

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. B. Göke

**Wirkung der Ursodeoxycholsäure auf die Proliferation der kolorektalen
Mukosa bei Patienten mit Adenomen**

Eine doppelblinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Igor Marsteller

aus Bonn

2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Sackmann

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. A. Eigler
Priv.-Doz. Dr. K. Adelhard

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. T. Ochsenkühn

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 09.10.2003

„Nicht vom Beginn an enthüllten die Götter den Sterblichen alles.

Aber im Laufe der Zeit finden wir, suchend, das Bess're.“

[Xenophanes]

Meinen Eltern

in grosser Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung und Zielsetzung

2. Hintergrund

2.1. Kolorektale Tumoren

- 2.1.1. Benigne Polypen
 - 2.1.1.1. Hyperplastische Polypen
- 2.1.2. Präkanzeröse Läsionen und Malignome
 - 2.1.2.1. Adenome
 - 2.1.2.2. Adenom-Karzinom-Sequenz
 - 2.1.2.3. Kolorektales Karzinom (KRK) und andere Malignome
 - 2.1.2.4. Hereditäre Erkrankungen und Colitis ulcerosa
- 2.1.3. Äussere Risikofaktoren für kolorektale Tumoren
- 2.1.4. Früherkennung und Diagnostik von kolorektalen Tumoren

2.2. Ursodeoxycholsäure in Galle und Darm

- 2.2.1. Das Gallensäurenspektrum des Menschen
 - 2.2.1.1. Biochemie und Metabolismus
 - 2.2.1.2. Enterohepatischer Kreislauf
 - 2.2.1.3. Physiologische Funktion der Gallensäuren
 - 2.2.1.4. Sekundäre Gallensäuren und Tumorpromotion
- 2.2.2. Das Studienmedikament Ursodeoxycholsäure (UDCA)
 - 2.2.2.1. Geschichte und Vorkommen
 - 2.2.2.2. Indikationsspektrum
 - 2.2.2.3. Chemische Struktur und Eigenschaften
 - 2.2.2.4. Pharmakokinetik und Metabolismus
 - 2.2.2.5. Optimale Dosis und unerwünschte Wirkungen
- 2.2.3. UDCA und Kolonkarzinogenese

2.3. Durchflusszytometrie (FACS) zur Zellzyklusanalyse

3. Fragestellung

4. Studiendesign

4.1. Patienten

- 4.1.1. Ein- und Ausschlusskriterien
- 4.1.2. Rekrutierung der Patienten
- 4.1.3. Aufklärungsgespräch und Einverständniserklärung
- 4.1.4. Anamnese, Untersuchung und laborchemischer Status
- 4.1.5. Blutentnahmen für die Gallensäurenbestimmung
- 4.1.6. Betreuung der Patienten

4.2. Methoden

- 4.2.1. Coloskopie und Biopsieentnahmen
- 4.2.2. Studienmedikament, Verblindung
- 4.2.3. Primärpräparation der Biopsien
- 4.2.4. Aufarbeitung der Biopsien für FACS
- 4.2.5. FACS-Messungen und FACS-Analyse
- 4.2.6. Chromatographische Analyse der Serumgallensäuren
- 4.2.7. Statistische Auswertung

5. Ergebnisse

5.1. Patienten

- 5.1.1. Compliance und Auswertung
- 5.1.2. Alter, Gewicht und Geschlecht der Studienteilnehmer
- 5.1.3. Anamnestisch-klinischer und endoskopisch-histologischer Status
- 5.1.4. Klinisch-chemischer Befund
- 5.1.5. Arzneimittelverträglichkeit

5.2. Proliferationsraten der Kolonmukosa

- 5.2.1. Gesamtproliferationsrate des Kolons
- 5.2.2. Proliferationsrate im Caecum
- 5.2.3. Proliferationsrate im Colon ascendens
- 5.2.4. Proliferationsrate im Colon transversum
- 5.2.5. Proliferationsrate im Colon descendens

5.2.6. Proliferationsrate im Colon sigmoideum

5.2.7. Proliferationsrate im Rectum

5.2.8. FACScan-Messungen

5.3. Gallensäurenspiegel im Serum

5.3.1. Gallensäurenprofile in der Verumgruppe

5.3.2. Gallensäurenprofile in der Kontrollgruppe

5.3.3. Vergleich der Gallensäurenspiegel

5.3.4. UDCA-Serumkonzentration und Gesamtproliferation

5.3.5. Zusammenfassung der Ergebnisse

6. Diskussion

6.1. Erörterung der Ergebnisse

6.1.1. Charakteristika der Patienten

6.1.2. Proliferationsindizes der kolorektalen Mukosa

6.1.3. Serumkonzentrationen von UDCA und anderen Gallensäuren

6.2. Allgemeine Diskussion

6.2.1. Metabolismus und potentielle Effekte von UDCA im Kolorektum

6.2.2. UDCA und Alternativen in der Chemoprävention des KRK?

6.2.3. Ausblick: Risiko und gesicherte Prävention für das KRK

7. Zusammenfassung

8. Literaturverzeichnis

9. Danksagung

10. Lebenslauf

Anhang

1. Einleitung

Das kolorektale Karzinom (KRK) ist eine der häufigsten Krebskrankheiten in der westlichen Welt. Zwei Zahlenangaben verdeutlichen das sehr anschaulich: Mit im Jahre 2001 geschätzt 135400 neuen Fällen und 56700 Todesfällen stellt das KRK in den USA das dritthäufigste Malignom bei den Neuerkrankungen und die zweithäufigste Ursache der Krebs-bezogenen Mortalität dar [Gwyn et Sinicrope, 2002]. In Deutschland versterben 29,9 Frauen und 22,8 Männer pro 100000 Einwohner an diesem Tumorleiden, die Mortalität ist bei Frauen stagnierend, bei Männern ist eine steigende Tendenz zu beobachten [Bumm et al., 1997]. Bisher blieben die meisten Versuche, die Inzidenz dieser bösartigen Erkrankung entscheidend zu senken, ohne nachhaltigen Erfolg; unter anderem deshalb, weil die Ätiologie des KRKs nicht abschliessend geklärt ist.

Ein Ansatz, die KRK-Inzidenz zu senken, besteht in der Durchführung flächendeckender Screening-Programme: Ziel ist hier die möglichst frühe Detektion und Elimination von KRK-Vorstufen – mittels Endoskopie oder anderer in Kapitel 2.1.4. beschriebener Methoden. Dabei erscheint es sinnvoll, bestimmte KRK-Risikogruppen zu definieren, um diesen Personenkreis gezielt zu behandeln. Die zahlenmässig grösste Risikogruppe für die Entwicklung eines KRKs sind diejenigen Patienten mit adenomatösen Darmpolypen. Die Erkenntnis, dass eine grosse Zahl der Patienten mit kolorektalen Polypen – unbehandelt – im Laufe mehrerer Jahre aus diesen präkanzerösen Läsionen ein kolorektales Karzinom entwickelt, beruht auf epidemiologischen und klinisch-pathologischen Befunden [Vogelstein et al., 1988]. Diese Erkenntnis ergänzte der letztgenannte Autor um ein inzwischen etabliertes Modell („Adenom-Karzinom-Sequenz“) der auf dem Weg zum KRK sequentiell ablaufenden genetischen wie histologischen Veränderungen in der Darmmukosa, das in Kapitel 2.1.2.2. besprochen wird.

Mit der endoskopischen Polypektomie bietet sich eine kausale Therapie für die meisten präkanzerösen Läsionen, doch ist die Methode semi-invasiv und wird häufig erst dann angewandt, wenn klinische Befunde die Koloskopie indizieren. Wenn sich dann endoskopisch eine Situation ohne vertretbare Therapieoption darstellt bzw. sich das KRK schon manifestiert hat, bleibt nur noch die chirurgische Intervention mit anschliessender Radiochemotherapie. In dieser Situation steht nicht selten nur noch das palliative Vorgehen im Vordergrund.

Zu den Möglichkeiten, das KRK primär präventiv zu behandeln, gehören Ansätze zur Ernährungs- und Bewegungsmodifikation; Kapitel 2.1.3. befasst sich mit diesem Thema. Daneben erscheint es sinnvoll, medikamentöse Präventiva (Chemopräventiva) zu testen, die die oben genannte Entwicklung zum KRK an einem bestimmten Punkt der Vogelstein-Sequenz stoppen könnten.

Die Überlegung, pharmakologisch an einem frühen Punkt innerhalb der Adenom-Karzinom-Sequenz – zum Beispiel der initialen Steigerung der Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa – einzugreifen, führte zur Betrachtung der Milieu-Bedingungen im Kolorektum. Hier spielt unter anderem die Zusammensetzung der Gallensäuren eine entscheidende Rolle. Auf der Grundlage von Studien zur Korrelation von einzelnen Gallensäuren im Serum mit Adenomen im Kolorektum [Bayerdörffer et al., 1993a] und zur Proliferation der kolorektalen Mukosa in Zusammenhang mit erhöhten Deoxycholsäurespiegeln im Serum [Ochsenkühn et al., 1999] und im Kolonlumen [Hori et al., 1998] sowie von Ergebnissen hinsichtlich des modulierenden, teils supprimierenden Effekts von Ursodeoxycholsäure (UDCA) auf die Tumorentwicklung bei Ratten [Earnest et al., 1994] [Narisawa et al., 1998] wurde erstmals in dieser Arbeit der Frage nachgegangen, ob UDCA auch beim Menschen einen supprimierenden Effekt auf die frühe Tumorentwicklung im Darm bewirken könnte.

Die Dihydroxygallensäure UDCA als oral zu applizierendes, „körpereigenes“ Pharmakon hat sich bisher bei der Behandlung der Cholesterincholelithiasis und bei bestimmten cholestatischen Lebererkrankungen bewährt. Ihre zytoprotektiven Eigenschaften und ihre Anreicherung im Gallensäurenpool bei oraler Substitution werden im Kapitel 2.2. beschrieben. Anhand einer Auswahl an KRK-Risiko-Patienten (Adenomträger) sollte der Einfluss einer sechsmonatigen Therapie mit UDCA oder Placebo auf die kolorektale Proliferation untersucht werden, dafür wurden die mukosalen Proliferationsraten im Kolorektum durchflusszytometrisch bestimmt. Wenn die im Rahmen der KRK-Entwicklung initial gesteigerte Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa unter UDCA-Therapie abnähme, nähme nach dem Sequenz-Modell auch die Inzidenz von kolorektalen Adenomen und folglich auch die des KRK ab.

Ziel dieser Arbeit war somit eine erste Evaluation der potentiell protektiven UDCA-Wirkung im Darm bei Menschen mit kolorektalen Adenomen.

2. Hintergrund

2.1. Kolorektale Tumoren

Im allgemeinen pathologisch-anatomischen Verständnis wird unter dem Begriff ‚Tumor‘ eine lokale Schwellung bzw. Gewebsvermehrung oder Wucherung ohne Bezug zur Dignität oder Ätiologie verstanden. Klinisch bzw. endoskopisch imponieren diese (zumeist) exophytischen Tumoren als Polypen, in den US-amerikanischen Richtlinien der AGA (American Gastroenterological Association) als „mucosal masses“ beschrieben [Winawer et al., 1997]. Makroskopisch kann man die Polypen als ‚gestielt‘ oder ‚breitbasig‘ bzw. ‚sessil‘ klassifizieren, diese Unterscheidung kann – in Kombination mit dem morphologischen Aspekt der Läsion – dem Endoskopierenden einen ersten Hinweis zur Dignität der Läsion liefern. Ob sich in diesem Zusammenhang die endoskopische Polypenklassifikation nach ihrer Oberflächenbeschaffenheit („pit pattern“) bewährt, ist derzeit noch offen [Kudo et al., 2001][Kato et al., 2001]. Zur weiteren Eingrenzung wird festgestellt, dass sich in dieser Arbeit der Begriff „Kolorektales Karzinom“ (KRK) nur auf das sogenannte „Sporadische KRK“ bezieht. Andere Karzinome, z.B. auf dem Boden einer Colitis ulcerosa oder im Rahmen seltener erblicher Tumorsyndrome, zeigen häufig eine andere Pathogenese. In Übereinstimmung mit den meisten Autoren wird auch hier das Kolorektum als funktionelle Einheit angesehen; daher wird sowohl das kolorektale Adenom wie das KRK als jeweils eigene Krankheitsentität aufgefasst – ohne Subdifferenzierung in Läsionen des Kolons bzw. des Rektums.

2.1.1. Benigne Polypen

Die im endoskopischen Klinikalltag am häufigsten auftretenden Polypen im Darm sind die meist im distalen Colon, speziell im Rektum auftretenden ‚hyperplastischen Polypen‘ [Williams et al., 1982]. Andere rein gutartige Tumore sind rar: einige erbliche Tumore, wie z.B. Hamartome, können nicht ausschliesslich als gutartig bezeichnet werden, weil sie sich in sehr seltenen Fällen zu einer präkanzerösen oder malignen Läsion entwickeln können [Schmiegel et al., 2000]. Diese erblichen Krankheiten werden unter Punkt 2.1.2.4. beschrieben.

2.1.1.1. Hyperplastische Polypen

Die Prävalenz dieser Polypen, die mit höherem Lebensalter an Zahl zunehmen, liegt bei 27,5 % (Frauen) bis 40,4% (Männer) [Williams et al., 1982]. Andere Untersucher fanden etwas geringere Prävalenzen von 18% (Frauen) bis 27% (Männer) [Vatn et Stalsberg, 1982]. Diese Polypen zeichnen sich dadurch aus, daß sie in der Regel weniger als ½ cm messen und gemäss den Leitlinien der DGVS (Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten) kein erhöhtes Risiko für kolorektale Karzinome darstellen [Schmiegel et al., 2000].

Eine Abhandlung von Kearney beschreibt die Indikator-Funktion des hyperplastischen Polypen zur Charakterisierung von Personen mit hohem KRK-Risiko [Kearney et al., 1995]. Die mögliche morphologische Einordnung von hyperplastischen Polypen in die Adenom-Karzinom-Sequenz wird weiter unten dargestellt; sie wurden in einer italienischen Studie als morphologischer Indikator der Tumorinitiation mit folgender Hyperproliferation der rektalen Mukosa bezeichnet [Risio et al., 1995].

2.1.2. Präkanzeröse Läsionen und Malignome

2.1.2.1. Adenome

Von Hauptinteresse bei der präventiven Behandlung des KRK ist die Betrachtung der adenomatösen Polypen, da sich die Mehrzahl der kolorektalen Karzinome mittels der im folgenden Kapitel beschriebenen Adenom-Karzinom-Sequenz – weitgehend unabhängig von der jeweiligen Ätiologie – aus diesen adenomatösen Vorstufen entwickelt. Eine Arbeit konnte zeigen, dass die Abtragung von singulären Polypen im Rektosigmoid das KRK-Risiko um bis zu 90 % senken kann [Atkin et al., 1992], was Schmiegel für die Richtlinien der DGVS erneut diskutierte [Schmiegel et al., 2000].

Insgesamt gesehen finden sich relativ häufig adenomatöse Polypen des Dickdarms, in etwa 25% aller 50-Jährigen mit steigender Prävalenz bei zunehmendem Alter [Winawer et al., 1997]. Williams konnte im Rahmen einer Autopsiestudie zeigen, dass 36,9 % der Männer und 28,7 % der Frauen zum Zeitpunkt der Sektion entweder

ein oder mehrere Adenom(e) aufwiesen [Williams et al., 1982], es zeigte sich auch hier eine steigende Prävalenz mit dem Alter, zusätzlich eine Häufung dieser Läsionen im Rektum. Eine andere Untersuchung konnte eine Adenom-Rate von 50% bei allen identifizierten autopsierten polypoiden Läsionen feststellen [Vatn et Stalsberg, 1982] - ebenso mit gesteigerter Prävalenz im Alter (> 70 Jahre). Die histologische Subtypisierung ergab in diesem Zusammenhang folgende Häufigkeitsverteilung: das tubuläre Adenom fand sich zu 40%, an zweiter Stelle das tubulovillöse Adenom (9%) und zuletzt der rein villöse Typ mit 0,6 %.

Die jeweilige histologische Einordnung kann einen Hinweis auf das Entartungsrisiko geben: das Risiko steigt vom tubulären über den tubulovillösen zum rein villösen Adenotyp. Histopathologisch noch präziser ist allerdings die heute übliche Atypie- bzw. Dysplasiediagnostik der untersuchten Zellansammlungen. Es wird zwischen leicht-, mittelgradiger und hochgradiger Epitheldysplasie unterschieden; die letztere Form entspricht dem Begriff ‚Carcinoma in situ‘ in anderen Geweben, wenn die Lamina muscularis mucosae noch nicht durchbrochen ist.

Da der Dysplasiegrad eines adenomatösen Polypen direkt mit seiner Grösse korreliert werden kann, wird bei der klinisch-endoskopischen Untersuchung das Hauptaugenmerk auf die Detektion dieser „grossen“ Polypen gelegt. Grosse Polypen sind nach der international üblichen Einteilung = 1 cm, kleine besitzen einen Durchmesser < 1 cm. Die ‚National Polyp Study‘ der USA hat gezeigt, dass etwa jedes vierte (25,5%) der bei über 1800 Patienten entfernten Adenome (n= 3371) grösser als 1 cm war. Bei jedem/r fünften Patienten/-in (20,6 %) mit grossem/n Adenom(en) waren hochgradige Dysplasieareale nachweisbar. Im Gegensatz dazu wiesen nur weniger als 5 % der Patienten mit Adenom(en) < 1 cm diese hochgradigen Dysplasien auf [O’Brien et al., 1990]. Auf formalpathogenetische und molekulare Überlegungen zur Entstehung der adenomatösen Polypen wird im Folgenden eingegangen.

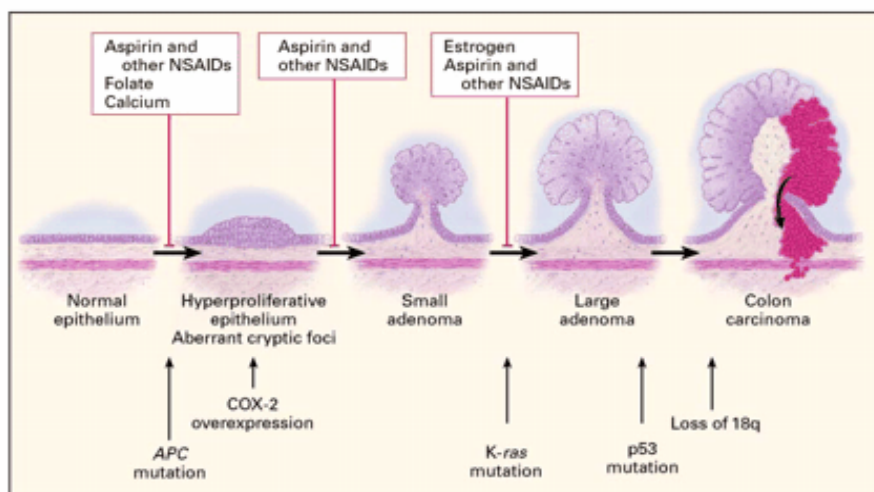
2.1.2.2. Adenom-Karzinom-Sequenz

Es besteht seit Ende der achtziger Jahre [Vogelstein et al., 1988] [Fearon et Vogel-

stein, 1990] allgemeiner Konsens darüber, daß sich das KRK in nahezu 90 % der Fälle [Winawer et al., 1993] aus primär nicht-malignen adenomatösen Polypen entwickelt. Die zeitliche Abfolge der einzelnen Schritte innerhalb dieser sogenannten „Adenom-Dysplasie-Karzinom-Sequenz“ umfasst etwa 10 Jahre [Winawer et al., 1997]. Wenn nicht vorher therapeutisch interveniert wird, kann nach diesem Intervall aus einem primär nicht-malignen, kleinen Adenom ein invasives Karzinom entstehen.

Da der Begriff Dysplasie-Karzinom-Sequenz v.a. im Rahmen der Colitis ulcerosa gebräuchlich ist, die überwältigende Zahl der KRK-Fälle jedoch von polypoiden oder flachen, Dysplasie-Areale enthaltenden Adenomen ohne (begleitende) entzündliche Darmerkrankung ausgeht [Saitoh et al., 2001], wird in dieser Arbeit – auch aus historischen Gründen – der Terminus „Adenom-Karzinom-Sequenz“ verwandt, obwohl es systematisch korrekt „Dysplasie-Karzinom-Sequenz“ heißen müsste.

Das durch in etwa parallel verlaufende morphologische und genetische Veränderungen gekennzeichnete Modell der Kolonkarzinogenese ist in Graphik 1 dargestellt. Aus den normalen Epithelzellen entwickelt sich ein hyperproliferatives Epithel [Lipkin, 1988] [Wargovich, 1996] [Shpitz et al., 1997] – vor allem in den Krypten des Kolonepithels, in dem sich dann sogenannte ‚Aberrant Crypt Foci‘ (ACF), d.h. lokal aberrante Krypten, entwickeln können.



Graphik 1

Adenom-Karzinom-Sequenz

(aus: N Engl J Med 2000; 342: 1961)

Im Rahmen der formalen Pathogenese verschiebt bzw. erweitert sich also die Proliferationszone der Kolonmukosa von der Kryptenbasis zur Spitze der Krypte; es kommt zu einer gesteigerten Proliferation mit Blockierung der apoptotischen Kaskade und Entwicklung von ACF [Takayama et al., 1998]. Ausserdem wurden analog zu dem Sequenzmodell am Menschen signifikante Korrelationen zwischen der Zahl der Adenome und Zahl und Grösse der ACF sowie dem zugehörigen Dysplasiegrad gefunden [Takayama et al., 1998]. Es erscheint daher sehr wahrscheinlich, dass ACF ein determiniertes Vorläuferstadium für Adenome und Karziome des Kolorektums darstellen.

In der frühen Phase der Kolonkarzinogenese kommt es nach dem Vogelstein-Modell zur Mutation des APC-Gens auf Chromosom 5q, das deswegen als „gatekeeper“ der Darmkrebsentstehung bezeichnet werden kann. Nach einiger Zeit (unbestimmt) entwickelt sich ein kleines Adenom (< 1cm Durchmesser), aus dem ohne Intervention ein grosses Adenom (> 1 cm Durchmesser) wird. Auch bei diesen Schritten können neue Genmutationen beobachtet werden: zunächst kommt zu einer COX-2 (Cyclooxygenase-2)-Überexpression und nachfolgend einer Mutation im K-ras-Onkogen. Vor dem Übergang des grossen, Dysplasie-reichen Adenoms zum invasiven Karzinom mit malignen Eigenschaften verliert das Tumorsuppressorgen p53 mutationsbedingt seine Funktion und am Chromosom 18q21 kann es nach diesem Modell zur Deletion eines Allels („Loss of heterozygosity = LOH“) kommen. Dieser Befund zeigt sich in über 2/3 der sporadischen KRKs, in jedem zweiten fortgeschrittenen Adenom und auch noch in einem von 10 frühen Adenomen [Reale et Fearon, 1996].

Grundsätzlich ist die Charakteristik der speziellen genetischen Veränderungen während der als gesichert geltenden morphologischen Sequenz zum KRK noch Gegenstand der Forschung: in das Sequenz-Modell werden sukzessive neue molekularbiologische ‚pathways‘ eingearbeitet [Gryfe et al., 1997] [Chung, 2000]. Die Rolle der Mikrosatelliteninstabilität bzw. von DNA-Replikationsfehlern kann hier nicht weiter behandelt werden. Initiale Überlegungen zur Pathogenese bei der familiären Adenomatose (FAP) können offensichtlich nicht auf alle sporadischen KRKs angewendet werden. Deshalb kann die genaue molekulare Genese des KRKs zum Teil als heterogen und intraindividuell unterschiedlich bezeichnet werden.

Ebenso heterogen erscheint die genetische Progression in kolorektalen Adenomen; hier stellt die K-ras Protoonkogenmutation die am häufigsten gefundene Alteration dar [Rashid et al., 1999].

In einer kürzlich erschienenen Farbstoff-assistierten Endoskopie-Studie wurden bei einem von fünf Patienten flache Adenome gefunden, von denen bekannt ist, dass sie verglichen mit exophytisch wachsenden Adenomen seltener K-ras Mutationen aufweisen [Saitoh et al., 2001]. Diese Beobachtungen könnten für die in Graphik 1 gezeigte Kaskade die Existenz eines alternativen Weges bedeuten.

Neben den oben beschriebenen morphologischen (Normales Epithel – Hyperproliferation – Adenom < 1 cm – Adenom > 1 cm – Karzinom) und genetischen Veränderungen sind in Graphik 1 potentielle pharmakologische Eingriffsmöglichkeiten abgebildet, die im Rahmen der Diskussion behandelt werden.

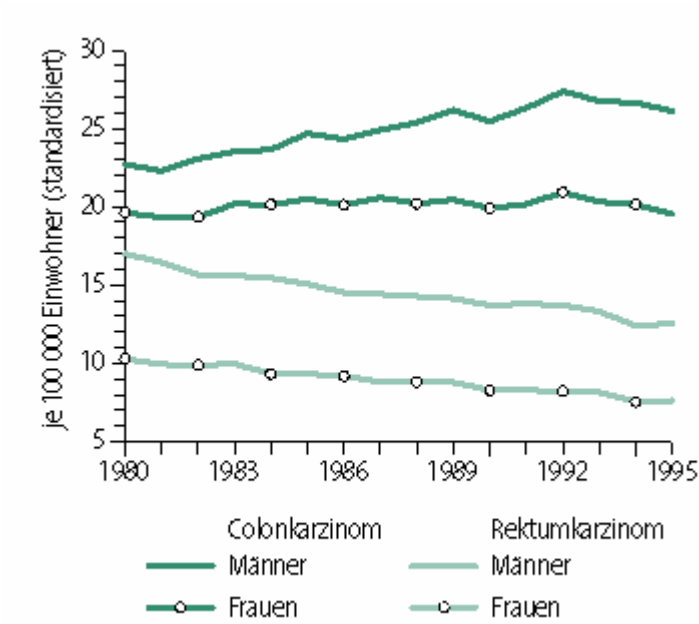
2.1.2.3. Kolorektales Karzinom (KRK) und andere Malignome

Unter den malignen Tumoren des Kolorektums überwiegt zu 95% das KRK, wovon wiederum 95% histologisch einem Adenokarzinom entsprechen, unter den anderen malignen Tumoren des Dickdarms finden sich zu etwa 5 % Karzinoide - sowie sehr selten auch Lymphome [Riede et Schaefer, 1993].

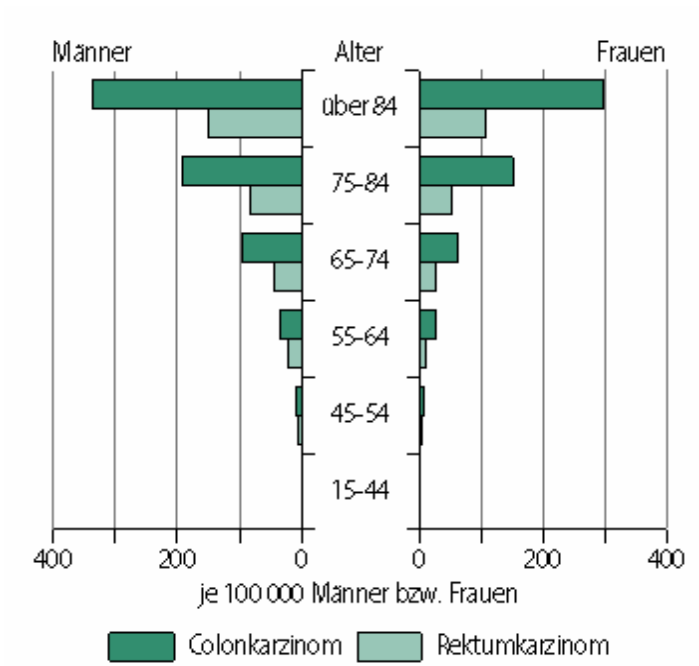
Bereits in der Einleitung wurde die epidemiologische Bedeutung des KRK kurz angerissen. Bezogen auf die Bundesrepublik Deutschland hat sich die Inzidenz von 1960 bis 1980 verdoppelt, am häufigsten erkranken Patienten ab dem 50. Lebensjahr [Schmiegel et al., 2000]. Im Jahre 1990 sind in Deutschland fast 20.000 Menschen an Dickdarmkrebs gestorben, 1995 waren es schon über 21.000 Menschen [Daten des Gesundheitswesens, 1997].

Die für das Jahr 1997 vom Robert-Koch-Institut geschätzte Inzidenz von 50 / 100000 Einwohner ist alarmierend, trotz verbesserter Therapieoptionen gehört das KRK in Deutschland noch zur zweithäufigsten Krebstodesursache bei Männern und Frauen.

Eine zusätzliche epidemiologische Einordnung gelingt bei Betrachtung des amtlichen Gesundheitsberichts für Deutschland 1998, der einen Überblick über Sterbeziffern von Kolon- und Rektumkarzinom im Verlauf seit 1980 darstellt (Graphik 2) [Bundesministerium für Gesundheit, 1998].



Graphik 2



Graphik 3

Graphik 3 zeigt die alterspezifische Sterblichkeit für das Kolon- und Rektumkarzinom im Jahre 1995; erkennbar ist zum Beispiel die in allen Altersgruppen höhere KRK-Mortalität bei Männern im Vergleich zu den Frauen [Bundesministerium für Gesundheit, 1998].

Bezogen auf die Schweiz finden sich Daten zu den potentiell verlorenen Lebensjahren: Es verlieren die Menschen (vom 1. bis 70. Lebensjahr), die im Jahre 1996 am kolorektalen Karzinom verstorben sind, potentiell 1310 (Frauen) bzw. 1948 (Männer) Lebensjahre [Schweizer Bundesamt für Statistik, 1996].

Die Zahl an Neu-Erkrankten nimmt im Vergleich zu den Vorjahren immer noch leicht zu und bei Diagnosestellung stehen oft nur noch begrenzte therapeutische Möglichkeiten zur Verfügung. Deshalb hat die Beschäftigung mit den Grundlagen, Behandlungsmöglichkeiten und vor allem mit der Prävention des kolorektalen Karzinoms für die Gesellschaft eine grosse Bedeutung; nicht zuletzt auch eine wirtschaftliche Dimension bei der Kostenanalyse maligner Erkrankungen durch die Krankenversicherungsunternehmen.

Trotz der Erforschung molekularbiologischer Grundlagen des KRK, die im vorigen Kapitel dargestellt wurden, ist die genaue Ätiologie der Erkrankung weiterhin unbekannt [Bumm et al., 1997]. Verschiedene äussere Risikofaktoren konnten definiert werden, die in Abschnitt 2.1.3. näher beschrieben werden. Ein erhöhtes vererbtes KRK-Risiko tragen Menschen mit Tumorsyndromen (wie z.B. der Polyposis coli), auf die nachfolgend kurz eingegangen wird. Therapiemöglichkeiten beim manifesten Karzinom sind nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

2.1.2.4. Hereditäre Erkrankungen und Colitis ulcerosa

Es sind einige vererbare gastrointestinale Erkrankungen bekannt, die zu Kolontumoren führen. Diese erblichen Tumorsyndrome sind oft durch eine Vielzahl von Kolonpolypen charakterisiert, deren jeweilige Histologie einer für die Krankheit typischen Morphologie entspricht.

Sie stellen insgesamt nur einen sehr kleinen Teil aller Dickdarmerkrankungen dar, können aber zum Teil schneller maligne entarten und folgen nur partiell dem oben geschilderten pathogenetischen Modell.

Bei der Aufzählung dieser Krankheiten muss die ‚Familiäre Adenomatöse Polyposis‘ (FAP), auch ‚Adenomatosis coli‘ oder ‚Polyposis coli‘ genannt, von der relativen Häufigkeit her – etwa ein Prozent aller Kolonkarzinome entstehen auf dem Boden einer FAP – und aus methodischen Gründen (Studien zur Adenom-Karzinom-Sequenz) an erster Stelle genannt werden. Die Prognose dieser autosomal-dominant vererbten Krankheit ist bei fehlender Behandlung überaus schlecht, da die Patienten in der Regel bereits in jungen Jahren ein kolorektales Karzinom entwickeln und daran versterben können. Es finden sich typischerweise mehr als 100 Polypen im Dickdarm, jedes dieser Adenome kann sich zum Karzinom entwickeln [Riede et Schaefer, 1993]. Die attenuierte Form der FAP (AAPC), die sich häufig erst später klinisch manifestiert, zeigt weniger und vor allem proximal gelegene Polypen [Schmiegel et al., 2000]. Das Karzinomrisiko ist hier aber nur unwesentlich geringer im Vergleich zur FAP. Die sicherste Therapieform ist die totale Kolektomie mit ileoanaler Pouchbildung; sie wird vom Patienten nicht selten abgelehnt. Die Behandlung mit Nicht-Steroidalen Antirheumatika (NSAR, engl.: NSAIDs) ist eine neuere Möglichkeit, die Zahl der Polypen und damit das Risiko, an einem KRK zu erkranken, zu senken. Die Placebo-kontrollierte Applikation von 300 mg Sulindac pro Tag (3 x 100 mg bzw. 2 x 150 mg) per os über einen Zeitraum von 4 bzw. 9 Monaten vermochte die Polypenzahl bei FAP signifikant zu senken [Labayle et al., 1991] [Giardiello et al., 1993]. In der letztgenannten Studie konnte eine mittlere Abnahme der Polypenzahl um 56% und eine mittlere Abnahme des Adenomdurchmessers um 65% verzeichnet werden. Der COX-2 Hemmer Celecoxib erbrachte in einer hohen Dosierung (800 mg/d) bei Patienten mit FAP eine Senkung der Polypenzahl um etwa ein Drittel [Steinbach et al., 2000].

Die Polypen-Syndrome ‚Gardner‘- bzw. ‚Turcot-Syndrom‘ stellen weitere genetisch-determinierte Varianten dar. Es finden sich histologisch kolorektale Adenome mit hohem malignen Potential, meist in Kombination mit Tumoren anderer Organe.

Hamartome sind histologisch exakt definierte Polypen, die prinzipiell zur Entartung „befähigt“ sind. Bei den seltenen Krankheitsbildern ‚Peutz-Jeghers-Syndrom‘ und

„Juvenile Polyposis“ finden sich solche Polypen im unteren und oberen Gastrointestinaltrakt. Die vermehrte Entstehung kolorektaler Karzinome beruht nach der Literatur auf einer Keimbahnmutation eines Tumor-Supressor-Gens (APC); bei Verlust des zweiten, gesunden Allels kann die maligne Entartung nicht mehr aufgehalten werden [Burt et Petersen, 1996]. Das HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colon Cancer) ist ein Karzinomtyp, der durch gehäuft auftretende (gastrointestinale) Karzinome im mittleren Lebensalter bei mehreren Familienmitgliedern indirekt charakterisiert wird; „Amsterdam-“ bzw. „Bethesda-Kriterien“ fassen die für die Diagnosestellung erforderlichen Parameter zusammen. Er ist relativ häufig (Inzidenz 1:200 bzw. 1:2000), d.h. 5% - 10% aller KRK-Erkrankungen sind HNPCC-assoziiert, und wird autosomal-dominant vererbt. Trotz des Namens entsteht dieser Tumor in der Regel (schneller!) aus vorherigen adenomatösen Vorstufen, z.T. mit synchronen Manifestationen. In mehr als 80% der HNPCC-Karzinome lässt sich ein genetischer Defekt, die sogenannte Mikrosatelliteninstabilität (MSI) nachweisen [Schmiegel et al., 2000].

Bei einer über mehrere Jahre aktiven Colitis ulcerosa besteht für den Patienten ein erhöhtes KRK-Risiko; es können sich bei entsprechend langer Krankheitsdauer und frühem Beginn flache oder polypoide Karzinome entwickeln – vor allem im Rektosigmoid. In der entzündeten Darmmukosa finden sich nicht selten präkanzeröse Epitheldysplasien, die schwer zu detektieren sind und über das oben genannte Sequenz-Modell zum Karzinom transformieren können [von Herbay et al., 1994].

2.1.3. Äussere Risikofaktoren für kolorektale Tumoren

Da die Kausalkette für die Entstehung kolorektaler Tumoren noch nicht abschliessend geklärt ist, hat man versucht, einige äussere Risikofaktoren zu bestimmen. Bisher findet sich kein zweifelsfrei beweisbarer, pathophysiologisch plausibel erklärbarer KRK-Risikofaktor wie es z.B. der chronisch-inhalative Tabakkonsum bei der Entwicklung eines Bronchialkarzinoms (Plattenepithelkarzinoms) ist.

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass die Prävalenz des KRKs in den westlichen Ländern höher liegt als in Gebieten der Erde, die als ‚low-incidence regions‘ bezeichnet werden [Terry et al., 2001a]. Ein Beispiel dafür ist Indien; es findet sich hier eine bis zu 20-fach niedrigere Inzidenz an KRKs [Potter, 1996]. Die geographische Verteilung der KRK-Erkrankungen mit einem Schwerpunkt in der sogenannten „westlichen Hemisphäre“ (einschliesslich Deutschlands) gab den Anlass, nach gemeinsamen Umwelt-Faktoren suchen zu lassen.

Die Bedeutung von Umweltfaktoren („environmental factors“) in der Pathogenese des KRKs wurde durch einige (Migrations-) Studien belegt [Potter, 1996][Lichtenstein et al., 2000][Terry et al., 2001a]. In der folgenden Übersicht ist eine Auswahl an potentiellen Adenom- oder KRK-Risikofaktoren dargestellt, die in diesem Abschnitt oder in der Diskussion weiter unten besprochen werden:

Ernährung / Kost

- > reich an rotem Fleisch und (tierischem) Fett
- > arm an Früchten und Gemüse, arm an Folsäure
- > arm an Ballaststoffen (z.B. Weizenkleie)
- > reich an Alkohol
- > arm an Olivenöl bzw. Fischöl

Körperliche Aktivität und Body-Mass-Index (BMI)

- > hoher BMI
- > geringe körperliche Aktivität

Rauchen

- > langjähriger Nikotinabusus

Cholelithiasis / Cholezystektomie

- > veränderte Gallensäurenprofile

Bei der Betrachtung der äusseren (Umwelt-) Faktoren wurde zuerst die unterschiedliche Ernährungsweise bzw. Diät der Bevölkerung untersucht. In Japan z.B. wurde von 1975 bis 1984 unter zunehmendem Einfluss der westlichen

Ernährungsweise für das KRK der – verglichen mit allen anderen Malignomen – höchste Anstieg in der Inzidenz registriert [Saito et Yoshida, 1996].

Auf der Suche nach einzelnen unterschiedlichen Nahrungsbestandteilen wurde der hierzulande höhere Anteil an tierischen Fetten (v.a. bei Verzehr roten Fleisches mit vielen gesättigten Fettsäuren) kombiniert mit einem niedrigen Anteil an Früchten und Gemüse („high risk diet“) als eine der wesentlichen Einflussgrößen für die Entstehung von Karzinomen und Adenomen im Kolorektum angenommen [Sandler et al., 1993]. Es konnte eine inverse Assoziation zwischen dem Adenom-/ KRK-Risiko und einer ballaststoffreichen Diät sowie einer Ernährung reich an Gemüse, Früchten und Körnern beschrieben werden [Thun et al., 1992][Giovannucci et al., 1992]. Der letztgenannte Autor zeigte in einer Kohorte von 47949 US-Männern eine positive Korrelation zwischen dem KRK-Risiko und der Menge an Konsum roten Fleisches; allerdings konnte in dieser und einer anderen Arbeit keine signifikante Assoziation zwischen der Menge an Ballaststoffen (und Gemüse) in der Nahrung und dem KRK- oder Adenom-Risiko nachgewiesen werden [Giovannucci et al., 1994a][Fuchs et al., 1999].

Der potentiell KRK-protective Effekt von Folsäure, die in grossen Mengen in Früchten und Gemüsen vorhanden ist, wurde ebenfalls studiert: hier existierte eine signifikant inverse Assoziation zwischen dem Risiko, ein kolorektales Adenom zu entwickeln und der Folataufnahme [Giovannucci et al., 1993a]. Da Folsäure (und Methionin) für die Neoplasie-protective DNA-Methylierung gebraucht wird, könnte daher ein funktioneller Zusammenhang bestehen.

Der beständige Alkoholkonsum von zwei oder mehr „drinks“ (entspricht in etwa 30 g Alkohol) pro Tag konnte direkt mit dem KRK-Risiko korreliert werden [Giovannucci et al., 1995a], auch ehemalige Alkoholkonsumenten zeigten ein erhöhtes KRK-Risiko. Verglichen mit alkoholabstinenten Personen existierte auch für die Adenomentstehung ein erhöhtes Risiko; nämlich bei einem Alkoholkonsum von mehr als 30 g pro Tag [Giovannucci et al., 1993a] bzw. bei sieben oder mehr „drinks“ in der Woche [Baron et al., 1998].

Andere potenzielle Einflussfaktoren wurden untersucht: Die körperliche Aktivität bei 47723 männlichen US-amerikanischen „health professionals“ (zwischen 40 und 75

Jahre alt) wies eine inverse Assoziation zum KRK-Risiko auf, während Gewicht, Übergewicht und speziell dessen androide Fettverteilung positiv mit dem KRK-Risiko und abgeschwächt auch mit dem Risiko für grosse Adenome korreliert werden konnten [Giovannucci et al., 1995b]. Bayerdörffer schlug eine prophylaktische Coloskopie bei übergewichtigen Männern (BMI > 25,09) von 50,5 bis 68,1 Jahren vor, nachdem er eine erhöhte Gefährdung dieser Gruppe für die Entwicklung eines oder mehrerer „high-risk adenomas“ beschreiben konnte [Bayerdörffer et al., 1993b].

‚Rauchen‘ und ‚Übergewicht‘ liessen sich in einer kleinen Fallkontrollstudie zum Auftreten von hyperplastischen Polypen korrelieren [Martinez et al., 1997]. Eine statistische Korrelation zeigte sich auch zwischen dem Auftreten hyperplastischer Polypen im distalen Colon und Rektum und niedrigem Folatkonsum, Alkoholkonsum und aktuellem Zigarettenrauchen [Kearney et al., 1995]. Allerdings stellen hyperplastische Polypen nicht generell ein Vorläuferstadium für Adenom oder KRK dar. Das Rauchen von Zigaretten konnte in der o.g. Studie von Baron nicht als Risikofaktor für Adenome etabliert werden [Baron et al., 1998]; im Gegensatz dazu beurteilte Giovannucci diese Noxe bei genügend lange andauernder Einnahme (mehr als 20 bzw. 35 Jahre) als Risikofaktor für grosse Adenome bzw. das KRK [Giovannucci et al., 1994b][Giovannucci et al., 1994c]. In einer finnischen Studie bei 56973 Männern und Frauen zeigte sich kein erhöhtes relatives KRK-Risiko bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern. Allerdings war das KRK-Risiko für Raucher bei Analyse einer langen Nachbeobachtungsdauer (11 bis 20 Jahre) erhöht, das für die dauerhaften Raucher lag nochmals darüber [Knekt et al., 1998]. Diese lange Induktionsperiode ist bisher nicht hinreichend erklärt.

Über mögliche protektive Einflüsse von Olivenöl oder Fischöl auf das KRK-Risiko gibt es keine eindeutig gesicherten Erkenntnisse. Der Konsum von Fischölkapseln bei KRK-Patienten vor einer chirurgischen Intervention führte zu keiner signifikanten Veränderung der Zellkinetik – hier der Mitose der Kryptenzellen – des Kolonepithels [Gee et al., 1999]. In einer grossen niederländischen Kohortenstudie konnte kein Zusammenhang zwischen der vermehrten Einnahme von pflanzlichen Sterinen (wie z.B. beta-Sitosterol) mit dem KRK-Risiko hergestellt werden [Normen et al., 2001].

Es erfolgten über 60 verschiedene Untersuchungen zum Einfluss der Cholezystektomie (CHE) auf das KRK-Risiko, die Giovannucci in einer Meta-Analyse zusammenfasste [Giovannucci et al., 1993b]. Bei der Subgruppenanalyse von 33 Fallkontrollstudien wurde hier eine schwache Assoziation der CHE mit dem KRK-Risiko insgesamt nachgewiesen. Eine stärkere Korrelation der CHE zum KRK-Risiko ergab sich für das proximale Colon; auch die Cholelithiasis – als eine mögliche Indikation zur CHE – konnte zum proximalen KRK korreliert werden. Wegen der unterschiedlichen Studiendesigns konnte keine eindeutige Schlussfolgerung gezogen werden; allerdings verwiesen die Autoren auf mögliche KRK-Einflussfaktoren durch Gallensäuren, vor allem im proximalen Colon.

2.1.4. Früherkennung und Diagnostik von kolorektalen Tumoren

Der Früherkennung und gezielten Detektion von kolorektalen Tumoren wird heute eine grössere Bedeutung beigemessen als früher. Die folgende Übersicht zeigt etablierte und neuere diagnostische bzw. Screening-Verfahren für kolorektales Adenom und Karzinom:

- Ausführliche Familienanamnese
- Digital-rektale Untersuchung
- Test auf okkultes Blut im Stuhl (Hämoccult®)
- Totale / Hohe Coloskopie
- Kolonkontrasteinlauf
- CT-Colonographie („Virtuelle Coloskopie“)
- Kernspintomographie (MRT)

Diese Verfahren sind sowohl bezüglich des jeweiligen diagnostischen Wertes als auch der zeitlichen Abfolge vom individuellen klinischen Fall abhängig; beispielhaft und aktuell in einer amerikanischen Publikation dokumentiert [Ransohoff et Sandler, 2002]. Einzelne Punkte der heute etablierten Verfahren zur Früherkennung bzw. gezielten Detektion von Tumoren im Dickdarm werden im Folgenden kurz erläutert. Grundlage für alle Verfahren ist die angestrebte sichere Detektion (okkult blutender) dysplastischer kolorektalen Läsionen, die häufig adenomatösen Polypen

entsprechen. Jene müssen primär oder sekundär einer interventionellen Behandlung - in der Regel der endoskopische Polypektomie – zugeführt werden, damit die oben geschilderte sequentielle Entwicklung zum KRK gestoppt werden kann.

Der grundlegende Wert der genauen Familienanamnese für die spätere Diagnosestellung ist unumstritten. Ihr kommt hier besondere Bedeutung zu, weil sie den Gang und damit die Frequenz der medizinischen Betreuung steuert. Das heisst: Alle Patienten sollten nach dem Auftreten von KRK-Fällen in der Familie gefragt werden. Jeder Anamnese folgt die klinische Untersuchung.

Von den technischen Screeningverfahren am weitesten verbreitet ist der Hämoccult®-Test, der ein gut bekanntes, einfaches Verfahren darstellt. Er vermag mittels einer Peroxidase-Reaktion okkulte Blutspuren in einer Stuhlprobe nachzuweisen. Bei positivem Testergebnis sollte anschliessend eine totale Coloskopie mit – falls erforderlich – histologischer Analyse erfolgen, um einen kolorektalen Tumor auszuschliessen [Schmiegel et al., 2000].

Da kolorektale Neoplasien im proximalen Colon sigmoidoskopisch nicht erfasst werden können, ist diese Methode in Deutschland unüblich. Neoplasien im proximalen Colon demaskieren sich bei asymptomatischen Patienten zu etwa 50 % nicht durch ein Adenom/Polyp im distalen Colon [Lieberman et al., 2000][Imperiale et al., 2000].

Regelmässige alleinige Coloskopien, z.B. ab einem Alter von 50 Jahren, bedeuten für den Patienten und die behandelnden Ärzte (Zahl, apparative Ausstattung, etc.) eine hohe Belastung. Als (alleinige) Screening-Untersuchung erschienen sie bisher aufgrund der hohen Kosten volkswirtschaftlich nicht tragbar [Kühbacher et Fölsch, 2001]; aktuell wurde jedoch die „einmalige Coloskopie mit dem 55. Lebensjahr“ in den Katalog der empfohlenen Vorsorgeuntersuchungen der gesetzlichen Krankenkassen in Deutschland aufgenommen. Je nach makroskopischem bzw. mikroskopischem Befund dieser „Index“-Endoskopie ergibt sich das weitere Procedere.

Bildgebende Verfahren wie der Barium-Einlauf in Doppelkontrasttechnik werden schon seit einigen Jahren nur noch als nachgeordnetes Diagnostikum angesehen. Kleinere Adenome/Polypen werden unzureichend detektiert. Aktuell konnte Winawer

dieses Faktum erneut belegen: selbst grössere Adenome (> 1 cm) konnten mit dem Barium-Doppelkontrasteinlauf nur in ca. 50% der Fälle nachgewiesen werden, insgesamt konnten im Vergleich zur Coloskopie nur 1/3 der adenomatösen Läsionen radiologisch gezeigt werden [Winawer et al., 2000].

Andere Verfahren wie Oberbauchsonographie und MRT haben ihren festen Platz in der Ergänzung der klinischen Diagnostik des Abdomens; mit ihnen können einzelne Darmtumore entdeckt werden. Allerdings sind sie aus vielen Gründen als Screeningverfahren für das KRK und seine Vorstufen ungeeignet.

Die ‚virtuelle Coloskopie‘ mittels Mehrschicht-Computertomographie befindet sich noch in der Entwicklungsphase; es werden hohe Strahlenbelastungen neben der konventionellen, für den Patienten unangenehmen Darmreinigung benötigt, sodaß dieses Verfahren als Screening-Untersuchung nicht geeignet erscheint. Wie die Autoren einer randomisierten klinischen Studie an 180 Patienten berichten, können nicht wenige kleinere Polypen (< 0.5 cm) trotz kontinuierlicher Verbesserungen von Technik und Material (u.a. Kontrastmittel) nicht eindeutig identifiziert werden [Fletcher et al., 2000]. Auch die Hydrokolonsonographie als KRK-Screeningverfahren kann noch nicht abschliessend bewertet werden, da Studienergebnisse bei genügend grossen Populationen noch ausstehen.

Das genetische KRK-Screening ist seit einigen Jahren Gegenstand des wissenschaftlichen Interesses, grundsätzlich kann sowohl der Stuhl (Stuhl-DNA aus abgeschilferten Epithelzellen), das Tumormaterial für sich (Adenom oder Karzinom) und auch das Plasma/Serum auf genetische Veränderungen untersucht werden. Die Entwicklung eines praktischen genetischen Tests zum KRK-Screening befindet sich noch im experimentellen Stadium. Im Jahr 2000 konnte Ahlquist einen Test entwickeln, mit dem er humane DNA aus Stuhl isolierte und nachfolgend Punktmutationen (u.a. bei K-ras, p53, APC, Mikrosatelliteninstabilitätsmarker Bat-26) bestimmte [Ahlquist et al., 2000].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass abhängig von dem individuellen Risikograd des Patienten einzelne oder eine Kombination von o.g. Screeningverfahren bzw. Vorsorgemassnahmen empfohlen werden. Zur

Früherkennung des KRK bzw. seiner Vorstufen bei asymptomatischen Patienten ab dem 50. bzw. 55. Lebensjahr wird neben der genauen Erhebung der Familienanamnese und der digital-rektalen Untersuchung die Kombination zweier technischer Verfahren – Hämoccult®-Test und Endoskopie – als Standardvorgehen empfohlen [Schmiegel et al., 2000].

2.2. Ursodeoxycholsäure in Galle und Darm

Im Rahmen der Primär- und Sekundärprävention des KRK werden seit einiger Zeit verschiedene chemopräventive Ansätze studiert [Jänne et Mayer, 2000], zu denen auch die Gallensäure Ursodeoxycholsäure gehört.

2.2.1. Das Gallensäurenspektrum des Menschen

Die humane Leber- oder Blasengalle besteht aus Cholesterin, Phospholipiden, Bilirubin, anderen organischen wie anorganischen Substanzen und Gallensäuren (GS): Mengenmässig die grössten Fraktionen bilden Cholsäure, Chenodeoxycholsäure, Deoxycholsäure und Lithocholsäure.

2.2.1.1. Biosynthese und Metabolismus

Die menschlichen GS werden in der Leber oder im Darm gebildet, nach Art und Ort der Genese werden sie als primäre Gallensäuren (direkt, Leber) oder sekundäre Gallensäuren (aus primären GS, Darm) bezeichnet [Carey et Duane, 1994]. Die primären Gallensäuren Cholsäure (CA) und Chenodeoxycholsäure (CDCA), stellen die Endprodukte des Cholesterinmetabolismus dar und gelten als wasserlösliche, amphipathische Steroidsäuren [Hofmann, 1999]. Die Salze der Gallensäuren bilden 51 – 71% der festen Bestandteile der (getrockneten) Galle [Bouchier et Freston, 1968]. Primäre GS werden in Hepatozyten aus dem unlöslichen Cholesterin (als einem wichtigen Membranbaustein aller Zellen) biosynthetisiert – das schliesst die Hydroxylierung an der Position C-7 ein -und anschliessend mit Glycin (mehrheitlich)

oder Taurin konjugiert. Vor der Konjugation (in der Leber) werden die Gallensäuren als „freie“ oder unkonjugierte GS bezeichnet [Hofmann,1984], danach als konjugierte Gallensäuren. Die Trihydroxygallensäure CA und die Dihydroxygallensäure CDCA werden nach der Konjugierung, die für die Löslichkeit bei physiologischem pH-Wert in der Galleflüssigkeit essentiell ist, über die Galle in das Darmlumen transportiert.

Die primären Gallensäuren unterliegen im Darmlumen drei verschiedenen „Schicksalswegen“, die in der folgenden Übersicht zusammengefasst sind:

1. Vollständige *Resorption* über die Darmschleimhaut, v.a. im terminalen Ileum: Aktiver (Na^+ -abhängiger Kotransport) wie passiver (Konzentrationsgefälle) Transport, der pH-Wert-abhängig ist.
2. *Biotransformation* durch Enzyme anaerober Bakterien im Darmlumen:
 - a) der Seitenkette: *Dekonjugation* mit Abspaltung von Taurin oder Glycin mit folgender Resorption der dekonjugierten GS
 - b) des Steroidgerüsts: *Dehydroxylierung* der GS mit Abspaltung von (einer) Sauerstoffgruppe(n) mit Bildung der sekundären GS Deoxycholsäure (DCA) und Lithocholsäure (LCA)
3. *Verlust* der konjugierten oder dekonjugierten Gallensäuren über die Fäzes

Neben der 7-Deoxy-Gallensäure DCA (Dihydroxygallensäure mit OH-Gruppen an C-3 und C-12) und der Monohydroxygallensäure LCA (mit nur noch einer OH-Gruppe an C-3) findet sich im Gallensäurenspektrum auch die Dihydroxygallensäure Ursodeoxycholsäure, die sich bei CDCA-identischer Struktur von CDCA nur durch die Konfiguration (β - statt α -Konfiguration) unterscheidet. Ursodeoxycholsäure (UDCA) wird in dieser Arbeit als Studienmedikament verwandt; der Ursprung der körpereigenen UDCA als mengenmässig kleiner Bestandteil der Galleflüssigkeit (Anteil von etwa 3 % am Gallensäurenpool [Beuers et al., 1998]) ist bisher nicht abschliessend geklärt: es erscheint wahrscheinlich, dass UDCA durch bakterielle Epimerisierung der OH-Gruppe an C-7 aus CDCA im Kolon entsteht und dann dort

passiv aufgenommen wird [Hofmann, 1994]. Die Eigenschaften von UDCA werden weiter unten abgehandelt.

2.2.1.2. Enterohepatischer Kreislauf

Die Punkte 1 und 2.a) in der oben gezeigten Übersicht beschreiben die entscheidenden Schritte des enterohepatischen Kreislaufs (EHP) der Gallensäuren; nach Aufnahme in den Enterozyten werden GS über dessen basolaterale Membran in den Pfortaderkreislauf transportiert und stehen damit erneut dem Hepatozyten für die GS-Synthese („Recycling“) zur Verfügung.

Der beim Erwachsenen vorhandene GS-Pool von etwa 2 - 3 g zirkuliert ein bis mehrere Mal pro Mahlzeit. Etwa 4 – 6 g GS pro Mahlzeit oder 12 – 18 g GS pro Tag werden in die Galle sezerniert, die Neusynthese beträgt nur etwa 0,3 g / d [Hofmann, 1999]. Der GS-Bedarf wird durch diese „Wiederverwertungsstrategie“ des Organismus ausreichend gedeckt, nach einer Studie stammen 90% der biliären Gallensäuren aus dem Portalblut und nur 10% werden von der Leber neu synthetisiert [Reuben, 1984].

Auch die sekundären Gallensäuren DCA (aus der Trihydroxygallensäure Cholsäure) und LCA (aus Chenodeoxycholsäure) unterliegen nach Resorption im Colon zu einem Teil dem enterohepatischen Kreislauf; DCA z.B. hat einen Anteil von etwa einem Drittel an allen GS in der Galle [Fischer et al., 1993]. Lithocholsäure – der Name entstand, weil diese GS erstmals aus dem Gallenstein eines Kalbs isoliert wurde – wird wegen seiner Hydrophobizität und auf Grund seiner extrem niedrigen Wasserlöslichkeit (0,5 µM bei pH 6, 37°C) wenig effizient absorbiert [Hofmann, 1994]. Zusammenfassend wird nur ein kleiner Teil (ca. 10%, s.o.) der (sekundären) GS primär nicht resorbiert oder während eines einmaligen EHPs in der Leber sulfatiert und dann über den Stuhl ausgeschieden.

2.2.1.3. Physiologische Funktion der Gallensäuren

Grundsätzlich erfüllen die Gallensäuren nach Hofmann [1999] folgende wesentlichen physiologische Funktionen:

- Elimination von überschüssigem Cholesterin aus dem Organismus
- Transport von Lipiden mittels gemischter Mizellen (Verbesserung der Löslichkeit), damit Förderung der Absorption von Nahrungsfetten im Dünndarm
- Stimulierung des Galleflusses sowie der Phospholipidsekretion über die Galle
- Regulation der Biosynthese von Cholesterin und Gallensäuren durch negativen Feedback-Mechanismus

2.2.1.4. Sekundäre Gallensäuren und Tumorpromotion

Bei Betrachtung des GS-Spektrums sind DCA und LCA von besonderem Interesse: sie zeigen hydrophobe und damit - konzentrationsabhängig - zytotoxische Eigenschaften: je hydrophober eine Gallensäure, desto grösser die Zytotoxizität [Hofmann, 1999]. Diese potenziell zellschädigenden Eigenschaften sind sowohl in vitro als auch in vivo (Tiermodell) für Hepatozyten und Gallengangszellen – hier im Sinne einer Verstärkung vorhandener Gallengangsschäden – gezeigt worden, was von Beuers in einer Übersichtsarbeit zusammengefasst wurde [Beuers et al., 1998]. Der Autor bemerkt, dass die Retention von hydrophoben GS in der Leber bzw. im Hepatozyten seit mehr als drei Jahrzehnten als Hauptursache cholestatischer Leberschäden angesehen wird. In diesem Zusammenhang wird beispielhaft die Korrelation der hepatischen Spiegel der hydrophoben GS CDCA und DCA mit dem Ausmass eines Leberschadens erwähnt. Kürzlich konnte eine in-vivo-Studie beweisen, dass die Applikation einer Taurocholat- oder Taurolithocholat-reichen Diät bei Ratten die Proliferation kleiner und grosser Cholangiozyten stimulierte [Alpini et al., 2001].

Auch für das Kolon wurden einige Untersuchungen durchgeführt, die die postulierte schädliche Rolle der sekundären GS im Rahmen der Tumorentstehung bzw. Tumorpromotion nahelegten. Basale Theorie in diesen Studien war die Überlegung, dass dem Anteil an sekundären GS und Fettsäuren im Colonlumen, der bei einer fettreichen Ernährung ansteigt – gleichzeitig haben Übergewichtige ein höheres Risiko, am KRK zu erkranken (vgl. Kapitel 2.1.3.) –, eine primäre Rolle in der Ätiologie des KRKs zukommt [Van der Meer et al., 1995]. Folgende Studien über die potenzielle Tumorpromotion von Deoxycholsäure bzw. anderer GS im Kolorektum waren für diese Arbeit wegweisend:

Vor fast 30 Jahren konnte die DCA-Konzentration im Stuhl mit der Inzidenz des kolorektalen Karzinoms korreliert werden [Hill, 1975]. Kurze Zeit später berichtete Reddy über den Einfluss von Deoxycholsäure auf die Tumorpromotion bei Ratten [Reddy et al., 1976]. Beim Menschen konnten die Gesamtgallensäuren sowie DCA und LCA in den Fäzes mit dem Vorhandensein adenomatöser Polypen bzw. kolorektaler Karzinome korreliert werden [Reddy et Wynder, 1977].

Die Instillation von Deoxycholsäure förderte die Epithelproliferation im Rattendarm [DeRubertis et al., 1984]; desweiteren berichtete Latta über die Toxizität von LCA, CDCA und DCA auf KRK-Zellen in vitro in Abhängigkeit von der Inkubationszeit [Latta et al., 1993]. Den Einfluss der DCA auf die Proliferation im humanen Kolorektum untersuchte Bartram: er fand in vitro eine Induktion der epithelialen Hyperproliferation durch DCA-Inkubation [Bartram et al., 1994 und 1997]. Im Tiermodell (Ratte) konnte eine andere Arbeitsgruppe die Verstärkung der Karzinogen-induziert erhöhten Zellproliferation durch DCA im Colonlumen zeigen [Hori et al., 1998].

Am Menschen konnte 1997 erstmals der Plasmaspiegel von DCA mit der DCA-Konzentration in der wässrigen Phase der Fäzes korreliert werden [van Faasen et al., 1997]. In einer der vorliegenden Arbeit vorangegangenen Patientenstudie konnte bewiesen werden, dass die Proliferationsrate im Gesamtkolon mit dem Nüchternserumspiegel von DCA signifikant korrelierbar war [Ochsenkühn et al., 1999]. Die Serumspiegel für Litho-, Chol-, Chenodeoxychol- und Ursodeoxycholsäure waren nicht mit der kolorektalen Proliferationsrate korrelierbar,

das Biopsiematerial wie auch die Serumproben stammte(n) von 19 Patienten mit oder ohne kolorektalem Adenom / kolorektalen Adenomen.

2.2.2. Das Studienmedikament Ursodeoxycholsäure (UDCA)

2.2.2.1. Geschichte und Vorkommen

Ursodeoxycholsäure (UDCA) wurde 1927 von Shoda in Japan als ein Hauptbestandteil der Bären-galle (lat. „ursus“ = der Bär) des chinesischen Schwarzbären kristallisiert und damit erstmals isoliert. Er nahm an, dass die von ihm neue beschriebene Gallensäure ein chemisches Isomer der Deoxycholsäure sei [Shoda, 1927][Lazaridis et al., 2001]. Fast 10 Jahre dauerte es, bis die chemische Struktur der „neuen“ GS durch Iwasaki bestimmt wurde [Iwasaki, 1936]. In der Bären-galle findet sich UDCA hauptsächlich als Taurin-Konjugat.

Bekannt war die Substanz schon seit Jahrhunderten: UDCA wurde in getrockneter Form (Puder) als pharmakologische Substanz ‘yutan’ (japanisch für Bären-galle) im Rahmen der traditionellen chinesischen Medizin verwandt – zur Behandlung von hepatobiliären Krankheitsbildern [Bachrach et Hofmann, 1982]. Hagey zeigte an 6 verschiedenen Bärenspezies, dass UDCA in der Galle aller dieser ‘ursidae’ (Bären) vorhanden war; mit einem speziesspezifischen Gehalt von 1 – 39% in der Blasengalle [Hagey et al., 1993]. In derselben Studie wurde nachgewiesen, dass UDCA bei den genannten Spezies als primäre GS gelten darf, da sie in der Leber gebildet wird. Es wurden Zweifel an der funktionellen Wirkung der heute in traditionell arbeitenden chinesischen Apotheken erhältlichen „Bären-galle“ geäußert, da die verkaufte Substanz wohl überwiegend getrocknete Schweinegalle und nur zu 3 % UDCA enthält.

2.2.2.2. Indikationsspektrum

Vor fast 30 Jahren wurde UDCA erstmals bei der Behandlung von Gallensteinen erprobt [Makino et al., 1975]. Die Indikation für eine UDCA-Behandlung der

unkomplizierten Cholezystolithiasis besteht heute – gering modifiziert – weiter fort: bei symptomatischem/n Cholesteringallenstein(en) und einem begründet nicht-chirurgischen Vorgehen wird die medikamentöse Litholyse mit UDCA alleine oder in Kombination mit der extrakorporalen Stosswellenlithotripsie (ESWL) als kausale Therapie durchgeführt [Sackmann et al., 1991] [Paumgartner et al., 1994].

Weiterhin hat sich die Applikation von UDCA bei verschiedenen cholestatischen Lebererkrankungen bewährt. Abgestufte Empfehlungen zur UDCA-Behandlung bei diesen Krankheitsbildern hat Beuers wie folgt zusammengefasst [Beuers et al., 1998]:

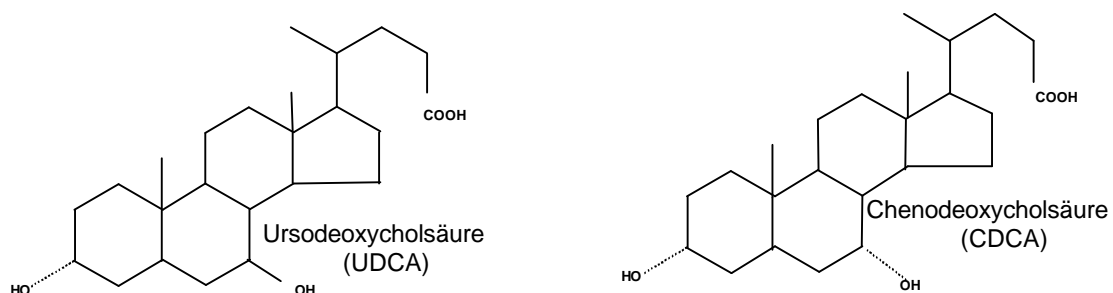
Bei der ‚Primär biliären Zirrhose‘ (PBC) ergibt sich ein gesicherter Benefit für den Patienten hinsichtlich laborchemischer Leberparameter, möglicherweise auch in bezug auf klinische und histologische Merkmale. Eine UDCA-Behandlung vermag bei diesen Patienten das Transplantat-freie Überleben zu verlängern. Damit besteht die klare Indikation zur UDCA-Therapie, die empfohlene Dosis beträgt 13 –15 mg/kg/d. In Kombination mit bzw. zur Ergänzung endoskopischer Interventionen erscheint auch die UDCA-Gabe bei ‚Primär sklerosierender Cholangitis‘ (PSC) gerechtfertigt. Ausserdem kann die Applikation von UDCA bei einer Hepatopathie im Rahmen der ‚Cystischen Fibrose‘ und anderen hereditär-pädiatrischen Lebererkrankungen, die mit Cholestase einhergehen, sinnvoll sein. Schliesslich ist UDCA bei ‚Chronischer „Graft-Versus-Host“ Erkrankung‘ (GVHD) der Leber potenziell wirksam.

Nicht indiziert ist UDCA bei der ‚Chronischen Virushepatitis‘; fraglich wirksam – z.T. auf Grund noch ausstehender Studienergebnisse – erscheint die Gallensäure bei ‚Alkoholischer‘ und ‚Nicht-alkoholischer Steatohepatitis‘ (NASH), bei medikamentös-toxischen Leberschäden sowie bei der akuten Abstossungsreaktion nach Lebertransplantation.

2.2.2.3. Chemische Struktur und Eigenschaften

UDCA ist der chemischen Nomenklatur nach **3a-7b-Dihydroxy-5b-cholansäure**, eine amphipathische Gallensäure. Die Substanz besteht zu 73,43% aus Kohlenstoff-Atomen, zu 10,27% aus Wasserstoff-Atomen und zu 16,30% aus Sauerstoff-Atomen;

die Summenformel lautet $C_{24}H_{40}O_4$, das Molekulargewicht beträgt 392,56. Die protonierte Form hat eine Löslichkeit von $\sim 9 \mu\text{mol/l}$ sowie einen Schmelzpunkt von 203°C [Lazaridis et al., 2001]. Sie kommt in geringen Mengen beim Menschen vor und lässt – verglichen mit CDCA oder DCA – ausgeprägte hydrophile Eigenschaften erkennen: ihre OH-Gruppen an Position C-7 und C-3 zusammen mit der „richtigen“ Konfiguration des Kristallgitters (7β - Hydroxylierung) bestimmen diese Eigenschaften. CDCA als 7α -hydroxylierte GS ist im Vergleich zu UDCA wesentlich weniger hydrophil [Beuers et al., 1998].



Graphik 4: Chemische Strukturformeln von UDCA und CDCA

In Graphik 4 sind UDCA und CDCA strukturell dargestellt, erkennbar sind die oben beschriebenen unterschiedlichen Konfigurationen. Der hydrophile Charakter von UDCA einerseits und die in Zusammenhang mit zytotoxischen Effekten der hydrophoben Gallensäuren berichteten zytoprotektiven UDCA-Eigenschaften in vitro [Guldutuna et al., 1993][Leuschner et al., 1989] und in vivo [Piazza et al., 2000] andererseits haben das wissenschaftliche Interesse an diesem Choleretikum entscheidend erweitert. Shekels konnte in diesem Zusammenhang in vitro die Gallensäurentoxizität mit der relativen GS-Hydrophobizität korrelieren [Shekels et al., 1996].

Hinsichtlich der Leber und des Gallengangsystems hat Lazaridis dem oben beschriebenen Benefit einer UDCA-Therapie mögliche Wirkmechanismen zugeordnet [Lazaridis et al., 2001], die in der folgenden Übersicht zusammengefasst sind:

- Anreicherung hydrophiler GS im Gallensäurepool
- Choleretischer Effekt und Hypercholerese
- Immunmodulatorische Eigenschaften
- Zytoprotektion
- Antientzündliche Eigenschaften
- Aktivierung zellulärer Signalkaskaden

2.2.2.4. Pharmakokinetik und Metabolismus

Nach der oralen Applikation wird UDCA zu 30 – 60 % im Darm – in etwa 80% im Dünndarm, nur zu einem Fünftel im Kolon – passiv absorbiert; und wird dem enterohepatischen Kreislauf via Pfortader zugeführt [Rubin et al., 1994]. Die Aufnahme in den Enterozyten hängt vom pH-Wert im Intestinum und von der Menge an endogenen Gallensäuren ab [Hofmann, 1994]. Im Hepatozyten wird UDCA wie alle GS an Glycin oder Taurin gekoppelt und dann über die Galle wieder in den Darm transportiert. Dort unterliegt diese GS demselben Einfluss anaerober Bakterien wie ihre „Verwandten“. Der hohe ‚first-pass‘ Effekt von ca. 70 % führt zu einer relativ niedrigen Konzentration von UDCA im Blut [Saksena et Tandon, 1997]. Die Konzentration von UDCA in der Galle hängt von der applizierten oralen Dosis ab: UDCA wird nach Substitution die vorherrschende Gallensäure in Serum und Galle [Beuers et al., 1992][Stiehl et al., 1990]. Lazaridis beschreibt 19 – 64 % UDCA-Anteil (je nach Dosis) an den biliären Gallensäuren, bemerkt allerdings keinen Effekt der UDCA-Applikation auf die totale Gallensäurenmenge [Lazaridis et al., 2001]. Es wird angenommen, dass die veränderte Balance zwischen den hydrophoben, toxischen GS und den hydrophilen, nicht-toxischen Gallensäuren zugunsten letzterer der wichtigste Wirkmechanismus von UDCA bei Leberkrankheiten ist [Kumar et Tandon, 2001]. Der dokumentierte Abfall der DCA-Konzentration im GS-Pool um 72% während der Behandlung mit UDCA [Beuers et al., 1992] kann diese These stützen.

Falls UDCA intestinal primär oder sekundär (nach Teilnahme am EHP) nicht resorbiert wird, wird es im Kolon hauptsächlich zu LCA umgebaut, was Analysen

fäkaler Gallensäuren nahelegen [Hofmann, 1994]. Allerdings gibt es Anhaltspunkte dafür, dass auch UDCA unmetabolisiert über die Fäzes ausgeschieden wird: Die UDCA-Substitution bei Ratten mit kolorektalen Polypen führte zu einer Anreicherung von UDCA in der wässrigen Phase der Fäzes [Batta et al., 1998]. Der Gehalt von Lithocholsäure stieg in der unlöslichen Fraktion der Fäzes an (+ 39%), UDCA wurde in der wasserlöslichen Fraktion angereichert (+ 6%). Der UDCA-Gehalt im Kolon wird natürlich auch durch den CDCA-Gehalt beeinflusst: CDCA wird über 7-Ketolithocholsäure zu UDCA metabolisiert [Fromm et al., 1983].

2.2.2.5. Optimale Dosis und unerwünschte Wirkungen

Studien zur Dosisfindung des Medikaments kommen zu dem Ergebnis, dass die für die Litholyse von Gallensteinen verwendete Dosis von 10 – 15 mg/kg/d in etwa auch der optimalen Dosis für die Behandlung der PBC (13,5 mg/kg/d) entspricht [Verma et al., 1999].

Unerwünschte Wirkungen (UAW) einer Therapie mit UDCA sind bei den genannten Eigenschaften sehr selten, die gute Verträglichkeit der GS wird im Allgemeinen mit dem physiologischen Vorkommen erklärt. Die lange Erfahrung nach der Zulassung des Medikaments v.a. bei der Langzeittherapie der PBC zeigt ausser selten auftretenden Diarrhoen (etwa 2 %) und unspezifischen Beschwerden im rechten Oberbauch keinerlei schwerwiegende unerwünschte Wirkungen [Ursofalk® Produktinformation, 1996]. Bei etwa 10% der Patienten kann es zu einer Verkalkung von Gallensteinen kommen, im PBC-Stadium IV wurde in sehr seltenen Fällen eine reversible Dekompensation der Leberzirrhose durch UDCA dokumentiert. Insgesamt betrachtet wurden unter UDCA-Therapie weniger häufig intestinale Nebenwirkungen (Diarrhoe) beobachtet als bei CDCA-Therapie, die einen bedeutenderen inhibitorischen Effekt auf die Darmfunktion der Ratte hatte [Caspary et Meyne, 1980].

In einer Übersichtsarbeit zur UDCA finden sich weitergehende Informationen zu Pharmakodynamik und -kinetik dieses Medikaments [Ward et al., 1984].

2.2.3. UDCA und Kolonkarzinogenese

Die potentielle Bedeutung der Gallensäuren, speziell der sekundären GS, im Rahmen der Tumorentstehung wurde in Kapitel 2.2.1.4. erläutert. Deoxycholsäure (DCA) und Cholsäure (CA) gelten als hydrophobe und kokanzerogene, d.h. die Tumorpromotion verstärkende GS, deren toxische, proliferative Wirkung bei verschiedenen Zell-Linien in vitro und in vivo (im Tierversuch mittels Nahrungszugabe) beobachtet wurde [Bartram et al., 1994 und 1997] [Hori et al., 1998] [Shekels et al., 1996] [Earnest et al., 1994].

Die Bedeutung der Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Galle wurde in diversen Modellen studiert: die oben beschriebenen Eigenschaften der UDCA lenkten das Interesse auf potentiell hemmende Effekte der UDCA im Rahmen der Kolonkarzinogenese. Martinez konnte an verschiedenen Tumorzelllinien zeigen, dass die Inkubation mit UDCA die Zellproliferation inhibierte, aber nicht den programmierten Zelltod (Apoptose) verstärkte; DCA- bzw. CDCA-Inkubation verursachte in dieser Studie morphologische Veränderungen an den Zellen, die im Fall von DCA denen einer Apoptose entsprachen [Martinez et al., 1998]. Weil die UDCA – Sulfatierung, v.a. an der Position C-7, vor bakterieller Degradierung im Kolon schützt und die intestinale Resorption inhibiert, wurde der Effekt dieser chemischen Modifikation auf den DCA-Spiegel im Darm untersucht: sulfatierte UDCA vermochte die Konzentration von DCA im (Ratten-)Kolon zu senken [Rodrigues et al., 1995].

In einem wegweisenden Versuch konnte durch die zweiwöchige Nahrungszugabe von 0,4% UDCA bei Ratten, denen kolorektale Tumoren chemisch (mit Azoxymethan) induziert worden waren, die Inzidenz von kolorektalen Polypen und Karzinomen signifikant gesenkt werden [Earnest et al., 1994].

Der potentiell protektive Effekt von UDCA auf die KRK-Entwicklung konnte in einer weiteren in-vivo-Studie nachgewiesen werden [Narisawa et al., 1998]. In diesem Tiermodell wurde Ratten mit chemisch (N-Methylnitrosourea) induzierten kolorektalen Tumoren UDCA in 0,4%iger; 0,08%iger oder 0%iger (Kontrolle) Konzentration mit der Nahrung zugegeben. Es fand sich eine signifikant niedrigere Zahl und Grösse der Tumoren in den mit UDCA gefütterten Ratten im Vergleich mit

der Kontrollgruppe (40% und 36% versus 68%). Zusätzlich konnte ein signifikanter UDCA-Konzentrationsanstieg sowohl im Stuhl als auch im Blut der UDCA-gefütterten Tiere gemessen werden.

Rigas konnte zeigen, dass Ratten, die mit dem kolorektalen Karzinogen Azoxymethan (AOM-Modell) behandelt wurden, unter UDCA-Fütterung weniger Tumore aufwiesen: nach 2 Wochen UDCA-Substitution betrug die Frequenz kolorektaler Tumore 17%, verglichen mit 50% bei keiner speziellen Nahrung (AOM „pur“), 74% bei Fütterung mit Cholsäure, 28% bei Piroxicam-Substitution und 46% bei kombinierter UDCA+Cholsäure-Fütterung [Rigas et al., 1994].

Vor kurzem konnte in einer 59 Patienten umfassenden retrospektiven Studie der chemoprotektive Effekt von UDCA bei Patienten mit Colitis ulcerosa und Primär sklerosierender Cholangitis (PSC) nachgewiesen werden [Tung et al., 2001]: bei diesem Patientengut liegt ein höheres Risiko vor, an einem KRK zu erkranken (etwa 50% nach 25 Jahren Colitis ulcerosa). 13 von 26 Dysplasie-positiv diagnostizierten Patienten standen unter Behandlung mit UDCA, während bei 85% (28 / 33) der Patienten ohne Dysplasie eine UDCA-Einnahme zu verzeichnen war. Diese signifikante Assoziation zwischen der UDCA-Einnahme und der gesenkten Prävalenz an kolorektalen Dysplasien führte zu der Forderung nach einer randomisierten Studie über den chemopräventiven Effekt von UDCA bei Patienten mit hohem KRK-Risiko, z.B. bei Colitis ulcerosa.

2.3. Durchflusszytometrie (FACS) zur Zellzyklusanalyse

Ein Durchflusszytometer ist ein optisches Gerät, das die natürliche oder fluoreszierende Lichtstreuung der durch eine Kanüle fließenden Zellen oder Kerne quantitativ detektiert. Die Abkürzung FACS stammt aus dem Englischen und bedeutet „Fluorescence Activated Cell Sorting“. Das jeweilige Fluoreszenzsignal bzw. die natürliche (oberflächenbedingte) Streuung wird über spezifische Kanäle im Gerät aufgezeichnet. Bei der prinzipiellen Funktionsweise eines Durchflusszytometers unterscheidet man zwischen der eigentlichen Messung („acquisition“) und der späteren Analyse („analysis“).

Zur Bestimmung der Proliferation von Normal- wie Tumorgewebe werden die in Suspension befindlichen Zellen bzw. Kerne einzelnen Phasen des Zellzyklus zugeordnet. Grundlage dieser Methode ist die Bestimmung des DNA-Gehalts der Kerne je nach Zellzyklus-Stadium (Ruhephase „G0“, präsynthetische Phase „G1“, Synthesephase „S“, prämitotische Phase „G2“, Mitosephase „M“). Während der Ruhe- und der präsynthetischen Phase haben alle Zellen einen diploiden Chromosomensatz. Nach der Replikation in der S-Phase weisen die Zellen bzw. Kerne in der G2- und der kurzdauernden M-Phase einen reduplizierten Chromosomensatz auf, der die verdoppelte DNA-Menge enthält.

Nach ausreichender Inkubation der Kernsuspension mit DNA-spezifischen Fluorochromen kann nun deren DNA-Gehalt durchflusszytometrisch quantifiziert werden [Nishida et al., 1995]. Bei jenen Fluorochromen handelt es sich um Farbstoffe, die an spezifische Basenpaare oder allgemein an die doppelsträngige DNA durch Interkalation (Einlagerung zwischen die beiden Einzelstränge der DNA) binden. Als Beispiele seien Ethidiumbromid oder das hier verwendete Propidiumjodid genannt. Jeder DNA-spezifische Fluoreszenzfarbstoff reagiert auf eine Lichtquelle mit einem eigenem Exzitationsspektrum; z.B. Propidiumjodid auf einen Argon-Laser mit Anregung im Blaubereich ($\lambda = 488 \text{ nm}$) mit rotfluoreszierendem Signal. Für eine proportionale Messung der DNA-Menge werden die Integrale der Signale genutzt; über die Wahl des entsprechenden Kanals wird die Messung spezifiziert.

3. Fragestellung

Wenn man die Ergebnisse der genannten epidemiologischen Studien zur Korrelation der (Serum-) DCA-Spiegel mit kolorektalen Adenomen bzw. der erhöhten Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa und die verschiedenen Studien zur protektiven Rolle von UDCA im Zellmodell wie auch im Tierversuch zusammen betrachtet, kann man folgende, erstmals am Menschen zu untersuchende **Hypothese** aufstellen:

Kann eine sechsmonatige UDCA-Behandlung per os bei einer Population mit erhöhtem KRK-Risiko – Patienten mit kolorektalen Adenomen – die Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa senken und damit möglicherweise die sequentielle Entwicklung zum KRK aufhalten?

Zusätzlich ist es von Interesse, die Gallensäurenprofile der teilnehmenden Patienten zu untersuchen. Es stellt sich die Frage, ob und in welchem Masse die sechsmonatige Einnahme von UDCA versus Placebo die UDCA-Spiegel im Serum verändern kann? Wie verändern sich die Serumkonzentrationen der sekundären Gallensäuren?

4. Studiendesign

In dieser prospektiven, randomisierten, doppelblinden Studie wurden bei Patienten mit kolorektalen Adenomen, die keine anderen schwerwiegenden Begleiterkrankungen aufwiesen, vor und am Ende einer sechsmonatigen Behandlung mit UDCA mittels Durchflusszytometrie (FACS-Analyse) die kolorektale Epithelproliferation bestimmt sowie per Gaschromatographie die jeweiligen Gallensäurenspiegel im Serum untersucht.

4.1. Patienten

4.1.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden Patienten in die Studie eingeschlossen, die die folgenden formalen bzw. klinischen Voraussetzungen („Einschlusskriterien“) erfüllten:

- Befund eines kolorektalen Adenoms bzw. von kolorektalen Adenomen
- Alter über 18 Jahre
- Gewicht unter 90 kg
- Keine Schwangerschaft, keine Stillzeit

- Keine Blutgerinnungsstörung, keine Einnahme von Antikoagulanzen und keine Einnahme von Acetylsalicylsäure oder NSARs
- Keine schwerwiegende Grunderkrankung, insbesondere kein Malignom
- Schriftliches Einverständnis (siehe Anhang)

Die Ausschlusskriterien ergeben sich reziprok aus der Übersicht der Einschlussparameter. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München geprüft und die Durchführung der Studie – nach der Deklaration von Helsinki – genehmigt.

4.1.2. Rekrutierung der Patienten

Die für die Studienteilnahme in Frage kommenden Patienten befanden sich entweder in ambulanter oder stationärer Behandlung der Medizinischen Klinik II am Klinikum Grosshadern. Im Allgemeinen wurden die Patienten von niedergelassenen Gastroenterologen mit der speziellen Indikation zur koloskopischen Polypektomie an die Medizinische Klinik II überwiesen, bei einem kleineren Teil der Patienten war die Indikation zur Polypektomie durch eine klinikinterne Vorkoloskopie gestellt worden. Einerseits erfolgte also die Rekrutierung der zur Koloskopie mit Polypektomie angemeldeten Patienten über die Endoskopie-Zentrale der Klinik (nach ambulanter Voruntersuchung), andererseits wurden Patienten direkt auf den Stationen der Med. Klinik II kontaktiert.

4.1.3. Aufklärungsgespräch und Einverständniserklärung

Die in Frage kommenden Patienten wurden vor der geplanten Koloskopie in einem ausführlichen Gespräch mit den Grundlagen der Studie vertraut gemacht. Das Gespräch umfasste standardisiert folgende Punkte:

1. Dauer der Studie
2. Aktuelle Coloskopie mit minimal-invasiven Biopsieentnahmen (in Addition zur indizierten Polypektomie)

3. Studienmedikation einschliesslich Verträglichkeit und möglicher unerwünschter Wirkungen, postulierte Wirkung des Studienmedikaments
4. Notwendigkeit einer zweiten Coloskopie mit Biopsieentnahmen nach 6 Monaten
5. Notwendigkeit einer zweimaligen Blutentnahme zu Beginn und gegen Ende der Medikamenteneinnahme
6. Angebot der telefonischen Betreuung und jederzeitigen Ansprechbarkeit durch Mitteilung der dienstlichen und privaten Telefonnummern
7. Möglichkeit des jederzeitigen Rücktritts von der Studie
 - a) ohne Angabe von Gründen (Zurückziehen des Einverständnisses)
 - b) bei Unverträglichkeit der UDCA (Verum) bzw. des Placebos
 - c) bei möglicher Schwangerschaft

Es wurde explizit auf die Notwendigkeit einer zweiten (Kontroll-) Coloskopie nach 6 Monaten hingewiesen, wenn die Entscheidung „pro Studienteilnahme“ lautete, und die Möglichkeit des jederzeitigen Rücktritts von der Studie (ohne Angabe von Gründen) angesprochen. Die interessierten Patienten erhielten eine schriftliche Erläuterung zur Studienidee (siehe Anhang) und den damit verbundenen Vorteilen und Risiken. Nach einer angemessenen Bedenkzeit erfolgte die freie Willenserklärung des Patienten mittels Unterschrift (siehe Anhang) bzw. die Ablehnung der Studienteilnahme.

4.1.4. Anamnese, Untersuchung und laborchemischer Status

Bei einer Entscheidung für die Teilnahme an der Studie wurden im Rahmen der Anamnese Name und Adresse der Patienten und familiäres KRK-Risiko erfasst. Die sich in gutem Allgemein- und Ernährungszustand befindlichen Patienten erfuhren eine kurze klinische Untersuchung. Zusätzlich wurden die Gerinnungsparameter (Quick/INR, PTT und Thrombozytenzahl) kontrolliert und die Einnahme von Acetylsalicylsäure bzw. Nicht-Steroidalen Antirheumatika (NSAR/NSAID) in den letzten 5 Tagen vor der Untersuchung ausgeschlossen. Bei einer Thrombozytenzahl $< 100.000/\mu\text{l}$ oder einer anderen an den o.g. Laborparametern erkennbaren Gerinnungsstörung wurde eine Koloskopie mit Polypektomie im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt. Bei Bedarf wurde zusätzlich eine Röntgen-Untersuchung

des Thorax und ein Elektrokardiogramm angefertigt. Unter Berücksichtigung der klinischen wie endoskopischen Vorbefunde wurde eine abschliessende Bewertung zur Studienteilnahme erstellt, im Einzelfall nach Rücksprache mit dem Studienleiter. Etwaige Kontraindikationen (Ausschlusskriterien, s.o.) wurden ausgeschlossen.

4.1.5. Blutentnahmen für die Gallensäurenbestimmung

Den Patienten wurden am Anfang und gegen Ende der Einnahme der Studiendauer mittels Venenpunktion 20 ml Vollblut entnommen, um einerseits das normale Serum-Gallensäurenprofil des Patienten (Nullwert) zu erfassen und andererseits eine mögliche Veränderung dieses Profils – unter UDCA- bzw. Placebo-Behandlung – zu dokumentieren. In der Regel erfolgte die Blutentnahme durch mich vor Einnahme des ersten Medikaments (T=0) und einige Tage vor Beendigung der Studie (T=180). Am jeweiligen Untersuchungstag erfolgte die Blutentnahme in mehr als 90% der Fälle zwischen 8.00 h und 9:00 h morgens, vor der Einnahme der jeweiligen Coloskopie-Trinklösung. Bei einigen weiter entfernt wohnenden Patienten wurde das Material aus praktischen Gründen bereits als Serum vom jeweiligen Hausarzt per Post zugesandt. Die weitere Analyse des Materials wird bei den technischen Methoden weiter unten beschrieben.

4.1.6. Betreuung der Patienten

Die Patienten wurden durch die zufällige Reihenfolge des Einschlusses in die Studie randomisiert. Jeder Studienteilnehmer erhielt zusätzlich zu einer farblich neutralen, nur mit einer fortlaufenden Nummer gekennzeichneten Medikamentenpackung (Verum oder Placebo) für die volle Studiendauer eine kleine Adresskarte mit Name und Telefonnummern des Betreuungsteams (Prof. Sackmann, Dr. Ochsenkühn, I. Marsteller). Die genaue Verblindung wird in Kapitel 4.2.2. beschrieben. Auf der Packung wurde die entsprechende Dosis – jeden Abend 3 Kapseln (= 750 mg UDCA oder Placebo), entsprechend 10-12 mg/kg KG des Patienten – vermerkt bzw. verordnet und ein Stempel der Gallensteinambulanz der Medizinischen Klinik II des Klinikums Grosshadern angebracht. Während der Studiendauer von 6 Monaten

wurden die Patienten stets telefonisch betreut; in wöchentlichen Intervallen wurde nach dem allgemeinen Befinden, der Stuhlanamnese und der Verträglichkeit der Medikation gefragt. Ein Sekundärziel der intensiven Betreuung war die Sicherung bzw. Verbesserung der Compliance. Mittels einer Zwischenanamnese wurde das Befinden am Ende der sechsmonatigen Studiendauer eingeschätzt und schriftlich fixiert.

4.2. Methoden

4.2.1. Coloskopie und Biopsieentnahmen

Nach klinischem Standard wurde bei den Patienten zweimal (zu Beginn und am Ende der Studie) eine hohe Coloskopie mit Polypektomie durchgeführt, nachdem zuvor eine gründliche Darmreinigung erfolgt war. Dazu nahmen die Patienten einen Tag vor der geplanten Untersuchung zur Mittagszeit eine flüssige Mahlzeit (Suppe) ein. Kurz darauf nahmen sie eine Flasche X-Prep® zu sich, ca. 6 Stunden später kam es zu einer geregelten Stuhlentleerung. Am Tag der Untersuchung wurde den Patienten etwa 2 bis 3 Liter Golytely-Coloskopie-Trinklösung (Apotheke Klinikum Grosshadern) verordnet. Die genaue Menge wurde durch die Qualität der Darmreinigung, d.h. Farbe und Konsistenz der Ausscheidung, bestimmt. Dies wurde in der Regel durch eine erfahrene Endoskopieschwester kontrolliert.

Die erste hohe Coloskopie mit indizierter Polypektomie wurde von endoskopisch erfahrenen Assistenzärzten der Med. Klinik II durchgeführt; in technisch besonders schwierigen Fällen konnte jederzeit ein Oberarzt zur Unterstützung hinzugezogen werden.

Es wurde bis zum Zoekalpol vorgespiegelt und dann während des Rückzugs des Endoskops die Entnahme von je 5 Stufenbiopsien pro Dickdarmsegment (Caecum, Colon ascendens, C. transversum, C. descendens, C. sigmoideum und Rectum) aus der unauffälligen Schleimhaut mit der Knipszange durchgeführt. Je nach Lokalisation des Polypen wurde die Polypektomie vor, während oder nach der Entnahme der Mukosabiopsien durchgeführt und das Exzitat einer histopathologischen Analyse

unterzogen. Die Patienten erhielten i.v. bei Bedarf ein Sedativum (Midazolam) und/oder Spasmolytikum (Buscopan®). Die endoskopische Untersuchung erfolgte unter ständiger Kontrolle von Pulsaktion und Sauerstoffsättigung.

Die zweite (Kontroll-) Coloskopie wurde sechs Monate nach Beginn der Einnahme des Studienmedikaments (Verum/Placebo) durchgeführt. Diese Untersuchung wurde identisch vorbereitet und in demselben Setting durchgeführt, wie die 1. Coloskopie.

Diese Untersuchung hatte zwei Ziele:

- a) Erhebung bzw. klinische Kontrolle des kompletten endoskopischen Befundes (nach Polypektomie)
- b) Gewinnung von 5 Biopsien pro Kolonsegment zur Bestimmung des epithelialen Proliferationsverhaltens nach sechsmonatiger Einnahme der Studienmedikation

4.2.2. Studienmedikation, Verblindung

Bedeutung und physikochemische Eigenschaften des Studienmedikaments UDCA (Verum) wurden bereits im Kapitel 2.2.2. ausführlich besprochen. In der vorliegenden Arbeit wurden Kapseln zu 250 mg Ursodeoxycholsäure (UDCA) oder Placebo durch die Fa. Dr. Falk Pharma GmbH, D-9041 Freiburg präpariert. Die Placebokapseln wurden mit Lactose (306 – 354 mg) gefüllt. Das äussere Erscheinungsbild des Inhalts („weisses Pulver“) der zwei Typen von Kapseln war nicht unterscheidbar. Die Kapseln waren in nummerierten, weissen Schachteln ohne Aufdruck verpackt; diese enthielten jeweils 600 Kapseln UDCA oder Placebo, damit war eine tägliche Einnahme von drei Kapseln über 6 Monate und 20 Tage möglich. Versiegelte Umschläge zur (notfallmässigen) Entblindung wurden bei Herrn Prof. Dr. M. Sackmann als verantwortlichem Studienleiter deponiert. Die Patienten erhielten UDCA in einer Dosis von 10-12 mg/kg KG/d. Allen Studienteilnehmern konnten 750 mg UDCA oder Placebo pro Tag in Form von 3 Kapseln zur abendlichen Einnahme verordnet werden (0 – 0 – 3).

Die Medikation wurde nach Abschluss der Studie entblindet und jeder Patient je nach Behandlungstyp in Verumgruppe (UDCA-Behandlung) oder Placebogruppe eingeordnet.

4.2.3. Primärpräparation der Biopsien

Die Aufarbeitung der Colonbiopsien war im Anschluss an die erste bzw. die zweite Endoskopie identisch, die Prozedur wird im Folgenden dargestellt:

Pro Kolonsegment wurden 5 Schleimhautpartikel entnommen, diese wurden wie folgt aufgeteilt: Zwei Biopsien wurden entweder für wenige Minuten in steriler 0,9 % NaCl-Lösung aufbewahrt, bevor sie bei -24°C eingefroren wurden oder direkt in „Cryocontainer“ (ohne Medium) verbracht und bei -24°C trocken eingefroren. Diese Biopsien wurden für die hier geschilderten Untersuchungen zur Proliferationsrate weiterverwendet. Eine weitere Biopsie wurde in „tissue tek gel“ eingebettet, das vorher auf einen ca. 2 cm^2 kleinen Pappdeckel gegeben wurde. Anschliessend wurde dieses Gebilde kurz in flüssiges 2-Methylbutan eingetaucht. Diese Substanz wurde in separater Flasche in einem fest verschlossenen Trockeneisbehälter gelagert. In diesem Behälter mit Trockeneis wurde die schockgefrorene Biopsie in das Pathologische Institut des Klinikums Grosshadern gebracht und bis zur weiteren Verarbeitung dort bei -80°C eingefroren. Die Biopsien Nummer 4 und 5 wurden zusammen in einem kleinen Plastikgefäss in 4%iger Formalin-Lösung gelagert und ebenfalls zur weiteren Untersuchung in das Pathologische Institut der Universität gebracht. Anhand der letzten drei Biopsien wurde von U. Hay in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. G.B. Barretton einerseits ein histologischer Befund erstellt, andererseits wurden Untersuchungen zur Apoptose (Bestimmung der Bcl-2 Antigenexpression) durchgeführt.

4.2.4. Aufarbeitung der Biopsien für FACS

Die Kerne aus den Mukosazellen wurden mittels einer etablierten Extraktionstechnik gewonnen, die Grundlage bereits veröffentlichter Studien zur Bestimmung der mukosalen Proliferationsrate war [Ochsenkühn et al., 1999][Meining et al., 1998]. Die beiden aus einem Kolonsegment entnommenen Biopsien wurden getrennt voneinander präpariert. Das heisst, dass sechs mal zwei kolorektale Mukosa-Biopsien wie folgt aufgearbeitet wurden:

Nach dem langsamen Auftauen der zuvor in -24°C gelagerten Gewebeproben in Eis wurden die Zellverbände in 2 ml OTTO-Puffer gegeben und mit einem Handkeramikmörser mechanisch homogenisiert. Die resultierende Suspension wurde dann in Reaktionsgefässen im 37°C warmen Wasserbad 20 min. geschüttelt und damit durchmischt. Anschliessend erfolgte im Eisbad eine Ultraschallbehandlung über eine Dauer von sechs mal dreissig Sekunden. Nach nochmaligem Spülen der Suspension mit OTTO-Medium wurde die entstandene Lösung bei 500 U/min., 40 g entsprechend, zentrifugiert. Nach Abnahme des Überstands wurden Pellet und schleimiger Satz verworfen und der Überstand bei 3300 U/min. (entspricht 1700 g) für 10 min. erneut zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Überstand verworfen und das Pellet mit 2 ml 4°C kaltem PBS-Medium gewaschen sowie mit Hilfe einer Spritze mit langer Kanüle sechsmal resuspendiert. Die resultierende Suspension wurde nun bei 3500 U/min. (entspricht 1950 g) für 10 min. zentrifugiert. Nach Verwerfung des Überstands musste das Pellet in 2 ml Raumtemperatur-warmer 0,1% Tritonlösung mit der Spritze resuspendiert werden, um die einzelnen Zellen aus dem Gewebeverband herauszulösen. Die erhaltene Zellsuspension wurde 10 min. bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Abschliessend wurde bei 1950 g zentrifugiert, mit PBS resuspendiert und die Zellsuspension mit 700 μl -18°C kaltem, 95%igen Ethanol in Eppendorf-Reaktionsgefässen fixiert. Diese Suspension wurde über mindestens 7 Tage bei 4°C im Kühlschrank gelagert, um eine nahezu vollständige Permeabilisierung der Membranen zu erreichen.

Anschliessend erfolgte die Färbepreparation für die Durchflusszytometrie: Die fixierte und mindestens 7 Tage ruhende DNA in den Zellkernen wurde bei 12000 U/min. (entspricht 13500 g) 15 min. ohne Bremse zentrifugiert, danach wurde der Überstand verworfen und vorsichtig 400 μl PBS-Medium zugegeben. Dreimaliges Zentrifugieren ohne Bremse bei 12000 U/min. über 5 Minuten - mit obligat folgendem Verwerfen des Überstands - und zwischenzeitiger zweimaliger Beigabe von 400 μl 10%igem AB-Serum inklusive guter Durchmischung führte zu einer Kernsuspension, der 300 μl Propidiumjodid-Lösung (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) in einem abgedunkeltem Raum zugegeben wurden. Die Anwendung von Propidiumjodid erfolgte obligat lichtgeschützt, damit fluoreszierende Eigenschaften des Farbstoffes nicht vor der FACS-Analyse verloren gingen. Nach ausreichender Aufemulgierung wurde diese Suspension über mindestens 45 Minuten abgedunkelt bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank oder im Eisbehälter –

mit Alufolie bedeckt – inkubiert. Während dieser Zeit wurde die Suspension immer wieder durchmischt. Dann erfolgte die Filterung durch ein Nylon- oder alternativ Metallnetz mit einer Porengrösse von 50 µm. Abschliessend wurde die Küvette des FACScan Durchflusszytometers für die Fluoreszenz-basierte Messung mit der Suspension der permeabilisierten Nuclei gefüllt.

4.2.5. FACS-Messungen und FACS-Analyse

Nach der vorangegangenen Aufarbeitung betrug das Volumen ca. 500 µl. In diesem Volumen wurde durch das Durchflusszytometergerät ‚FACScan‘ mit dem dazugehörigen CellFit™-Programm (Becton-Dickinson, Heidelberg) der DNA-Gehalt von 50.000 Nuclei ermittelt. Die allgemeine Funktion des FACS-Gerätes zur Zellzyklusanalyse wurde in Kapitel 2.3. dargestellt. Hier diente ein Doubletten-diskriminierungsmodul zur Erkennung von Zelldoubletten; die erforderliche Durchflussrate betrug 200 Nuclei/min., als additiver Standard wurden Lymphozyten (aus Humanblut) verwendet [Bach et al., 1991]. Gemessen wurde die Propidiumjodid-Exzitation der Kerne in Suspension; deren Rohdaten wurden gespeichert.

Für die automatisierte Analyse der Daten wurde das o.g. Computerprogramm (CellFit™) genutzt. Im RFIT-Modus dieses Programms wurden die ermittelten DNA-Signale quantifiziert und analysiert. Um Kerndoubletten, Zelldebris und beschädigte Nuclei bei der DNA-Analyse auszuschliessen, wurde das Zweiparameter-Punktehistogramm („dot plot“) „gegatet“, d.h. es wurde ein Auswertefenster definiert. Anschliessend wurde diese Darstellung wie auch das dazugehörige Einparameter-DNA-Histogramm graphisch dargestellt. So wurden die jeweiligen DNA-Indizes, CV-Werte (Variationskoeffizienten) und die prozentualen Anteile der Zellzyklusphasen determiniert.

Nach der Bestimmung des DNA-Gehalts von 50000 Kernen pro Biopsie konnte so der Proliferationsindex (PI) der epithelialen Zellen, der Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa entsprechend, bestimmt werden [Barlogie et al., 1983]. Der PI ist als der prozentuale Anteil an Zellen definiert, deren DNA sich entweder in der S-Phase oder der G2/M-Phase des Zellzyklus befindet; also den Zellzyklusphasen der

aktiven Teilung der Zelle. Dieser Wert wurde zweimal pro Kolonsegment bestimmt, nämlich aus jeder Biopsie einmal; daran anschliessend wurde deren Mittelwert errechnet. Aus dem Durchschnitt aller segmentalen Proliferationsindizes konnte eine Gesamtproliferationsrate für das Kolon errechnet werden [Ochsenkühn et al., 1999].

4.2.6. Chromatographische Analyse der Serumgallensäuren

Eine bis maximal zwei Stunden nach der Blutentnahme wurde das Material zentrifugiert und das resultierende Serum anschliessend bei -18°C tiefgefroren. Die gesammelten Proben wurden am Ende der Studie mittels gaschromatographisch-massenspektrometrischer Analyse untersucht [Ochsenkühn et al., 1999][Setchell et al., 1987].

Die in 2 ml Serum enthaltenen Gallensäuren wurden mit einer Bond Elut C18-Säule extrahiert. Danach erfolgte die Elution der Gallensäuren mit 6 ml 75% Ethanol. Das Eluat wurde anschliessend auf einen pH-Wert von 3,5 titriert und dreimal mit n-Hexan gewaschen. Die Gallensäuren wurden nun enzymatisch solvolysiert und dekonjugiert. Die dekonjugierten Gallensäuren wurden auf eine Lipidex-1000-Säule gegeben und anschliessend mit 10 ml 75% Ethanol eluiert. Im nächsten Schritt wurden sie methyliert und silyliert. Die Trimethylesterderivate wurden dann unter N_2 -Begasung getrocknet und in 25 μl Iso-Oktan aufgenommen. 1 bis 2 μl davon wurden schliesslich zur gaschromatographischen Analyse injiziert. Der dafür eingesetzte Gaschromatograph (Fa. Varian, Modell 3700) enthält eine Kapillarsäule von 25 m Länge mit einem Innendurchmesser von 0.32mm (Fa. Chrompack, Middelburg, Niederlande: OV-1701, CP-Sil-19-CB). Die Quantifizierung erfolgte unter Bezug auf Hyodeoxycholsäure als internem Standard.

4.2.7. Statistische Auswertung

Die Patientendaten wurden in Tabellen erfasst und nach Ende der Studie ausgewertet. Die Gesamtproliferationsrate des Colons wurde als statistischer Mittelwert des proliferativen Index (PI) der Einzelsegmente berechnet. Die Gesamtserumkonzentration der Gallensäuren wurde als Summe der gemessenen

Einzelfraktionen bestimmt. Die deskriptive Statistik (Mittelwert, Standardabweichung) wurde mittels des Computerprogramms Microsoft™ Excel erhoben. Die Prüfung auf Signifikanz wurde mit dem Student t-test durchgeführt, wobei ein $p < 0.05$ als statistisch signifikant anerkannt wurde.

5. Ergebnisse

5.1. Patienten

5.1.1. Compliance und Auswertung

Von Oktober 1996 bis einschliesslich Juni 1998 erfüllten 34 Patienten die formalen Einschlusskriterien. Diesen wurde in einem ausführlichen Gespräch die Teilnahme an der Studie angeboten. Nach einer ausführlichen Aufklärung über die Grundlagen der Studie entschlossen sich 29 dieser 34 Patienten schriftlich zu einer Teilnahme. Von jenen 29 brachen sieben Patienten die Studie vorzeitig (d.h. vor Durchführung der Kontrollcoloskopie) ab, davon waren drei in der Verumgruppe und vier in der Placebogruppe.

Die als Ursache für den Studienabbruch angegebenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen betrafen epigastrische Beschwerden (n=3), Veränderungen des Stuhlgangs (n=2), unspezifische Beschwerden im Zusammenhang mit einer vorbestehenden Sialolithiasis (n=1). Ein Patient beendete die Studie ohne Angabe von Gründen. Über die sechsmonatige Studiendauer compliant blieben 22 Patienten, elf in jeder Gruppe. Diese Teilnehmer unterzogen sich der Kontrollcoloskopie nach sechsmonatiger Studienmedikation. Die kolorektalen Biopsien von zwei Patienten (je einem in der Verum- und Placebogruppe) konnten aus technischen Gründen nicht verarbeitet werden, somit konnten die Daten von 20 Patienten ausgewertet werden.

Bei Entblindung der Medikation nach Abschluss aller Kontrollcoloskopien stellte sich die Verum-Placebo-Relation als 1:1 dar. So wurden die Daten von 10 UDCA einnehmenden Patienten (Verumgruppe) mit denen der 10 Patienten in der Placebogruppe verglichen, was in den folgenden Kapiteln dargestellt ist.

5.1.2. Alter, Gewicht und Geschlecht der Studienteilnehmer

Die wesentlichen Charakteristika der zweimal zehn Patienten sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die Patientennamen wurden mit Nummern verschlüsselt.

| <u>Patient (Nr.):</u> | <u>Alter (Jahre)</u> | <u>Gewicht (in kg)</u> | <u>Geschlecht (M/W)</u> | <u>Medikation</u> |
|-----------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|
| 1 | 61 | 74 | M | Placebo |
| 2 | 54 | 83 | M | Placebo |
| 3 | 58 | 73 | M | Verum |
| 4 | 58 | 74,5 | M | Placebo |
| 5 | 55 | 70 | W | Verum |
| 6 | 51 | 78 | W | Verum |
| 7 | 57 | 72 | W | Verum |
| 8 | 77 | 69,5 | M | Verum |
| 9 | 65 | 75 | W | Placebo |
| 10 | 60 | 100 | W | Placebo |
| 11 | 55 | 78 | M | Verum |
| 12 | 59 | 74 | M | Placebo |
| 13 | 63 | 90 | M | Placebo |
| 14 | 71 | 76 | M | Verum |
| 15 | 61 | 78 | M | Verum |
| 16 | 63 | 85 | M | Placebo |
| 17 | 58 | 82 | M | Placebo |
| 18 | 56 | 87,5 | M | Verum |
| 19 | 62 | 82 | M | Verum |
| 20 | 66 | 80 | M | Placebo |

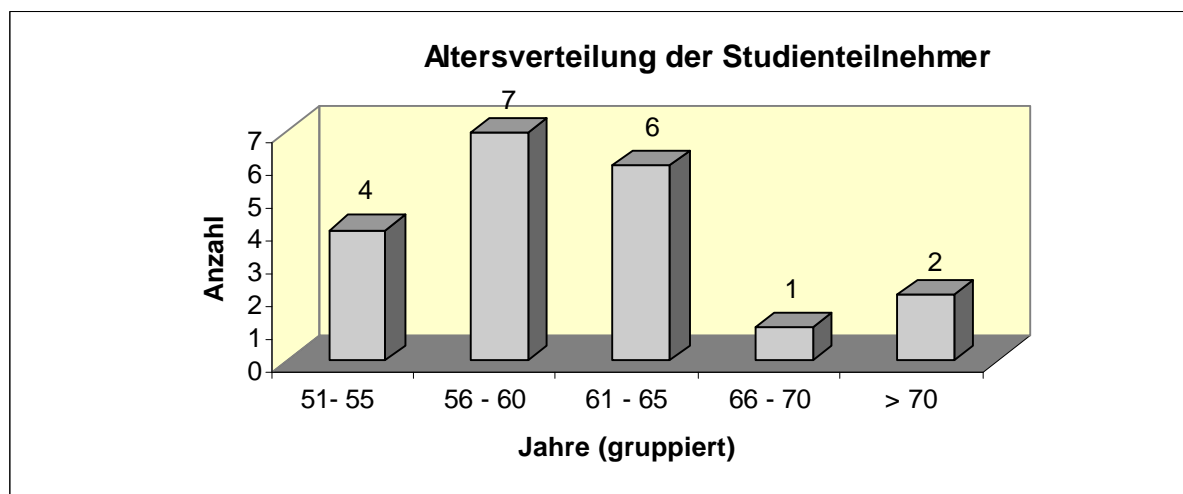
Tabelle 1: Alter, Gewicht und Geschlecht (M= männl., W= weibl.) der Studienteilnehmer mit Medikation

Der Gesamtaltersdurchschnitt der Studienteilnehmer betrug 60,5 Jahre. In der Placebogruppe lag der Altersdurchschnitt bei $60,7 \pm 3,7$ Jahren, in der Verumgruppe bei $60,3 \pm 8,0$ Jahren (n.s.). In Graphik 5 ist die Altersverteilung aller Studienteilnehmer nach Jahresgruppen sortiert dargestellt. Erkennbar ist eine deutliche Häufung der teilnehmenden Patienten im Alter von 55 bis 65 Jahren, kein Patient war unter 51 Jahre alt.

Die Studienteilnehmer waren im Durchschnitt 79,4 kg schwer. In der Verumgruppe lag das Durchschnittsgewicht bei $75,9 \text{ kg} \pm 3,9$. Die Placebo einnehmenden

Studienteilnehmer wogen im Durchschnitt $82,6 \text{ kg} \pm 8,5$. Die Gewichtsangaben der beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Beim Geschlechterverhältnis der Studienteilnehmer überwog das männliche Geschlecht deutlich (15 ? : 5 ?). Das betraf sowohl die Verum- (7 ? : 3 ?) als auch – in ähnlichem Verhältnis – die Placebogruppe (8 ? : 2 ?).



Graphik 5

5.1.3. Anamnestisch-klinischer und endoskopisch-histologischer Status

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten waren in einem guten Allgemein- und Ernährungszustand, kein Patient litt an einer konsumierenden Erkrankung oder einer Gerinnungsstörung. Familienanamnestisch berichteten drei Patienten über aufgetretene Kolonkarzinomerkrankungen bei Verwandten 1. Grades (z.B. Mutter), eine Patientin über gehäufte Adenome bei der Mutter. Somit wiesen in dieser Studienpopulation 15% der Adenomträger eine positive Familienanamnese bezüglich des Auftretens eines Kolonkarzinoms auf.

Bezüglich der Medikamenten-Anamnese konnten alle Patienten die Einnahme von Acetylsalicylsäure bzw. Nicht-Steroidalen Antirheumatika (NSAR/NSAID) im Rahmen der endoskopischen Untersuchungen verneinen. Die anschließende klinische

Untersuchung erbrachte bei keinem Studienteilnehmer eine Kontraindikation zu Endoskopie, Blutentnahme und Verordnung der Studienmedikation.

Alle 20 ausgewerteten Patienten wiesen mindestens ein kolorektales Adenom auf. Multiple Polypen fanden sich bei 12 Patienten (60%), 8 Patienten (40%) wiesen singuläre Adenome auf. In der Regel besaßen Patienten mit multiplen Polypen neben einem Adenom sogenannte „Polypenknospen“, d.h. zumeist hyperplastische Schleimhauerhebungen (< 0,5 cm \varnothing), die im Allgemeinen selten zur bioptischen Abklärung führen. Diese Läsionen wurden bei unauffälliger makroskopischer Einschätzung über die Studienperiode beobachtet und entwickelten keine erkennbare Grössenprogredienz.

Im Rahmen der histologischen Analyse der ektomierten Polypen fand sich bei 9 Patienten ausschliesslich Gewebe vom tubulo-villösen Typ, bei 10 Patienten ausschliesslich Gewebe vom tubulären Typ und bei einem Patienten sowohl ein tubuläres als auch ein tubulo-villöses Adenom. Bei Untersuchung der Ausdehnung der Adenome ergab sich folgender Befund: Grosse Adenome mit einem Durchmesser von 1 cm oder darüber wiesen 12 Patienten auf (60%), bei 8 Patienten (40%) war der grösste Polyp kleiner als 1 cm im Durchmesser. Unter den grossen Polypen (n=12) waren 8 mit tubulo-villösem Muster (67%) und 4 mit rein tubulärer Histologie (33%); bei den kleineren Adenomen (< 1 cm \varnothing , n=15) wiesen 12 ein tubuläres Muster auf (80%), nur 3 zeigten eine tubulo-villöse Histologie (20%).

In der Studienpopulation wurden keine höhergradigen Epitheldysplasien bzw. Kernatypien festgestellt. Die histologische Aufarbeitung der Kontrollbiopsien der Kolonmukosa zeigte keine Zeichen von Entzündung, Dysplasien oder infiltrativ wachsenden, atypischen Zellen. Bei keinem Studienteilnehmer wurden aberrante Krypten beschrieben. Bei der endoskopischen Entnahme der Kontrollbiopsien kam es zu keiner Blutung oder Perforation.

In Tabelle 2 sind die endoskopisch-histologischen Befunde der Studienteilnehmer nach Gruppen getrennt zusammengefasst. Neben Durchmesser und Lokalisation des/der Polypen sind die wesentlichen klinischen Nebenfunde der Patienten und deren Familienanamnesen bezüglich Tumoren des Dickdarms angegeben.

| Patienten-Nr. | Adenomtyp | Durchmesser Polyp(en) | Lokalisation im Colon | Neben-Befund | Familien-anamnese |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| <u>Verumgruppe:</u> | | | | | |
| 3 | Tubulovillös | 15 | Sigma | COPD | Mutter, Ca., † |
| 5 | Tubulovillös | 20 | Sigma | ----- | Mutter, Ad. |
| 6 | Tubulo- und Tubulovillös | 5, 5, 4 | Caecum, Ascendens, Transversum | HR, Marisken | ----- |
| 7 | Tubulär | 7, 10 | Descendens, Sigma | HR, Marisken | ----- |
| 8 | Tubulär | 5 | Sigma | HR, „Knospen“ < 5 mm | ----- |
| 11 | Tubulovillös | 15 | Sigma | „Knospen“ < 5 mm, HR | ----- |
| 14 | Tubulär | 4 | Ascendens | HR | ----- |
| 15 | Tubulär | 11, < 10 | Sigma, Ascendens | Metabol. Syndrom | Mutter, Ca. (50 J.), † |
| 18 | Tubulär | 5, 5 | Rectum, Sigma | HR, Gastritis | ----- |
| 19 | Tubulovillös | 9 | Rectum | Angiodysplasien, HR | ----- |
| <u>Placebogruppe:</u> | | | | | |
| 4 | Tubulär | 20 | Sigma | HR, „Knospen“ < 5 mm | ----- |
| 17 | Tubulovillös | 20 | Sigma | Z.n. Ulcus ventriculi | Mutter u. Tante, Ca., † |
| 12 | Tubulovillös | 15 | Descendens | Metabol. Syndrom | ----- |
| 13 | Tubulär | 5, 4 | Caecum, Ascendens | HR | ----- |
| 1 | Tubulär | < 10 | Transversum | „Knospen“ < 5 mm, Divertikel | ----- |
| 2 | Tubulovillös | 20, 15 | Transversum, Sigma | „Knospen“ < 5 mm, Divertikel | ----- |
| 16 | Tubulovillös | 15 | Sigma | „Knospen“ < 5 mm, Divertikel | ----- |
| 20 | Tubulär | 10 | Transversum | „Knospen“ < 5 mm, Metabol. Syndrom | ----- |
| 9 | Tubulär | < 10 | Sigma | ----- | ----- |
| 10 | Tubulovillös | 5 | Rectum | HR | ----- |

Tabelle 2: HR= Hämorrhoiden. Durchmesser der Polypen in mm. Knospen= Polypenknospen. Ca.= Carcinom; Ad.=Adenom. Weitere Erläuterungen im Text.

Beispielhaft wird ein für die Studienpopulation charakteristischer coloskopischer Erstbefund mit histopathologischer Beurteilung wiedergegeben:

Patient: Nr. 19, geb. XX.XX.XX

Medikation: Midazolam (5 mg)

Gerät: CF 30J

Bei der Untersuchung am XX.XX.XX wurde folgender Befund erhoben:

Bekannter coloskopischer Befund (Angiodysplasien, Polyp im Rektosigmoid und bei ca. 25 cm zwischen 2 Falten ein weiterer kleiner (um 0,5 cm)), insofern ist dem Vorbefund nichts hinzuzufügen. Stufenbiopsien. Komplikationslose Abtragung des Polypen bei 15 cm, ein kleines Restchen bleibt auf der Falte stehen. Bei unauffälliger Histo WV in 6 Monaten zur Abtragung des proximalen Polypen und Kontrolle der Abtragungsstelle. Die Angiodysplasie im Caecum wird belassen, da es bislang zu keiner Blutung gekommen ist. Proktoskopisch Hämorrhoiden.

Dr. ABC, Medizinische Klinik II, Klinikum Grosshadern der LMU München

Zugehöriger mikroskopischer Befund PE Polyp Rectum, eingegangen am XX.XX.XX:

Schnittstufen durch den 9 mm messenden Biopsiepartikel zeigen polypöse Dickdarmschleimhaut mit tubulovillösem Baumuster mit bis mittelgradiger Hyperchromasie und Varianz der Drüsenepithelien, offenbar am Absetzungsrand erhebliche Koagulationsartefakte, hier soweit beurteilbar regelrecht strukturierte Dickdarmkrypten ohne wesentliche Atypien. Eine Infiltration der miterfassten Submucosa durch atypische epitheliale Zellen ist nicht erkennbar.

Kritischer Bericht:

Der Befund entspricht einem tubulovillösen Dickdarmschleimhaut-Adenom mit geringer Dysplasie, offenbar im Gesunden entfernt.

i.A. Dr. XYZ (Pathologisches Institut der Universität München)

5.1.4. Klinisch-chemischer Befund

Bei der laborchemischen Analyse wurde besonderes Augenmerk auf die Gerinnungsfunktion gelegt. Die Bestimmung dieser Parameter (Thromboplastinzeit = Quick bzw. INR, PTT und Thrombozytenzahl) wurde neben der Bestimmung des kleinen Blutbildes und der wichtigsten Elektrolyte im Serum obligat vor jeder Coloskopie durchgeführt. Bei einer Thrombozytenzahl < 100.000/ μ l oder einer anderen an den o.g. Laborparametern erkennbaren Gerinnungsstörung wurde auf eine Koloskopie mit Polypektomie im Rahmen dieser Studie verzichtet. Im Folgenden sind die Parameter des Patienten Nr. 20 auszugsweise dargestellt:

| <u>Blutbild</u> | | <u>Blutgerinnung</u> | |
|-----------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| Leukozyten | 4,8 (4,0- 11,0) G/l | Quick | 95 (70- 100) % |
| Erythrozyten | 5,13 (4,5- 6,3) T/l | PTT | 34 (26- 41) sec. |
| Hämoglobin | 15,0 (14,0- 18,0) g/dl | Fibrinogen | 326 (160- 400) mg/dl |
| Hämatokrit | 0,445 (0,38- 0,52) | | |
| Thrombozyten | 175 (150- 440) G/l | | |

Serumchemie

| | | | |
|----------------|-----------------------|--------------|------------------------|
| Natrium | 139 (135- 150) mmol/l | Kalium | 4,3 (3,5- 5,0) mmol/l |
| Kreatinin | 1,07 (0,5- 1,2) mg/dl | Harnstoff | 23,7 (9,0- 50,0) mg/dl |
| Bilirubin ges. | 1,07 (< 1,00) mg/dl | aP | 80,0 (50,0- 190,0) U/l |
| Gamma-GT | 18,0 (4,0- 28,0) U/l | ALT (GPT) | 18,0 (5,0- 24,0) U/l |
| AST (GOT) | 13,0 (5,0- 17,0) U/l | a-Amylase | 35 (< 120) U/l |
| CK | 23,0 (< 80) U/l | LDH | 130 (80,0- 240,0) U/l |
| Cholesterin | 260 (140- 240) mg/dl | Triglyceride | 351 (70- 250) mg/dl |
| Harnsäure | 8,0 (3,5- 7,0) mg/dl | CRP | < 0,5 (< 0,5) mg/dl |
| Glucose | 131 (55- 100) mg/dl | TSH | 2,88 (0,3- 4,0) mcU/ml |

Gerinnungsfunktion und Blutbild sind ohne pathologischen Befund, es fallen wenige pathologische Veränderungen auf, die mit dem anamnestisch ermittelten ‚Metabolischen Syndrom‘ des Patienten gut vereinbar sind.

Die Entnahme von 20 ml Vollblut zur Gallensäurenbestimmung erfolgte separat zu den präcoloskopischen Analysen einige Tage nach der ersten bzw. vor der zweiten Coloskopie; der routinemässige Ablauf (inklusive Zentrifugation) gestaltete sich komplikationslos. Die Ergebnisse werden im Detail weiter unten beschrieben.

5.1.5. Arzneimittelverträglichkeit

Unter Punkt 5.1.1. wurden die Gründe derjenigen Patienten beschrieben, die sie zum Studienabbruch bewegten. Nach Rücksprache mit den betreuenden Hausärzten kam es bei keinem der Studienabbrecher zu einer schwerwiegenden Nebenwirkung bzw. Komplikation; nach Absetzen der Studienmedikation waren die Beschwerden rückläufig. Zwei Patienten konsultierten in diesem Zusammenhang weder ihren Hausarzt noch die Medizinische Klinik II.

Bei den Patienten, die die Studie beendeten, traten über die gesamten sechs Monate keine unerwünschten Arzneimittelwirkungen auf. Im Rahmen der regelmässigen telefonischen Betreuung berichtete die Mehrzahl der Patienten über sporadische, tolerierbare Veränderungen im Stuhlgang mit Tendenz zur Frequenzsteigerung bzw. Abnahme der Konsistenz, allerdings unabhängig von der Art der Medikation. Bei Patientin Nr. 7, die über eine Neigung zur Obstipation berichtete, verbesserte beispielsweise das Studienmedikament UDCA das subjektive Befinden. Insgesamt wurden sowohl Verum- als auch Placebopräparat sehr gut vertragen.

5.2. Proliferationsraten der Kolonmukosa

In den folgenden sieben Abschnitten sind die Proliferationsraten der kolorektalen Mukosa – dem kolorektalen PI entsprechend – aufgeführt. Zuerst wird der durchschnittliche PI für das gesamte Kolon („Gesamtproliferationsrate“ aller Kolonsegmente) und anschliessend der PI nach Segmenten geordnet dargestellt. Dabei werden mit Hilfe von Säulendiagrammen und Box-Plots sowohl die individuellen Proliferationsraten als auch die durchschnittlichen PI's von Verum- und Placebogruppe beschrieben, jeweils vor und gegen Ende („nach“) der

Behandlungsperiode. Hier ergeben sich hinsichtlich der Auswertung der PI's vier Untergruppen:

- I. Placebo vor (d=0): Patienten vor Beginn der Placebo-Behandlung, Zeitpunkt der ersten Coloskopie („Nullwert“)
- II. Placebo nach (d=180): Patienten am Ende der sechsmonatigen Behandlung mit Placebo, Zeitpunkt der Kontrollcoloskopie
- III. Verum vor (d=0): Patienten vor Beginn der UDCA-Behandlung, Zeitpunkt der ersten Coloskopie („Nullwert“)
- IV. Verum nach (d=180): Patienten am Ende der sechsmonatigen Behandlung mit UDCA, Zeitpunkt der Kontrollcoloskopie

Für eine bessere graphische Darstellung der Daten sind alle Patienten (Nr. 1 – 20) in Tabelle 3 („Schlüssel“) paarweise durch die Grossbuchstaben A – J kodiert. Die je vier Säulen pro Grossbuchstaben bedeuten die PI's eines Patienten „vor“ und „nach“ Verum-Behandlung und eines anderen Patienten „vor“ und „nach“ Placebo-Behandlung. Diese Tabelle gilt für die Entschlüsselung der Abszissen aller im Kapitel 5.2. dargestellten Säulendiagramme.

| | | | | | |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <u>Patienten:</u> | A | B | C | D | E |
| Verum | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Placebo | 1 | 2 | 4 | 9 | 10 |

| | | | | | |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <u>Patienten:</u> | F | G | H | I | J |
| Verum | 11 | 14 | 15 | 18 | 19 |
| Placebo | 12 | 13 | 16 | 17 | 20 |

Tabelle 3 („Schlüssel“): Paarweise Zuordnung (A – J) der Patienten-Nummern für die Darstellung der Daten mit Säulendiagrammen

5.2.1. Gesamtproliferationsrate des Kolons

Die Gesamtproliferationsrate des Kolons ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der PI-Werte der Einzelsegmente. In der Verumgruppe beträgt die durchschnittliche Proliferationsrate (PI) für das gesamte Kolon vor Behandlung 16.63% ± 2.47. Nach UDCA-Einnahme über 6 Monate lautet der PI 15.35% ± 2.62. Der durchschnittliche PI in der Placebogruppe lautet 14.86% ± 2.74 vor und 16.01% ± 2.22 nach sechsmonatiger Studienperiode. Diese Resultate zeigen keinen signifikanten Unterschied (n.s.), weder zwischen den jeweiligen Gruppen „vor“ bzw. „nach“ Einnahme noch beim Vergleich der Werte d=0 zu d=180 innerhalb der eigenen Gruppe.

Tendenziell ist bei den UDCA-einnehmenden Patienten A, C und D in Diagramm 1 eine deutliche Abnahme des PI unter Verumtherapie erkennbar. Patient F zeigt eine geringe Abnahme des PI; bei den Verum-einnehmenden Patienten B, E, G, H, I und J sind fast unveränderte PI-Werte, z.T. sogar geringe Zunahmen des PI messbar.

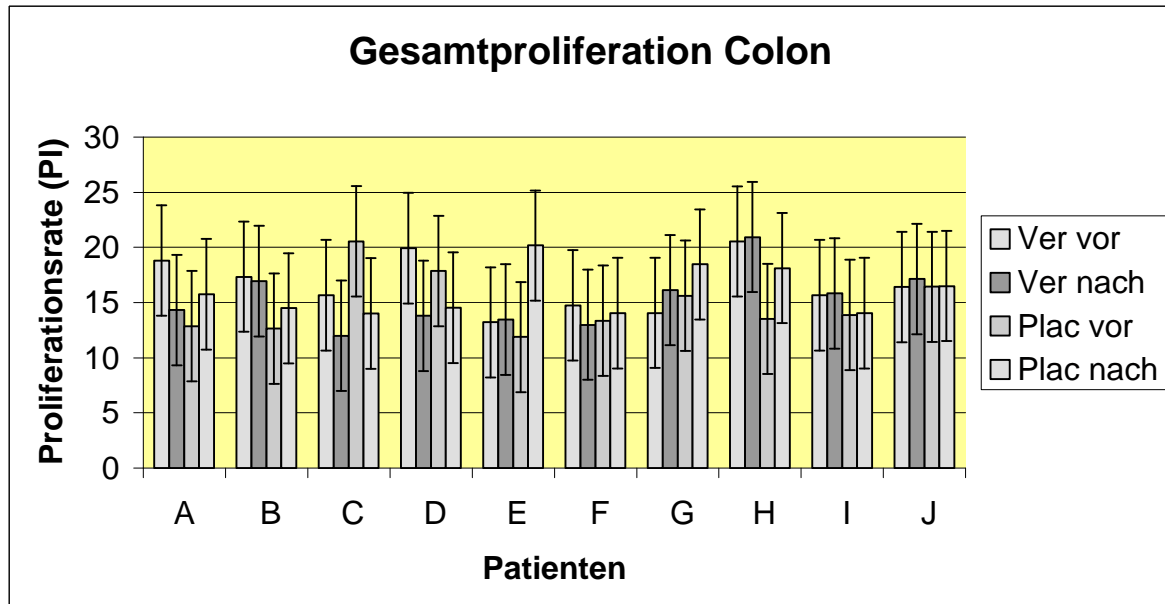
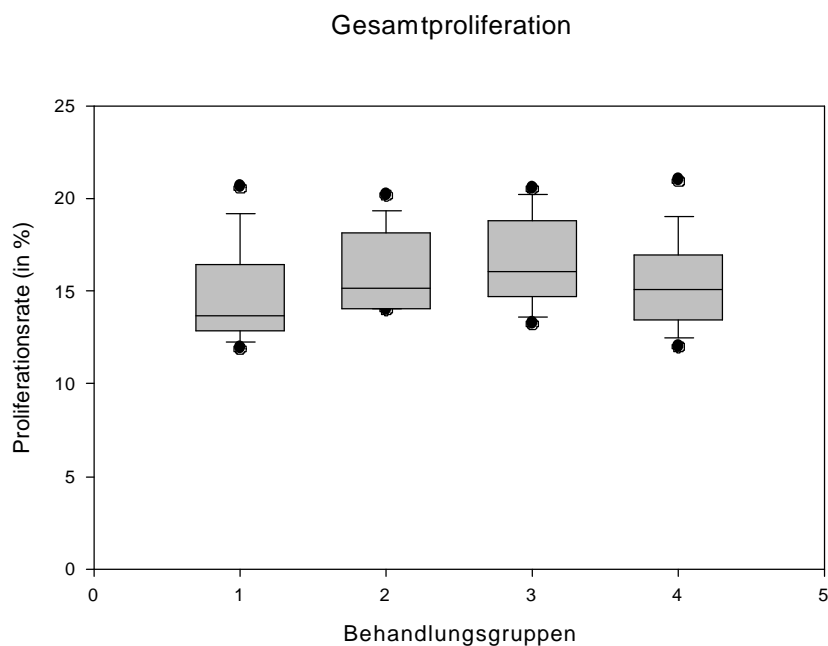


Diagramm 1: Proliferationsrate (PI) als % der in der S + G₂M-Phase des Zellzyklus befindlichen Zellkerne der kolorektalen Mukosabiosien. Patientenpaare (A–J) entsprechen der Entschlüsselung in angefügter Tabelle. „Ver vor“ / „Ver nach“ = PI vor bzw. am Ende der UDCA-Behandlung, „Plac vor“ / „Plac nach“ = PI vor bzw. am Ende der Placebo-Behandlung.

Unter den Placebo-einnehmenden Patienten sind die Ergebnisse ebenfalls nicht einheitlich: Patienten A, B, E, F, G, I zeigen PI-Steigerungen, bei den Übrigen finden sich Werte mit gleichbleibender bzw. fallender Tendenz. Bei dem unten dargestellten zugehörigen Box-Plot der Verumgruppe vor und nach Therapie findet sich eine tendenzielle Abnahme des PI (Plot 3, d=0 versus Plot 4, d=180; n.s.). In der Placebogruppe (Plot 1, d=0 versus Plot 2, d=180) findet sich eine geringe Zunahme des mittleren PI, welche oben bereits in Zahlen beschrieben wurde.



Box-Plot 1: 1: Gruppe I (Placebo, d=0). 2: Gruppe II (Placebo, d=180). 3: Gruppe III (Verum, d=0). 4: Gruppe IV (Verum, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

5.2.2. Proliferationsrate im Caecum

Analog den beiden Darstellungen für das gesamte Colon werden die Ergebnisse für die Einzelsegmente, hier für das Caecum beschrieben. Die Datenlage ist uneinheitlich:

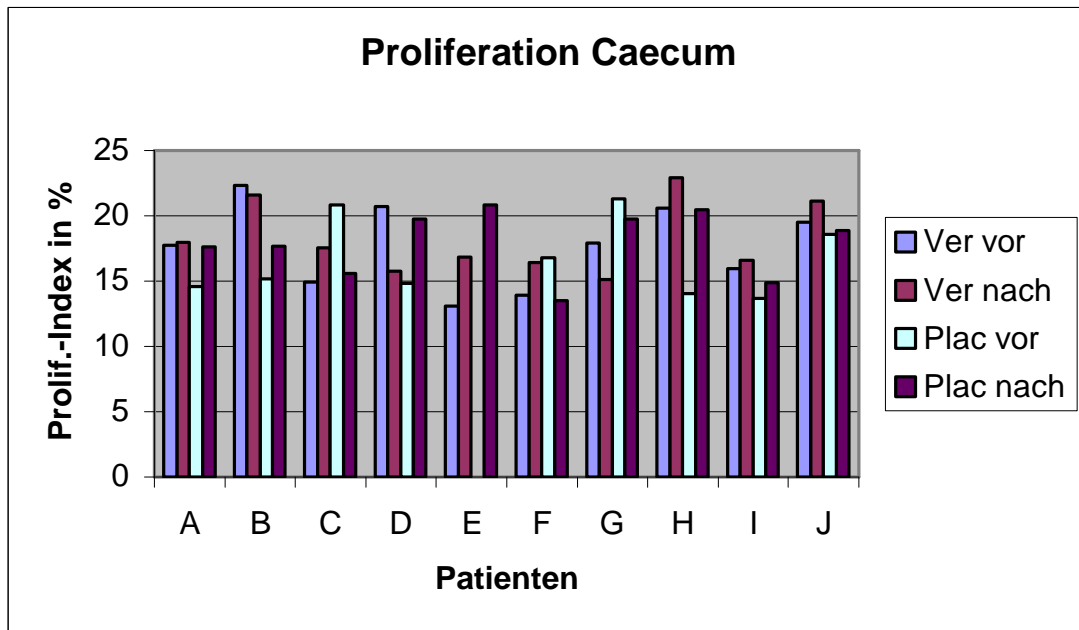
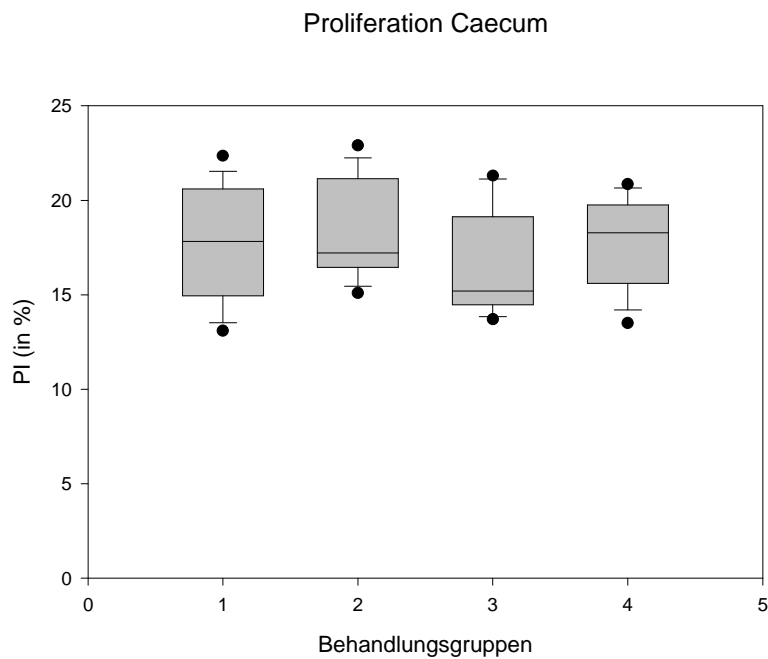


Diagramm 2: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.



Boxplot 2: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

Bei den Patienten A, C, E, F, H, I und J der Verumgruppe kommt es nach Behandlung mit UDCA zu einem Anstieg des PI. Patienten B, D und G zeigen in dieser Gruppe eine Abnahme der Proliferationsrate nach sechsmontiger Behandlung mit UDCA. Der PI-Mittelwert-Vergleich („vor“ und „nach“ der Therapie) beträgt $17.68\% \pm 3.13$ zu $18.20\% \pm 2.70$ (n.s.).

In der Placebogruppe stellen sich beide Werte wie folgt dar: Die PI-Mittelwerte betragen $16.66\% \pm 2.91$ „vor“ bzw. $17.90\% \pm 2.51$ „nach“ (n.s.). Hier zeigen die Patienten A, B, D, H, I und J einen teils geringen Anstieg des PI nach sechsmonatiger Studiendauer. Bei den übrigen Teilnehmern dieser Gruppe kann man eine Stagnation oder Abnahme der Proliferationsrate beobachten. Die Box-Plot-Darstellung veranschaulicht die Zahlenwerte.

5.2.3. Proliferationsrate im Colon ascendens

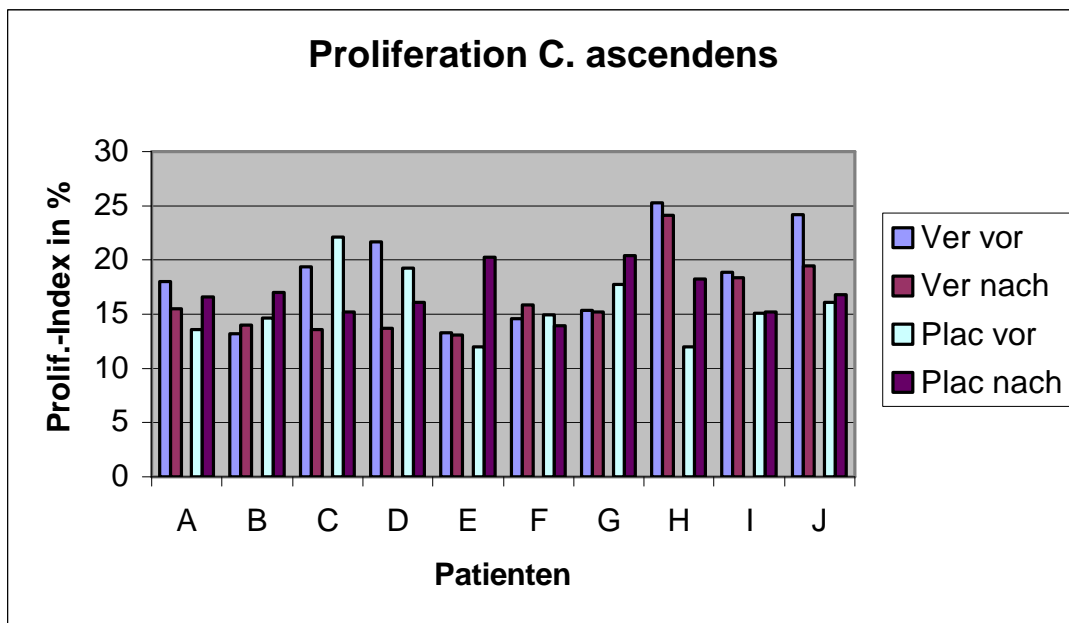
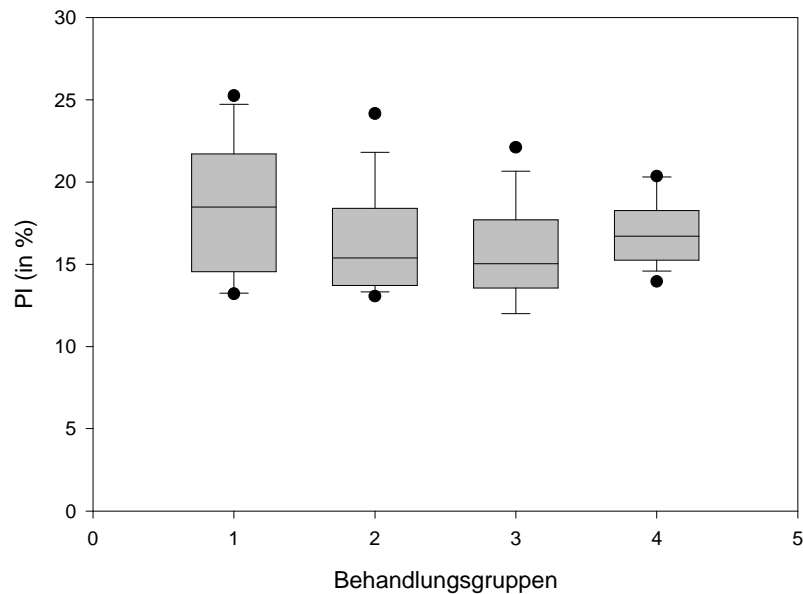


Diagramm 3: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.

In der Colon-ascendens-Verumgruppe zeigen sich fallende Proliferationsindizes am Ende der Studienperiode bei acht von zehn Patienten (A, C, D, E, G, H, I, J). Zwei Patienten (B, F) weisen nach 6 Monaten einen gesteigerten PI auf. Für diese Gruppe liegt der Mittelwertvergleich bei $18.39\% \pm 4.35$ zu $16.30\% \pm 3.46$ (n.s.). Dieser tendenzielle Abfall des PI ist im Box-Plot gut erkennbar.

Proliferation Colon ascendens



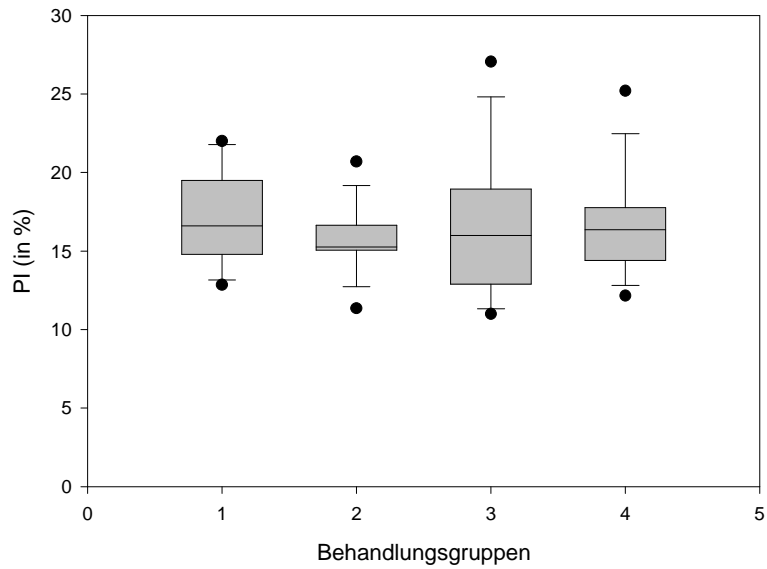
Boxplot 3: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

Für die Placebogruppe stellt sich eine durchschnittliche Steigerung der Proliferationsrate dar: sechs von zehn Patienten (A, B, E, G, H, J) zeigen diese Veränderung, während nur 3 (Patienten C, D, F) im Verlauf einen niedrigeren PI erkennen lassen. Bei Patient I lassen sich im Verlauf beinahe identische Werte ermitteln. Der Mittelwertvergleich erbringt $15.74\% \pm 3.19$ zu $16.98\% \pm 2.11$ bei nicht-signifikantem Gruppenunterschied.

5.2.4. Proliferationsrate im Colon transversum

Im Colon transversum stellt sich das Ergebnisbild als relative PI-Abnahme unter UDCA dar. Fallende Proliferationsindizes in der Verumgruppe (Patienten A, B, D, F, H) stehen gegenüber steigenden PIs in derselben Gruppe (E, G, I, J); bei Patient C fehlt der Wert nach sechsmontiger UDCA-Einnahme.

Proliferation Colon transversum



Boxplot 4: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

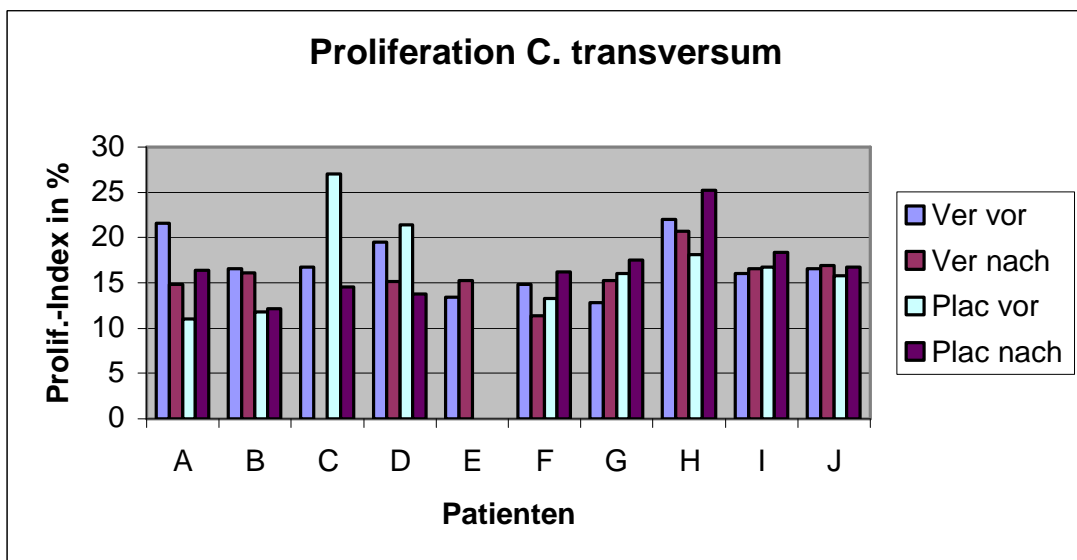


Diagramm 4: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.

In der Kontrollgruppe zeigen nur zwei Patienten (C, D) im Verlauf ein Absinken des PI, ein Patient (B) weist eine im Verlauf nahezu gleichbleibende Proliferationsrate auf und sechs von zehn Patienten zeigen eine im Verlauf steigende Rate (A, F, G, H, I, J). Bei Patient E fehlen beide Werte für dieses Kolonsegment. Statistisch signifikant ist der Vergleich der Mittelwerte für beide Gruppen nicht: $17.01\% \pm 3.13$ zu $15.78\% \pm 2.44$ (n.s.) in der Verumgruppe; für die Placebogruppe ist die Mittelwert-Differenz minimal: $16.79\% \pm 5.02$ zu $16.77\% \pm 3.70$ (n.s.).

5.2.5. Proliferationsrate im Colon descendens

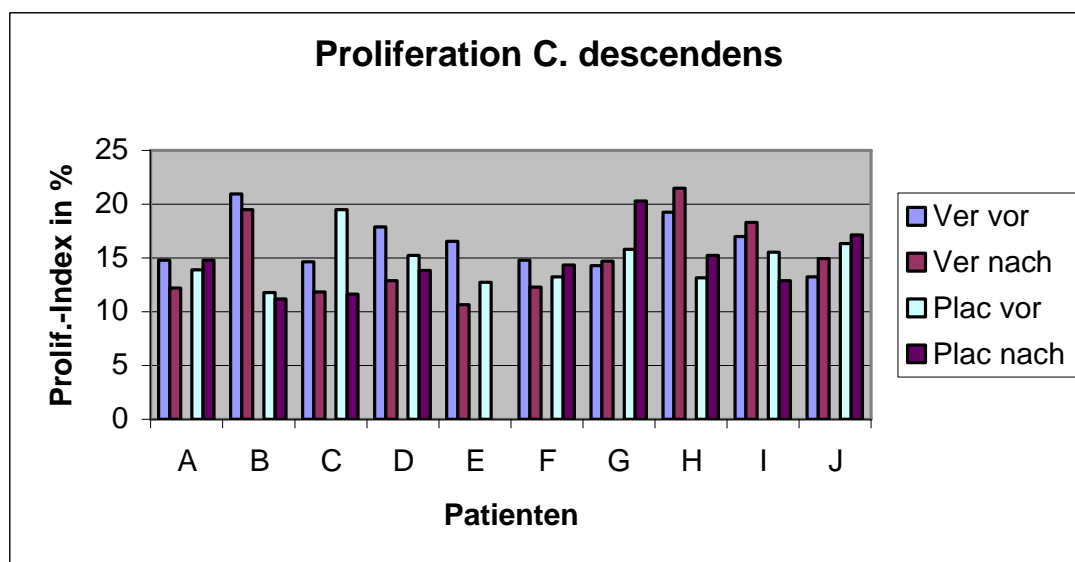
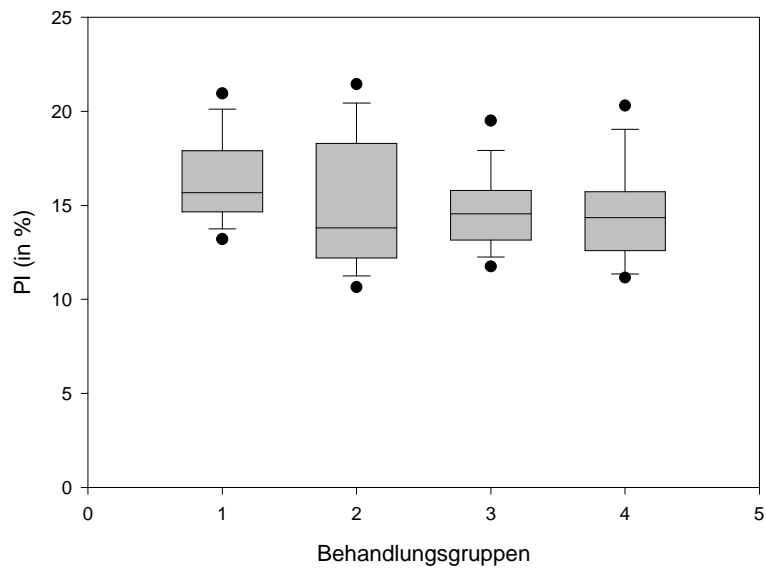


Diagramm 5: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.

Für die Verumgruppe ergeben sich Steigerungen im PI-Verlauf bei vier Patienten (G, H, I, J), die Mehrheit (n=6) zeigt eine fallende PI-Tendenz in diesem Colonsegment (Patienten A, B, C, D, E, F). Die statistische Auswertung der Mittelwerte zeigt ein Verhältnis von $16.35\% \pm 2.46$ „vor“ zu $14.87\% \pm 3.66$ „nach“ UDCA-Therapie (n.s.).

Für die Placebogruppe ergeben sich folgende Mittelwerte: $14.72\% \pm 2.25$ zu $14.59\% \pm 2.82$ (n.s.). Hier fällt der PI im Verlauf bei vier Patienten (B, C, D, I), während er bei fünf Studienteilnehmern dieser Gruppe ansteigt (Patienten A, F, G, H, J). Bei Patient E (entspricht Nr. 10) fehlt der PI-Wert nach Ende der Studienperiode.

Proliferation Colon descendens



Boxplot 5: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

5.2.6. Proliferationsrate im Colon sigmoideum

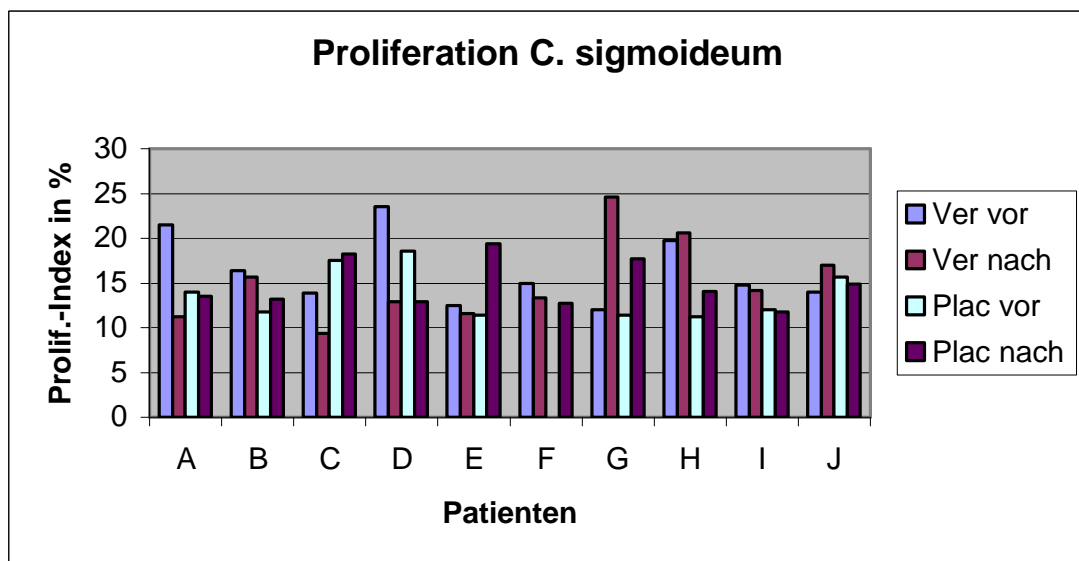
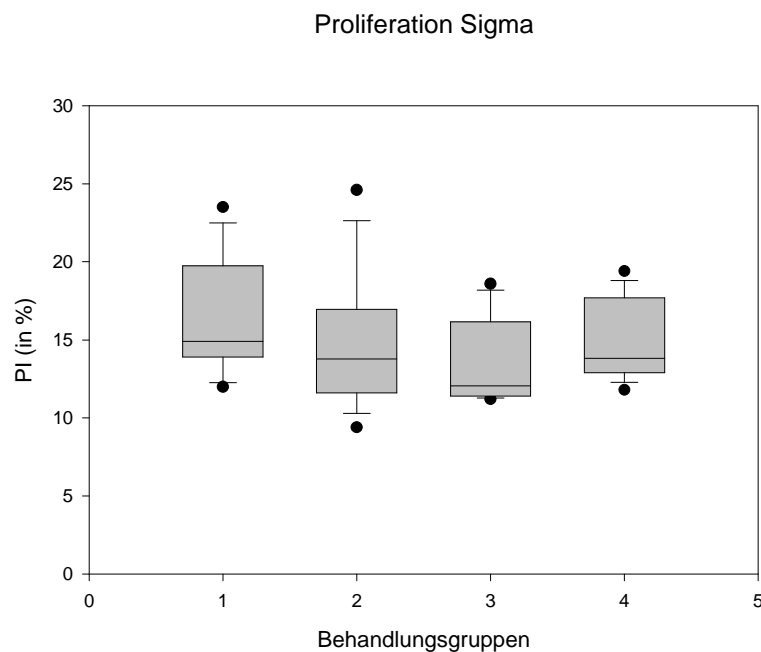


Diagramm 6: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.

Hier zeigt sich im Verlauf ein Absinken des PI in der Verumgruppe bei der Mehrheit der Patienten (70%; Pat.-Nr. A, B, C, D, E, F, I). Bei drei Patienten (G, H, I) steigt der PI nach sechsmonatiger UDCA-Therapie an. Der Mittelwertvergleich beträgt $16.33\% \pm 3.93$ „vor“ zu $15.06\% \pm 4.64$ „nach“ Therapie (n.s.).

In der Kontrollgruppe steigt der PI im Verlauf bei 5 Studienteilnehmern an (B, C, E, G, H), bei vier Patienten (A, D, I, J) lässt sich nach 6 Monaten eine PI-Abnahme nachweisen. Bei Patient F (entspricht Nr. 12) fehlt der PI-Wert für dieses Segment vor Behandlungsbeginn. Die durchschnittlichen Proliferationsindizes vor und am Ende der Behandlungsperiode zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied: $13.74\% \pm 2.87$ „vor“ zu $14.85\% \pm 2.64$ „nach“ sechsmonatiger Studienperiode (n.s.).



Boxplot 6: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

5.2.7. Proliferationsrate im Rectum

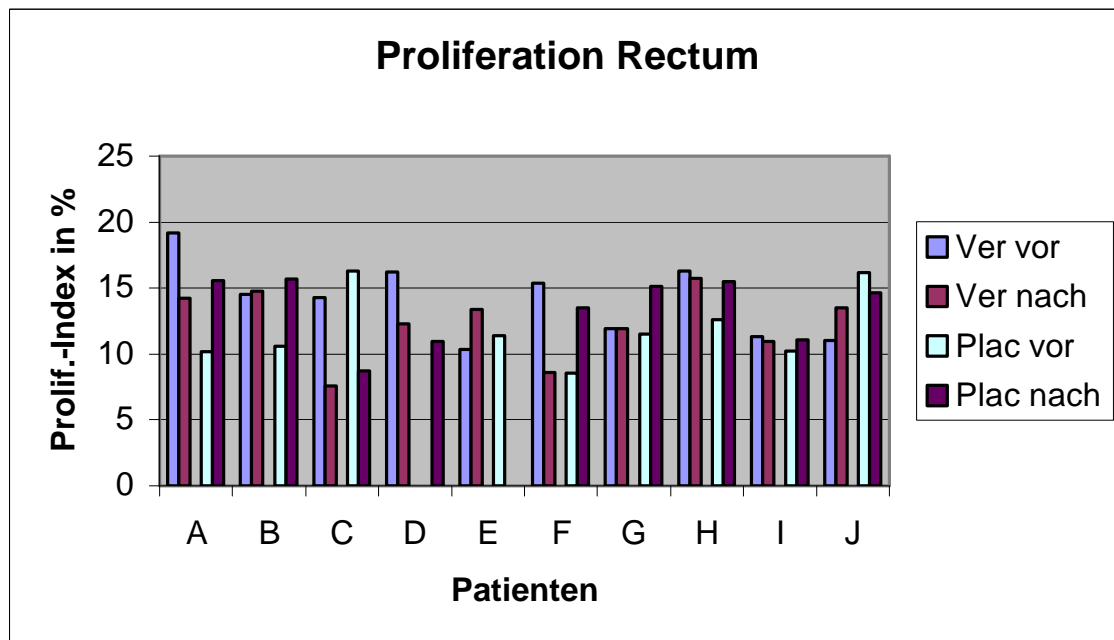
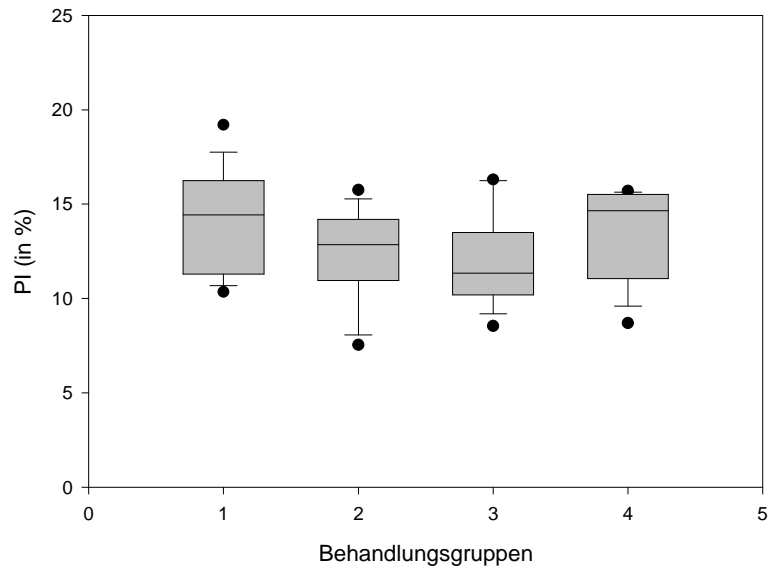


Diagramm 7: Legende siehe Diagramm 1, Erläuterung im Text.

Im Rectum zeigt sich unter UDCA-Therapie eine im Verlauf fallende PI-Tendenz: es zeigen sechs von zehn Patienten eine Abnahme des PI nach sechsmonatiger Behandlung mit dem Verumpräparat (Patienten A, C, D, F, H, I). Bei einem Patienten ist der PI im Verlauf unverändert (G, entspricht Nr. 14). Im Verlauf steigende Proliferationsraten werden bei drei Patienten (B, E, J) festgestellt. Bei Vergleich der Mittelwerte („vor“ und „nach“) ist der PI-Unterschied nicht signifikant: $14.06\% \pm 2.86$ zu $12.30\% \pm 2.64$ (n.s.).

In der Placebogruppe, bei der die Messwerte der Patienten D und E aus technischen Gründen nicht vollständig sind, lässt sich mehrheitlich (Patienten A, B, F, G, H, I) eine Zunahme des PI nach sechs Monaten messen. Eine im Verlauf fallende Proliferationsrate findet sich bei zwei Patienten (C, J). Der Mittelwert-Unterschied beträgt $11.93\% \pm 2.67$ „vor“ zu $13.42\% \pm 2.56$ „nach“ Behandlung (n.s.).

Proliferation Rectum



Boxplot 7: 1: Gruppe III (Verum, d=0). 2: Gruppe IV (Verum, d=180). 3: Gruppe I (Placebo, d=0). 4: Gruppe II (Placebo, d=180). Weitere Erläuterung im Text.

5.2.8. FACScan-Messungen

Im Anhang beigefügt sind jeweils ein typischer Befund eines Dot-Plots und eines Histogramms des Patienten Nr. 4. Die einzelnen Punkte („Dots“) zeigen ein unterschiedlich positives Fluoreszenzsignal im Fluoreszenzkanal FL2-H. Die Punktesammlung („Wolke“, „Haufen“) wurde mittels eines gesetzten Parallelogramms eingerahmt („gegatet“), um Signale für Debris und avitale Zellkerne auszuschliessen. Das CellFit-Programm wandelt den Dot-Plot in ein DNA-Histogramm um. Die markierte Fläche unter der Kurve, eingerahmt von 2 Peaks (den Signalen aus der G_{01} - bzw. G_{2M} -Phase entsprechend) beschreibt den Anteil an Zellkernen, die sich in der S/ G_{2M} -Phase befinden. Dieser Anteil entspricht dem PI.

5.3. Gallensäurenspiegel im Serum

Die Serum-Gallensäurenprofile der Studienteilnehmer werden gemäss folgender Einteilung beschrieben:

1. die Serum-Gallensäurenprofile in der Verumgruppe,
2. die Serum-Konzentrationen der Gallensäuren in der Kontrollgruppe,
3. vergleichende Darstellung der Gallensäurenprofile zwischen den Gruppen,
4. UDCA-Spiegel in Zusammenhang mit der Gesamtproliferation.

Die Abkürzungen bedeuten: GS (Gallensäuren) mit T (Zeitpunkt) der Bestimmung, die an Tag 0 (Studienbeginn: T= 0 d) und an Tag 180 (Studienende: T= 180 d) erfolgte. Die einzelnen Gallensäuren sind im Kapitel 2.2. mit ihren Abkürzungen ausführlich beschrieben. Alle GS-Werte sind in $\mu\text{mol/L}$ Serum angegeben. X (Analyse-Fehler, Wert nicht determiniert) bedeutet, dass dieser Wert gaschromatographisch nicht bestimmt werden konnte. Für die einzelnen GS werden die Isoformen in die Konzentration der Hauptgallensäure mit eingerechnet ("gesamt").

5.3.1. Gallensäurenprofile in der Verumgruppe

| Patient-Nr. | UDCA T= 0 d | UDCA T= 180d | DCA T= 0 d | DCA T= 180d | LCA T= 0 d | LCA T= 180d |
|---------------|----------------|-----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| 7 | 2,13 | 15,33 | 2,18 | 3,56 | 0,85 | 1,04 |
| 3 | 1,87 | 14,78 | 2,26 | 1,95 | 0,86 | 1,02 |
| 5 | 1,63 | 30,34 | 1,9 | 1,23 | 0,85 | 1,39 |
| 6 | 0 | 1,64 | 1,27 | 1,49 | 0 | 0,96 |
| 8 | 5,66 | 2,33 | 0 | 3,85 | 3,79 | 1,4 |
| 11 | 1,16 | 14,77 | 1,95 | 2,88 | 0,94 | 1,72 |
| 14 | 0,79 | 5,14 | 1,97 | 2,73 | 2,1 | 1,84 |
| 15 | 2,05 | 33,36 | 2,44 | 2,41 | 1,78 | 0,9 |
| 18 | 0 | 2,91 | 1,57 | 1,88 | 1,66 | 1,6 |
| 19 | 0 | 11,48 | 1,23 | 1,68 | 0,81 | 1,15 |
| AV Verum | 1,53 | 13,21 | 1,68 | 2,37 | 1,36 | 1,3 |
| STDV Verum | 1,68 | 11,23 | 0,71 | 0,88 | 1,04 | 0,34 |

| Patient-Nr. | CDCA T= 0 d | CDCA T= 180d | CA T= 0 d | CA T= 180d | GS gesamt T= 0 d | GS gesamt T= 180d |
|---------------|----------------|-----------------|--------------|---------------|------------------------|-------------------------|
| 7 | 2,01 | 2,32 | 1,26 | 1,11 | 8,43 | 23,36 |
| 3 | 1,82 | 1,79 | 1,28 | 0,82 | 8,09 | 20,36 |
| 5 | 3,49 | 4,16 | 1,91 | 1,67 | 9,78 | 38,79 |
| 6 | 2,33 | 2,47 | 1,02 | 1,13 | 4,62 | 7,69 |
| 8 | 4,92 | 5,13 | 1,93 | 3,65 | 16,3 | 16,36 |
| 11 | 1,74 | 2,02 | 0,83 | 1,13 | 6,62 | 22,52 |
| 14 | 0,78 | 0,9 | 0,78 | 1,81 | 6,42 | 12,42 |
| 15 | 5,8 | 10,32 | 2,15 | 1,84 | 14,22 | 48,83 |
| 18 | 0,87 | 1,62 | 0,81 | 0,97 | 4,91 | 8,98 |
| 19 | 1,83 | 1,62 | 0,73 | 1 | 4,6 | 16,93 |
| AV Verum | 2,56 | 3,24 | 1,27 | 1,51 | 8,4 | 21,62 |
| STDV Verum | 1,67 | 2,79 | 0,54 | 0,84 | 4,03 | 13,03 |

Tabelle 4: AV=Mittelwert, STDV=Standardabweichung: bezogen auf die jeweilige Gallensäuren-Serumkonzentrationen von 10 Patienten (Verumgruppe).

Eine deutliche Zunahme der UDCA-Serumkonzentration nach sechsmonatiger Behandlung findet sich bei 9 von 10 Studienteilnehmern der Verumgruppe. Einzig Patient Nr. 8 zeigt in dieser Gruppe eine Abnahme der UDCA-Konzentration im Serum nach 180 Tagen.

Im Mittel kommt es zu einem Anstieg des UDCA-Gehalts im Serum, verglichen mit den Ausgangswerten, von $1,53 \mu\text{mol/L} \pm 1,68$ auf $13,21 \mu\text{mol/L} \pm 11,23$ nach sechsmonatiger Behandlung mit UDCA. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ($p= 0.01$).

Die mittlere DCA-Serumkonzentration zeigt einen geringen Anstieg von initial $1,68 \mu\text{mol/L} \pm 0,71$ auf $2,37 \mu\text{mol/L} \pm 0,88$ nach sechsmonatiger UDCA-Behandlung (n.s.). Auch der Gesamt-GS-Spiegel steigt im Verlauf an: von initial $8,4 \mu\text{mol/L} \pm 4,03$ auf $21,62 \mu\text{mol/L} \pm 13,03$ nach sechs Monaten. Dieses Ergebnis ist – wie der UDCA-Befund – signifikant verschieden von dem Ausgangswert ($p=0,01$).

Die Serumkonzentration von LCA sinkt geringfügig im Mittel während der Studienperiode von initial $1,36 \mu\text{mol/L} \pm 1,04$ auf $1,3 \mu\text{mol/L} \pm 0,34$ (n.s.). Die Konzentrationen der anderen GS sind obiger Tabelle zu entnehmen, es sind im Mittel keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ausgangswerten und den ermittelten

Werten nach 180 Tagen UDCA-Behandlung vorhanden. Im folgenden Säulendiagramm sind die UDCA-Konzentrationen pro Patient zu den Zeitpunkten T= 0 d und T= 180d graphisch dargestellt.

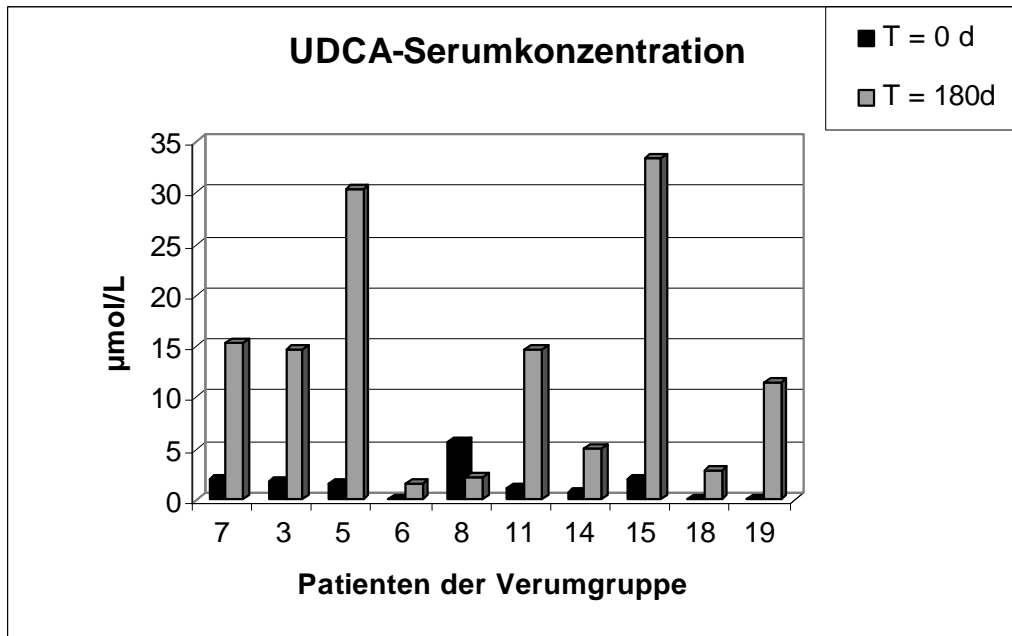


Diagramm 8: Erläuterung im Text.

5.3.2. Gallensäurenprofile in der Kontrollgruppe

| Patient-Nr. | UDCA T= 0 d | UDCA T= 180d | DCA T= 0 d | DCA T= 180d | LCA T= 0 d | LCA T= 180d |
|--------------|-------------|--------------|------------|-------------|------------|-------------|
| 20 | 0,88 | 0,97 | 3,06 | 2,92 | 1,74 | 1,68 |
| 17 | 0,81 | 0 | 1,37 | 1,5 | 1,61 | 0,9 |
| 16 | 0,76 | 0 | 1,46 | 1,76 | 0,84 | 1,12 |
| 13 | 0,88 | 1,05 | 1,25 | 1,31 | 0,75 | 0,81 |
| 12 | 3,1 | 2,39 | 6,31 | 3,78 | x | x |
| 10 | 0,85 | 0,82 | x | X | 0,9 | 1,06 |
| 9 | 0,98 | 1,63 | 2,03 | 1,17 | x | X |
| 4 | 0,91 | 2,61 | 1,37 | 2,57 | 0,82 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 1,23 | 0,71 | 1,01 | 0,73 |
| 2 | 0 | 2,15 | 3,56 | 2,35 | 1,03 | 0,99 |
| AV Placebo | 0,92 | 1,16 | 2,4 | 2,01 | 1,09 | 0,91 |
| STDV Placebo | 0,85 | 1 | 1,69 | 0,97 | 0,38 | 0,47 |

| Patient-Nr. | CDCA T= 0 d | CDCA T= 180d | CA T= 0 d | CA T= 180d | GS gesamt T= 0 d | GS gesamt T= 180d |
|-----------------|----------------|-----------------|--------------|---------------|------------------------|-------------------------|
| 20 | 1,22 | 2,15 | 1,4 | 1,26 | 8,3 | 8,98 |
| 17 | 1,11 | 1 | 1,12 | 0,8 | 6,02 | 4,2 |
| 16 | 0,64 | 0,75 | 0,77 | 0,91 | 4,47 | 4,54 |
| 13 | 3,79 | 2,35 | 0,98 | 0,69 | 7,65 | 6,21 |
| 12 | 11,17 | 6,21 | 4,89 | 2,33 | 25,47 | 14,71 |
| 10 | 5,38 | 3,67 | 1,24 | 1,04 | 8,37 | 6,59 |
| 9 | 2,97 | 1,71 | 1,54 | 1,02 | 7,52 | 5,53 |
| 4 | 1,54 | 2,71 | 1,04 | 1,28 | 5,68 | 9,17 |
| 1 | 0,86 | 0,72 | 0,78 | 0,67 | 3,88 | 2,83 |
| 2 | 2,97 | 2,03 | 1,19 | 1,62 | 8,75 | 9,14 |
| AV Placebo | 3,17 | 2,33 | 1,5 | 1,16 | 8,61 | 7,19 |
| STDV Placebo | 3,19 | 1,65 | 1,22 | 0,5 | 6,16 | 3,44 |

Tabelle 5: AV=Mittelwert, STDV=Standardabweichung: bezogen auf die jeweilige Gallensäuren-Serumkonzentrationen von 10 Patienten (Placebogruppe).

In der Placebogruppe liegen die Mittelwerte der einzelnen GS am Ende der Studienperiode im Bereich der Ausgangsmittelwerte. UDCA steigt nicht signifikant an: von initial $0,92 \mu\text{mol/L} \pm 0,85$ auf $1,16 \mu\text{mol/L} \pm 1$ nach sechs Monaten (n.s.).

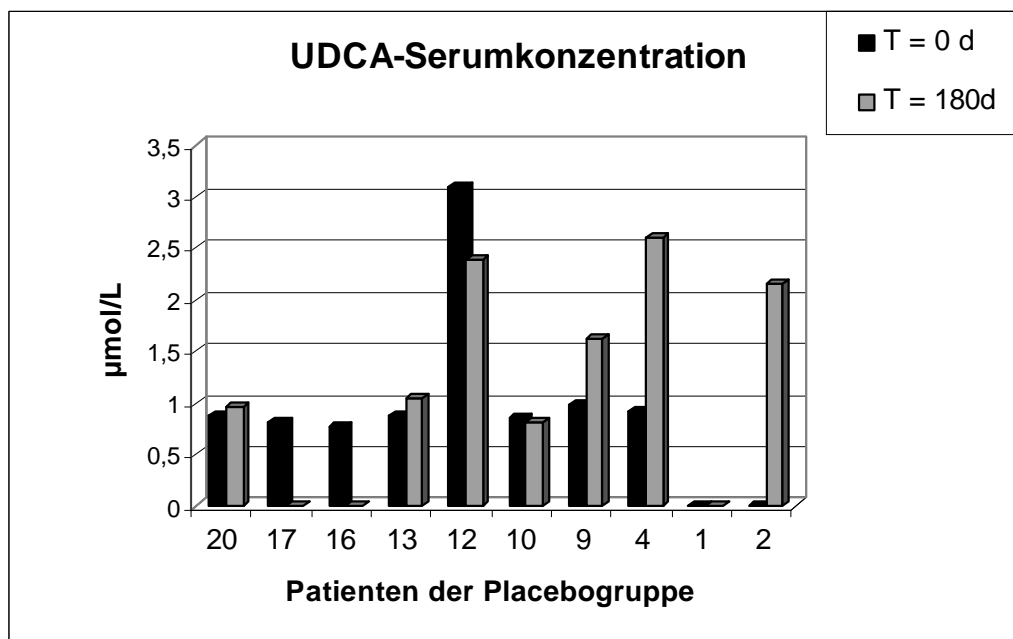


Diagramm 9: Erläuterung im Text.

Die mittlere DCA-Konzentration zeigt einen leichten Abfall vom Ausgangswert $2,4 \mu\text{mol/L} \pm 1,69$ auf $2,01 \mu\text{mol/L} \pm 0,97$ nach sechs Monaten. Analog dazu verhalten sich im Mittel LCA, CDCA, CA und die Summe der Einzelfraktionen („Gesamt-GS“): es zeigt sich bei allen GS unter Placebobehandlung kein signifikanter Unterschied zwischen Ausgangswert (T= 0 d) und 180-Tage-Wert (T= 180 d). Die einzelnen Werte können Tabelle 5 entnommen werden, die graphische Dimension der jeweiligen UDCA-Konzentrationen ist in Diagramm 9 dargestellt.

5.3.3. Vergleich der Gallensäure Spiegel

Bei den beiden Gruppen (Verum- und Placebo- bzw. Kontrollgruppe) sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den mittleren Ausgangswerten (T= 0 d) der Serumkonzentrationen von UDCA, DCA und LCA messbar und auch die Mittelwerte der Summe der Einzel-GS im Serum („GS gesamt“) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Somit liegen zwei vergleichbare Grundgesamtheiten vor.

Am Ende der Studienperiode unterscheiden sich die UDCA-Spiegel in der Verumgruppe im Mittel signifikant von den UDCA-Konzentrationen der Kontrollgruppe ($p=0,01$). Auch bei Analyse der Mittelwerte der Gesamtgallensäuren findet sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe ($p=0,01$).

Es ist kein signifikanter Unterschied zwischen der mittleren DCA-Serumkonzentration der Verumgruppe und der Kontrollgruppe am Ende der sechsmonatigen Behandlungsperiode messbar.

Die Serumkonzentration der zweiten sekundären Gallensäure LCA zeigt nach 180 Tagen im Durchschnitt einen deutlichen Unterschied zwischen Kontroll- und Verumgruppe ($0,91$ zu $1,3 \mu\text{mol/L}$). Dieser Anstieg kann bei Anwendung eines einseitigen t-Tests, d.h. bei erwartetem Anstieg der LCA-Fraktion unter UDCA-Therapie, als signifikant bezeichnet werden ($p= 0,03$). Bei Anwendung des regulären zweiseitigen Tests ist der Unterschied statistisch gerade nicht mehr signifikant ($p=$

0,06). Das heisst, dass ein unter UDCA-Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenzieller relativer Anstieg der LCA-Konzentration zu verzeichnen ist.

5.3.4. UDCA-Serumkonzentration und Gesamtproliferation

| Patient-Nr. | PI in % (Colon gesamt) T= 0 d | PI in % (Colon gesamt) T= 180 d | UDCA (gesamt) T= 0 d | UDCA (gesamt) T= 180 d |
|-------------|--|--|----------------------------|------------------------------|
| 1 | 12,86 | 15,74 | 0 | 0 |
| 2 | 12,63 | 14,48 | 0 | 2,15 |
| 3 | 18,81 | 14,32 | 1,87 | 14,78 |
| 4 | 20,56 | 14 | 0,91 | 2,61 |
| 5 | 17,33 | 16,94 | 1,63 | 30,34 |
| 6 | 15,66 | 11,99 | 0 | 1,64 |
| 7 | 19,93 | 13,79 | 2,13 | 15,33 |
| 8 | 13,21 | 13,47 | 5,66 | 2,33 |
| 9 | 17,86 | 14,55 | 0,98 | 1,63 |
| 10 | 11,88 | 20,17 | 0,85 | 0,82 |
| 11 | 14,75 | 12,98 | 1,16 | 14,77 |
| 12 | 13,36 | 14,04 | 3,1 | 2,39 |
| 13 | 15,62 | 18,47 | 0,88 | 1,05 |
| 14 | 14,06 | 16,13 | 0,79 | 5,14 |
| 15 | 20,53 | 20,93 | 2,05 | 33,36 |
| 16 | 13,52 | 18,13 | 0,76 | 0 |
| 17 | 13,88 | 14,05 | 0,81 | 0 |
| 18 | 15,66 | 15,83 | 0 | 2,91 |
| 19 | 16,41 | 17,14 | 0 | 11,48 |
| 20 | 16,44 | 16,51 | 0,88 | 0,97 |

Tabelle 6: Patienten der Verumgruppe sind fettgedruckt dargestellt. Alle GS-Werte sind in $\mu\text{mol/L}$ Serum angegeben. Weitere Erläuterung im Text.

Der mittlere proliferative Index aller Einzelsegmente („PI gesamt“) am Ende der sechsmonatigen Behandlung mit UDCA (Verumgruppe) unterscheidet sich nicht von dem Ausgangswert (n.s.). Ein analoges Ergebnis ergibt sich hier für die Placebogruppe: es findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten des Gesamt-PI vor und am Ende der Behandlungsperiode (n.s.).

Die mittleren Ausgangswerte (PI, T= 0d) der beiden Studiengruppen sind statistisch vergleichbar, weil nicht signifikant verschieden. Nach 180 Tagen Behandlung unterscheiden sich beide Gruppen (Verum/Placebo) in bezug auf den durchschnittlichen PI – wie in Kapitel 5.2. bereits dargestellt – ebenfalls nicht (n.s.).

Bei einem Patient der Verumgruppe (Nr. 8) ist ein Abfall der UDCA-Serumkonzentration unter UDCA-Therapie zu verzeichnen; der durchschnittliche PI dieses Studienteilnehmers bleibt während der Studienperiode fast unverändert.

5.3.5. Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend zeigt sich nach einer sechs Monate währenden Behandlung mit 750 mg UDCA pro Tag eine nicht-signifikante, geringe Senkung des durchschnittlichen PI (Gesamtproliferation). In der Kontrollgruppe findet sich nach derselben Periode unter Placebobehandlung ein tendenzieller Anstieg des durchschnittlichen PI.

Die untersuchte Gallensäure UDCA reichert sich im Serum der Verumgruppe nach sechsmonatiger Behandlung im Mittel signifikant an, ebenso kommt es zu einem signifikanten Anstieg der mittleren Gesamtgallensäurenkonzentration. Der mittlere UDCA-Spiegel der Verumgruppe unterscheidet sich am Ende der Behandlungsperiode signifikant von dem der Placebogruppe. Analog gilt die letzte Aussage auch für die Gesamtgallensäurenkonzentration.

Signifikante Veränderungen nach 180 Tagen zwischen den Gruppen und im Verlauf innerhalb der jeweiligen Gruppe können bei Betrachtung der mittleren Serumkonzentrationen von DCA, LCA, CDCA und CA nicht festgestellt werden.

Die mittleren GS-Ausgangswerte der beiden Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, sind demnach statistisch vergleichbar.

6. Diskussion

6.1. Erörterung der Ergebnisse

In dieser Studie vermochte eine sechsmonatige, Placebo-kontrollierte UDCA-Applikation die Proliferationsindizes der kolorektalen Mukosa bei Patienten mit kolorektalen Adenomen nicht signifikant zu senken. Aufgrund des Pilotcharakters der Studie wurde die Dosis der Verumbehandlung an die übliche therapeutische Dosis bei der Behandlung cholestatischer Lebererkrankungen wie auch der Litholyse von Gallensteinen angepasst; sie wurde auf 750 mg pro Tag (0-0-3) festgelegt, 10 - 12 mg/kg Körpergewicht entsprechend. Die Frage nach der optimalen UDCA-Dosis wird weiter unten im Zusammenhang mit Daten im Tiermodell erörtert.

6.1.1. Charakteristika der Patienten

Die im Rahmen der prae-endoskopischen Diagnostik erhobenen anamnestischen und klinisch-chemischen Befunde erbrachten bei keinem der angefragten Patienten eine Kontraindikation für Polypektomie / Endoskopie bzw. für die eigentliche Studienteilnahme.

Von 29 initial zur Studienteilnahme einwilligenden Patienten brachen sieben diese Studie vorzeitig ab („drop-out“-Rate: 24,1%). Die auswertbaren Patienten, jeweils 10 in der Verum- und 10 in der Kontrollgruppe, waren hinsichtlich der Ausgangswerte der gemessenen Parameter vergleichbar und befanden sich alle in einem guten Allgemein- und Ernährungszustand.

Neben den für den vorzeitigen Studienabbruch von den Patienten angeführten Beschwerden wie z.B. Unwohlsein im Epigastrium und Veränderungen des Stuhlgangs spielte möglicherweise auch ein nicht-artikulierte Unbehagen über das semi-invasive Setting dieser Studie eine Rolle. Explizit sei hier auf die mühsame Pflicht, über einen Zeitraum von sechs Monaten täglich drei Kapseln einnehmen zu müssen und sich anschliessend einer wiederholten Koloskopie zu unterziehen, hingewiesen. Diese Argumentation wurde von einigen Patienten schon beim initialen Gespräch geäußert.

In einer kürzlich erschienenen Studie mit ähnlichem Setting - 21 auswertbare Patienten mit kolorektalen Polypen, die über verschieden lange Zeitstrecken mit unterschiedlichen Dosen des NSARs Mesalazin behandelt wurden - lag die „drop-out“-Rate (12,5%) um etwa die Hälfte niedriger [Reinacher-Schick et al., 2000]. Allerdings war hier ein um mindestens den Faktor 12 kürzerer Behandlungszeitraum (< 14 Tage) gegeben. Die ähnlich kleine Fallzahl (n= 21 im Vergleich zu n=20 in der vorliegenden Studie) hängt mit dem Studiencharakter zusammen; sie ist im Allgemeinen bei einem sogenannten „polyp trial“ kleiner als z.B. bei interventionellen Untersuchungen zum Auftreten des KRKs [Schatzkin et al., 1994].

Die Alters- wie auch die Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer passt gut zur Epidemiologie kolorektaler Adenome. Die älteren und männlichen Studienteilnehmer waren in der Mehrzahl: dies kann durch die erhöhte Prävalenz kolorektaler Polypen im Alter und beim männlichen Geschlecht erklärt werden, wie im Kapitel 2 dargestellt wurde.

Trotz der relativ kleinen Fallzahl ist der erkennbare Trend hinsichtlich des histologischen Typus in Abhängigkeit zur Grösse der kolorektalen Polypen charakteristisch: je grösser die ektomierten Polypen, desto häufiger finden sich mikroskopisch villöse Anteile am tubulären Adenom, übereinstimmend mit einer grossen amerikanischen Studie [O'Brien et al., 1990].

Die Compliance der die Studie abschliessenden Teilnehmer wurde während der Studienperiode klinisch als befriedigend beurteilt und durch eine ausreichende Betreuung sichergestellt. Tatsächlich konnte bei 90% der Patienten in der Verumgruppe am Ende der Studienperiode ein deutlicher Anstieg der UDCA-Serumkonzentration verzeichnet werden, diese Zunahme nach sechs Monaten war auf die gesamte Gruppe bezogen statistisch signifikant. Damit ergibt sich zumindest ein Hinweis für eine positive Compliance der Studienteilnehmer der Verumgruppe. Für ein komplettes laborchemisches Monitoring der Compliance wären natürlich wesentlich mehr venöse Blutentnahmen zur Kontrolle der Serum-GS im Verlauf notwendig gewesen.

Die gute Verträglichkeit des Studienmedikaments wurde von den Patienten grundsätzlich bestätigt, gravierende unerwünschte Wirkungen während der Studienperiode traten bei dieser kleinen Population in Übereinstimmung mit der Literatur keine auf. Auch bei Analyse der Kontrollgruppe konnte keine unerwünschte Wirkung des Placebopräparats – wie z.B. Diarrhoe bei möglicher Lactose-Intoleranz – gefunden werden.

6.1.2. Proliferationsindizes der kolorektalen Mukosa

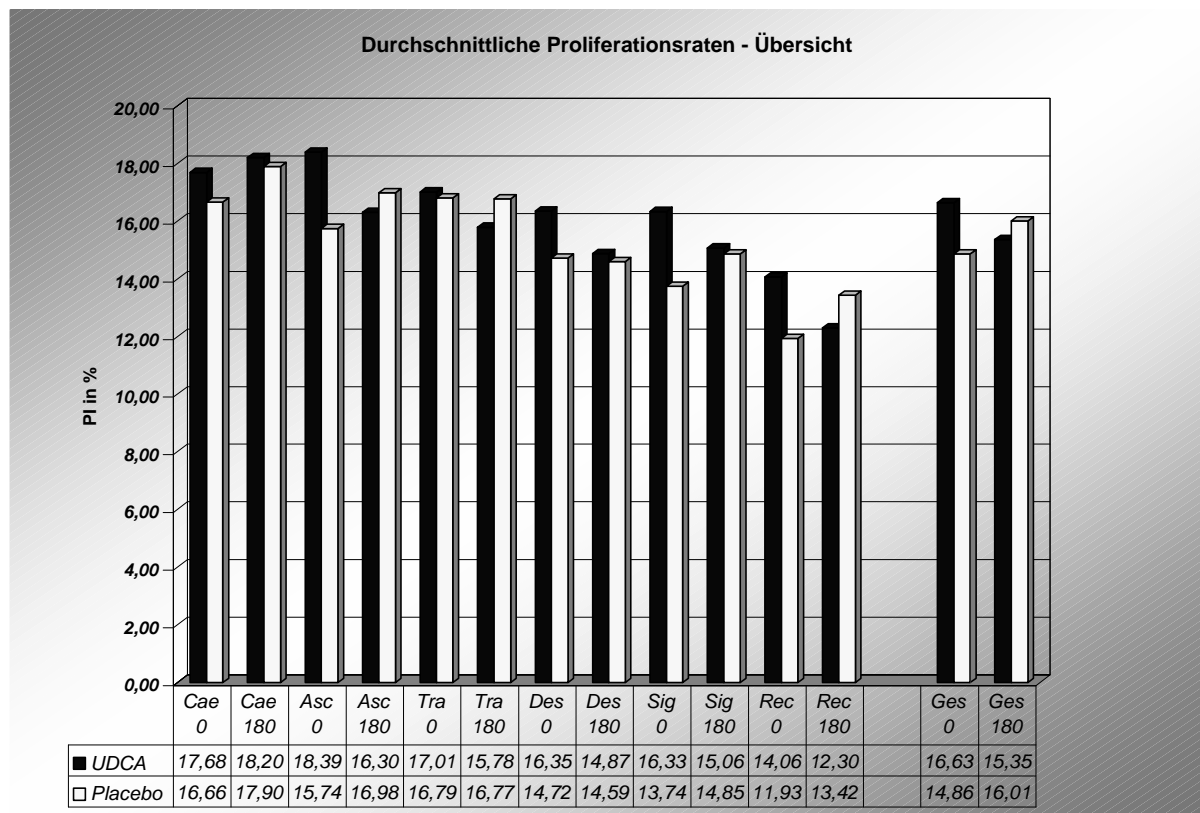


Diagramm 10: Durchschnittlicher PI in % für Behandlungsgruppe („UDCA“ oder „Placebo“), Darmsegment und Untersuchungszeitpunkt (,0‘ bzw. ,180‘ d) spezifiziert. „Cae“=Caecum; „Asc“= Colon ascendens; „Tra“= Colon transversum; „Des“= Colon descendens; „Sig“= Colon sigmoideum; „Rec“= Rectum; „Ges“= Gesamtproliferation. Zusätzlich sind unten die Zahlenwerte (PI in %) für die Säulen angegeben.

Die Indizes der kolorektalen Proliferation sind aus Gründen der Übersichtlichkeit in Diagramm 10 nochmals graphisch dargestellt. Sowohl bei der Betrachtung der Gesamtproliferationsrate als auch bei der Analyse einzelner Segmente konnte keine signifikante Änderung des PI im humanen Darm nach sechsmonatiger UDCA- oder

Placebo-Therapie gefunden werden. Somit konnte die postulierte Reduktion der epithelialen Proliferation mittels UDCA im humanen Colon nicht belegt werden.

Die Gesamtproliferationsrate wurde als arithmetisches Mittel der PI der ‚normalen‘ Mukosa der sechs Colonssegmente berechnet. Damit verbunden ist eine gute, orientierende Aussage über das durchschnittliche Proliferationsverhalten des Kolorektums unter Ausblendung einzelner intersegmentaler Differenzen. Diese Methode ist etabliert [Ochsenkühn et al., 1999]; sie entbindet aufgrund des fortlaufenden Gallensäurenmetabolismus durch Darmbakterien aber nicht von der Analyse der sechs Einzelsegmente. Der durchschnittliche Ausgangswert (T= 0 d) der Gesamtproliferation von allen Studienteilnehmern lautete 15,7 % \pm 2,7. Das ist die Zahl an Propidiumjodid-positiven Zellkernen am Zellzyklus, entsprechend dem Anteil der Mukosazellen in S- und G₂M-Phase („Teilungs“- bzw. „Wachstumsphase“). Jener Basis-PI lag bei der o.g. Arbeit nach Untersuchung von 19 Adenom-Patienten etwas niedriger (14,1 %) – allerdings noch im Bereich der Standardabweichung dieser Arbeit [Ochsenkühn et al., 1999].

Der Variationskoeffizient (CV) für die einzelnen Zellzyklusphasen i.R. der durchflusszytometrischen Analyse wurde 1980 anhand von 228 Proben bestimmt: für die positiv bestimmten Nuclei in der S-Phase lag der Wert bei 11,8%, für die Kerne in der G₂/M-Phase bei 8,2% und für die Nuclei in der G₀/G₁-Phase bei 1,26% [Thorntwaite et al., 1980].

Obwohl jede Studienbiopsie aus der endoskopisch unauffälligen Schleimhaut des Colons entnommen wurde und parallel zu der Analyse des PI eine histologische Untersuchung erfolgte, die das Fehlen einer Entzündung, Dysplasie oder anderen Pathologie nachweisen konnte (Daten hier nicht gezeigt), darf die Zuordnung der durch die Knipsbiopsie gewonnenen Zellen zur kolorektalen Mukosa im Sinne rein epithelialer Zellen nur postuliert werden. Es erscheint unwahrscheinlich, aber nicht ausgeschlossen, dass z.B. wenige subklinisch proliferierende lymphatische Zellen den gemessenen PI verfälscht haben können. Statistisch gesehen müsste von einer systematischen Abweichung gesprochen werden, da angenommen werden kann, dass dasselbe Phänomen für die im Rahmen der Kontrollcoloskopie (T=180 d) entnommenen Biopsien ähnlich wahrscheinlich ist.

Nach sechs Monaten Behandlung mit UDCA (Verumgruppe) lag der durchschnittliche PI für das gesamte Colon bei $15,35\% \pm 2,62$, also 1,28 Prozentpunkte niedriger als der Ausgangswert ($16,63\% \pm 2,47$). Diese tendenzielle Abnahme spiegelt einen Teil der Hypothese wieder, allerdings ist der Unterschied (zum Ausgangswert) nicht statistisch signifikant.

In der Placebogruppe kam es im Verlauf zu einer geringen Zunahme des Gesamt-PI um 1,15 Prozentpunkte auf $16,01\% \pm 2,22$. Der Anstieg lag im Bereich der Standardabweichung und war nicht signifikant. Dieser Wert sollte beinahe konstant bleiben oder leicht ansteigen, wenn man eine zeitabhängige Steigerung der Proliferation annimmt.

Beim Vergleich der Ergebnisse zwischen den beiden Gruppen unterschieden sich die durchschnittlichen PI-Werte nach 180 Tagen Behandlung entgegen der Hypothese nicht signifikant zwischen Verum- und Placebobehandlung: $15,35\% \pm 2,62$ in der Verumgruppe versus $16,01\% \pm 2,22$ in der Kontrollgruppe waren nach sechsmonatiger Behandlung „proliferativ“ im Sinne der PI-Definition. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch nicht signifikant. Die mittleren Ausgangswerte (PI, T= 0d) der beiden Studiengruppen waren statistisch vergleichbar, weil nicht signifikant verschieden.

Für die einzelnen Segmente ergaben sich analog zum Ergebnis bei der Gesamtproliferation keine signifikanten Unterschiede, sowohl bei der Betrachtung des PI zu den Zeitpunkten T= 0 d und T= 180 d innerhalb der Verumgruppe als auch im Vergleich der 180-Tage-Werte zwischen den beiden Gruppen. Somit muss nach dieser erstmals bei humanen Polypenträgern gezielt durchgeführten UDCA-Applikation festgestellt werden, dass die in Kapitel 3 genannte Hypothese bei kleiner Fallzahl (n= 20) nicht belegt werden konnte. Auf Grund der geringen PI-Unterschiede bei dem Vergleich von 10 Patienten der Verumgruppe mit 10 Patienten der Placebogruppe erscheint es unwahrscheinlich, dass bei grösseren Gruppengrössen ein klinisch relevanter Effekt zu erreichen wäre.

Die hier angewandte Technik zur Bestimmung des DNA-Gehalts der gastrointestinalen Epithelzellen mittels Propidiumjodid ist etabliert. Beispielsweise wurde damit die präneoplastische Hyperproliferation der Magenmukosa untersucht [Meining et al., 1998]. Trotzdem sollte die Methodik zur Messung der mukosalen

Proliferation in zukünftigen Studien am Menschen erweitert werden: so könnten zusätzliche Marker wie z.B. die Expression des PCNA („Proliferating Cell Nuclear Antigen“) bestimmt werden.

Insgesamt erscheint es nach den vorliegenden Ergebnissen fraglich, ob UDCA beim Menschen überhaupt einen chemopräventiven Effekt auf das KRK ausübt. Die allgemeine Diskussion möglicher Ursachen findet sich in Kapitel 6.2..

6.1.3. Serumkonzentrationen von UDCA und anderen Gallensäuren

Bei der massenspektrometrischen Analyse der Gallensäurenprofile im Serum der Studienteilnehmer zeigten sich wenige Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Erwartungsgemäss liegt die mittlere UDCA-Konzentration vor sechsmonatiger Einnahme der Gallensäure signifikant niedriger als am Ende der Studienperiode. Hier kommt es also zu einem erwarteten Anstieg nach / unter der oralen Behandlung mit 750 mg UDCA pro Tag. Dieses Ergebnis passt gut in bisher publizierte Studien über die Anreicherung („major circulating bile acid“) von UDCA in Galle und Serum unter drei Monate andauernder oraler Substitution mit 600 mg UDCA / Tag [Makino et Nakagawa, 1978].

Auch der Vergleich des UDCA-Gehalts im Serum zwischen Verum- und Placebogruppe fällt erwartungsgemäss aus: in der UDCA-Gruppe liegt er am Ende der Behandlung signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis ist Basis für jede Überlegung zu potentiellen Wirkmechanismen der UDCA als KRK-Chemopräventivum. Die Voraussetzung, dass beide Gruppen hinsichtlich ihrer initialen Gallensäurenwerte vergleichbar waren, war gegeben.

Es ist erkennbar, dass Patienten der Verumgruppe, bei denen es zu einer deutlichen Zunahme des UDCA-Serumspiegels im Verlauf kam, mehrheitlich (55,6 %) auch eine Abnahme der Proliferationsrate des Colondurchschnitts zeigen (Nr. 3, 5, 7, 11, 6) während die Minderheit (4 von 9 Patienten) dieser Gruppe eine Stagnation oder einen geringen Anstieg des durchschnittlichen PI aufweist (Nr. 19, 18, 15, 14). Einzig bei Patient Nr. 8 fällt die UDCA-Konzentration nach / unter Substitution, was die Vermutung zulässt, dass dieser Studienteilnehmer nicht compliant war. Bei

Betrachtung der anderen GS lässt sich feststellen, dass die UDCA-Behandlung in der untersuchten Population nicht zu der postulierten Abnahme von DCA geführt hat; in zwei anderen Studien (am Tier) wurde eine Abnahme der fäkalen DCA-Konzentration nachgewiesen [Kurtz et al., 1988][Rodrigues et al., 1995].

Der LCA-Spiegel ist im Vergleich der 180-Tage-Werte zwischen UDCA- und Kontrollgruppe auffällig: hier konnte eine im Verlauf grenzwertig signifikante relative Zunahme dieser GS im Serum der Verum-Patienten gemessen werden. Der relative Anstieg dieser sekundären GS im Serum nach / unter UDCA-Therapie könnte in Zusammenhang mit dem von Darmbakterien getragenen Metabolismus von UDCA zu LCA im Stuhl stehen. Eine Arbeit am Tier beschrieb 1995 den Anstieg des fäkalen LCA-Gehalts unter UDCA-Therapie [Rodrigues et al., 1995]. Gleichfalls im Rattenmodell wurde nach UDCA-Fütterung die Zunahme von LCA in der unlöslichen Stuhlfraktion dokumentiert, während UDCA sich allerdings in der wasserlöslichen Fraktion der Fäzes anreicherte [Batta et al., 1998]. Die LCA-Konzentration(en) im Serum wurden hier nicht bestimmt.

Es konnte der LCA-Gehalt im humanen Darm mit dem Ausmass der kolorektalen Zellproliferation korreliert werden: bei Patienten mit KRK oder adenomatösen Polypen [Stadler et al., 1988]. Vor kurzem konnte eine niederländische Arbeitsgruppe den Anstieg der LCA-Konzentration im humanen Stuhlwasser während einer UDCA-Applikation nachweisen und somit Daten aus dem Rattenmodell für den Menschen bestätigen [Van Gorkom et al., 2002b].

Der Anstieg von DCA- und CDCA-Konzentration im Serum nach 180 Tagen UDCA-Substitution überrascht, da allgemein angenommen wird, dass es unter UDCA-Therapie zu einer Abnahme der zytotoxischen CDCA- und DCA-Anteile am Gesamtgallensäurenpool kommt [Hofmann, 1999], die sich auch im Serum widerspiegeln sollte. Möglicherweise ist hier ein Unterschied zwischen Tier und Mensch (mit kolorektalen Polypen) gegeben, da die o.g. Erkenntnis in erster Linie zurückliegenden Studien am Tier entspringt [Rodrigues et al., 1995][Brasitus, 1995]. Der nach 180 Tagen Therapie dokumentierte deutliche Anstieg des Gesamtgallensäuregehalts im Serum der Verumgruppe lässt sich in erster Linie auf die Fraktion der Ursodeoxycholsäure zurückführen; deren Zunahme war sowohl beim Vergleich der Werte vor / nach UDCA-Therapie als auch beim Vergleich zur

Placebogruppe statistisch signifikant.

Die gemessenen basalen Gallensäurenkonzentrationen befinden sich im oberen Bereich von bereits früher publizierten Daten und unterliegen einer gewissen Schwankungsbreite. In einer Zusammenfassung humaner GS-Konzentrationen im Serum – von 10 erwachsenen Probanden - wurden CA mit 2,1 $\mu\text{mol/L}$ (0,3 – 7,2), CDCA mit 1,2 $\mu\text{mol/L}$ (0,3 – 3,9), DCA mit 1,2 $\mu\text{mol/L}$ (0,3 – 4,5) und LCA mit 0,1 $\mu\text{mol/L}$ (0 – 0,3) gaschromatographisch bestimmt. Die Gesamtgallensäurenkonzentration lag in dieser Population bei 5,3 $\mu\text{mol/L}$ (1,1 – 16,4) [Lentner, 1985]. Die eigenen Werte lauten im Mittel: 1,39 $\mu\text{mol/L}$ (CA); 2,87 $\mu\text{mol/L}$ (CDCA); 2,04 $\mu\text{mol/L}$ (DCA); 1,23 $\mu\text{mol/L}$ (LCA) und 8,51 $\mu\text{mol/L}$ (Gesamt-GS). Im Vergleich fällt der LCA-Wert auf, der deutlich von dem im vorliegenden Ergebnisteil geschilderten abweicht und schon beim Zeitpunkt ‚T= 0 d‘ relevant höher liegt als in der zitierten Publikation. Damit erscheint zusätzlich fraglich, ob der oben diskutierte relative LCA-Anstieg nach bzw. unter UDCA-Therapie klinisch relevant ist.

6.2. Allgemeine Diskussion

6.2.1. Metabolismus und potentielle Effekte von UDCA im Kolorektum

Nach den hier gezeigten Ergebnissen muss angenommen werden, dass der vermeintliche chemopräventive Effekt von UDCA auf einem anderen Mechanismus beruht als auf der Senkung der Proliferationsrate der kolorektalen Mukosa.

Bei der Bewertung der Ergebnisse werden Metabolismusüberlegungen zu UDCA bzw. den anderen GS im Darm angestellt; dazu werden potentielle Wirkmechanismen des Studienmedikaments diskutiert. Aufgrund des in Kapitel 2 geschilderten Hintergrundes wird davon ausgegangen, dass die gemessenen Proliferationsraten im Kolon unter anderem von der luminalen GS-Zusammensetzung abhängen. Dabei ergibt sich eine erste Problematik: die Bestimmung der GS-Konzentrationen im menschlichen Kolonlumen.

Aus praktischen Gründen wird bei humanen Studien zumeist auf indirekte Verfahren zur GS-Bestimmung – in Serum oder Stuhl – zurückgegriffen. Inwieweit eine GS-

Konzentration im Stuhl, unabhängig von der Zuordnung zu einer Phase (wässrig / fest), grundsätzlich die Konzentration im Darmlumen darstellt, ist noch nicht geklärt. Kontinuierliche oder segmentabhängige Konzentrationsänderungen der luminalen GS-Zusammensetzung erscheinen wahrscheinlich. Für Sigma und Rectum erscheint eine Korrelation der luminalen GS-Konzentration mit der fäkalen plausibel, für die aboral ersten Segmente des Dickdarms (bis einschliesslich des C. descendens) muss diese kritisch hinterfragt werden.

Es wurde gezeigt, dass Importsysteme wie z.B. das Transportprotein ASBT („apical sodium-dependent bile salt transporter“) für die luminal Aufnahme von UDCA und anderen GS in den Enterozyten verantwortlich sind [Kullak-Ublick et al., 2003]. Die Präsenz dieses Mechanismus, der für den Bereich des Dünndarms nachgewiesen wurde, wird mittlerweile auch für das Colon gefordert. Für die luminal GS-Konzentration wäre demzufolge das Expressionsmuster dieser Proteine von grosser Bedeutung. Einer kleinen amerikanischen Studie zufolge ist das Vorliegen eines Polymorphismus im für ASBT kodierenden SLC10A2-Gen mit dem Risiko für kolorektale Adenome assoziiert [Wang et al., 2001]. Diese Beobachtung unterstreicht erneut die Rolle der GS bei der kolorektalen Karzinogenese.

In der vorliegenden Arbeit wurden aus Gründen der Praktikabilität die GS-Konzentrationen im Serum gemessen, da die naheliegende Vermutung, dass die Konzentrationen der GS im Stuhl mit denen im Serum korrelieren, im Speziellen für die zytotoxische DCA nachgewiesen wurde [Van Faasen et al., 1997]. Die Senkung der luminalen Konzentration dieser tumorförderlichen GS war ein Ziel der UDCA-Applikation. Aufgrund dieser Korrelation kann aus den geschilderten Ergebnissen geschlossen werden, dass beim Menschen die Behandlung mit UDCA – entgegen der Hypothese – nicht die DCA-Konzentration im Serum und damit auch nicht in den Fäzes zu senken vermag.

Im Gegensatz dazu konnte in einer kürzlich publizierten, Placebo-kontrollierten Crossover-Studie an gesunden Probanden eine prozentuale Abnahme des fäkalen CA-, CDCA- und DCA-Gehalts nach vierwöchiger UDCA-Einnahme (900 mg/d) nachgewiesen werden. In diesem Setting wurde weiterhin eine signifikante Zunahme der UDCA- und LCA-Konzentrationen beobachtet [Van Gorkom et al., 2002b].

Jede GS, die im terminalen Ileum nicht resorbiert wird, ist im Colon verschiedenen ernährungsbedingten und biochemischen Einflüssen wie z.B. pH-Wert-Veränderungen ausgesetzt. Eine niederländische Multicenter-Studie konnte bei 20 Patienten mit grossen Adenomen und mittel- bis hochgradigen Dysplasien einen signifikant niedrigeren pH-Wert in der wässrigen Phase der Fäzes nachweisen als in der Kontrollgruppe [De Kok et al., 1999]. Die Autoren folgern daraus, dass ein höherer pH-Wert im Stuhlwasser potentiell die Entstehung kolorektaler Adenome verhindern könnte. Andere Einflussfaktoren auf die GS-Konzentration(en) im komplexen Milieu des Cololumens umfassen die individuell verschiedene bakterielle Flora, die Stuhltransitzeit und Unterschiede in der Zufuhr von Nahrungsbestandteilen [Van Faassen et al., 1993][Reddy et al., 1998].

Zum Beispiel wurde der Einfluss von Calcium (Ca^{++}), das potentiell KRK-chemopräventiv wirkt, auf die Gallensäurezusammensetzung in humaner Galle und Stuhl untersucht: Calcium vermochte die Konzentration an CDCA in der Galle und das LCA- zu DCA-Verhältnis im Stuhl signifikant zu senken [Lupton et al., 1996]. Man muss annehmen, dass GS im Kolonlumen durch hohe Ca^{++} -Konzentrationen gebunden werden. In diesen Zusammenhang passt der Ansatz einer vor kurzem publizierten Studie über den Einfluss von Ca^{++} auf die kolorektale epitheliale Proliferation bei Patienten mit kolorektalen Adenomen; allerdings wurde mit einem Gramm Ca^{++} , über zwei Monate gegeben, die proliferative Aktivität des Kolonepithels nicht verändert [Van Gorkom et al., 2002a]. Auch eine andere Studie, die den Effekt eines neunmonatigen Ernährungszusatz' von 2 Gramm Ca^{++} pro Tag auf die kolorektale Proliferationsrate bei Patienten mit Kolonadenomen untersuchte, konnte im Vergleich zur Kontrollgruppe keine signifikanten Veränderungen des PI nachweisen [Weisgerber et al., 1996]. Im nächsten Kapitel wird beschrieben, dass vermutlich nur ein langfristiger Ca^{++} -Zusatz mit der Nahrung eine chemopräventive Wirkung entfalten kann, der Mechanismus ist noch unklar.

Spezies-spezifische Unterschiede (Mensch/Tier) im GS-Metabolismus sind wahrscheinlich. Schon allein zwischen verschiedenen Kleintieren gibt es beträchtliche Differenzen in der GS-Komposition [Kasbo et al., 2002]. Diese Tatsache muss bei der Interpretation der Ergebnisse in Zusammenhang mit vorangegangenen Tiermodellen beachtet werden. GS-Studien zur kolorektalen

Proliferation sind am Menschen nur limitiert vorhanden.

In einer ersten Studie konnte UDCA die DCA-Konzentration im Rattencolon signifikant senken [Kurtz et al., 1988]. Der durch mehrere Studien [Earnest et al., 1994][Rigas et al., 1994][Narisawa et al., 1998] am Tiermodell unterlegte hemmende Einfluss der UDCA auf die KRK-Tumorpromotion wird nach den vorliegenden Daten beim Menschen nicht über eine Senkung des DCA-Gehalts im Kolonlumen ausgeübt. Zwar reichert sich UDCA unter Substitution im Serum von KRK-Risiko-Patienten (Adenomträger) an, die DCA-Konzentration verändert sich aber nicht signifikant.

Dass DCA im Rahmen der Tumorentstehung im Colon eine wichtige Rolle spielt, konnte durch eine aktuelle Studie belegt werden: das Tumorsuppressorgen p53 wurde in einer kolorektalen Zelllinie auf Proteinniveau durch eine erhöhte DCA-Konzentration supprimiert, zumindest zum Teil vermittelt über den intrazellulären ‚ERK‘-Signalweg [Qiao et al., 2001]. Epidemiologische Studien zur Korrelation des DCA-Gehalts in Serum und Stuhl bei Patienten mit kolorektalen Adenomen ergänzten das Konzept der Tumorpromotion durch sekundäre GS [Stadler et al., 1988][Bayerdörffer et al., 1993a].

Eine Studie aus Arizona ergänzte die oben geschilderten Daten um die Analyse der Apoptose anhand verschiedener kolorektaler Zelllinien: DCA induzierte über einen Proteinkinase C-abhängigen Signalweg den programmierten Zelltod, diese Wirkung könnte für die Zytotoxizität der DCA verantwortlich sein [Martinez et al., 1998]. Zusätzlich beobachteten die Autoren eine Hemmung der Zellproliferation ohne Aktivierung der Apoptose unter UDCA-Inkubation.

Zur Apoptose als hier nicht untersuchtem Alternativweg der möglichen UDCA-Wirkung finden sich in der Literatur diverse Arbeiten. Eine Studie konnte an Rattenhepatozyten und anderen Zelllinien einen Apoptose-inhibierenden Einfluss der UDCA zeigen: nämlich den Schutz vor Apoptose durch Protektion der mitochondrialen Membranpermeabilität [Rodrigues et al., 1998]. Benz und Kollegen fanden Ähnliches beim Menschen: sie untersuchten an primären Hepatozyten in vitro den hemmenden Einfluss von Tauroursodeoxycholsäure auf die Glyko-CDCA induzierte Apoptose [Benz et al., 2000]. In einer Übersichtsarbeit wurden anti-apoptotische Eigenschaften der UDCA (bezogen auf die Cholestase) ausführlich

dargestellt [Rodrigues et Steer, 2001]. Eine aktuelle In-vitro-Studie konnte den protektiven Einfluss von UDCA und Tauro-UDCA auf die Fas-Ligand-induzierte Apoptose nachweisen [Azzaroli et al., 2002]. Ob sich der in den zitierten (in-vitro-) Arbeiten durch UDCA bedingte Schutzeffekt vor dem programmierten Zelltod ohne Weiteres auf die Situation in vivo übertragen lässt, bleibt offen. In einer bemerkenswerten Arbeit wurde in vivo (Rattenmodell) der Effekt von UDCA auf die hepatische Karzinogenese untersucht; hier fand sich neben einer signifikant reduzierten Anzahl von Lebertumoren eine andere UDCA-Wirkung: nämlich eine erhöhte Anzahl apoptotischer Zellen [Oyama et al., 2002]. Es ist möglich, dass UDCA die Hepatokarzinogenese reduziert, indem es die Apoptose in initial transformierten Hepatozyten induziert. Bei Übertragung dieser Daten auf die kolorektale Adenom-Karzinom-Sequenz läge hier ein potentiell KRK-protektiver Wirkmechanismus der UDCA.

In einer im Kapitel 2.2.1.4. erwähnten Vorläuferstudie konnte die DCA-Serumkonzentration mit dem Grad der kolorektalen Proliferation beim Menschen korreliert werden [Ochsenkühn et al., 1999]. Eine kanadische Gruppe zeigte bereits 1988, dass Patienten mit Kolontumoren im Vergleich zu einer Kontrollgruppe neben einer höheren Proliferationsaktivität signifikant höhere DCA- (und LCA-) Spiegel in der wässrigen Phase der Fäzes aufwiesen [Stadler et al., 1988]. Im Tiermodell fand sich eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere Proliferationsrate nach einer neunwöchigen, kombiniert DCA- und Cholesterin-reichen Diät. Im Fall der vorherigen Azoxymethan („AOM“) -Behandlung der Ratten – es handelt sich um ein im Tierversuch bewährtes gastrointestinales Karzinogen – waren durch die Diät additive Effekte auf die kolorektale Proliferation zu beobachten [Hori et al., 1998].

Die Theorie über den Einfluss sekundärer GS bei der kolorektalen Karzinogenese bleibt auch nach den vorliegenden Ergebnissen weiter bestehen; die fehlende Hemmung der Proliferation unter UDCA ist in diesem Modell konsistent mit dem weitgehend unveränderten DCA-Spiegel.

Allerdings muss weiter erörtert werden, den potentiellen Wirkmechanismus der oralen UDCA-Applikation beim Menschen unabhängig von einer Änderung der kolorektalen Proliferationsrate bzw. des DCA-Gehalts im Serum zu sehen. Wie oben

geschildert, scheint auch das Konzept eines gerichteten UDCA-Einflusses auf die apoptotische Kaskade als alleiniger Ansatz nicht auszureichen.

Schon 1987 wurde am Menschen die Epithelproliferation selektiv im Rektum unter UDCA- bzw. CDCA-Substitution untersucht: es fanden sich keine signifikanten Veränderungen nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten im Vergleich zu den Ausgangswerten [Deschner et al., 1987], was zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie passt. Eine andere Arbeit an der Ratte zeigte sogar eine milde Hyperproliferation der basalen Kryptenzellen unter chronischer UDCA-Therapie, allerdings nur im proximalen Colon. In dieser Studie fand sich kein Beleg für einen hyperproliferativen Effekt durch CDCA [Simanowski et al., 1987].

Dass der 180-Tage-Wert von LCA im Serum der UDCA-einnehmenden Studienteilnehmer im Vergleich zur Kontrollgruppe bedingt signifikant höher lag, ist kongruent zu einer Studie am Tiermodell [Rodrigues et al., 1995]. Hier wurde LCA nach UDCA-Applikation zur mengenmässig grössten GS im Rattencolon. Die seitenspezifische Sulfatierung von UDCA (an C-7) verhinderte die – bakteriell bedingte – Biotransformation zu LCA, UDCA wurde im Dünndarm schlechter absorbiert und damit erleichtert in das Colon transportiert.

LCA zeigt als sekundäre GS komutagene und kokanzerogene Eigenschaften und ist Hauptmetabolit der oral zugeführten UDCA auch im humanen Darm [Owen et al., 1987]. Die vorliegenden Ergebnisse beweisen die Anreicherung von UDCA im Serum nach bzw. unter der Therapie. Dies könnte konsekutiv – über den UDCA-Metabolismus zu LCA im Darm – auch zu einer Anreicherung von LCA im Serum führen. Spekulativ muss weitergedacht werden: Dann wäre das Ergebnis einer nahezu unveränderten kolorektalen Proliferation unter UDCA-Behandlung möglicherweise die Folge einer Balance („steady state“) zwischen der unmetabolisierten kolorektalen UDCA-Fraktion mit den bekannten cytoprotektiven, antiproliferativen Eigenschaften und dem Teil der metabolisierten Ursodeoxycholsäure, nämlich LCA mit der o.g. Wirkung.

In einer neueren Arbeit konnte eine amerikanische Gruppe am isolierten Rattencholangozyten zeigen, dass die konjugierten Formen der LCA sowie CA einen

proliferativen Stimulus ausübten; diese Hyperproliferation war assoziiert mit einer PKC-abhängigen Hochregulation des apikalen Na⁺-abhängigen Gallensäuretransporters ABAT [Alpini et al., 2001].

Ein protektiver Effekt von UDCA fand sich bei Behandlung eines ganz anderen Krankheitsbildes, der Ibuprofen-induzierte Enteropathie in der Ratte: unter UDCA-Zugabe traten signifikant weniger Ulcera in Dünndarm und gar keine Ulcera im Colon auf [Lloyd-Still et al., 2001]. Somit konnte auch in diesem Modell insgesamt ein Benefit der UDCA-Applikation verzeichnet werden.

Wie könnte nun die potentielle KRK-Protektion durch UDCA aussehen, wenn das Studienmedikament nicht über eine Änderung des DCA-Gehalts im Darm bzw. nicht über eine Senkung der kolorektalen Proliferation wirkt?

Es finden sich nicht viele Untersuchungen zum intestinalen Wirkmechanismus der UDCA: im Tumortiermodell gibt es Evidenz für die Inhibition von ACF- Wachstum (aberrant crypt foci, KRK-Vorläuferstadium) und Telomerase-Aktivierung durch orale UDCA-Behandlung [Narisawa et al., 1999]. In einer vor kurzem publizierten Studie an AOM-behandelten Ratten wurde über Beta-Catenin-reiche Krypten („beta-catenin-accumulated crypts“ oder „BCAC“) berichtet: unter einer 0,5%-igen Diät mit der primären Gallensäure CA kam es im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Vergrößerung und Vervielfachung der BCAC, was die Vermutung nahelegt, dass es sich hier um Vorstufen zum KRK handeln könnte. Es erscheint interessant, dass Zahl und Grösse der AOM-induzierten ACF in diesem Setting durch die CA-Diät signifikant abnahmen [Hirose et al., 2003].

Im Zusammenhang mit ihren früheren Ergebnissen fand eine amerikanische Arbeitsgruppe, dass die UDCA-Applikation bei der Ratte die AOM-induzierte Hyperproliferation und die Entstehung sowie das Wachstum von ACF zu inhibieren vermochte. Die beiden letztgenannten Phänomene waren zeitabhängig: UDCA vermochte nur in der Initiationsphase, nicht aber in der Promotionsphase die ACF-Bildung und deren Wachstum zu hemmen, was – in diesem Modell – für einen frühen chemopräventiven Einfluss bei der KRK-Entstehung spricht [Wali et al., 2002].

In einer japanischen Studie wird spekuliert, dass der KRK-chemopräventive Effekt

der UDCA in der Modulation des Arachidonsäuremetabolismus der kolorektalen Mukosa liegen könnte, nachdem im AOM-Modell unter UDCA-Therapie in der kolorektalen Mukosa eine verminderte Expression der Gruppe II Phospholipase A₂ gefunden wurde [Ikegami et al., 1998].

Ob die in Kapitel 2.2. aufgeführten direkten und indirekten Eigenschaften der UDCA im Leber-Galle-System auf das Kolorektum übertragen werden dürfen, ist fraglich. Selbst die besser untersuchten Wirkmechanismen der UDCA bei Leber- und Gallekrankheiten sind nicht vollständig geklärt [Paumgartner et Beuers, 2002].

Aus den oben genannten Überlegungen zum GS-Metabolismus und der Polarität des Kolonepithels erscheint es sinnvoll, die Betrachtung der möglichen UDCA-Wirkungen auch beim Menschen auf die luminale Seite der Mukosa zu beschränken. Für eine zufriedenstellende Evaluation des potentiellen UDCA-Effekts auf die humane kolorektale Mukosa muss der potentielle Wirkmechanismus bzw. müssen die Wirkmechanismen in weiteren, funktionellen Studien untersucht werden. Diese Arbeit kann dazu nur eine begrenzte Aussage machen. Eine dosisabhängige direkte Wirkung von UDCA auf frühe Stufen der Adenom-Karzinom-Sequenz scheint denkbar.

6.2.2. UDCA und Alternativen in der Chemoprävention des KRK?

Es ist gut möglich, dass der in Tierversuchen nachgewiesene antikanzerogene Effekt der UDCA in dieser Form nicht beim Menschen auftritt, da beim Menschen die endogen-zirkulierende bzw. oral aufgenommene UDCA bei Transport in den Dickdarm mehrheitlich in die hydrophobe LCA umgewandelt wird [Hofmann, 1994]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit dem Anstieg der LCA nach 180 Tagen UDCA-Behandlung wären mit dieser Aussage gut vereinbar. Im Falle einer pharmakologisch ausreichenden Dosis im Kolorektum bleibt der genaue Mechanismus der UDCA-Aktion – wie geschildert – noch unklar.

Neben der hier geschilderten Behandlung von sonst gesunden Patienten mit sporadischen Adenomen finden sich noch andere Ansätze zur Chemoprävention

beim Menschen. Bisher nur in Abstract-Form publiziert wurde eine retrospektive französische Arbeit, die bei Patienten mit ‚Primär biliärer Zirrhose‘ (PBC) das Auftreten bzw. Wiederauftreten von kolorektalen Adenomen unter UDCA-Therapie untersuchte [Serfaty et al., 2002]. Hier fand sich bei Vergleich mit der Kontrollgruppe eine statistisch nicht-signifikant niedrigere Zahl an kolorektalen Adenomen in der UDCA-Gruppe. Verglichen mit der Kontrollgruppe wurden signifikant weniger häufig Adenome mit einem Durchmesser > 5 mm in der UDCA-Gruppe beobachtet; auch kam es signifikant seltener zum Wiederauftreten von Adenomen nach 3 Jahren unter UDCA-Therapie. Die Epithelproliferation im Colon, gemessen mit Hilfe des anti-Ki-67 Antikörpers, lag unter UDCA-Therapie signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

Die einzige publizierte Originalarbeit zur UDCA-Applikation an Patienten mit kolorektalen Adenomen entstammt einer Risikopopulation für das KRK und ist ebenfalls von retrospektivem Charakter. Diese Querschnittsstudie („Cross-sectional study“) zur Prävalenz kolorektaler Neoplasien bei Patienten mit Colitis ulcerosa (UC) und PSC (Primär sklerosierender Cholangitis) vermochte einen KRK-protectiven Effekt der UDCA-Therapie nachzuweisen [Tung et al., 2001]. Die Autoren konnten an 59 Patienten mittels Coloskopie und segmentalen Biopsien aus der flachen Mukosa zeigen, dass die UDCA-Einnahme mit einer signifikant niedrigeren Dysplasie-Prävalenz assoziiert war. Da bei diesem Patientengut nach 25 Jahren UC-Dauer ein etwa 50% höheres Risiko vorliegt, an einem KRK zu erkranken, erscheinen die Ergebnisse bahnbrechend: 13 von 26 Dysplasie-positiv diagnostizierten Patienten standen unter Behandlung mit UDCA, während bei 85% (28 / 33) der Patienten ohne Dysplasie eine UDCA-Einnahme zu verzeichnen war. Doch muss kritisch angemerkt werden, dass die Studie weder randomisiert noch Placebo-kontrolliert durchgeführt wurde und die Beobachtungszeiträume differieren [Hawk et Viner, 2001]. Des weiteren fällt auf, dass die Dysplasie- und KRK-Rate in der Kontrollgruppe erstaunlich hoch liegen (72% bei im Mittel 21 Jahren UC-Dauer), in der Literatur finden sich Raten von 20 – 50 % nach 20 – 25 Jahren UC-Dauer [Hawk et Viner, 2001]. Tung und Kollegen schlossen ausserdem potentiell protective Effekte durch zusätzliche Medikamente bzw. Arzneimittelinteraktionen nicht aus [Tung et al., 2001].

Zur Zeit wird die mögliche KRK-chemopräventive Wirkung von UDCA in einer grossen Studie an der Universität von Arizona untersucht: hier wird das

Wiederauftreten von kolorektalen Adenomen bei Patienten mit sporadischen Adenomen analysiert [Gwyn and Sinicrope, 2002].

Ein Kritikpunkt an der vorliegenden Studie ist die im Vergleich zu den beschriebenen Tierversuchen relativ niedrige Dosis an oral applizierter UDCA. In einer bereits weiter oben zitierten Untersuchung [Rodrigues et al., 1995] bekamen 210 -290 g schwere Ratten über 4 Tage per Ernährungssonde 250 mg UDCA / Tag gefüttert. Das entspricht in etwa einem Tausendstel ihres Körpergewichts (Dosis: 1 mg /g / Tag). Wenn der Mensch diese UDCA-Dosis zu sich nehmen würde, müsste er bei einem gedachten Körpergewicht von 75 kg also 75g, der hundertfachen Menge der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Dosis entsprechend, pro Tag einnehmen. Demnach könnte der zu wählenden Dosis für einen antiproliferativen Effekt von UDCA im (humanen) Colon eine höhere Bedeutung zukommen, als bisher angenommen. Allerdings liegt die (hepato-) toxische Grenze der oralen UDCA-Applikation bei Primaten in einer täglichen Dosis von über 100 mg/ kg / Tag [Ursofalk® Produktinformation, 1996], zehnfach über der den Ratten applizierten Dosis.

Kann nun das KRK beim Menschen durch andere Chemopräventiva verhindert werden? Es zeigen sich grundsätzlich mindestens drei grosse Vorteile für pharmakologisch wirksame Substanzen: die Möglichkeit der nicht-invasiven, oralen Applikation; die einfache, massenhaft anwendbare Handhabung und der kostengünstige Charakter der Methode. Entscheidend ist hierbei, dass die unerwünschten Wirkungen des potentiellen Medikaments nicht dessen breite Anwendung unmöglich machen.

Bei der Suche nach KRK-präventiven Substanzen abseits der Gallensäuren bekommen die in der folgenden Übersicht genannten Substanzen Gewicht. Die hier anhand der Literatur gemachten Angaben zu der für einen chemopräventiven Effekt notwendigen Behandlungsperiode einzelner Substanzen geben Anlass zu der generellen Vermutung, dass nur lang anhaltende Einflüsse eines Pharmakons oder einer Ernährungsmodifikation die Adenom- bzw. Karzinomfrequenz senken können.

Ansätze zur Chemoprävention von Kolontumoren

Ernährung <> Pharmaka

- Ballaststoffreiche Diät (?)
 - Kost reich an Früchten und Gemüse (inkl. Vitamine C, A, E, Folsäure)
- ? Acetylsalicylsäure
? Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR)
? N-Acetylcystein (?)
- ? Calcium
? Östrogene
? Folsäure

Übersicht modifiziert nach: [Jänne et Mayer, 2000]

Aus der Übersicht wird nur eine Auswahl einzelner Substanzen kurz charakterisiert:

Es gibt diverse Arbeiten, die über eine signifikante Senkung des Karzinom-Risikos unter Acetylsalicylsäure (ASS) berichten [Jänne et Mayer, 2000]; es kommt dabei aber wohl auf eine ausreichend lange Einnahmedauer, z.B. von mehr als 10 - 20 Jahren, an. Die in Studien erprobte Dosis variierte zwischen 700 bis 2000 mg pro Woche. In einer kürzlich erschienenen Arbeit über Patienten mit vorangegangenem KRK war eine Dosis von 325g ASS pro Tag mit einer signifikanten Reduktion der Inzidenz kolorektaler Adenome verbunden [Sandler et al., 2003]. Die Gruppe um Baron konnte zeigen, dass niedrig-dosierte ASS (81mg pro Tag), über drei Jahre gegeben, zu einem moderaten chemopräventiven Effekt hinsichtlich Adenomentstehung führte [Baron et al., 2003]. Calcium in einer Dosis von 1,2 g pro Tag über mindestens ein Jahr appliziert senkt die Rate von neuen Adenomen signifikant [Baron et al., 1999]. In diesem Zusammenhang werden mögliche ähnliche (in bezug auf UDCA) Wirkmechanismen diskutiert: eine Blockierung von Schleimhautschäden und Hyperproliferation durch Karzinogene oder (sekundäre) Gallensäuren, eine Reduktion der Zytotoxizität des Stuhlwassers mit Abnahme der

Gallensäurenkonzentration in Galle und Stuhl. Folsäure, über einen langen Zeitraum eingenommen, bringt nach Giovanucci einen Benefit hinsichtlich der Reduktion des Adenom- und Karzinom-Risikos [Giovanucci et al., 1995a]. Eine aktuelle Zusammenfassung retrospektiver wie prospektiver Arbeiten zum KRK-protectiven Einfluss dieses Ernährungsfaktors findet sich bei Bott [Bott et al., 2003].

Zur familiären Adenomatose (FAP) wurden verschiedene Studien durchgeführt: Sulindac senkt die Polypenzahl bei klinisch apparenter FAP um die Hälfte, wenn eine Dosis von 300 mg pro Tag über 9 Monate eingenommen wird [Labayle et al., 1991][Giardiello et al., 1993]. In einer aktuellen Arbeit berichtet der letztgenannte Autor über eine fehlende präventive Wirkung dieses NSAR gegen die Adenomentstehung bei Patienten mit genotypisch diagnostizierter FAP [Giardiello et al., 2002]. COX-2-selektive Inhibitoren sind ebenfalls in Erprobung: Celecoxib in einer (hohen) Konzentration von 800 mg pro Tag kann die Zahl der Polypen bei FAP um etwa Drittel senken [Steinbach et al., 2000]. Bisher wurden noch keine Studien zu chemopräventiven Effekten von Sulindac, COX-2-Hemmern oder anderen NSAR bei sporadischen Adenomen oder Karzinomen abgeschlossen. Die Einnahme oraler Kontrazeptiva durch die jüngere Frau und die aus anderen Gründen bedenkliche Östrogen-Substitution bei einer Vielzahl der postmenopausalen Frauen hat einen protektiven Effekt auf die Entwicklung des KRKs [Fernandez et al., 2001]: die KRK-Risikominimierung kann nach jener spanischen Meta-Analyse bis zu 19% betragen.

Bei jeder Substanz muss individuell entschieden werden, ob die Applikation hinsichtlich der Nebeneffekte gerechtfertigt ist. Keine der genannten Substanzen ist bisher als KRK-Präventivum in die Therapierichtlinien eingegangen.

6.2.3. Ausblick: Risiko und gesicherte Prävention für das KRK

Bisher konnte ein Evidenz-basierter KRK-chemopräventiver Effekt der UDCA nur am Tier gezeigt werden [Earnest et al., 1994][Jänne et Mayer, 2000]. Die Publikation der o.g. Studie (University of Arizona, USA) wird ein Stück mehr Klarheit schaffen über die Rolle von UDCA als KRK-Chemopräventivum beim Menschen, da Fallzahl und Behandlungsperiode grösser bzw. länger gewählt sind als in der vorliegenden Arbeit.

Wenn sich eine protektive Wirkung demonstrieren lässt, dann wird diese – nach den vorliegenden Daten – beim Menschen nicht über eine Senkung der kolorektalen Proliferationsrate vermittelt und/oder die Beobachtungs- bzw. Behandlungsperiode muss einen längeren Zeitraum als sechs Monate umfassen. Möglich ist auch eine Wirkung der UDCA in höherer Dosis.

Für eine gezielte KRK-Prävention ist die Einschätzung des KRK-Risikos von grossem Nutzen: es muss zwischen äusseren Faktoren, von denen einige im Folgenden – in Ergänzung zu Kapitel 2.1.3. – beschrieben werden, und dem Risikoprofil des einzelnen Patienten unterschieden werden.

Dabei gibt es z.B. zum Wert einer ballaststoffreichen Ernährung, die lange Zeit als KRK-protektiv angesehen wurde, seit circa drei Jahren neue Erkenntnisse: Auf der einen Seite findet sich eine Übersichtsarbeit [Macrae, 1999], die – basierend auf eigenen Studien zur Reduktion der Inzidenz grosser Adenome unter fettarmer und Weizenkleie-reicher Diät – die Bedeutung dieser Ernährung mit dem Zusatz des Ballaststoffes Weizenkleie bei der Inhibition der Entwicklung vom kleinen zum grossen Adenom (> 1cm) unterstreicht. Desweiteren diskutiert der Autor randomisierte, kontrollierte klinische Daten, die zeigen, dass der Nahrungszusatz ‚Weizenkleie‘ bei Patienten mit resezierten kolorektalen Adenomen die totale Gallensäuren-Konzentration wie auch die Konzentration primärer und sekundärer Gallensäuren im Stuhl signifikant reduzierte. Auf der anderen Seite wurden im Jahr 2000 im ‚New England Journal of Medicine‘ zwei grosse Studien (‚Polyp Prevention Trial Study Group‘ und ‚Phoenix Colon Cancer Prevention Physicians‘ Network‘) veröffentlicht, die eindrucksvoll das Fehlen eines lange Zeit als wahrscheinlich angesehenen KRK-Einflussfaktors demonstrieren: Weder eine Ernährung, die als fettarm und gleichzeitig reich an Früchten, Ballaststoffen und Gemüse charakterisiert war [Schatzkin et al., 2000], noch ein Diätzusatz in Form von Weizenkleie (als ein determinierter Ballaststoff) [Alberts et al., 2000] konnte das Wiederauftretensrisiko von kolorektalen Adenomen beeinflussen bzw. Schutz bieten vor dem Wiederauftreten von kolorektalen Adenomen. Diese Ergebnisse können einerseits mit der Art und Dosis der applizierten Diät zusammenhängen, zum anderen könnte eine mögliche KRK-präventive Diät auch in einer späteren Phase der Adenom-Karzinom-Sequenz eingreifen, z.B. bei der Progression vom Adenom zum Karzinom.

Es erscheint als wahrscheinlich, dass nicht ein einzelner Nahrungsfaktor oder eine Kombination von wenigen Faktoren über eine noch dazu relativ kurze Zeitspanne (z.B. drei bis vier Jahre) die Prävention kolorektaler Adenome oder Karzinome ermöglichen kann bzw. für deren Entwicklung verantwortlich gemacht werden kann [Byers, 2000].

Aktuell konnte Terry Daten über schwedische Frauen publizieren: in der kompletten Studienpopulation war der Gesamtkonsum an Früchten und Gemüse invers mit dem KRK-Risiko assoziiert; Frauen, die über einen Follow-up-Zeitraum von durchschnittlich 9,6 Jahren sehr wenig Früchte und Gemüse aßen, hatten das höchste Risiko, an einem KRK zu erkranken [Terry et al., 2001]. Kongruent zu den o.g. Daten [Fuchs et al., 1999][Alberts et al., 2000] zeigte sich hier kein KRK-protektiver Effekt bei hohem Konsum von Getreidefasern (wie sie z.B. in verschiedenen Müsli-Präparationen vorkommen).

In einer prospektiven Studie wurde kürzlich gezeigt, dass Männer mit einem Body Mass Index (BMI: kg/m^2) gleich oder grösser 32,5 verglichen mit einer normalgewichtigen Gruppe ($22,0 < \text{BMI} < 23,49$) einer fast zweifach erhöhten KRK-Mortalität unterlagen [Murphy et al., 2000]. Die Todesraten für das KRK bei Männern stiegen hier über die gesamte Skala des BMI an, deutlicher und linearer als bei den mituntersuchten Frauen.

Die in Zusammenhang mit den Ergebnissen zum inversen Verhältnis der körperlichen Aktivität zum KRK-Risiko erhobene, nicht belegte Annahme, dass bei unregelmässigem, seltenem Stuhlgang mit einer verlängerten Stuhltransitzeit der andauernde Kontakt von (nicht näher bestimmten) Noxen im Stuhl mit der Kolonmukosa potenziell kanzerogen wirken könne, konnte vor kurzem widerlegt werden [Dukas et al., 2000]: es fand sich bei Frauen keine Assoziation zwischen dem postulierten Malignomrisiko und unregelmässigem Stuhlgang (jeden dritten Tag oder seltener) und ebenso keinerlei Korrelation des KRK-Risikos zu dem Gebrauch von Laxantien.

Hinsichtlich der Anstrengungen zur KRK-Prävention werden Massnahmen zur primären (z.B. Rat zur Bewegung / Sport, vitaminreiche Ernährung etc.) und

sekundären Prävention des KRKs (z.B. Hämoocult® -Test) gefördert, da die tertiäre Prävention des KRK (z.B. Verbesserungen in Chirurgie und Chemotherapie) in der Regel mit einer a priori schlechteren Prognose für den Patienten und sekundär höheren Aufwendungen für das Gemeinwesen verbunden ist. Mit der Vermeidung bzw. Früherkennung des Malignoms sind naturgemäss die grössten Heilungschancen verbunden.

Das weitverbreitete Hämoocult® -Testverfahren hat seine Schwächen, ist aber bis heute noch nicht durch leistungsfähigere Tests ersetzt worden: Der Guaiac-Test ist falsch-positiv gegenüber bestimmten Nahrungsbestandteilen wie z.B. rohen Früchten oder Gemüse und rotem (tierischem) Fleisch und damit mässig (ca. 95%) spezifisch, ausserdem liegt seine Sensitivität nur bei 50%, wenn man Karzinome oder Adenome grösser gleich 1 cm entdecken möchte [Rozen et al., 2000]. In der gleichen Beobachtungsgruppe konnte auch der immunochemische Test (zum Nachweis von humanem Hämoglobin im Stuhl), alleine oder zur Guaiac-Methode hinzugenommen, nur eine bessere Spezifität (bis zu 100%) vorweisen, dessen Sensitivität liegt aber nur bei 35 % [Rozen et al., 2000]. Beispielhaft für die nicht-optimale Spezifität seien mögliche positive Testergebnisse bei okkult-blutender Colitis oder bei Angiodysplasie(n) genannt. Die niedrige Sensitivität ergibt sich aus der Zahl nicht-blutender kolorektaler Tumore.

Zur Optimierung der individuellen KRK-Prävention im klinischen Alltag werden nach den DGVS-Richtlinien verschiedene Risikogruppen für die Entwicklung eines KRK definiert, die durch die initiale anamnestische Analyse der familiären KRK-Belastung zustande kommen [Schmiegel et al., 2000]:

1. Patienten jedweden Alters mit familiärer KRK- bzw. Adenom-Belastung müssen folgende zwei Fragen obligatorisch gestellt werden: In welchem Alter der Indexperson und innerhalb welchen Verwandtschaftsgrades sind das KRK oder ein Adenom aufgetreten? Wann ist die- oder derjenige Verwandte daran verstorben? Die aus den Antworten resultierenden Empfehlungen können engmaschigere endoskopische Untersuchungen bis zum Rat der prophylaktischen Kolektomie bei 100%igem KRK-Risiko enthalten. Es muss hier

zwischen erblichen Tumorsyndromen und sporadischen familiären Tumoren differenziert werden.

2. Patienten jedweden Alters mit klinischen Symptomen sollten - abhängig von der Art, Dauer und Schwere der Beschwerden (z.B. bei makroskopisch oder mikroskopisch nachgewiesenem Blut im Stuhl oder auffälligen Stuhlnormregelmässigkeiten) - einer erweiterten gastroenterologischen Diagnostik, fast immer mit Endoskopie, zugeführt werden.

3. Asymptomatische Patienten unterhalb des 50. Lebensjahres müssen – bei negativer Familienanamnese – keinem invasiven Screening-Programm unterworfen werden.

4. Asymptomatische Patienten oberhalb des 50. Lebensjahres sollten den genannten Empfehlungen zu KRK-Screening-Untersuchungen folgen. Die o.g. Studien über den Anstieg der Prävalenz der kolorektalen Adenome und KRKs nach dem 50. Lebensjahr und die Bedeutung der frühen Diagnose zeigen ein per se erhöhtes KRK-Risiko dieser Altersgruppe; potenzierend wirken könnten exogene Noxen wie z.B. Nikotin (siehe Kapitel 2.1.3.) oder eine positive Familienanamnese. Vom klinischen Fall abhängig könnte hier mit 50 bis 55 Jahren eine erste, evtl. einmalige hohe Coloskopie erfolgen.

In Entwicklung befindliche Labortests zur Bestimmung genetischer Marker (z.B. in Kombination: Serum/Stuhl) scheinen zwar Vorteile hinsichtlich der niedrigeren Invasivität mit sich zu bringen; die Ermittlung des aktuellen oder zukünftigen KRK-Risikoprofils eines Patienten wirft aber ethische Fragestellungen auf, die noch nicht abschliessend bewertet werden können.

Aktuell wird neben der orientierenden Durchführung des Hämoccult® -Tests beim nicht familiär belasteten, asymptomatischen Patienten eine einmalige Screening-Coloskopie im Alter von 50 bis 55 Jahren empfohlen [Schmiegel et al., 2000]. Das endoskopische Screening bei jüngeren Patienten im Alter von 40 bis 49 Jahren erscheint nach einer Kosten-Nutzen-Analyse nicht gerechtfertigt [Imperiale et al., 2002]. Je nach Ergebnis der ersten Coloskopie ergeben sich die Abstände der

weiteren Kontrollen. Bildgebende CT- oder MRT-Verfahren im Sinne der virtuellen Coloskopie befinden sich noch im Entwicklungsstadium.

Die Polypektomie mittels Endoskopie ist und bleibt der Goldstandard für die gezielte KRK-Prävention. UDCA hat einen festen Platz bei der Behandlung von bestimmten Leber- und Gallekrankheiten, kann aber nach den vorliegenden Daten nicht zur KRK-Prävention empfohlen werden. Langzeitstudien sind notwendig, um den potentiell chemopräventiven Effekt von UDCA bei einer ausreichend grossen Humanpopulation zu belegen; z. B. durch Demonstration einer Reduktion im Wiederauftreten von kolorektalen Polypen. Des weiteren ist es von Interesse, den potentiellen Mechanismus der möglichen chemopräventiven Wirkung von UDCA zu bestimmen, z.B. durch die Analyse möglicher GS-Rezeptoren an der Zelloberfläche und die Untersuchung des luminalen wie intrazellulären Schicksals dieser Gallensäure.

7. Zusammenfassung

Das kolorektale Karzinom (KRK) zählt zu den häufig auftretenden Krebskrankheiten und ist trotz grosser Fortschritte in der Frühdiagnostik und bei der Therapie immer noch mit einer hohen Mortalität vergesellschaftet. Kolorektale Adenome stellen in der Mehrzahl der Fälle Vorläufer und damit erhöhtes Risiko für ein sporadisches KRK dar. Die epitheliale Hyperproliferation mit vermehrter DNA-Synthese gilt als frühe Veränderung im Rahmen der Adenom-Karzinom-Sequenz.

Es gibt viele Ansätze, KRK-Risikofaktoren und -gruppen zu definieren, um hier gezielte diagnostische Massnahmen im Sinne der Früherkennung anwenden zu können. Daneben werden Modifikationen des KRK-Risikos durch verschiedene Chemopräventiva untersucht. Unter den chemopräventiven Substanzen findet sich auch Ursodeoxycholsäure (UDCA). Diese beim Menschen nur in geringen Mengen natürlich vorkommende, hydrophile und zytoprotektive Gallensäure (GS) wurde in der vorliegenden Arbeit als Studienmedikament verwandt. Nach oraler Substitution kommt es zur UDCA-Anreicherung im Gallensäurenpool auf Kosten der ko-karzinogenen sekundären Gallensäuren wie z.B. Deoxycholsäure (DCA). Die letztgenannte GS wurde im Serum von Patienten mit kolorektalen Adenomen als erhöht beschrieben und korrelierte positiv mit der kolorektalen Proliferationsrate.

Vor dem Hintergrund verschiedener Studien zum Gallensäurenmetabolismus im Kolorektum und in Tiermodellen gefundenen KRK-protectiven Effekten von UDCA wurde in dieser Pilotstudie erstmals am Menschen untersucht, ob eine sechsmonatige orale UDCA-Therapie – wie postuliert – zu einer Senkung der Proliferationsrate der Kolonmukosa führen würde. Das Studiendesign entsprach einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Arbeit; Patienten mit kolorektalen Adenomen waren die Studienpopulation. Zusätzlich wurden die Serum-Gallensäurenprofile der Patienten in Verum- und Kontrollgruppe vor und am Ende der Behandlungsperiode analysiert.

Initial wurden bei zwanzig Patienten (jeweils 10 in Verum- und Placebogruppe) mit kolorektalen Adenomen endoskopisch Knipsbiopsien der sechs Colonsegmente Caecum, C. ascendens, C. transversum, C. descendens, Sigma und Rectum entnommen. Am Ende der sechsmonatigen Behandlungsperiode wurde zum zweiten Mal koloskopiert: der endoskopische Befund wurde kontrolliert und in allen sechs

Segmenten wiederum biopsiert. Die gewonnenen Biopsien wurden präpariert und anschliessend mittels Propidiumjodid gefärbt, um den jeweiligen DNA-Gehalt durchflusszytometrisch (FACS) zu bestimmen. Damit konnten die Proliferationsindizes (PI's) der einzelnen Kolonsegmente errechnet werden. Die Proliferationsrate der gesamten kolorektalen Mukosa wurde als arithmetisches Mittel der Einzelsegmente berechnet. Die Serum-Gallensäurenkonzentrationen wurden gaschromatographisch vor und am Ende der Behandlungsperiode gemessen.

Die mittlere Proliferationsrate für das gesamte Colon betrug am Ende der Studienperiode 15,4% in der Verumgruppe und 16,0% in der Placebogruppe. Im Vergleich zu den Ausgangswerten innerhalb beider Gruppen und bei Analyse der eben genannten Zahlen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Auch bei der Subanalyse der Proliferationsindizes der Einzelsegmente fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe.

Die UDCA-Konzentrationen im Serum waren signifikant verschieden zwischen UDCA- und Kontrollgruppe nach 180 Tagen Behandlung. Die UDCA-Behandlung führte nicht zu einem Abfall der DCA-Spiegel, sondern es kam vielmehr zu einem Konzentrationsanstieg von DCA im Serum. Zusätzlich wurde ein nicht-signifikanter Anstieg der Lithocholsäure-Spiegel nach 180 Tagen UDCA-Therapie beobachtet.

Ein gemäss vorangegangener in-vitro et vivo-Studien geforderter Kolonkarzinom-präventiver Effekt durch UDCA via Reduktion der kolorektalen Proliferationsrate konnte in dieser weltweit erstmals am Menschen durchgeführten Studie nicht nachvollzogen werden. Neben dem erwarteten UDCA-Anstieg im Serum der Verumgruppe kann die nicht erwartete relative Zunahme der kokarzinogen wirkenden DCA und LCA als mögliche Erklärung im Sinne eines Balance-Modells (Ausgleich protektiver und schädlicher Einflüsse auf die kolorektale Mukosa) für die fast konstant bleibende Proliferationsrate herangezogen werden.

Das Ergebnis könnte auch in dem unterschiedlichen kolorektalen Gallensäurenmetabolismus von Mensch und Tier oder der angewandten Dosis begründet sein. Bis heute kann daher UDCA als KRK-Chemopräventivum nicht empfohlen werden.

8. Literaturverzeichnis

1. Ahlquist DA, Skoletsy JE, Boynton KA, Harrington JJ, Mahoney DW, Pierceall WE, Thibodeau SN, Shuber AP. Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: feasibility of a multitarget assay panel. *Gastroenterology* 2000; 119: 1219-27.
2. Alberts DS, Martinez ME, Roe DJ, Guillén-Rodriguez JM, Marshall JR, van Leeuwen JB, Reid ME, Ritenbaugh C, Vargas PA, Bhattacharyya AB, Earnest DL, Sampliner RE, and the Phoenix Colon Cancer Prevention Physicians' Network. Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2000; 342: 1156-1162.
3. Alpini G, Ueno Y, Glaser SS, Marzioni M, Phinizy JL, Francis H, LeSage G. Bile acid feeding increased proliferative activity and apical bile acid transporter expression in both small and large rat cholangiocytes. *Hepatology* 2001; 34: 868-876.
4. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *N Engl J Med* 1992; 326: 658-62.
5. Azzaroli F, Mehal W, Soroka CJ, Wang L, Lee J, Crispe N, Boyer JL. Ursodeoxycholic acid diminishes Fas-ligand-induced apoptosis in mouse hepatocytes. *Hepatology*. 2002; 36: 49-54.
6. Bach BA, Knape WA, Edinger MG, Tubbs RR. Improved sensitivity and resolution in the flow cytometric DNA analysis of human solid tumor specimen. *Am J Clin Pathol* 1991;96: 615–27.
7. Bachrach WH, Hofmann AF. Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholesterol cholelithiasis. Part I. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 737–761.

8. Barlogie B, Raber MN, Schumann J, Johnson TS, Drewinko B, Swartzendruber DE, Gohde W, Andreeff M, Freireich EJ. Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Res* 1983; 43: 3982-97.
9. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, Rothstein R, Summers RW, Snover DC, Beck GJ, Bond JH, Greenberg ER. Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. *N Engl J Med* 1999; 340: 101-7.
10. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, Haile RW, Ahnen D, Bresalier R, McKeown-Eyssen G, Summers RW, Rothstein R, Burke CA, Snover DC, Church TR, Allen JI, Beach M, Beck GJ, Bond JH, Byers T, Greenberg ER, Mandel JS, Marcon N, Mott LA, Pearson L, Saibil F, van Stolk RU. A randomized trial of Aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003; 348: 891-899.
11. Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Mandel JS, Mott LA, Greenberg ER. Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 57-62.
12. Bartram HP, Englert S, Scheppach W, Dusel G, Richter F, Richter A, Kasper H. Antagonistic effects of deoxycholic acid and butyrate on epithelial cell proliferation in the proximal and distal human colon. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 389-92.
13. Bartram HP, Kasper K, Dusel G, Liebscher E, Gostner A, Loges C, Scheppach W: Effects of calcium and deoxycholic acid on human colonic cell proliferation in vitro. *Ann Nutr Metab.* 1997; 41: 315-23.
14. Batta AK, Salen G, Holubec H, Brasitus TA, Alberts D, Earnest DL: Enrichment of the more hydrophilic bile acid ursodeoxycholic acid in the fecal water-soluble fraction after feeding to rats with colon polyps. *Cancer Res* 1998; 58: 1684-7.

15. b. Bayerdörffer E, Mannes GA, Ochsenkühn T, Köpcke W, Wiebecke B, Paumgartner G. Increased risk of ‚high-risk‘ colorectal adenomas in overweight men. *Gastroenterology* 1993; 104: 137-44.
16. a. Bayerdörffer E, Mannes GA, Richter WO, Ochsenkühn T, Wiebecke B, Köpcke W, et al. Increased serum deoxycholic acid levels in man with colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1993; 104: 145-51.
17. Benz C, Angermüller S, Otto G, Sauer P, Stremmel W, Stiehl A. Effect of tauroursodeoxycholic acid on bile acid-induced apoptosis in primary human hepatocytes. *Eur J Clin Invest*. 2000; 30: 203-9.
18. Beuers U, Spengler U, Zwiebel FM, Pauletzki J, Fischer S, Paumgartner G. Effect of ursodeoxycholic acid on the kinetics of the major hydrophobic bile acids in health and in chronic cholestatic liver disease. *Hepatology* 1992; 15: 603– 8.
19. Beuers U, Boyer JL, Paumgartner G. Ursodeoxycholic acid in cholestasis. Potential mechanisms of action and therapeutic applications. *Hepatology* 1998; 28: 1449-53.
20. Bott C, Lembcke B, Stein J. Kolorektales Karzinom und Folsäure. *Z Gastroenterol* 2003; 41: 263-270.
21. Bouchier IA, Freston JW. The aetiology of gallstones. *Lancet* 1968 Feb 17; 1 (7538): 340-4.
22. Brasitus TA. Primary chemoprevention strategies for colorectal cancer: Ursodeoxycholic acid and other agents. *Gastroenterology* 1995; 109: 2036-2038.
23. Bumm R, Gross M, Günther B, Huber FT, Janetschek P, Kühl M, Lersch C, Roder JD, Sackmann M, Sander R, Schalhorn A, Siebeck M, Waldner H, Weber B, Wiebecke B, Zoller WG. Kolonkarzinome. In: Roder JD /

- Tumorzentrum München (Hrsg.): Gastrointestinale Tumoren – Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Schriftenreihe des Tumorzentrum München; 5. Auflage 1997, 235-260.
24. Bundesministerium für Gesundheit. Die Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Gesundheitsbericht für Deutschland 1998. Kapitel 5.9 Colon-/Rektumkarzinom. In: www.bmgesundheit.de, 10.09.2001.
 25. Burt RW, Petersen GM. Familial colorectal cancer: Diagnosis and Management. In: Young GP, Rozen P, Levin B. Prevention and early detection of colorectal cancer. WB Saunders, London; 1996: (10) 171-194.
 26. Byers T. Diet, colorectal adenomas, and colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 342: 1206-7.
 27. Carey MC, Duane WC. Enterohepatic circulation. In: *The Liver: Biology and Pathobiology, Third Edition*. Edited by: Arias IM, Boyer JL, Fausto N, Jakoby WB, Schachter DA, Shafritz DA. Raven Press, New York 1994. (39): 719-730.
 28. Caspary WF, Meyne K. Effects of chenodeoxy- and ursodeoxycholic acid on absorption, secretion and permeability in rat colon and small intestine. *Digestion* 1980; 20: 168-74.
 29. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: Insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 2000; 119: 854-865.
 30. Daten des Gesundheitswesens / Hrsg.: Der Bundesminister für Gesundheit. - Baden-Baden: Nomos Verl.-Ges., Ausgabe 1997, Seite 150.
 31. De Kok TM, van Faasen A, Glinghammar B, Pachen DM, Eng M, Rafter JJ, Baeten CG, Engels LG, Kleinjans JC. Bile acid concentrations, cytotoxicity, and pH of fecal water from patients with colorectal adenomas. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 2218-25.

32. DeRubertis FR, Craven PA, Saito R. Bile salt stimulation of colonic epithelial proliferation: evidence for involvement of lipoxygenase products. *J Clin Invest* 1984; 74: 1614-24.
33. Deschner EE, Hallak A, Rozen P, Gilat T. Prolonged administration of bile salts for gallstone dissolution and its effect on rectal epithelial cell proliferation. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 991-6.
34. Dukas L, Willett WC, Colditz GA, Fuchs CS, Rosner B, Giovannucci EL. Prospective study of bowel movement, laxative use, and risk of colorectal cancer among women. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 958-64.
35. Earnest DL, Holubec H, Wali RK, Jolley CS, Bissonette M, Bhattacharyya AK, et al. Chemoprevention of AOM-induced colonic carcinogenesis by supplemental dietary ursodeoxycholic acid. *Cancer Res* 1994; 54: 5071-4.
36. Fearon ER and Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-67.
37. Fernandez E, La Vecchia C, Balducci A, Chatenoud L, Franceschi S, Negri E. Oral contraceptives and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2001; 84:722-7.
38. Fischer S, Neubrand M, Paumgartner G. Biotransformation of orally administered ursodeoxycholic acid in man as observed in gallbladder bile, serum and urine. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 28-36.
39. Fletcher JG, Johnson CD, Welch TJ, MacCarty RL, Ahlquist DA, Reed JE, Harmsen WS, Wilson LA. Optimization of CT colonography technique: prospective trial in 180 patients. *Radiology* 2000; 216 (3): 704-11.
40. Fromm H, Sarva RP, Bazzoli F. Formation of ursodeoxycholic acid from chenodeoxycholic acid in the human colon: studies of the role of 7-ketolithocholic acid as an intermediate. *J Lipid Res* 1983; 24: 841-53.

41. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999; 340: 169-76.
42. Gee JM, Watson M, Matthew JA, Rhodes M, Speakman CJM, Stebbings WSL, Johnson IT. Consumption of fish oil leads to prompt incorporation of eicosapentaenoic acid into colonic mucosa of patients prior to surgery for colorectal cancer, but has no detectable effect on epithelial cytokinetics. *J Nutr* 1999; 129: 1862-1865.
43. Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, Piantadosi S, Hylind LM, Cella Booker SV, Robinson CR, Offerhaus GJ. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1313-6.
44. Giardiello FM, Yang VW, Hylind LM, Krush AJ, Petersen GM, Trimbath JD, Piantadosi S, Garrett E, Geiman DE, Hubbard W, Offerhaus GJA, Hamilton SR. Primary chemoprevention of familial adenomatous polyposis with sulindac. *N Engl J Med* 2002; 346: 1054-9.
45. b. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med* 1995; 122: 327-34.
46. b. Giovannucci E, Colditz GA, Stampfer MJ. A meta-analysis of cholecystectomy and risk of colorectal cancer. *Gastroenterology* 1993; 105: 130-41.
47. b. Giovannucci E, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter D, Rosner BA, Willett WC, Speizer FE. A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. women. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 192-199.

48. a. Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Alcohol, low-methionine—low-folate diets, and risk of colon cancer in men. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 265-73.
49. c. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Kearney J, Willett WC. A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. men. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 183-91.
50. a. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willett WC. Intake of fat, meat, and fiber in relation to risk of colon cancer in men. *Cancer Res* 1994; 54: 2390-7.
51. a. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Trichopoulos D, Rosner BA, Speizer FE, Willett WC. Folate, methionine, and alcohol intake and risk of colorectal adenoma. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 875-884.
52. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz G, Rimm EB, Willett WC. Relationship of diet to risk of colorectal adenoma in men. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 91-8.
53. Gryfe R, Swallow C, Bapat B, Redston M, Gallinger S, Couture J. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer* 1997; 21: 233-300.
54. Guldutuna S, Zimmer G, Imhof M, Bhatti S, You T, Leuschner U. Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology* 1993; 104: 1736-44.
55. Gwyn K and Sinicrope FA. Chemoprevention of colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 13-21.
56. Hagey LR, Crombie DL, Espinosa E, Carey MC, Igimi H, Hofmann AF. Ursodeoxycholic acid in the ursidae: biliary bile acids of bears, pandas, and related carnivores. *J Lipid Res* 1993; 34: 1911-1917.

57. Hawk ET, Viner JL. Chemoprevention in Ulcerative Colitis: Narrowing the Gap between Clinical Practice and Research (Editorial). *Ann Intern Med* 2001; 134: 158-60.
58. Herbay A von, Herfarth Ch, Otto HF. Cancer and dysplasia in ulcerative colitis: a histologic study of 301 surgical specimen. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 382-388.
59. Hill MJ. The role of colon anaerobes in the metabolism of bile acids and steroids, and its relation to colon cancer. *Cancer* 1975; 36: 2387-2400.
60. Hirose Y, Kuno T, Yamada Y, Sakata K, Katayama M, Yoshida K, Qiao Z, Hata K, Yoshimi N, Mori H. Azoxymethane-induced beta-catenin-accumulated crypts in colonic mucosa of rodents as an intermediate biomarker for colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2003; 24: 107-11.
61. Hofmann AF. Chemistry and enterohepatic circulation of bile acids. *Hepatology* 1984; 4 (No. 5): 4S - 14S.
62. Hofmann AF. Pharmacology of ursodeoxycholic acid, an enterohepatic drug. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29 (Suppl. 204): 1-15.
63. Hofmann AF. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Arch Intern Med* 1999; 159: 2647-2658.
64. Hori T; Matsumoto K; Sakaitani Y; Sato M; Morotomi M. Effect of dietary deoxycholic acid and cholesterol on fecal steroid concentration and its impact on the colonic crypt cell proliferation in azoxymethane-treated rats. *Cancer Lett* 1998; 124: 79-84.
65. Ikegami T, Matsuzaki Y, Shoda J, Kano M, Hirabayashi N, Tanaka N. The chemopreventive role of ursodeoxycholic acid in azoxymethane-treated rats: suppressive effects on enhanced group II phospholipase A₂ expression in colonic tissue. *Cancer Letters* 1998; 134: 129-139.

66. Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY, Larkin GN, Rogge JD, Ransohoff DF. Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *N Engl J Med* 2000; 343: 169-74.
67. Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY, Larkin GN, Rogge JD, Ransohoff DF. Results of screening colonoscopy among persons 40 to 49 years of age. *N Engl J Med* 2002; 346: 1781-5.
68. Iwasaki T. Über die Konstitution der Ursodeoxycholsäure. *Z Physiol Chem* 1936; 244: 181-93.
69. Jänne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2000; 342: 1960-8.
70. Kasbo J, Saleem M, Perwaiz S, Mignault D, Lamireau T, Tuchweber B, Yousef I. Biliary, fecal and plasma deoxycholic acid in rabbit, hamster, guinea pig, and rat: comparative study and implication in colon cancer. *Biol Pharm Bull* 2002 Oct; 25: 1381-4.
71. Kato S, Fujii T, Koba I, Sano Y, Fu KI, Parra-Blanco A, Tajiri H, Yoshida S, Rembacken B. Assessment of colorectal lesions using magnifying colonoscopy and mucosal dye spraying: can significant lesions be distinguished? *Endoscopy*. 2001; 33: 306-10.
72. Kearney J, Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Bleday R, Willett WC. Diet, alcohol, and smoking and the occurrence of hyperplastic polyps of the colon and rectum (United States). *Cancer Causes Control* 1995; 6: 45-56.
73. Knekt P, Hakama M, Järvinen R, Pukkala E, Heliövaara M. Smoking and risk of colorectal cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 136-39.

74. Kudo S, Rubio CA, Teixeira CR, Kashida H, Kogure E. Pit pattern in colorectal neoplasia: endoscopic magnifying view. *Endoscopy*. 2001; 33: 367-73.
75. Kühbacher T, Fölsch UR. Nutzen der Koloskopie zur Früherkennung proximal gelegener Neoplasien bei nichtsymptomatischen Patienten. *Z Gastroenterol* 2001; 39: 261-263.
76. Kullak-Ublick GA, Jung D, Meier PJ. Rolle von nukleären Rezeptoren beim hepatischen und intestinalen Medikamententransport. *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 128: 389-393.
77. Kumar D, Tandon RK. Use of ursodeoxycholic acid in liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 3-14.
78. Kurtz WJ, Guldutuna S, Leuschner U. Differing effect of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on bile acids in rat colonic wall and contents. *Tokai J Exp Clin Med* 1988; 13: 91-7.
79. Labayle D, Fischer D, Vielh P, Drouhin F, Pariente A, Bories C, et al.. Sulindac causes regression of rectal polyps in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 1991; 101: 635-9.
80. Latta RK, Fiander H, Ross NW, Simpson C, Schneider H. Toxicity of bile acids to colon cancer cell lines. *Cancer Lett* 1993; 70: 167-73.
81. Lazaridis KN, Gores GJ, Lindor KD. Ursodeoxycholic acid ,mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders'. *J Hepatol* 2001; 35: 134-46.
82. Lentner C. Galle. In: *Wissenschaftliche Tabellen Geigy: Einheiten im Messwesen, Körperflüssigkeiten, Ernährung*. Basel, 1977. 4. Nachdruck 1985. S. 136-43.

83. Leuschner U, Fischer H, Kurtz W, Guldutuna S, Hubner K, Hellstern A, Gatzner M, Leuschner M. Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: results of a controlled double-blind trial. *Gastroenterology* 1989; 97: 1268-74.
84. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K. Environmental and heritable factors in the causation of cancer. *N Engl J Med* 2000; 343: 78-85.
85. Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, Ahnen DJ, Garewal H, Chejfec G et al.. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 343: 162-8.
86. Lipkin M. Biomarkers of increased susceptibility of gastrointestinal cancer: new application to studies of cancer prevention in human subjects. *Cancer Res* 1988; 48: 235-45.
87. Lloyd-Still JD, Beno DW, Uhing MR, Jiyamapa-Serna VA, Kimura RE. Ursodeoxycholic acid ameliorates ibuprofen-induced enteropathy in the rat. *J Pediatr Gastroenterology Nutr* 2001; 32: 270-273.
88. Lupton JR, Steinbach G, Chang WC, O'Brien BC, Wiese S, Stoltzfus CL, Guber GA, Wargovich MJ, McPherson RS, Winn RJ. Calcium supplementation modifies the relative amounts of bile acids in bile and affects key aspects of human colon physiology. *J Nutr* 1996; 126: 1421-8.
89. Macrae F. Wheat bran fiber and development of adenomatous polyps: evidence from randomized, controlled clinical trials. *Am J Med* 1999; 106: 38S-42S.
90. Makino I, Nakagawa S. Changes in biliary lipid and biliary bile acid composition in patients after administration of ursodeoxycholic acid. *J Lipid Res* 1978; 19: 723-728.

91. Makino I, Shinozaki K, Yoshino K, Nakagawa S. Dissolution of cholesterol gallstones by ursodeoxycholic acid. *Jpn J Gastroenterol* 1975; 72: 690-702.
92. Martinez JD, Stratagoules ED, La Rue JM, Powell AA, Gause PR, Craven MT, Payne CM, Powell MB, Gerner EW, Earnest DL. Different bile acids exhibit distinct biological effects: the tumor promoter deoxycholic acid induces apoptosis and the chemopreventive agent ursodeoxycholic acid inhibits cell proliferation. *Nutr Cancer* 1998; 31: 111-8.
93. Martinez ME, McPherson RS, Levin B, Guber GA. A case-control study of dietary intake and other lifestyle risk factors for hyperplastic polyps. *Gastroenterology* 1997; 113: 423-9.
94. Meining A, Hackelsberger A, Daenecke C, Stolte M, Bayerdörffer E, Ochsenkühn T. Increased cell proliferation of the gastric mucosa in first-degree relatives of gastric carcinoma patients. *Cancer* 1998; 83: 876-81.
95. Murphy TK, Calle EE, Rodriguez C, Khan HS, Thun MJ. Body mass index and colon cancer mortality in a large prospective study. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 847-54.
96. Narisawa T, Fukaura Y, Terada K, Sekiguchi H. Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon tumorigenesis by ursodeoxycholic acid in F344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 1009-13.
97. Narisawa T, Fukaura Y, Terada K, Sekiguchi H. Inhibitory effects of ursodeoxycholic acid on N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis and colonic mucosal telomerase activity in F344 rats. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18: 259-66.
98. Nishida K, Takano H, Yoneda M, Ohtsuki T, Fujii M, Terasawa Y, Yamane E, Nishioka B, Namura K, Yoshikawa T, et al.. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in tissues of colon cancer using endoscopic biopsy specimens. *J Surg Oncol* 1995; 59: 181-5.

99. Normen AL, Brants HA, Voorrips LE, Andersson HA, van den Brandt PA, Goldbohm RA. Plant sterol intakes and colorectal cancer risk in the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 141-8.
100. O'Brien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, Gottlieb LS, Sternberg SS, Diaz B, Dickersin R, Ewing S, Geller S, Kasimian D, Komorowski R, Szporn A, and The National Polyp Study Workgroup. The national polyp study – patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1990; 98: 371-379.
101. Ochsenkühn T, Bayerdörffer E, Meining A, Schinkel M, Thiede C, Nüssler V, Sackmann M, Hatz R, Neubauer A, Paumgartner G. Colonic mucosal proliferation is related to serum deoxycholic acid levels. *Cancer* 1999; 85: 1664-9.
102. Owen RW, Thompson MH, Hill MJ, Wilpart M, Mainguet P, Roberfroid M. The importance of the ratio of lithocholic to deoxycholic acid in large bowel carcinogenesis. *Nutr Cancer* 1987; 9: 67-71.
103. Oyama K, Shiota G, Ito H, Murawaki Y, Kawasaki H. Reduction of hepatocarcinogenesis by ursodeoxycholic acid in rats. *Carcinogenesis* 2002; 23: 885-92.
104. Paumgartner G, Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology* 2002; 36: 525-531.
105. Paumgartner G, Pauletzki J, Sackmann M. Ursodeoxycholic acid treatment of cholesterol gallstone disease. *Scand J Gastroenterol* 1994; Suppl 204: 27-31.
106. Piazza F, Montagnani M, Russo C, Azzaroli F, Aldini R, Roda E, Roda A. Competition in liver transport between chenodeoxycholic acid and

- ursodeoxycholic acid as a mechanism for ursodeoxycholic acid and its amidates' protection of liver damage induced by chenodeoxycholic acid. *Dig Liver Dis* 2000; 32: 318-328.
107. Potter JD. Epidemiologic, environmental, and lifestyle issues in colorectal cancer. In: Young GP, Rozen P, Levin B. Prevention and early detection of colorectal cancer. WB Saunders, London 1996; (2): 23-43.
 108. Qiao D, Gaitonde SV, Qi W, Martinez JD. Deoxycholic acid suppresses p53 by stimulating proteasome-mediated p53 protein degradation. *Carcinogenesis* 2001; 22: 957-64.
 109. Ransohoff DF, Sandler RS. Screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2002; 346: 40-44.
 110. Rashid A, Zahurak M, Goodman SN, Hamilton SR. Genetic epidemiology of mutated K-ras proto-oncogene, altered suppressor genes, and microsatellite instability in colorectal adenomas. *Gut* 1999; 44: 826-833.
 111. Reale MA, Fearon ER. Gene defects in colorectal carcinogenesis. In: Young GP, Rozen P, Levin B. Prevention and early detection of colorectal cancer. WB Saunders, London 1996; (4): 63-86.
 112. Reddy BS, Narisawa T, Weisburger JH, Wynder EL. Promoting effect of sodium deoxycholate on colon adenocarcinomas in germ-free rats. *J Natl Cancer Inst* 1976; 56: 441-2.
 113. Reddy BS, Wynder EL. Metabolic epidemiology of colon cancer. Faecal bile acids and neutral steroids in colon cancer patients and patients with adenomatous polyps. *Cancer* 1977; 39: 2533-9.
 114. Reddy S, Sanders TA, Owen RW, Thompson MH. Faecal pH, bile acid and sterol concentrations in premenopausal Indian and white vegetarians compared with white omnivores. *Br J Nutr* 1998; 79: 495-500.

115. Reinacher-Schick A, Seidensticker F, Petrasch S, Reiser M, Philippou S, Theegarten D, Freitag G, Schmiegel W. Mesalazine changes apoptosis and proliferation in normal mucosa of patients with sporadic polyps of the large bowel. *Endoscopy* 2000; 32: 245-254.
116. Reuben A. Bile formation: Sites and Mechanisms. *Hepatology* 1984; 4: 15S-24S.
117. Riede UN, Schaefer HE. Dickdarm. In: Riede UN, Schaefer HE (Hrsg.). *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Thieme, Stuttgart 3. Aufl. 1993; (12): 718-734.
118. Rigas B, Tsioulis GJ, Allan C, Wali RK, Brasitus TA. The effect of bile acids and piroxicam on MHC antigen expression in rat colonocytes during colon cancer development. *Immunology* 1994; 83: 319-23.
119. Risio M, Arrigoni A, Pennazio M, Agostinucci A, Spandre M, Rossini FP. Mucosal cell proliferation in patients with hyperplastic colorectal polyps. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 344-8.
120. Rodrigues CMP, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998; 101: 2790-2799.
121. Rodrigues CMP, Kren BT, Steer CJ, Setchell KDR. The site specific delivery of ursodeoxycholic acid to the rat colon by sulfate conjugation. *Gastroenterology* 1995; 109: 1835-44.
122. Rodrigues CM, Steer CJ. The therapeutic effects of ursodeoxycholic acid as an anti-apoptotic agent. *Expert Opin Investig Drugs* 2001; 10: 1243-53.

123. Rozen P, Knaani J, Samuel Z. Comparative screening with a sensitive guaiac and specific immunochemical occult blood test in an endoscopic study. *Cancer* 2000; 89: 46-52.
124. Rubin RA, Kowalski TE, Khandelwal M, Malet PF. Ursodiol for hepatobiliary disorders. *Ann Intern Med* 1994; 121: 207-218.
125. Sackmann M, Pauletzki J, Aydemir U, Holl J, Sauerbruch T, Hasford J, Paumgartner G. Efficacy and safety of ursodeoxycholic acid for dissolution of gallstone fragments: comparison with the combination of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid. *Hepatology* 1991; 14: 1136-41.
126. Saito H, Yoshida Y. Mass screening: Japanese perspective. In: Young GP, Rozen P, Levin B. *Prevention and early detection of colorectal cancer*. WB Saunders, London 1996; (17): 301-311.
127. Saitoh Y, Waxman I, West AB, Popnikolov NK, Gatalica Z, Watari J, Obara T, Kohgo Y, Pasricha PJ. Prevalence and distinctive biologic features of flat colorectal adenomas in a North American Population. *Gastroenterology* 2001; 120: 1657-1665.
128. Saksena S, Tandon RK. Ursodeoxycholic acid in the treatment of liver diseases. *Postgrad Med J* 1997; 73: 75-80.
129. Sandler RS, Lyles CM, Peipins LA, McAuliffe CA, Woosley JT, Kupper LL. Diet and risk of colorectal adenomas: Macronutrients, cholesterol and fiber. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 884-91.
130. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, Budinger S, Paskett E, Keresztes R, Petrelli N, Pipas JM, Karp DD, Loprinzi CL, Steinbach G, Schilsky R. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 883-890.

131. Schatzkin A, Freedman LS, Dawsey SM, Lanza E. Interpreting precursor studies: what polyp trials tell us about large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1053-1057.
132. Schatzkin A, Lanza E, Corle D, Lance P, Iber F, Caan B, Shike M, Weissfeld J, Burt R, Cooper MR, Kikendall JW, Cahill J, and the Polyp Prevention Trial Study Group. Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2000; 342: 1149-1155.
133. Schmiegel W, Adler G, Frühmorgen P, Fölsch U, Graeven U, Layer P, Petrasch S, Porschen R, Pox C, Sauerbruch T, Schmoll HJ, Zeitz M. Kolorektales Karzinom: Prävention und Früherkennung in der asymptomatischen Bevölkerung – Vorsorge bei Risikopatienten – Endoskopische Diagnostik, Therapie und Nachsorge von Polypen und Karzinomen. *Z Gastroenterol* 2000; 38: 49-75.
134. Schweizer Bundesamt für Statistik. Jahrbuch 1996. Kapitel 14 – Gesundheit. Tabelle T 14.4.
135. Serfaty L, Deleusse A, Rosmorduc O, Flejoux JF, Chazouilleres O, Poupon R, Poupon R. Ursodeoxycholic acid decreases recurrence of colorectal adenomas in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2002; 122: 610 Suppl. 1 Apr 2002 (Abstract).
136. Setchell KDR, Ives JA, Cashmore GC, Lawson AM. On the homogeneity of stools with respect to bile acid composition and normal day-to-day variations: a detailed qualitative and quantitative study using capillary column gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 1987; 162: 257-75.
137. Shekels LL, Beste JE, Ho SB. Tauroursodeoxycholic acid protects in vitro models of human colonic cancer cells from cytotoxic effects of hydrophobic bile acids. *J Lab Clin Med* 1996; 127: 57-66.

138. Shoda M. Über die Ursodeoxycholsäure aus Bärengallen und ihre physiologische Wirkung. *J Biochem* 1927; 7: 505-17.
139. Shpitz B, Bomstein Y, Mekori Y, Cohen R, Kaufman Z, Grankin M, Bernheim J. Proliferating cell nuclear antigen as a marker of cell kinetics in aberrant crypt foci, hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas of the human colon. *Am J Surg* 1997; 174: 425-30.
140. Simanowski UA, Seitz HK, Czygan P, Horner M, Waldherr R, Weber E, Kommerell B. Chronic ursodeoxycholic acid- and chenodeoxycholic acid-feeding-induced changes of colon mucosal cell proliferation in rats. *J Natl Cancer Inst* 1987; 79: 163-6.
141. Stadler J, Yeung KS, Furrer R, Marcon N, Himal HS, Bruce WR. Proliferative activity of rectal mucosa and soluble fecal bile acids in patients with normal colons and in patients with colonic polyps or cancer. *Cancer Lett* 1988; 38: 315-20.
142. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RKS, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, Wakabayashi N, Saunders B, Shen Y, Fujimura T, Su LK, Levin B. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1946-52.
143. Stiehl A, Rudolph G, Raedsch R, Moller B, Hopf U, Lotterer E, Bircher J, et al. Ursodeoxycholic acid-induced changes of plasma and urinary bile acids in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1990; 12: 492-7.
144. Takayama T, Katsuki S, Takahashi Y, Ohi M, Nojiri S, Sakamaki S, Kato J, Kogawa K, Miyake H, Niitsu Y. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 1277-84.
145. Terry P, Giovannucci E, Michels KB, Bergkvist L, Hansen H, Holmberg L, Wolk A. Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 525-33.

146. Thornthwaite JT, Sugarbaker EV, Temple WJ. Preparation of tissues for DNA flow cytometric analysis. *Cytometry* 1980; 1: 229-37.
147. Thun MJ, Calle EE, Namboodiri MM, Flanders WD, Coates RJ, Byers T, Boffetta P, Garfinkel L, Heath CW Jr.. Risk factors for fatal colon cancer in a large prospective study. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1491-500.
148. Tung BY, Emond MJ, Haggitt RC, Bronner MP, Kimmey MB, Kowdley KV, Brentnall TA. Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Ann Intern Med* 2001; 134: 89-95.
149. Ursofalk® Produktinformation. Kapitel 5: Toxizität. Dr. Falk Pharma GmbH, Freiburg im Breisgau. Juli 1996; 19-23.
150. Van der Meer R, Govers MJAP, Kleibeuker JH. Dietary calcium, bile acids, and colon cancer. In: Hofmann A, Paumgartner G, Stiehl A. *Bile acids in gastroenterology - basic and clinical advances*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston/ London 1995; (34): 302-311.
151. Van Faassen A, Hazen MJ, van den Brandt PA, van den Bogaard AE, Hermus RJ, Janknegt RA. Bile acids and pH values in total feces and in fecal water from habitually omnivorous and vegetarian subjects. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 917-22.
152. Van Faassen A, Ochsenkühn T, Houterman S, van der Ploeg EM, Bueno-de-Mesquita BH, Ocke MC, Bayerdörffer E, Janknegt RA. Plasma deoxycholic acid is related to deoxycholic acid in faecal water. *Cancer Lett* 1997; 114: 293-294.
153. a. Van Gorkom BA, Karrenbeld A, van der Sluis T, Zwart N, van der Meer R, de Vries EG, Kleibeuker JH. Calcium or resistant starch does not affect colonic

- epithelial cell proliferation throughout the colon in adenoma patients: a randomized controlled trial. *Nutr Cancer* 2002; 43: 31-8.
154. b. Van Gorkom BA, van der Meer R, Boersma-van Ek W, Termont DS, de Vries EG, Kleibeuker JH. Changes in bile acid composition and effect on cytolytic activity of fecal water by ursodeoxycholic acid administration: a placebo-controlled cross-over intervention trial in healthy volunteers. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 965-71.
155. Vatn MH, Stalsberg H. The prevalence of polyps of the large intestine in Oslo: an autopsy study. *Cancer* 1982; 49: 819-25.
156. Verma A, Jazrawi RP, Ahmed HA, Davis T, Bland JM, Benson M, Orchard RT, Theodossi A, Maxwell JD, Northfield TC. Optimum dose of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1069-76.
157. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AS, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med* 1988; 319: 525-532.
158. Wali RK, Stoiber D, Nguyen L, Hart J, Sitrin MD, Brasitus T, Bissonnette M. Ursodeoxycholic acid inhibits the initiation and postinitiation phases of azoxymethane-induced colonic tumor development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002 Nov; 11: 1316-21.
159. Wang W, Xue S, Ingles SA, Chen Q, Diep AT, Frankl HD, Stolz A, Haile RW. An association between genetic polymorphisms in the ileal sodium-dependent bile acid transporter gene and the risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 931-6.
160. Ward A, Brogden RN, Heel RC, Speight TM, Avery GS. Ursodeoxycholic Acid. A Review of its pharmacological and properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1984; 27: 95-131.

161. Wargovich MJ. Precancer markers and prediction of tumorigenesis. In: Young GP, Rozen P, Levin B. Prevention and early detection of colorectal cancer. WB Saunders, London 1996; (5): 89-101.
162. Weisgerber UM, Boeing H, Owen RW, Waldherr R, Raedsch R, Wahrendorf J. Effect of longterm placebo controlled calcium supplementation on sigmoidal cell proliferation in patients with sporadic adenomatous polyps. Gut 1996; 38: 396-402.
163. Williams AR, Balasooriya BAW, Day DW. Polyps and cancer of the large bowel: a necropsy study in Liverpool. Gut 1982; 23: 835-842.
164. Winawer SJ, Fletcher RH, Miller L, Godlee F, Stolar MH, Mulrow CD, Woolf SH, Glick SN, Ganiats TG, Bond JH, Rosen L, Zapka JG, Olsen SJ, Giardiello FM, Sisk JE, Van Antwerp R, Brown-Davis C, Marciniak DA, Mayer RJ. Colorectal Cancer Screening: Clinical Guidelines and Rationale. Gastroenterology 1997; 112: 594-642.
165. Winawer SJ, Stewart ET, Zauber AG, Bond JH, Ansel H, Waye JD, Hall D, Hamlin JA, Schapiro M, O'Brien MJ, Sternberg SS, Gottlieb LS, et al.. A comparison of colonoscopy and double-contrast barium enema for surveillance after polypectomy. N Engl J Med 2000; 342: 1766-72.
166. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Waye JD, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. N Engl J Med 1993; 329: 1977-1981.

9. Danksagung

Mein aufrichtiger Dank geht an Herrn Professor Dr. med. M. Sackmann, der mir das Thema der Arbeit überlassen hat. Seiner nachhaltigen und geduldigen Betreuung bin ich zu besonders grossem Dank verpflichtet. Ohne seine unaufhörliche klinische wie wissenschaftliche Unterstützung als Oberarzt und Leiter der Endoskopie-Abteilung der Med. Klinik II des Klinikums Grosshadern wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Den Herren Professoren Dr. med. G. Paumgartner und Dr. med. U. Beuers danke ich für die Überlassung und Ausstattung des Laborarbeitsplatzes und die fortwährende wissenschaftliche Beratung dieser Arbeit. Herrn Dr. med. T. Ochsenkühn verdanke ich die äusserst umfangreiche – fachliche wie persönliche - Betreuung und stetige Unterstützung dieser Arbeit. Dadurch war es möglich, Teile dieser Arbeit in Abstract-Form auf wissenschaftlichen Tagungen zu präsentieren. Als Ganzes ist die Arbeit unter dem Titel „Does ursodeoxycholic acid change the proliferation of the colorectal mucosa?“ zur Publikation eingereicht.

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Rita Schinkmann und Frau Christine Otahal, die wertvolle Hinweise zur Methodik gaben und die technische Ausführung dieser Arbeit tatkräftig unterstützten. In diesem Zusammenhang danke ich ebenso dem ärztlichen wie pflegerischen Personal der Medizinischen Klinik II des Klinikums Grosshadern, an erster Stelle Frau Dr. med. M. Weinzierl und Herrn Dr. med. J. Holl sowie den Schwestern und Pflegern der Endoskopie-Abteilung für ihren zusätzlichen Einsatz im Rahmen dieser Studie. Herrn J. Büttner und Frau G. Schwertfeger danke ich für ihre Unterstützung bei der gaschromatographischen Bestimmung der Serum-Gallensäurenspektren der Patienten.

Den Herren Professoren Dr. med. V. Nüssler (Med. Klinik III, Klinikum Grosshadern) und Dr. med. R. Kimmig (Frauenklinik, Klinikum Grosshadern) verdanke ich die kollegiale Bereitstellung ihrer FACS-Geräte.

Bedanken möchte ich mich schliesslich bei den Professoren Dr. med. P. J. Meier-Abt, Dr. med. G.-A. Kullak-Ublick und Dr. sc. nat. B. Stieger (Universitätsspital Zürich). Dr. U. Helfenstein (Universität Zürich) hat mich bei der statistischen Analyse der erhobenen Daten beraten.

10. Lebenslauf

Familienname: Marsteller

Vorname: Igor

Geburtsdatum: 07.12.1970

Geburtsort: Bonn

Eltern: Dr. med. Hansjörg Marsteller, Facharzt für Innere Medizin
Ursula Marsteller (geb. Kurz), Auslandskorrespondentin

Schulbildung:

1977-1981 Löwenburgschule Bad Honnef

1981-1990 Privates, staatlich anerkanntes Gymnasium der
Franziskanerinnen Insel Nonnenwerth im Rhein

Mai 1990 Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst:

1990 – 91 Sanitätsdienst in Koblenz

Studium / Beruf:

1991 - 92 Physik an der Universität Bonn

1992-1999 Humanmedizin an der Universität München (LMU)

November 1999 Ärztliche Prüfung (Dritter Teil)

1999-2001 Arzt im Praktikum an der Med. Klinik II des Klinikums
Grosshadern, Promotionsstudium an der LMU

Juni 2001 Ärztliche Approbation

Aktuell Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Universitätsspital
Zürich, Departement Innere Medizin, Abteilung für
Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Anhang

- > Anhang 1 – FACS-Diagramme (Beispiel)**

- > Anhang 2 – Grundlagen der Laborarbeit**

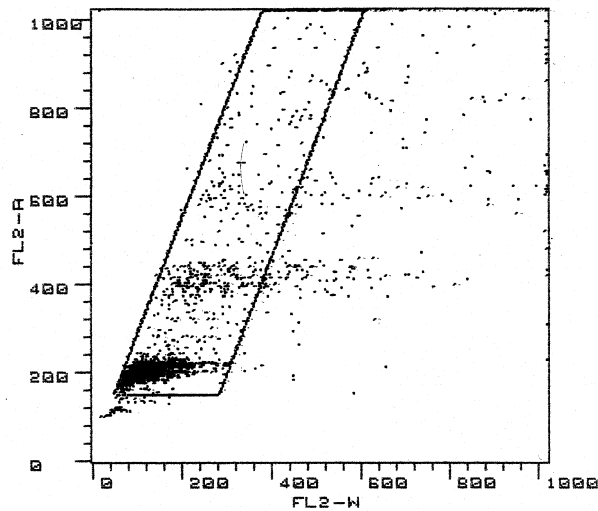
- > Anhang 3 – Patienten-Merkblatt zur Darmreinigung / Coloskopie**

BECTON
DICKINSON

CellFIT - Define Gates - Version 2.0

DATE: 12-MAR-98

TIME: 9:20:04



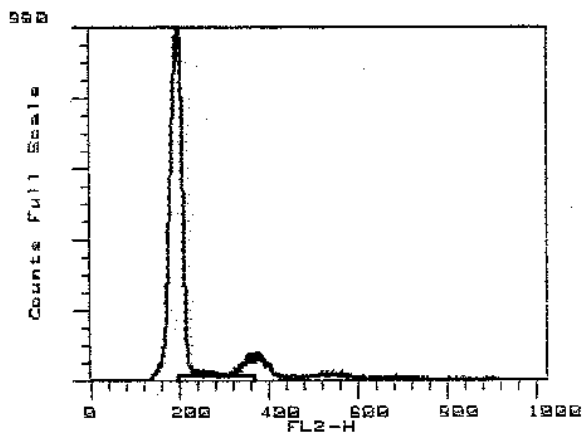
Gate Set : 1
Gate Mode : INCLUSIVE
Dots Displayed : 2000

File Name : #16:73CAEC1001
Patient Name : ██████████ ,13.2.39
Case Number : 73
Reagents :

Anhang 1 – FACS-Diagramm: Histogramm

Anhang 1 – FACS-Diagramm: Histogramm

BECTON
DICKINSON CellFIT Cell-Cycle Analysis Version 2.0
DATE: 12-MAR-98 TIME: 9:22:35



Patient Name : ██████████ , 13.2.39 Model : RFIT
Case Number : 73 Gate : 1
Issue Type : COLON Event Rate : 125
Preparation : BDIS0001 Total Events : 42223
Preparation Date : 20-NOV-98
Reagents :
File Name : #16:73CAEC1001
Collection Date : 20-NOV-98
Lab : ONKOLOGISCHES LABOR DER FRAUENKLINIK GROSSHADERN

Integration Parameters (Pop.1)

G1 Peak : 197
G2+M Peak : 369
G1 CV : 6.9
G2+M/G1 Ratio : 1.87

Pop.1 Cell Cycle Statistics

| Phase | Events | Percent |
|-------|--------|---------|
| G1 | 31330 | 81.8 |
| S | 2887 | 7.5 |
| G2+M | 4080 | 10.7 |
| Total | 38297 | 100.0 |

FOR RESEARCH PURPOSES ONLY. NOT FOR USE IN
DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC PROCEDURES.

Anhang 2 – Grundlagen der Laborarbeit:

a) Herstellung der verwendeten Medien

| | | |
|---------------------|--------------------------|----------------|
| <u>OTTO-Puffer:</u> | Citronensäure | 2,1 g |
| | Tween 20 | 0,5 g |
| | Streptomycin(+ 4°C) | 0,001 g |
| | <u>Penicillin G</u> | <u>0,001 g</u> |
| | H ₂ O bidest. | ad 100,0 ml |

Der Puffer sollte immer spätestens einen Tag vor Präparation hergestellt werden, damit der Puffer über 24 h auf + 4°C abkühlen kann. Diese Pufferlösung wird alle vier Wochen durch eine neue Lösung ersetzt.

| | | |
|--------------------|---|----------------|
| <u>PBS-Puffer:</u> | 1 Fläschchen „Dulbecco's Phosphate buffered Saline“ | |
| | | 9,7 g |
| | Penicillin-G Sodium Salt | 0,010 g |
| | <u>Streptomycin</u> | <u>0,010 g</u> |
| | H ₂ O bidest. | ad 1000,0 ml |

Der pH-Wert dieses (zweiten) Puffers sollte ca. 7,45 entsprechen. Die fertige Lösung wird in Mengen zu 100 ml beschriftet und eingefroren.

10% -Triton-X-100-Lösung:

Triton 200 µl
PBS 1800 µl
Menge: 2 ml

PBS wird auf 20°C gebracht, die Pipettenspitze zum Pipettieren des *zähen* Tritons wird einmal vorgespült, danach lässt man sie gut auslaufen und anschließend wird der Inhalt der Spitze mehrmals ausgestossen, evtl. muss der Vorgang wiederholt

werden. Diese Lösung wird bei +4°C gelagert und nach ca. 4 bis 6 Wochen erneuert.

Propidiumjodid-Lösung:

| | |
|----------------|-----------|
| Propidiumjodid | 2,50 mg |
| <u>PBS</u> | <u>ml</u> |
| ad | 50,0 ml |

PBS wird auf 20°C gebracht, es wird ein Messkolben verwendet und eine ausreichende Menge PBS vorgelegt; danach wird PI (genaue Waage) im abgedunkelten Raum dazugegeben (Alufolie) und mit Rührkolben langsam gelöst. Nach Ergänzung auf 50 ml wird die Lösung in Flaschen gefüllt und lichtundurchlässig verpackt.

Die Lösung ist 4 bis 6 Wochen verwendbar.

b) Chemikalien / Lösungen

OTTO-Medium

- Tween® 20 (Polyoxyethylensorbitanmonolaureat), 500ml, Art.-Nr. 822184, Fa. Merck-Schuchardt, Hohenbrunn bei München
- Citronensäuremonohydrat p.A., Merck-Nr. 244.0500, Fa. Merck, Darmstadt
- Streptomycin Sulfate 5 g, S-6501, Fa. Sigma Chemical, St. Louis (USA)
- Penicillin-G (Benzylpenicillin) 10.000.000 units, PEN-NA, Sodium Salt, Fa. Sigma Chemical, St. Louis (USA)
- Aqua bidest., steril.

PBS-Medium

- „Dulbecco's Phosphate buffered Saline“ 9,7 g/l (für 1 Liter), D-5773, Fa. Sigma Chemical, St. Louis (USA)
- Streptomycin Sulfate 5 g, S-6501, Fa. Sigma Chemical, St. Louis (USA)
- Penicillin-G (Benzylpenicillin) 10.000.000 units, PEN-NA, Sodium Salt, Fa. Sigma Chemical, St. Louis (USA)
- Aqua bidest., steril.

Triton 0,1%

- Triton-X-100-Lösung (für die Gaschromatographie), Merck-Nr. 12 298, Fa. Merck, Darmstadt (D)
- PBS (s.o.)

AB-Serum (f. serologische Tests) 10 ml, 0,1% Na N₃ Preservative, Cat.-No. 805135, Biotest AG, Dreieich (D)

Propidiumjodid 95 - 98 %, 25 mg, P – 4170, Fa. Sigma-Aldrich, D-82041 Deisenhofen

C₂H₅OH, Ethanol absolut z.A. (99,8% rein), Nr. 1.00983.2500, Fa. Merck, Darmstadt

Human blood lymphocytes (für FACScan): Leihgabe des Labors Prof. Kimmig

Übrige Chemikalien: 100 % reine, kommerziell erhältliche Chemikalien

c) Labormaterial / Geräte

- ◆ Laborgrundausrüstung
- ◆ Reagenzgläser und Messkolben, Messzylinder (Fa. Schott)
- ◆ Sterile Einmalkanülen „TSK Supra“, Luer 0,90 x 100 mm, Vertrieb: Fa. Ehrhardt-Söhne GmbH, D-73312 Geislingen
- ◆ Pasteurpipetten aus Glas, klein, Einmalartikel, Best.-Nr. 747715, Fa. Brand, Wertheim (D)
- ◆ Pasteurpipetten „VOLAC“, groß (230 mm), Ref. D 812, Fa. J. Poulten Ltd., UK
- ◆ Eppendorf-Pipette 50 – 250 µl, No. 263362, Fa. Eppendorf, Hamburg (D)
- ◆ Eppendorf-Pipette 200 – 1000 µl, No. 269838, Fa. Eppendorf, Hamburg (D)
- ◆ Sarstedt Pipettenspitzen blau, No. 70.762
- ◆ Standartips Eppendorf 100 µl, No. 0030 003.004
- ◆ Eppendorf-Reaktionsgefäße „Cryo-Container“, Fa. Eppendorf, Hamburg (D)
- ◆ Mehrzweckgefäß mit Schnappdeckel Fa. Greiner, Art.-Nr. 203170 (für Biopsien)

- ◆ Computer- und Druckerzubehör
- ◆ Probengefässe Falcon 2058 12 x 75 („snap caps“)
- ◆ grosse Hettich (Serum-) Zentrifuge, D-78532 Tuttlingen
- ◆ kleine (Eppendorf-) Zentrifuge „Hermle Z 230 MR“, Nr. 27920077, Fa. Hermle, D-7209 Gosheim (Bj.: 1992)
- ◆ Schüttelwasserbad GFL Typ 1083 (No. 106095838), Gesellschaft für Labortechnik, D-3006 Burgwedel 1
- ◆ Schüttler „Dual press to mix“ 34525, Fa. Snijders (NL)
- ◆ Homogenisator (Potter) 15 ml, Fa. Kontes Glass Co., Vineland, New Jersey (USA)
- ◆ Ultraschall „Sonifier B-12“, Fa. Branson Sonic Power Company (über Fa. G. Heinemann, D-7070 Schwäbisch Gmünd)
- ◆ Dünnes Metallnetz als Mikrofilter (Porengrösse: 50 µm)
- ◆ Waage Mettler PC 4400, Typ PC 4400-52, Fa. Mettler GmbH, D-6300 Giessen 2
- ◆ Waage Chyo JL-200, Nr 87407, Fa. Chyo Balance Corp., Japan
- ◆ grosser Eisbehälter (isoliert)
- ◆ Durchflusszytometer (Flow cytometer) FACScan, Becton Dickinson, Heidelberg (D) Serien-Nr. 80383

Anhang 3 – Patienten-Merkblatt zur Darmreinigung / Coloskopie:

Bitte beachten Sie folgende Punkte:

In Absprache mit Ihrem Hausarzt bitte blutverdünnende Medikamente (z. B.: Marcumar, Aspirin, Schmerzmittel mit Acetylsalicylsäure, Tiklyd, nichtsteroidale Rheumamittel) mindestens 5 Tage vor der Untersuchung absetzen.

Bringen Sie am Tag der Untersuchung aktuelle (nicht älter als 14 Tage) Blutgerinnungswerte mit (= Quick, PTT und Thrombozyten).

Lesen Sie den beigelegten Aufklärungsbogen bitte aufmerksam durch, und besprechen diesen (spätestens am Vortag) mit Ihrem Hausarzt. In den letzten 3 Tagen vor der Untersuchung sollten Sie keine Eisenpräparate einnehmen und keine

Nahrungsmittel mit kleinen Kernen essen, z. B.: Kiwi, Sesam, Leinsamen, Müsli, usw.

Am Tag vor der Untersuchung: Sollten Sie morgens nur noch ein leichtes Frühstück und mittags nur noch klare Suppe zu sich nehmen, danach nichts mehr essen, nur noch reichlich trinken!

Trinkmenge: 2,5 bis 3 Liter Tee, Kaffee (evtl. auch mit Zucker), kohlen säurearmes Mineralwasser, über den Tag verteilt, auch nach dem Abführen. Bitte keine Milch oder Milchprodukte! Abführen: Um ca. 14 Uhr 1 bis 2 Flaschen X-Prep!

Am Tag der Untersuchung: Bitte kommen Sie unbedingt nüchtern zur Untersuchung ! D. h.: Nichts essen, jedoch notwendige Tabletten einnehmen, ebenso Augentropfen oder Spray's wie gewohnt anwenden. Zwischen 5 und 6 Uhr morgens 2 bis 3 Liter Coloskopietrinklösung (od. Endofalk, od. Klean-Prep) zügig in ca. 30 Minuten (max. in 2 Stunden) trinken, bis aus dem Darm nur noch klare Flüssigkeit kommt: Im Ausnahmefall (z.B.: langer Anreiseweg, hohes Lebensalter), können Sie die Trinklösung auch morgens um 7.30 Uhr in der Endoskopieabteilung zu sich nehmen. Diese Abführ-, Reinigungsmethode ist in der Regel gut verträglich, außer bei nicht behandelbarer schwerer Herz-, Nieren-, Leberinsuffizienz, Glaukom, Bluthochdruck, Ödeme, Azidose, Gehunfähigkeit, Schluckstörung u. hohem Lebensalter. Klären Sie diese Punkte bitte im Voraus mit Ihrem Hausarzt.

Bringen Sie bitte Ihre Versicherungskarte, einen Überweisungsschein und den mit Ihrem betreuenden Arzt besprochenen und unterschriebenen Aufklärungsbogen mit. Kommen Sie bitte morgens ab 7.30 Uhr zur Aufnahme der Medizinischen Poliklinik II (Geschoß 0, Flur EF) zu Frau Schreiber oder Herrn Grenzner; anschließend schräg gegenüber in die Coloskopie (Geschoß 0, Flur EF) und melden sich dort bei einer Pflegekraft der Endoskopie an.

Wenn Sie zur Untersuchung eine Beruhigungs- und/oder eine Schmerzspritze benötigen, dürfen Sie erst nach einer Aufwachphase die Endoskopieabteilung (nach Möglichkeit mit einer Begleitperson) wieder verlassen und frühestens nach 24 Stunden wieder aktiv am Straßenverkehr teilnehmen.