J Biol Chem* 2001;276: 39411 – 39418.
- 70 Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;270: 414 – 423.
- 71 Smit JJM, Schinkel AH, Oude Elferink RPJ, Groen AK, Wagenaar E, van Deemter L, Mol CAAM, Ottenhoff R, van der Lugt NMT, van Roon MA, van der Valk MA, Offerhaus GJA, Berns AJM, Borst P. Homozygous disruption of the murine *mdr2* P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipid from bile and to liver disease. *Cell* 1993;75: 451 – 462.
- 72 Stiehl A, Rudolph G, Sauer P, Theilmann L. Biliary secretion of bile acids and lipids in primary sclerosing cholangitis. Influence of cholestasis and effect of ursodeoxycholic acid treatment. *J Hepatol* 1995;23: 283 – 289.
- 73 Thummel KE, Wilkinson GR. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38: 389 – 430.
- 74 Tsukahara K, Kanai S, Ohta M, Kitani K. Taurine conjugate of ursodeoxycholate plays a major role in the hepatoprotective effect against cholestasis induced by taurochenodeoxycholate in rats. *Liver* 1993;13: 262 – 269.
- 75 Van Nieuwkerk CMJ, Oude Elferink RPJ, Groen AK, Ottenhoff R, Tytgat GNJ, Dingemans KP, van den Bergh Weerman MA, Offerhaus GJA.

- Effects of ursodeoxycholate and cholate feeding on liver disease in FVB mice with a disrupted *mdr2* P-glycoprotein gene. *Gastroenterology* 1996;111: 165 – 171.
- 76 Von Richter O, Burk O, Fromm MF, Thon KP, Eichelbaum M, Kivisto K. Cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein expression in human small intestinal enterocytes and hepatocytes: A comparative analysis in paired tissue specimens. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75: 172 – 183.
- 77 Wolbold R, Klein K, Burk O, Nussler AK, Neuhaus P, Eichelbaum M, Schwab M, Zanger UM. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology* 2003;38: 978 – 988.
- 78 Xie HG, Wood AJJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics* 2004;5: 243 – 272.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

Ae	Amount excreted
ALT	Alaninaminotransferase
AMA	Antimitochondriale Antikörper
ANA	Antinukleäre Antikörper
ANOVA	parametrische Varianzanalyse
ASMA	Antikörper der glatten Muskelzellen
AST	Aspartataminotransferase
AUC	Area under concentration curve
BE	Blutentnahme
CA	Cholsäure
CDCA	Chenodeoxycholsäure
CK	Creatininkinase
CL	Clearance
C <sub>max</sub>	maximale Plasmakonzentration
CYP3A	Cytochrom P450 3A
DCA	Deoxycholsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
Gamma GT	Gamma-Glutamyltransferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalecetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV	Hepatitis-B-Virus
hCG	Human chorionic gonadotropine
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Human immunodeficiency virus
IgM	Immunglobulin der Klasse M
INR	International normal ratio
LCA	Lithocholsäure
LKM-1	Autoantikörper
MCH	Mean corpuscular haemoglobin
MCV	Mean corpuscular volume

Mdr2	Multidrug-resistance protein 2
Mrp2	Rat multidrug-resistance protein 2
PBC	Primär biliäre Zirrhose
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
PXR/SXR	Pregnane X receptor/steroid and xenobiotic receptor
SD	Standardabweichung
TLCA	Taurolithocholsäure
$t_{\max}$	Zeit bis zur maximalen Plasmakonzentration
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
UDCA	Ursodeoxycholsäure
US	Urinsammlung



## 8 Lebenslauf

### Annette Carola Denk

1976	Geboren am 23.08. in Aichach/Bayern als Tochter des Oberamtsrats a. D. Johann Denk und seiner Ehefrau, der Fachoberlehrerin a. D. Gertrud Denk-Markmiller, geb. Markmiller
1982-1986	Grundschule Aichach
1986-1987	Volksschule Aichach
1987-1996	Deutschherren-Gymnasium Aichach
28.06.1996	Allgemeine Hochschulreife
10/1996-3/1997	Studium Lehramt Englisch/Geschichte für Gymnasium, Ludwig-Maximilians-Universität München
4/1997-2/2003	Studium der Zahnheilkunde, Ludwig-Maximilians-Universität München
WiSe 1998	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
SoSe 2000	Zahnärztliche Naturwissenschaftliche Vorprüfung
SoSe 2003	Zahnärztliche Prüfung
11.08.2003	Approbation als Zahnärztin
8/2003-3/2004	Wissenschaftliche Hilfskraft an der Medizinischen Klinik II am Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München- Großhadern
Seit 4/2004	Assistenz Zahnärztin in zahnärztlicher Praxis

## 9 Danksagungen

Die in der vorliegenden Dissertationsschrift beschriebene Studie wurde in den Jahren 2003 und 2004 in der Medizinischen Klinik II am Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München-Großhadern durchgeführt.

Ihr Gelingen verdanke ich der Unterstützung der Kolleginnen und Kollegen des Labors für hepatobiliäre Forschung Prof. Dr. med. U. Beuers. Dabei möchte ich mich besonders bei Frau G. Schwertfeger, CTA, für die Hilfe bei der Gallensäureanalytik bedanken.

Für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Studientage danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Station F7.

Frau Dr. med. K. Dilger möchte ich für die immer sofortige Hilfe bei jedem Problem während der Studientage danken.

Mein ganz besonderer und herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. U. Beuers für die Überlassung des Themas, die wohlwollende Förderung und die phantastische Betreuung. Herauszuheben ist hierbei die Hilfe bei jedwedem Problem und zu jeder Zeit.