

## **6. Diskussion**

### **6.1. Diskussion der Methodik**

#### 6.1.1. Diskussion der Langzeit-pH-Metriem zur Bestimmung des pharmakodynamischen Effektes von antisekretorischen Medikamenten

Die herkömmliche Methode für eine Magensekretionsanalyse war für lange Zeit das Aspirationsverfahren. Dieses Verfahren diente zur Klärung von Ursachen der Ulkuserkrankung und wurde zur Indikationsstellung für Operationen herangezogen, wobei sich allerdings erhebliche Überlappungen bei den Sekretionsraten von Gesunden und Kranken (mit gastroduodenalem Ulcusleiden) zeigten und somit die Differenzierung und der diagnostische Wert dieser Untersuchungsmethode gering blieben (Stadelmann 1981). Die durch die Aspirationsmethode vorgenommene Magensekretionsanalyse weist gegenüber der Langzeit-pH-Metrie im Hinblick auf das nur sehr kurze Zeitintervall der Messungen eine wesentliche Einschränkung auf: Die Aspirationstechnik stößt bei der Messung insbesondere nach den Mahlzeiten und in der Nacht an ihre Grenzen, da eine vollständige Aspiration nach dem Essen unmöglich ist. Auch eine annähernd normale Schlafphase der Untersuchten während der Aspiration stieß selbst bei gesunden Probanden auf Schwierigkeiten. Die wenigen durch die Aspirationsmethode gewonnenen 24 h-Sekretionsanalysen wiesen auf einen zirkadianen Rhythmus der Magensekretion hin.

Dieser Hintergrund gab den Anlaß dazu, eine praktikablere Meßmethode mit herangereifter Technologie zu entwickeln, um den innerhalb von 24 h erfolgenden zirkadianen Rhythmus studieren zu können. Nach den ersten Messungen des Magen-pH-Wertes durch Mc Clendon, die im Jahre 1915 durchgeführt wurden und mit denen innerhalb von 2–3 min mittels einer auf einem Gummischlauch befestigten Glaselektrode der pH-Wert des Mageninhalts ermittelt werden konnte, vergingen 80 Jahre, bis die Methodik und die Meßtechnik weiterentwickelt wurden, so daß die Wirkung und die Effizienz antisekretorischer Medikamente untersucht werden konnten (Dammann et al. 1983; Etienne et al. 1985; Rune 1981) und es zur Erarbeitung methodischer Grundlagen dieser Untersuchung durch Bauerfeind et al. (1985) und Fimmel et al. (1985) kam.

Innerhalb der letzten Jahre wurde eine Reihe von Richtlinien zur Durchführung und Auswertung der 24 h-Magen-pH-Metriem aufgestellt (Armstrong et al. 1987; Bauerfeind et al. 1985; Emde et al. 1987; Röhmel et al. 1990; Walt 1986). International gibt es die Übereinstimmung darüber, daß zur intraluminalen pH-Messung im Magen die kombinierte Glaselektrode verwendet werden sollte. Aus den oben genannten Studien geht hervor, daß bei der Magen-pH-Metrie das intraluminale Magen-pH-Milieu und damit der pH-Wert des Magensaftes gemessen wird und nicht der pH-Wert der Magenwand. Die pH-Elektrode sollte 5 cm unterhalb des ösophagealen Sphinkters im Übergangsbereich von Fundus und Korpus positioniert werden, da die intraindividuelle Reproduzierbarkeit und Übereinstimmung des Magen-pH-Wertes dort am höchsten sind (Londong/Angerer et al. 1990; Mc Laughlan et al. 1989).

Bei klinischen Untersuchungen ist ein standardisiertes Verlaufsprotokoll erforderlich, wobei die Mahlzeiten, die Wach- und Schlafphasen sowie zusätzliche Flüssigkeitseinnahmen standardisiert werden. Zur Feststellung der Wirkung von Säureinhibitoren in klinischen Studien ist dies besonders zu beachten.

Betrachtet man den typischen physiologischen Verlauf des Magen-pH-Milieus bei gesunden Probanden (Fuchs und Hamelmann 1991), so bestätigt sich sowohl der zirkadiane Tag- und Nachtrhythmus als auch eine Säure-Basis-Linie zwischen pH 1 und pH 2. Eine ausgeprägte Alkalisierung des Magenmilieus in den frühen Morgenstunden zwischen 3.00 Uhr und 6.00 Uhr, die den physiologischen duodenalgastralen Reflux oder einen Rückgang der Magensäureproduktion widerspiegelt, ist regelmäßig beobachtet worden. Bauerfeind et al. (1985) und Merki et al. (1986) bestätigten diesen zirkadianen Rhythmus durch eine regelmäßige interindividuelle Reproduzierbarkeit der pH-Metrie-Daten.

Mit dem computergestützten System (Digitrapper) steht ein optimales Verfahren zur Langzeituntersuchung des intraluminalen pH-Wertes zur Verfügung, das auch die Auswertung großer Datenmengen per Computer ermöglicht. Hierdurch besteht die Möglichkeit, Magen-pH-Profile in pathologischen und physiologischen Situationen zu erfassen. Zudem kann durch diese Methode die Wirksamkeit antisekretorischer Medikamente getestet wie auch die interindividuelle Ansprechbarkeit überprüft werden.

Die international gängigen Parameter zur Beschreibung der Langzeit-pH-Metrie sind das arithmetische Mittel (Mittelwert) mit Standardabweichung, das geometrische Mittel als arithmetisches Mittel des Logarithmus des pH-Wertes und der Median unter der Voraussetzung einer Normalverteilung. Bei der bimodalen Verteilung der Parameter bietet die oben genannte deskriptive Statistik nur eine hinreichende Beschreibung der Langzeit-pH-Metrie.

In der Arbeit von Röhmel et al. (1990) wurden 24 h-pH-Metrien mit spezifischen Zeitintervallen im Hinblick auf ihre Verteilung der pH-Werte (postprandial, interprandial, tagsüber und nachts) untersucht. Die Aufzeichnungen der separat untersuchten Phasen zeigten dabei vergleichbare Verteilungsmuster der pH-Werte. Die Autoren empfehlen bei vergleichenden Studien, einen definierten Zeitraum mit definierten Parametern festzulegen. Wegen des Vorteils der Invarianz wird zudem die Angabe des Medians als beschreibenden Parameter vorgeschlagen.

Für die Erhebung der interindividuellen Messungen (z.B. beim Vergleich zweier Gruppen) wurden folgende Parameter zur Beschreibung der pH-Metrien herangezogen: Median, Mittelwert und Standardabweichung, Quartile, Standardfehler und Vertrauensbereich. Im Zusammenhang mit den Originaldaten erlauben diese Parameter, Auskunft und Einschätzung über den Effekt auf eine Gruppe zu geben.

Die graphische Darstellung der kontinuierlichen pH-Messungen wird am besten über eine Abbildung aller Messungen, die an jedem Probanden vorgenommen wurden, wiedergegeben; sie ist aber für eine Publikation nicht praktikabel und schlecht zu vergleichen (Merki/Neumann et al. 1988).

Eine Alternative, die von der statistischen Betrachtung her aber nur eingeschränkt beurteilbar ist, stellt der Median des Zeit-Säure-Profiles dar. Diese graphische Darstellung der Zeit-Säure-Profile vermittelt die Variabilität der Probanden innerhalb einer Gruppe und demonstriert bei den übereinandergeplotteten Kurven der einzelnen Mediane den Behandlungseffekt eines Medikamentes (Deakin et al. 1986).

Die Wahl der Skalierung der kontinuierlich gemessenen pH-Werte liegt in der Fragestellung der einzelnen Studien – zum Beispiel ob die pH-Werte im sauren Bereich oder im alkalischen Bereich für die Beurteilung am wichtigsten sind. Denn es ist bekannt, daß die standardisierte Protonenaktivitätsskala nicht in der Lage ist,

einen Unterschied unterhalb von 0.1 mmol/l demonstrieren zu können, d. h. Werte oberhalb von pH 4. Und ob die pH-Skalierung eine genügende Darstellung der Unterschiede unterhalb von pH 2 bieten kann, d. h. unterschiedliche Protonenaktivitäten über 10 mmol/l, ist nicht hinreichend beurteilbar. In der durchgeführten Studie wurde aufgrund der besonderen Beurteilbarkeit im alkalischen Bereich die pH-Skalierung angewendet.

#### 6.1.2. Diskussion der „High Performance Liquid Chromatography“ (HPLC) zum Nachweis des Serumspiegels von Omeprazol

Die Methode zur Bestimmung von Omeprazol und seiner Metabolite im Serum und im Urin wurde in der Studie von Lagerström und Persson (1984) mit der „*High Performance Liquid Chromatography*“ (HPLC) auf deren methodische Gütekriterien hin untersucht.

Omeprazol, ein substituiertes Benzimidazol mit drei nachgewiesenen Metaboliten (Omeprazol-Sulfoxid, Omeprazol-Sulfons und Omeprazol-Hydroxyd; vgl. Hoffmann et al. (1984)), wurde in o.g. Studie aus dem Serum und aus dem Urin in Methylenchlorid extrahiert. Danach wurde der organische Anteil des Omeprazol auf eine normalphasen-flüssigkeitschromatographische Säule unter Hochdruck injiziert.

Der mehr polare Anteil (Hydroxymetabolite) wird unter Kondensation herausgelöst und anschließend in einer wasserlöslichen Phase in die reversphasen-flüssigkeitschromatographische Säule injiziert. Die einzelnen Komponenten wurden dabei mit einem UV-Detektor quantitativ gemessen. Im Zeitraum von 1979–1984 wurden mit diesem Verfahren 25.000 Analysen durchgeführt und dementsprechend eine vollautomatisierte Methode für die HPLC entwickelt, die auf dem „Technicon's FAST-LC“-System basiert. Die Apparaturen, Reagenzien und Standardlösungen, die Vorbereitung der zu untersuchenden Röhren wie auch das methodische Verfahren sind mit denen in der hier durchgeführten Arbeit vergleichbar – allerdings mit dem Unterschied, daß in der Studie von Lagerström und Persson (1984) auch die Metabolite untersucht wurden, während in der hier vorliegenden Studie nur das Omeprazol bestimmt wurde. Die Wiederfindungsrate lag in der hier vorgestellten Studie bei 3.000 nmol/l um 99,9 Prozent, bei 600 nmol/l um 97,7 Prozent und bei 25 nmol/l um 97,0 Prozent. Die minimal meßbare Konzentration lag bei 25 nmol/l. Die

Linearität der Serumbestimmungen für Omeprazol lag in unserer Studie in einer Spanne von 25 bis 26.000 nmol/l. Die Abweichung von der Nominalkonzentration lag bei 15 Prozent. Die Reproduzierbarkeit der Daten dieser Methode in der hier dargestellten Studie zeigte sich in den täglich gemessenen interindividuellen Werten der Varianzkoeffizienten, die über tägliche Kontrollwerte des mittleren Bereiches von 100,3 Prozent der Nominalwerte von 95,4–107,7 Prozent berechnet wurden. Der mittlere Varianzkoeffizient der Serumstandards des Omeprazols für 2991, 3040 und 2960 nmol/l betrug 0,9 Prozent mit einer Varianzbreite von 0,3 - 3,0.

Das oben dargestellte Testverfahren (HPLC) ist wie aus den dargestellten Gütekriterien der Methodik abzulesen ist, ein sicheres, selektives und genaues Verfahren, um Omeprazol zu bestimmen.

#### 6.1.3. Diskussion des Agardiffusionsverfahrens mit dem Papierblättchentest

Als im Jahre 1956 ein Antibiotika-Bestimmungsverfahren für Säuglinge gesucht wurde, kam es zur Entwicklung einer Bestimmungsmethode, die sowohl mit kleinsten Blutmengen arbeitete als auch auf verschiedene Antibiotika übertragbar war. Die bis dahin angewandten Methoden zur Bestimmung der Antibiotikaspiegel hatten eine größere Menge an Venenblut erfordert, was bei Säuglingen und Kleinkindern nicht zu verantworten ist. Es galt daher eine Methode zu finden, die mit so geringen Blutmengen arbeitet, daß sich eine Venenpunktion erübrigt. Bauer et al. (1956) und Klein (1957) entwickelten dann Verfahren, die mit weniger Material auskamen und die von der Methodik her dem Reihenverdünnungstest glichen. Diese Verfahren sind vom Prinzip her Agardiffusionsmethoden. Die wichtigste von ihnen ist der Lochtest, aber auch diese Methode erforderte eine Serummenge, die nur durch eine Venenpunktion zu gewinnen ist, so daß sie den an die Antibiotikabestimmungen für Kinder und Säuglinge gestellten Anforderungen nicht entsprechen konnte. Erst mit dem Papierblättchenscheibentest (Klein et al. 1994) wurde eine Methode gefunden, die mit einer noch geringeren Menge an Untersuchungsmaterial durchgeführt werden kann. In der Studie von Walter und Walter (1958) wurden für Penicillin, Chloramphenicol und Tetracyclin sowohl der entsprechende Testkeim als auch die spezifischen Agarplatten für den Testkeim untersucht. Die Messung der Hemmhöfe und die Berechnung der Antibiotikakonzentrationen über ein Einfach-Logarithmus-

papier wurden auf ihre Empfindlichkeit und Genauigkeit hin untersucht. Wiederholte Vergleichsuntersuchungen mit der Reihenverdünnungsmethode ergaben, daß die Resultate beider Methoden weitgehend übereinstimmen. Auch konnte bei mehreren Vergleichen kein wesentlicher Unterschied zwischen den Antibiotikakonzentrationen von gleichzeitig entnommenem Venen- bzw. Kapillarblut festgestellt werden. Mit dem Papierblättchentest sind die Antibiotikakonzentrationen genauer zu bestimmen als mit dem Reihenverdünnungstest, da bei letzterem je nach gewähltem Verdünnungsfaktor die Konzentrationsstufen relativ groß sind, so daß es oft nicht möglich ist, den eigentlichen Hemmwert exakt zu bestimmen. Allerdings erfordert der Papierblättchentest große Sorgfalt und Präzision bei der Ausführung, da hier jeder noch so kleine technische Fehler größere Ungenauigkeiten zur Folge hat. In der Studie von Walter und Walter (1958) wurde ein Vergleich der Meßwerte mehrerer Hemmhöfe mit gleicher Antibiotikakonzentration dargestellt. Es wurde gezeigt, daß mit einem Abweichungsfehler von  $\pm 0,2$  mm gerechnet werden muß. Zudem fanden die Autoren heraus, daß es einen Unterschied machte, ob man Serum oder aber Vollblut zur Bestimmung heranzog. Es wurde gezeigt, daß ein gewisser hemmender Effekt des Hämoglobins auf das Bakterienwachstum zu verzeichnen war.

Die Studie von Bell und Wood (1968) beschreibt die Erweiterung des Antibiotikaspektrums zur Konzentrationsbestimmung im Blutserum, deren methodische Verbesserungen und statistische Berechnungen zur Bestimmung der Gütekriterien dieser Papierblättchenscheiben-Methode.

Gegenüber der Zylinderplatten-Methode, die bis dahin eine sehr präzise und gängige Methode darstellte, wurde in der Arbeit von Bell und Wood (1968) eine Methode beschrieben, die eine Erweiterung der Antibiotikabestimmung auf Benzylpenicilline, Phenoxymethylpenicillin, Ampicillin, Methicilin, Cloxacillin, Streptomycin, Kanamycin und Erythromycin mit entsprechenden Kulturmedien und entsprechendem Testkeim erbrachte. Zudem wurde bei der Herstellung der Agarmedien der pH-Wert variiert und Glukose hinzugefügt, um die Trennschärfe der Methode zu erhöhen. Eine Verbesserung des Ablesens der Hemmhofdurchmesser wurde durch folgende Veränderungen erreicht. Standardkurven wurden für die entsprechenden Antibiotika erstellt, so daß der Durchmesser der Hemmzonen (y-Achse) gegen den Logarithmus der Antibiotikakonzentration (x-Achse) aufgetragen

und die Antibiotikakonzentration abgelesen wurde. Über wiederholte Messungen von Verdünnungsreihen wurde der Meßfehler bei der Bestimmung der Hemmhofdurchmesser für Benzylpenicilline bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent berechnet. Der Meßfehler betrug  $\pm 0,2$  mm. Dieses Verfahren weist somit eine höhere Genauigkeit auf. Über die Regressionsberechnung wurde der Zusammenhang zwischen Hemmhofdurchmesser und Antibiotikakonzentration in einer für diesen Test spezifischen Gleichung ermittelt und somit die Validität überprüft. Der Vorteil dieser Methode ist ihre sehr einfache Handhabung.

In der Arbeit von Bell et al. (1969) wurden nach den technischen Verbesserungen folgende Untersuchungen zur weiteren Vereinfachung des Tests durchgeführt. Ein Vergleich zwischen der Pipettier- und der Kapillar-Methode, die für das Auftragen der Seren auf die Testscheiben herangezogen wurden, ergab eine genauere und einfachere Handhabung beim Auftragen von Serum über Kapillarröhrchen, da eine radiale Diffusion des Serums auf den Plättchenscheiben eher gewährleistet ist. Über eine Varianzanalyse wurde sowohl die Varianz der Hemmhofdurchmesser auf den Agarplatten als auch der Unterschied von Tag zu Tag untersucht. Die intraindividuelle Abweichung der Hemmhöfe lag bei 14 Prozent bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent. Die Sensitivität dieser Methode lag bei 0,03 bis 0,035  $\mu\text{g/ml}$ . Die statistische Berechnung zeigt eine gute lineare Beziehung zwischen der logarithmischen Konzentration der Antibiotika und dem Hemmhofdurchmesser, gemessen bei einer Konzentration von 0,025 und 4,0  $\mu\text{g/ml}$ . Auch die Studie von Jalling et al. (1972) bestätigte eine hohe Reliabilität und hohe Spezifität dieser Methode. Der Testkeim „*Sarcina lutea* ATCC 9341“, der auch in unserer Studie verwendet wurde, wird ebenfalls für die Bestimmung von Ampicillin, Amoxicillin, Penicillin, Erythromycin, Clindamycin und Lincomycin genommen.

Das Agardiffusionsverfahren, das in unserer Arbeit angewendet wurde, zeigte beim Pipettieren eine Präzision von  $\pm 1,5$  Prozent pro 10  $\mu\text{l}$ . Die Präzision bei der Bestimmung der Kaliberdurchmesser lag bei  $\pm 0,05$  mm. Die Varianz der Mittelwerte in der hier durchgeführten Studie betrug  $\pm 20$  Prozent.

Nach den oben mitgeteilten methodologischen Daten kann zusammenfassend gesagt werden, daß das Agardiffusionsverfahren mit dem Papierblättchenscheibentest als eine Methode betrachtet werden kann, die hinreichende

Gütekriterien aufweist, um mit einer hohen Sicherheit, Genauigkeit und Spezifität den Serumspiegel für Amoxicillin zu bestimmen.

#### 6.1.4. Diskussion des serologischen IgG-Antikörpertests als Screening-Methode zum Nachweis einer *Helicobacter pylori*-Infektion

In der Studie von Thomas et al. (1990) wurden Seren von 100 Kindern im Alter zwischen 6 und 16 Jahren mit oberen gastroenterologischen Symptomen mit einem ELISA-Test auf ihren *Helicobacter*-status hin untersucht. Die Testergebnisse konnten eine gute Diskriminierung zwischen der Kontrollgruppe ohne (histologischen oder mikrobiologischen) Nachweis von *H.pylori* und der Gruppe von Kindern mit positivem *H.pylori*-Status aufweisen. Zudem gab es einen Zusammenhang zwischen der Rückläufigkeit der Symptome und der des IgG-Antikörper-Titers. Auch konnte ein Abfall in der Titerhöhe des IgG-Antikörpers nach erfolgreicher Behandlung nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung des IgM- und IgA-Antikörpers wurde allerdings keine Beziehung zwischen der Titerhöhe und dem *Helicobacter*-status erkannt. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß der IgG-Antikörpertest zur Erfassung einer *Helicobacter*-infektion sehr wohl geeignet ist, jedoch keinen reliablen Index als Therapiekontrolle darstellt, da sich im Verlauf zwar ein Abfall des IgG-Antikörper-Titers einstellt, daraus aber nicht auf eine Eradikation des *H.pylori* geschlossen werden kann.

Im Hinblick auf die Sensitivität und Spezifität des Pyloriset EIA-G, wurden drei Studien von Juntinen et al. (1992), Granberg et al. (1993) und Lopez-Brea et al. (1993) herangezogen, deren Ergebnisse in der folgenden Tabelle zusammengestellt sind:

*Tabelle 6.1.: Testqualität der IgG/IgA-Antikörper-Nachweismethode für eine Helicobacterinfektion*

	Juntinen et al. (1992)	Granberg et al. (1993)		Lopez-Brea et al. (1993)	
	IgG	IgG	IgA	IgG	IgA
Sensitivität	89 %	92 %	80 %	89 %	41 %
Spezifität	86 %	84 %	89 %	100 %	96 %
PPW	81 %	88 %	89 %	100 %	91 %
NPW	82 %	90 %	79 %	90 %	60 %

Dieses nichtinvasive Verfahren wurde von den oben genannten Autoren als eine sensitive und spezifische Nachweismethode zur Bestimmung der IgG-Antikörper bezeichnet und dient somit zur Screeninguntersuchung bzw. Erfassung einer H.pylori-Infektion. Zudem wurde eine Korrelation zwischen der H.pylori-Infektion und der Gastritis festgestellt. Goodwin et al. (1987) stellten einen signifikanten Zusammenhang (Student-t = 3,04;  $p < 0,002$ ) zwischen H.pylori-Befall im Antrum und der Höhe der Antikörper-Titer im Serum fest. Bei 43 Patienten, bei denen eine H.pylori-Infektion durch histologische und mikrobiologische Methoden nachgewiesen wurde, zeigte sich bei 5 Prozent eine Titerhöhe von  $> 300$  EU und bei 65 Prozent eine Titerhöhe von  $> 150$  EU.

Es konnte ebenfalls nachgewiesen werden, daß bei H.pylori-positiven Patienten der Grad der aktiven, chronischen Gastritis mit oder ohne Ulkus einen signifikant höheren Antikörper-Titer aufweist als die chronische Gastritis ohne aktive Entzündungszeichen, so daß man daraus schließen kann, daß ein hoher Entzündungsgrad der Magen- oder Duodenumschleimhaut eine spezifische Immunantwort zur Folge hat. Dieses Ergebnis wurde in der Studie von Kreuning et al. (1994) ebenfalls bestätigt.

Ausgehend von den oben genannten Studien (Goodwin et al. 1987; Kreuning et al. 1994), weist der IgG-Antikörpertest hinreichende Gütekriterien auf, um als Screening-Methode in unserer Studie eingesetzt werden zu können.

#### 6.1.5. Diskussion des C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests als semiquantitative Methode zum Nachweis einer aktuellen Helicobacter pylori-Infektion

Die nichtinvasive Bestimmung von H.pylori über den C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtest wurde zum ersten Mal von Graham et al. (1987) beschrieben. Auch wenn die von Graham et al. entwickelte Methode eine hohe Sensibilität und Spezifität aufwies, machten die Nachteile des Verfahrens dennoch weitere Entwicklungen notwendig. Die sehr hohen Mengen an C<sup>13</sup>\*-Urease (Tracer-Substanz) von 5 mg/kg Körpergewicht, die für die Durchführung des Tests notwendig waren, verursachten sehr hohe finanzielle Kosten. Darüber hinaus bedeutete der Gebrauch von Glukose für die Testmahlzeit auch bestimmte Vorbereitungen für Diabetiker, und die lange Testzeit von drei Stunden machte diese Methode als Routinebestimmung ungeeignet. Aus diesen Gründen wurde die Methode von Graham et al. im klinischen Gebrauch zur quantitativen Bestimmung auch weniger herangezogen.

Weitere Untersuchungen mit dem C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtest konnten durch die Einführung von 0,1 normaler Zitronensäure als Testmahlzeit eine größere Trennschärfe der Methode erreichen, d.h. eine bessere Diskriminierung zwischen der CO<sub>2</sub>-Wiederfindungsrate von H.pylori-positiven und H.pylori-negativen Probanden (vgl. Eggers/Kulp/Tegeler et al. 1990). Eggers/Kulp/Lüdtke et al. 1990 verglichen die Exhalationskinetik des C<sup>13</sup>\*O<sub>2</sub> von H.pylori-positiven und -negativen Probanden und fanden eine optimale Diskriminierung der beiden Gruppen nach dem 30 min-Wert. Ein Vergleich der Berechnung der Exhalationskinetik für C<sup>13</sup>\*O<sub>2</sub> nach Gabe von C<sup>13</sup>\*-Urease und NaH C<sup>13</sup>\*O<sub>2</sub> bestätigte diese Schlußfolgerung. Die C<sup>13</sup>\*O<sub>2</sub>-Exhalationsrate nach 30 min korrelierte gut mit dem Peak der C<sup>13</sup>\*O<sub>2</sub>-Exhalationsrate und mit der prozentualen Wiederfindungsrate der Tracer-Substanz. Der C<sup>13</sup>\*-Harnstoffatemtest wies eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. Die Schlußfolgerung von Eggers/Kulp/Tegeler et al. (1990) stellen den C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtest als optimale Testmethode dar, um eine aktuelle H.pylori-Infektion im Magen nachzuweisen. Als nichtinvasives Verfahren ohne wesentlichen Zeitaufwand, ohne Nebenwirkungen und mit einem akzeptablen ökonomischen Aufwand unter Verwendung von 75 mg C<sup>13</sup>\*-Urease ist nach Eggers/Kulp/Tegeler et al. der C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtest eine ideale Methode für epidemiologische und therapeutische Studien. Die Vereinfachung des

$C^{13}$ -Harnstoffatemtests von einer Mehrpunktmessung zu einer Einpunktmessung stellten Lotterer et al. (1991) dar. In ihrer Studie wurden 306 Patienten eine flüssige Testmahlzeit mit Zitronensäure zur Hemmung der Magenentleerung sowie 75 mg  $C^{13}$ -Harnstoff verabreicht, um die Validität des  $C^{13}$ -Harnstoffatemtests zu überprüfen. Vier, zwei und eine Atemprobe wurden innerhalb von 30 min nach Einnahme des nichtradioaktiven Tracer entnommen, das  $C^{13}O_2/12CO_2$ -Verhältnis (Delta-over-baseline-Wert) unter Verwendung der Isotopen-Verhältnis-Massenspektrometrie analysiert und die  $C^{13}O_2$ -Wiederfindungsrate (Harnstoffatemtestwert) errechnet. Der Ergebnisvergleich des Atemtests als 4-Punktmessung mit etablierten Referenzmethoden (Kultur, CLO-Test und Fuchsinfärbung) zeigte hohe Werte für die Qualitätsparameter – wie Sensibilität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert (alle > 80 Prozent) –, unabhängig von der Testdimension Delta-over-baseline-Wert oder Harnstoffatemtestwert. Eine Probenreduktion bis hin zur Entnahme einer einzigen Atemprobe 30 min nach der Tracer-Applikation zeigte keine Veränderungen der Qualitätsparameter im Vergleich zur 4-Punktmessung. Die Ergebnisse ergaben, daß mit einer einzigen Atemprobe der H.pylori-Status mit hoher Testqualität ermittelt werden konnte. Zusammenfassend kann dieser Studie entnommen werden, daß der vereinfachte  $C^{13}$ -Harnstoffatemtest ein nichtinvasives, ungefährliches und praktikables sowie ein hochspezifisches und sensitives Verfahren darstellt, um den H.pylori-Status zu bestimmen. Dieses Verfahren ist billiger als die herkömmlichen Verfahren; außerdem ist es sicher, schnell und einfach durchzuführen und kann auch ambulant vorgenommen werden.

Eine weitere aktuelle Arbeit von Braden et al. (1994) zeigt, daß eine 2-Punktmessung („delta over baseline“ bei 20 min) mit einem Grenzwert von 5‰ die aufwendige Bestimmung der Wiederfindungsrate nach zwei Stunden sowie 2-Punktmessungen mit längeren Zeitintervallen ersetzen kann. Zudem zeigte sich der  $C^{13}$ -Harnstoffatemtest bei postprandialer Durchführung im Vergleich zur Durchführung bei nüchternen Patienten als ebenso zuverlässig. Auch die zwei Methoden (einmal mit dem Strohhalm, ein anderes Mal mit dem herkömmlichen Atembeutel durchgeführt) wiesen keinen signifikanten Unterschied auf und waren zudem ausreichend präzise (Abweichungen < 1,5‰). Durch die Testmodifikationen wurden weitere Vereinfachungen dieser Methode erzielt, so daß eine einfachere,

schnellere, kostengünstigere und patientenfreundlichere Durchführung des C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests künftig möglich sein wird.

In Anlehnung an die oben genannten Studien (Braden et al. 1994; Graham et al. 1987) wurde die einfache Strohhalm-Methode in der hier vorliegenden Studie angewendet, wobei die Messungen der „delta over baseline“ nach 20 min und 40 min vorgenommen wurden. Wie auch bei allen anderen Studien lag der Grenzwert in dieser hier dargestellten Studie für einen positiven H.pylori-Status bei 5‰.

## **6.2. Diskussion der Ergebnisse**

### 6.2.1. Diskussion der Ergebnisse der Nachweismethoden von H.pylori

#### 6.2.1.1. Diskussion der Ergebnisse des Screenigverfahrens mittels IgG-Antikörpertest vor und nach der Studie

Bekannt ist, daß der H.pylori-Antikörper-Titer nach erfolgreicher Eradikation des Bakteriums fällt. In welchem Zeitraum und in welchem Ausmaß der Abfall des Titers zu verzeichnen ist, bewies die Follow-up-Studie von Konsunen et al. (1993). Es wurden 144 Patienten, die H.pylori-positiv waren, vor und nach einer Trippeltherapie über einen Zeitraum von zwei Wochen auf den Antikörper-Titer hin bestimmt. Die H.pylori-Positivität oder -Negativität wurde histologisch und mikrobiologisch bestätigt. Die Reliabilität des Antikörper-Titer-Tests hinsichtlich eines eindeutigen Hinweises auf die Eradikation des H.pylori wurde hierdurch überprüft. Bei einer erfolgreichen Eradikation zeigte sich – sowohl für den IgG- als auch für den IgA-Antikörper – nach sechs Wochen ein Abfall des Antikörper-Titers um 20–30 Prozent, nach 6–12 Monaten um 50 Prozent und nach einem Jahr um 80 Prozent. Dieses Ergebnis wurde auch weitgehend durch die Studie von Veendaal et al. (1991) bestätigt. Eine Studie von Hirschl et al. (1993) wies darauf hin, daß eine Reduktion des Titers auf über 50 Prozent als ein Indikator für die Eradikation des H.pylori zu werten sei (Sensitivität von 97,6–99,7 Prozent).

Betrachtet man nun die Ergebnisse der o.g. Studien mit denen der hier dargestellten Arbeit, so kann von einer im Verlaufe dieser Studie reduzierten Immunantwort auf H.pylori-Infektion ausgegangen werden. Der Mittelwert der in der

hiervorliegenden Arbeit erhobenen Titerhöhe lag vor der Studie bei 1:2385 und nach der Studie bei 1:1920. Es wurde vier Wochen nach der Studie ein Titerabfall bei zweidrittel der Probanden um 36% (Titerabfalls um 863 Titer-Einheiten) festgestellt. Nach den Schlußfolgerungen der Studie von Konunen et al (1993) könnte man nach den IgG-AK-Titer-Ergebnissen der hier dargestellten Arbeit eine Eradikation annehmen. Nach den Annahmen der Studie von Hirschl et al. (1993) kann die Annahme einer Eradikation des H.pylori Keimes nicht bestätigt werden.

Ob die Annahme einer Eradikation des H.pylori oder nur einer Reduktion der Keimzahl bzw. der Ureaseaktivität des H.pylori bestätigt werden kann, wird durch die folgende Diskussion der Ergebnisse der C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests differenziert erörtert.

#### 6.2.1.2. Diskussion der Ergebnisse des C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests im Verlauf der Studie

Die im Verlaufe der Studie errechneten Mittelwerte des 20 min-C<sub>13</sub>-Harnstoffatemtests bei der Placebo-, der Amoxicillin-, Omeprazol- sowie der kombinierten Behandlung beider Medikamente lagen bei 21,5‰, 23,2‰, 21,6‰ und 23,8‰ und wiesen keinen signifikanten Unterschied untereinander auf. Auch die Mittelwerte des 40-min-C<sub>13</sub>-Harnstoffatemtests bei o.g. Behandlungszyklen zeigten keinen statistisch signifikanten Behandlungseffekt untereinander: 21,7‰, 21,2 ‰, 21,1‰, 21,3‰.

Bei zwei Probanden (Nr. 10009 und 10017) im Rahmen der Amoxicillin/Omeprazol-Behandlung und einem Probanden (Nr. 10034) unter der Omeprazol-Behandlung kam es zu einer passageren H.pylori-Negativität mit grenzwertig niedrigen C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtestwerten, die nach der Wiederholung des Atemtests vier Wochen später wieder über dem Cut-off-Wert von 5‰ lagen. Die Ursache dieses Ergebnisses könnte wie oben beschriebene passagere Suppression der Ureaseaktivität und/oder Keimzahl des H.pylori sein.

Es kann im Zusammenhang mit den oben aufgeführten Ergebnissen des IgG-Antikörper-Tests und des C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests davon ausgegangen werden, daß es aufgrund der Annahme einer herabgesetzten Infektiosität durch H.pylori-Keims und somit geringeren Stimulation des Immunsystems es zur Reduzierung des IgG-Ak-Titers und passageren Negativität des C<sup>13</sup>-Harnstoffatemtests kam. Eine Eradikation des H.pylori-Keims fand durch die in dieser Studie angewandten Dosis der Medikamente und die Dauer ihrer Einnahme nicht statt.

Das heißt, eine Therapie über 5 Tage mit zweimal täglich 750 mg Amoxicillin-Tabletten, kombiniert mit der Gabe von zweimal täglich 40 mg Omeprazol-Kapseln, stellt keine ausreichende Dosis dar, um eine Eradikation des H.pylori zu erreichen.

#### 6.2.2. Diskussion der Ethnischen Verteilung

Ausgehend von 226 untersuchten männlichen Freiwilligen mit einem Durchschnittsalter von 29 Jahren, waren *21 Prozent* (48 von 226) *Helicobacter pylori* positiv. In dieser Studie waren *79,6 Prozent* (180 von 226 Probanden) deutscher Abstammung, von denen wiederum nur *7,8 Prozent* (10 von 180 Probanden) H.pylori-positiv waren.

*8,4 Prozent* stammten aus dem Iran (19 von 226 Probanden). *52,6 Prozent* der Iraner (10 von 19 Probanden) waren H.pylori-positiv.

Eine weitere prozentuale Zuordnung im Hinblick auf die ethnische Verteilung der an dieser Studie teilgenommenen Probanden ergibt wegen einer zu geringen Anzahl keine ausreichende Aussagekraft. Die geographische Verteilung des H.pylori korreliert streng mit dem ökonomischen Entwicklungsstand des jeweiligen Landes. Allgemein kann man sagen, daß die Infektionsrate mit einer Verbesserung der sozioökonomischen Bedingungen abfällt; das bedeutet, daß der Lebensstil und das Risiko, sich mit dem Bakterium zu infizieren, miteinander in Zusammenhang stehen. Die Prävalenz der Infektion ist in den Drittländern höher als in den Industrieländern (Kohortenphänomen), wobei die Prävalenz bezüglich des Alters stark voneinander abweicht. In den Entwicklungsländern steigt die Prävalenz bereits nach der Geburt stark an, erreicht eine 80–90-prozentige Infektionsrate, wenn die Person das Alter von 20 Jahren erreicht hat, und bleibt danach weiter auf diesem Niveau. In den Industrieländern beträgt die Infektionsrate bis zum 30. Lebensjahr weniger als 20 Prozent. Die Infektionsrate steigt dann im Durchschnitt um 1 Prozent pro Lebensjahr, und selbst im Alter von über 65 Jahren erhöht sie sich nicht auf mehr als 60–70 Prozent, (Konsunen et al. 1989, Northfield 1994).

Vergleicht man nun die ethnische Verteilung in unserer Studiengruppe mit einer Prävalenz der H.pylori-Positiven bei 7,8 Prozent für Deutsche und bei 52,6 Prozent für Iraner mit den epidemiologischen Untersuchungen der oben genannten Autoren, so sind die Ergebnisse unserer Studie mit dem obigen Resultaten vergleichbar.

### **6.3. Diskussion der Ergebnisse der anamnestischen Daten, der körperlichen Untersuchungen, der Laboruntersuchungen, der Gastroskopien, der Nebenwirkungen und der Compliance**

Die anamnestischen Daten der 24 *Helicobacter pylori*-positiven, im Mittel 29 Jahre alten Probanden, ergaben einen relativ hohen Anteil an Alkoholgenuß (50%) ohne Hinweise auf eine Alkoholkrankheit. Mehr als ein Drittel (37%) wiesen einen Nikotingenuß auf. Nur ein Proband wies bei der klinischen Untersuchung eine eitrige Bronchitis und Rhinitis mit subfibrilen Temperaturen auf, die aber die Untersuchungsergebnisse nicht beeinflussten. Die routinemäßig durchgeführten EKG's waren bei allen Probanden unauffällig. Unter den eingeschränkten Bedingungen der Kontrolle der Medikamenteneinnahme war die Compliance der Probanden sehr gut. Die Nebenwirkungsrate in dieser Studie lag gegenüber der in der Literatur angegebenen Daten (Brodgan et al 1979, Simon und Toeller 1974) relativ hoch, wobei die geringe Anzahl der Probanden nur eine eingeschränkte Beurteilbarkeit zulässt. Bei der Amoxicillinbehandlung lag sie bei 20%. Bei der Omeprazolbehandlung lag die Nebenwirkungsrate bei 45%. Bei der kombinierten Behandlung von Omeprazol und Amoxicillin gab es 20% Nebenwirkungen. Insgesamt berichteten die Probanden aber über eine nur vorübergehende milde Form der Ausprägung der Symptome. Bei den endoskopischen Untersuchungen hatten 63% keinen pathologischen Befund. Nur ein Proband hatte eine komplette Erosion im Magenantrum. Bei 37% der *Helicobacter pylori*-positiven Probanden wurde eine leichte Entzündung des oberen Magendarmtraktes (Ösophagus, Magen oder Duodenum) nachgewiesen. Diese Ergebnisse zeigen zwar keine Ulkuserkrankungen - da es zum Ausschluß der Studienteilnehmer geführt hätte - , aber eine geringgradige Affektion des Oesophagus-Magen-Darmtraktes bei *H.pylori*-positiven Probanden.

## **6.4. Diskussion der Ergebnisse der Langzeit-pH-Metrien**

### **6.4.1. Diskussion der Ergebnisse des medianen pH-Wertes der Langzeit-pH-Metrien (tagsüber und nachts) bei der Placebo- und bei der Amoxicillin-Behandlung**

Wie aus den Ergebnissen der pH-Profile während der Run-in-Phase (vor der Behandlung) und während der Amoxicillin-Behandlung dieser Studie zu sehen ist, liegt ein zirkadianer Rhythmus vor, bei dem ein niedriger pH-Wert zwischen 1 und 2 als Basislinie zu erkennen ist. Diese Basislinie ist durch Alkalisierungsphasen unterbrochen, die – bedingt durch die standardisierten Mahlzeiten – morgens zwischen 8.15 Uhr und 10.00 Uhr, mittags zwischen 13.00 Uhr und 14.30 Uhr und abends zwischen 20.15 Uhr und 23.00 Uhr auftreten. Auch der frühmorgendliche alkalische Reflux zwischen 3.00 Uhr und 6.00 Uhr ist zu erkennen. Dieser zirkadiane Rhythmus ist in vielen Studien beschrieben worden (wie z.B. bei Fuchs und Hamelmann (1991)). Dieses Phänomen ist als Ausdruck der physiologischen Regulation von Speisezufuhr, Speichelfluß, Säuresekreterungsveränderung, Mukus, Motilität und refluerendem Duodenalsaft gedeutet worden. Der morgendliche alkalische Reflux mit der damit einhergehenden Erhöhung des intragastralen pH kann auch mit der Anwesenheit des *H.pylori* zusammenhängen. Spezifische Faktoren wie die Ammoniakproduktion und die direkte Hemmung der Säuresekretion könnte das oben genannte Phänomen erklären. Die fast identischen pH-Profile während der Amoxicillin- und Placebobehandlung zeigen, daß dieses Medikament bei *Helicobacter pylori*-positiven Probanden keinen Einfluß auf die Magenazidität hat. Vergleicht man den pH-Median der Placebo-Behandlung der hier dargestellten Studie mit dem pH-Median in den Studien von Verdú et al. (1995a,b), Armstrong et al. (1993) und Cilluffo et al. (1991), so zeigen sich folgende Unterschiede und Gemeinsamkeiten:

Bezogen auf die Langzeit-pH-Metrien in den oben aufgeführten Studien liegt der pH-Median bei der Placebobehandlung (mit Ausnahme der Studie von Verdú 1995 pH-Median von 1,3) zwischen 1,5 und 1, 6. Das pH-Niveau am Tage gegenüber der Nacht ist in der hier dargestellten Studie als auch bei den Studien von Armstrong et al. (1993), Cilluffi et al. (1991), Verdú et al. (1995 b) signifikant niedriger.

*Tabelle 6.2.: pH-Median bei Helicobacter pylori-positive Probanden unter Placebo-Behandlung*

	Armstrong et al. (1993)	Verdú et al (1995a)	Verdú et al. (1995b)	Cilluffo et al. (1991)	Daten der Studie
Korpus	pH-Median	pH-Median	pH-Median	pH-Median	pH-Median
Langzeit-pH-Metrie	1,5	1,5	1,3	1,5	1,6
Tag-pH-Metrie	1,1	1,3	1,2	1,1	1,6
Nacht-pH-Metrie	1,3	1,1	1,3	1,3	1,8

Insgesamt kann aus dem Vergleich der Ergebnisse der oben angeführten Studien geschlossen werden, daß der pH-Median für die Langzeit-pH-Metrie aus der eigenen Studie mit 1,6 für H.pylori-positive Probanden und der höher liegende pH-Median in der Nacht repräsentativ für den Korpusbereich ist. Verschiedene Gründe wie Alter, Alkoholkonsum und Raucheranamnese (Treiber 1997) könnten die Abweichung in den Studien von Verdú et al. (1995 a, b) von den vier oben aufgeführten Studien erklären.

Der Median der Langzeit-pH-Metrie, der pH-Metrie am Tage und in der Nacht bei der Placebo-Behandlung – verglichen mit dem der Amoxicillin-Behandlung – ergab in der hier vorliegenden Studie keinen signifikanten Unterschied (22h-pH-Metrie:  $p=0,2016$ , nachts:  $p=0,511$ , tagsüber:  $p=0,169$ ). Das heißt, eine pharmakodynamische Beeinflussung in Bezug auf den intragastralen pH-Wert durch Amoxicillin ist nicht gegeben. Eine Studie von Gustavson et al (1995) zeigte für Clarithromycin keine Beeinflussung des intragastralen pH-Medians der Langzeit-pH-Metrie. Weitere vergleichenden Studien mit Amoxicillin liegen in der Literatur nicht vor.

#### 6.4.2. Diskussion der Ergebnisse des medianen pH-Wertes der Langzeit- pH-Metrie (tagsüber und nachts) bei der Behandlung mit Omeprazol und bei der kombinierten Behandlung mit Omeprazol und Amoxicillin

Der pH-Median der intragastralen Langzeit-pH-Metrien, der Median der pH-Metrien während des Tages und während der Nacht zeigen einen niedrigeren intragastralen pH mit signifikanten Unterschied ( $p=0,0001$ ) zwischen der Monotherapie mit Omeprazol und der kombinierten Therapie mit Amoxicillin. Das heißt, das intragastrale pH-Profil wird bei der kombinierten Gabe von Amoxicillin und Omeprazol verändert. Ein direkter pharmakodynamischer Einfluß des Amoxicillins auf die Suppression des intragastralen pH ist durch o.g. Vergleich ausgeschlossen worden (vergl. 6.4.1.). Das niedrigere pH-Niveau bei der kombinierten Behandlung mit Omeprazol und Amoxicillin gegenüber der alleinigen Behandlung mit Omeprazol wurde als Ausdruck einer Suppression der Ureaseaktivität bzw. Keimzahl des *H.pylori* gedeutet. Das heißt die höhere Ureaseaktivität bei der alleinigen Behandlung mit Omeprazol ist durch eine konsekutive Alkalisierung des intragastralen Schleimhautmilieus zu erklären.

Dies bedeutet, daß durch die Behandlung der *H.pylori*-positiven männlichen Gesunden mit Amoxicillin und Omeprazol nur eine Suppression der Ureaseaktivität eintritt, aber keine Eradikation erfolgt.

In den folgenden Tabellen 6.3. und 6.4. wird der in unserer Studie ermittelte pH-Median unter der Behandlung mit Omeprazol und bei der kombinierten Behandlung mit dem der Studien von Armstrong et al. (1993), Londong et al. (1995) und Verdú et al (1996) gegenübergestellt und anschließend diskutiert.

*Tabelle 6.3.: Medianer pH-Wert unter der Behandlung mit 2x40 mg Omeprazol bei Helicobacter pylori-positiven Probanden*

	Armstrong et al. (1993)	Verdú (1996)	Daten dieser Studie
Langzeit-pH-Metrie	5,6	5,1	5,8
Tag-pH-Metrie	5,5	4,2	5,6
Nacht-pH-Metrie	4,8	6,1	5,6

*Tabelle 6.4.: Medianer pH-Wert (Streubreite) unter der Behandlung mit 2x40 mg Omeprazol und 2x750 mg bzw. 2x1000 mg Amoxicillin bei Helicobacter pylori positiven Probanden bzw. Patienten*

	Daten dieser Studie	Londong et al. (1995)
	pH-Median	pH-Median
	2x40 mg Omeprazol & 2x750mg Amoxicillin	2x40 mg Omeprazol & 2x1000 mg Amoxicillin
Langzeit-pH-Metrie	5,0 (4,2-6,0)	4,9 (4,0-6,1)
Tag-pH-Metrie	5,2 (4,2-5,8)	4,7 (3,7-5,6)
Nacht-pH-Metrie	5,1 (4,2-6,0)	6,0 (4,1-7,0)

Der pharmakodynamische Effekt der Behandlung mit 2x40 mg Omeprazol zeigt in der Studie von Armstrong et al. (1993) eine Säuresuppression auf einen pH-Wert von 5,6, so daß von einem vergleichbaren Ergebnis gegenüber den Daten in der hier vorliegenden Studie gesprochen werden kann. Auch die Studie von Armstrong et al. (1993) weist – wie unsere Studie – nachts gegenüber am Tage eine etwas geringere Säuresuppression auf (Tag: 5,5 / 5,6; Nacht: 4,8 / 5,5).

Eine Studie von Londong et al. (1995), in der eine Gruppe von H.pylori-positiven Patienten mit 2x40 mg Omeprazol und 2x1000 mg Amoxicillin behandelt und über eine Langzeit-pH-Metrie auf ihr pH-Profil hin untersucht wurde, wies eine annähernd gleich starke Säuresuppression mit pH-Werten von 4,9 gegenüber 5,0 in der hier vorliegenden Studie auf. Bei Ulcus duodeni Patienten lag der Median tags und

nachts geringfügig weniger ausgeprägt, bzw. stärker ausgeprägt in den Streubereichen zeigte sich aber eine vergleichbare Säuresuppression.

Zusammenfassend bedeutet dies, daß der pharmakodynamische Effekt von Omeprazol in kombinierter Behandlung mit Amoxicillin einen signifikanten, aber nur geringen Unterschied gegenüber der alleinigen Behandlung mit Omeprazol aufweist. Ursachen für den erhöhten pH-Median während der kombinierten Behandlung von Amoxicillin und Omeprazol liegt wahrscheinlich an der Suppression der *Helicobacter pylori* Besiedlung in der Mukosa. Betrachtet man den intragastralen pH während der kombinierten Behandlung mit Omeprazol und Amoxicillin so zeigte die hier vorliegende Studie einen signifikant höheren pH-Median gegenüber der Monotherapie mit Omeprazol. Es kann angenommen werden, daß nach fünf Tagen die o.g. kombinierte Therapie die *Helicobacter pylori*-Keimzahl suppremiert wurde. Dies könnte die Ursache für eine Reduktion der Ammoniakproduktion sein, die allerdings nur einen geringfügigen Einfluß auf das intragastrale pH haben würde, denn eine bestimmte Quantität einer schwachen Base wie das Ammoniak, könnte einen pH 1,5 nie neutralisieren. Aber die gleiche Quantität an Ammoniak könnte den intragastralen pH-Median bei bereits vorherigen säureinhibitorischen Behandlung signifikant erhöhen. Ergänzend zu den oben ausgeführten Gründen für die Elevation des pH-Median bei der kombinierten Behandlung mit Amoxicillin und Omeprazol, werden noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Vergleicht man die pH-Mediane von *H.pylori*-negativen Probanden mit den *H.pylori*-positiven Probanden, wie es in der Studie von Armstrong et al. (1993) dokumentiert wurde, so ist ein signifikanter Unterschied für die späten Nachtstunden von 2.00 Uhr bis 6.00 Uhr errechnet worden, wobei bei *H.pylori*-positiven gegenüber *H.pylori*-negativen Probanden durchgängig ein höheres pH-Niveau zu allen Tageszeiten zu erkennen ist. In zwei Studien von Verdú et al (1995 a,b) wurde das Ergebnis von Armstrong wiederholt bestätigt und unter anderem eine erhöhte Gastrinproduktion dafür mit verantwortlich gemacht. Die Studien von Verdú (1996) zeigen, daß das intragastralen pH von *Helicobacter* positiven Probanden während der Behandlung von 2x40 mg Omeprazol höher ist als nach Heilung der *Helicobacter pylori*-Infektion. Das Resultat dieser Studien ergab, daß Omeprazol einen niedrigeren pH nach Heilung der *H.pylori*-Infektion verursacht. Der erhöhte pH-Median hängt mit neutralisierenden Faktoren

vom H.pylori und nicht mit der H.pylori induzierten Gastritis zusammen. Ursachen für dieses Phänomen seien neben der erhöhten Gastrinliberalisierung die säureinhibitorischen entzündungsfördernden Mediatoren (Interleukin), lymphozyten-assoziierte Faktoren, welche Histaminliberation fördern, Ammoniak-Puffer-System (pK 9,1) des H.pylori und die Beeinflussung der Wasserstoff-Protonen-Rückdiffusion in der Mukosa durch H.pylori-Infektion.

## 6.5. Diskussion der Ergebnisse der pharmakokinetischen Parameter von Omeprazol und Amoxicillin bei der Monotherapie und bei der kombinierten Behandlung

### 6.5.1. Diskussion der Pharmakokinetik des Omeprazol

Die Pharmakokinetik des Omeprazol bei einer Dosierung von einmal täglich 40 mg wurde eingehend in der Studie von Andersson und Regardh (1990) untersucht. Die pharmakokinetischen Daten für  $t_{max}$ ,  $C_{max}$  und für die AUC werden in Tabelle 6.5 mit den Daten unserer Studie vergleichend dargestellt.

*Tabelle 6.5.: Mittelwerte von pharmakokinetischen Parametern ( $C_{max}$ ,  $t_{max}$ , AUC) bei der oralen Gabe von 40 mg Omeprazol (Ome)*

Studie	Andersson und Regardh (1990)	Daten dieser Studie	
Dosierung	1x40 mg Ome täglich	2x40 mg Ome täglich	
	tagsüber	tagsüber	nachts
$C_{max}$ ( $\mu\text{mol/l}$ )	2,14	5,02	3,67
$t_{max}$ (h)	1,62	1,35	1,54
AUC ( $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$ )	4,92	13,16*	9,89*

\* = signifikant unterschiedlich mit  $p=0,0036$

Vergleicht man die Ergebnisse der maximalen Konzentration ( $C_{max}$ ) von Omeprazol bei einer einmaligen Dosierung von 40 mg täglich mit der Dosierung von zweimal 40

mg Omeprazol täglich, so zeigt sich eine 2,3-fache Erhöhung der  $C_{max}$ . Dieser erhebliche Unterschied könnte sich durch eine hepatische Enzymsättigung des Omeprazolabbaus erklären lassen. Der Zeitpunkt für die maximale Konzentration des Omeprazol-Serumspiegels ist für die zweimalige Gabe in dieser Studie gegenüber der einmaligen Gabe von Omeprazol in der Studie von Andersson und Regardh (1990) tagsüber um 16 Prozent und nachts um 4 Prozent niedriger.

Das heißt, die zweimalige Gabe von 40 mg Omeprazol zeigt pharmakokinetisch einen überproportional höheren maximalen Serumspiegel ( $C_{max}$ ) bei einer geringeren Zeit ( $t_{max}$ ). In der Studie von Andersson und Regardh (1990) liegen die AUC-Werte während des Tages bei 42 Prozent und nachts bei 52 Prozent niedriger als in unserer Studie ermittelten AUC-Daten. Die Bioverfügbarkeit des Omeprazol ist bei zweifacher Gabe überproportional größer ist als bei einer einmaligen Gabe von 40 mg Omeprazol. Dieses Phänomen ist durch die Studie von Andersson, T. et al. (1991) beschrieben worden.

Die höhere Bioverfügbarkeit des Omeprazol in unserer Studie kann nicht auf einen kumulativen Effekt zurückgeführt werden. Eine Studie von Rost et al. 1996 wies zum einen auf den erheblichen Unterschied der Metabolisierung von „poor metabolizer“ (PM) und „extensive metabolizer“ (EM) hin. Bei einem Vergleich von 2x40 mg Omeprazol bei PM zeigte die AUC mit 34,3  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  ein vierfach höheren Wert als bei den EM mit AUC 7,36  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$ . Betrachtet man aber die pharmakokinetischen Graphiken zu jedem einzelnen der in unserer Studie untersuchten H.pylori-positiven männlichen Gesunden, so ist bei keinem der Probanden ein pharmakokinetischer Verlauf des Omeprazolspiegels festzustellen, der auf eine verzögerte Metabolisierung hinweisen könnte. In der hier vorliegenden Studie gibt es also keinen Hinweis auf eine Pharmakokinetik, die auf einen „slow metabolizer“ für Omeprazol hindeutet.

In der o.g. Studie von Andersson und Regardh (1990) war der H.pylori-Status nicht bekannt war. Ob dieser Aspekt für die Bioverfügbarkeit des Omeprazols eine Rolle spielt ist unklar.

### 6.5.2. Diskussion der Pharmakokinetik des Amoxicillin

Der Mittelwert der maximalen Konzentration ( $C_{max}$ ) des Serumspiegels für 750 mg Amoxicillin in der hier vorliegenden Arbeit liegt bei 6,8 mg/l  $\pm$  2,4 mg/l in 1,4 h und die AUC lag bei 18,9 mg\*l/h. Vergleicht man nun die oben angegebenen Daten mit denen, die in der Literatur so gibt es wie Paintraud (1992) schon erwähnte keine lineare Beziehung zwischen der Höhe der oralen Amoxicilingabe und der Höhe der Absorption. Auch die Darreichungsform spielt eine wesentliche Rolle (Cortvriendt et al. 1987). Blume et al. (1991) untersuchte die pharmakokinetischen Parameter ( $C_{max}$ ,  $t_{max}$ ,  $AUC_{0-8h}$ ) verschiedener Präparate von 750 mg Amoxicillin und wies eine breite Spanne für  $AUC_{0-8h}$  von 26,5 mg\*l/h bis 50 mg\*l/h auf mit Mittelwerten für  $t_{max}$  von 1,5 h bis 1,8 h und für  $C_{max}$  von 10,2 mg/l bis 14 mg/l. Eine Studie von Goddard et al. (1996) ermittelte für 750 mg Amoxicillin folgende Mittelwerte:  $C_{max}$ : 14,5 mg/l,  $t_{max}$ : 1,5 h,  $AUC_{0-8h}$ : 24,4 mg\*h/l.

Vergleicht man die o.g. Werte mit der hier vorgestellten Arbeit, so zeigen sich sehr ähnliche Ergebnisse für  $t_{max}$  aber erhebliche Unterschiede für  $C_{max}$  und  $AUC_{0-8h}$ . Bei der hier vorgestellten Studie und der von Goddard et al. (1998) wurde der Amoxicillinspiegel über das Agardiffusionsverfahren nachgewiesen, wobei im Rahmen der Studien von Blume et al (1991) das HPLC-Verfahren angewandt wurde. Die Ursachen für die Breite der Schwankungen in den Pharmakokinetischen Parametern o.g. Studien spielen neben Methodik verschiedene andere Parameter eine Rolle, die von der vegetativen Ausgangslage des Individuums beeinflusst werden können, so z.B. der Füllungszustand des Magens, die Motilität der Eingeweide, der Metabolismus und die Exkretionsfunktionen wie Nierenfunktion, Gallenfluß, Defäkation, Perspiratio sensibilis und insensibilis. Hinzu kommen noch weitere Faktoren, die in den Unterschieden der galenischen Zubereitung oder in methodischen Abweichungen bei der Untersuchungstechnik zu finden sind. Bei letzteren kann die unterschiedliche Handhabung des Serumstandards große Bedeutung erlangen. So kann es je nach Alter des benutzten Serums, aber auch aufgrund der Lagerung und des damit verbundenen Vorgangs des Einfrierens und Auftauens zu Aktivitätsverlusten des Serumstandards kommen.

### 6.5.3. Pharmakokinetische Interaktion von Amoxicillin und Omeprazol bzw. Pirenzepin

In der Dissertation von Tschink (1988) wurde der Einfluß von Pirenzepin auf die Bioverfügbarkeit von Amoxicillin untersucht. Der mittlere maximale Serumspiegel lag mit Placebo bei 15,4 mg/l; mit Pirenzepin betrug er 14,2 mg/l. Sowohl unter Placebo als auch unter Verum wurde der mittlere Serumspiegel nach 90 min erreicht. Es ließ sich kein signifikanter Einfluß ( $p > 0,05$ ) von Pirenzepin auf die Bioverfügbarkeit von Amoxicillin feststellen; die  $AUC_{0-8h}$ -Werte lagen bei der Amoxicillingabe von 1000 mg mit Placebo bei 37,2 mg\*h/l und mit Pirenzepin bei 38,4 mg\*h/l.

Paulsen et al. (1989) untersuchten die Interaktion von 1.000 mg Amoxicillin und 20 mg Omeprazol bei einer täglich einmaligen oralen Gabe. In Tabelle 6.7. werden die Ergebnisse der Studien von Paulsen et al. (1989), von Tschink (1988) sowie die der hier durchgeführten Studie zur Interaktion der beiden Medikamente gegenübergestellt. Goddard (1996) untersuchte den Einfluß von einer täglichen Gabe von 2x40 mg Omeprazol auf Amoxicillin mit einer Dosierung von 1x750 mg täglich. Es wurden die pharmakologischen Parameter ( $AUC$ ,  $C_{max}$ ) von Amoxicillin sowohl in der Magensäure als auch im Serum untersucht.

*Tabelle 6.6.: Vergleich der Ergebnisse der Bioäquivalenz von Amoxicillin mit und ohne Säuresuppression durch Omeprazol oder Pirenzepin*

Pharmakokinetik des Amoxicillins im Vergleich mit Säuresuppression	Amoxicillin & Placebo $AUC_{0-8 h}$ (mg*h/l)	Amoxicillin & 2x40mg Omeprazol $AUC_{0-8 h}$ (mg*h/l)	Amoxicillin & 1x20mg Omeprazol $AUC_{0-8 h}$ (mg*h/l)	Amoxicillin & 2x50mg Pirenzepin $AUC_{0-8 h}$ (mg*h/l)
Goddard et al. (1996) 1x750 mg Amoxicillin	24,4*	22,3*		
Paulsen et al. (1989) 1x1000 mg Amoxicillin	30,1•		30,9•	
Tschink (1988) 1x1000 mg Amoxicillin	37,2°			38,4°
Daten dieser Studie 2x750 mg Amoxicillin	18,9⊗	19,3⊗		

**Anmerkungen:**

\*, ⊗, •, ° = Statistisch nicht signifikante Ergebnisse  $p > 0,05$  entsprechend einer Bioäquivalenz von Amoxicillin mit und ohne Säuresuppression.

Aus den in Tabelle 6.6. zusammengestellten Ergebnissen ist zu erkennen, daß weder unter Pirenzepin noch unter der Gabe von 1x20 mg oder 2x40 mg Omeprazol ein Unterschied in der Bioverfügbarkeit des Amoxicillin zu erkennen ist. In einer Studie von Gustavson et al. (1995) konnte bewiesen werden, daß Omeprazol die Konzentration von Clarithromycin in der Mukosa, im Antrum und im Serum ( $AUC$ ,  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ ) erhöht ( $p < 0,05$ ). Diese genannte Interaktion des Clarithromycins kann für Amoxicillin im Serum weder durch die Studie von Paulsen et al. (1989) noch durch die hier dargestellte Studie bewiesen werden.

Die statistische Berechnung bezüglich der  $AUC_{0-22h}$  der hier vorliegenden Arbeit wies sowohl für Amoxicillin als auch für Omeprazol eine Bioäquivalenz in den Behandlungsgruppen (Monotherapie versus kombinierte Behandlung) auf. ( $AUC_{0-22h}$  Amoxicillin: 89,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  versus 90,3  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  und  $AUC_{0-22h}$  Omeprazol: 23,7  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  versus 21,4  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$ ).

Die zusätzlichen statistischen Berechnungen der von  $AUC_{0-10h}$  der Tages- und Nachtverordnung für Amoxicillin zeigen ebenfalls keinen Unterschied in der Mono- und in der kombinierten Therapie. Ein signifikanter Unterschied zeigt sich hingegen in dem Vergleich der Bioverfügbarkeit der Tages und der Nachtverordnung bezogen auf das  $AUC_{0-8h}$  für Omeprazol bei der Monotherapie:  $AUC_{\text{Omeprazol}}$  Tag versus Nacht: 13,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  versus 9,9  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  ( $p = 0,0036$ ) und bei der kombinierten Therapie:  $AUC_{\text{Omeprazol}}$  Tag versus Nacht: 11,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  versus 9,4  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$  ( $p = 0,0264$ ). Dieses Ergebnis ist aber als nicht wesentlich zu deuten, da es über die Gesamtkinetik bzw. Bioverfügbarkeit des Omeprazols keine wesentliche Aussage trifft.

In einer Studie von Londong et al. (1995) wurden Helicobacter pylori positive Patienten mit einem Duodenalulkus mit Amoxicillin und einer Dosierung von 2 x täglich 20 mg, 40 mg oder 80 mg Omeprazol behandelt auf die Pharmakokinetik her untersucht. Das Ergebnis zeigte keinen Anhalt für einen pharmakokinetischen Effekt auf die Konzentration des Amoxicillins im Serum oder in der Magenschleimhaut bei kombinierter Gabe o.a. Medikation. Zudem gab es keine Korrelation zwischen der Eradikationsrate und dem Grad der Säuresuppression oder dem Grad der Konzentration von Amoxicillin im Serum / Magenschleimhaut. Also auch die antibiotische Aktivitätsförderung des Amoxicillins durch Omeprazol konnte verneint werden.

Das zusammenfassende Ergebnis der pharmakologischen Untersuchungen in der hier vorliegenden Studie von *Helicobacter pylori* positiven Gesunden ist, daß bei der Behandlung von Amoxicillin und Omeprazol als Monotherapie und als kombinierte Behandlung weder Omeprazol einen Einfluß auf die Bioverfügbarkeit des Amoxicillin hat noch Amoxicillin eine Beeinflussung auf Omeprazol zeigt.

### **6.6. Klinischer Stellenwert der dualen Therapie mit Omeprazol und Amoxicillin bei der Behandlung *H. pylori* positiver Ulkuskrankheit**

Es bestehen sehr unterschiedliche Eradikations- und Heilungsergebnisse der Ulkuserkrankung mit der Dualtherapie von Amoxicillin und Omeprazol. In der amerikanischen Literatur existieren keine Daten, die eine Eradikationsrate bis 80% aufweisen. In der europäischen Literatur hingegen wurden Studien durchgeführt, die mit der Dualtherapie Eradikationsraten bis zu 96% erzielten (vergl. Graham-KS et al. 1995 und Graham-Y et al. 1995, Bayerdörffer 1995, Miehlke 1997). Savarino folgerte aus seinen Studien von 1995 / 1996, daß das pH-Optimum bei einem pH > 3 liegen müsse. Das Pepsin sei bei einem pH > 3 inaktiviert. Die hier vorliegende Studie und eine weitere Studie von Adamek et al. 1996 zeigen, daß eine fünftägige Behandlung mit Amoxicillin und Omeprazol keine ausreichende Eradikationsrate zu erzielen ist. Adamek postulierte, daß der Schwellenwert bei der Dualtherapie bei 7 Tagen sei, an dem die Eradikationsraten über 60% liegen und demnach eine Behandlung von mindestens 14 Tagen angezeigt ist. Studien von Gabryelewski et al. 1997, Graham-Ks et al. 1995, Kayser et al. (1997), Labenz et al. 1995 zeigten, daß die Dualtherapie mit 2x20 mg / 2x40 mg Omeprazol und 2x1 g Amoxicillin keine effiziente Therapie darstellt. Die Studie von Miehlke et al. 1997 zeigte bei der kombinierten Behandlung mit Amoxicillin und einer Erhöhung der Omeprazoldosis bis zu 4x20 mg täglich, Eradikationsraten bis zu 82% resp. bei 2x60 mg Omeprazol 85%. Bayerdörffer et al. 1995 konnte bei der kombinierten Behandlung mit 3x40 mg Omeprazol und 3x750 mg Amoxicillin eine Eradikationsrate von 96% erreichen. Bayerdörffer postulierte eine genügend hohe Administration von Omeprazol bis zur Säuresuppression pH>7 sei der ausschlaggebende Faktor der Eradikation des *H.pylori*.

Die Ergebnisse der Studien der Dualtherapie versus Tripletherapie (Chu et al. 1998, Laine et al. 1997, Sung et al. 1996, Thijis et al. 1996) zeigen eindeutig, daß die goldene Therapie zur Behandlung H.pylori positiver Ulkuskrankheit nicht primär die Dualtherapie darstellt. Die Kombination von Metronidazol, Omeprazol und Amoxicillin oder Clarithromycin, Omeprazol und Amoxicillin scheint die effizienteste Therapie zu sein. Auch bei der Kombination von Wismuth, Metronidazol und Tetrazyclin zeigten sich Eradikationsraten bis zu 83%. Amoxicillin wird aber immer noch eins der bevorzugten Antibiotika bleiben, da es bislang keine Resistenzen gegen H.pylori entwickelt hat.

Die Dualtherapie mit Amoxicillin und Omeprazol wird wegen der aufgetretenen Resistenzen gegen H.pylori bei Clarithromycin und Metronidazol weiterhin den Stellenwert als Alternativtherapie in der Behandlung der H.pylori-Ulkuskrankheit beibehalten allerdings in einer höheren als von uns getesteten Dosierung von 3x40 mg Omeprazol und 3x1000 mg Amoxicillin, Bayerdörffer et al. (1995).