

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Psoriasis-Therapieversuch mit dem  
Panselektin-Antagonisten TBC1269Z

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sandra Philipp

aus Calw

Gutachter:           1. Prof. Dr. med. Wolfram Sterry  
                          2. Prof. Dr. med. Carmen Scheibenbogen  
                          3. Prof. Dr. med. Gottfried Wozel

Datum der Promotion: 19.09.2008

## Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
APAAP	Alkalische Phosphatase / Anti-Alkalische Phosphatase (Methode)
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastin-Zeit
APZ	antigenpräsentierende Zellen
BMI	Body mass index (engl.)
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Ca	Kalzium
CCL27	Chemokin C Ligand 27
CCP	complement control protein = short consensus repeats (SCR); Wiederholung Komplement-ähnlicher Strukturen, Funktion noch nicht bekannt.
CCR10	Chemokin C Rezeptor 10
CD	Cluster of differentiation (engl.)
CD4+	CD4-Positivität, d.h. Oberflächenmolekül CD4 ist nachweisbar
CD40L	CD40-Ligand
CD62P	P-Selektin
CD62L	L-Selektin
CD62E	E-Selektin
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Kreatinkinase-Isoenzym MB
CLA	kutanes lymphozytenassoziiertes Antigen
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
C-Type Lectin	Untergruppe der Lektine, die eine strukturelle Homologie in der Kohlenhydrat-Erkennungs-Region besitzen
CyA	Ciclosporin (Cyclosporin A)
DMF	Dimethylfumarat
Dt.	Deutschland
EAE	experimentelle Autoimmunenzephalomyelitis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
EKG	Elektrokardiogramm
ESL-1	E-Selektin-Ligand 1
FACS	Fluorescence activated cell sorting (engl.)
FBS	fetal bovine serum (engl.)
FEV	forciertes expiratorisches Volumen
FITC	Fluoreszeinisothiocyanat

---

fl	Femtoliter
FSC	forward scatter (Vorwärtsstreulicht)
g	Erdbeschleunigung
g/dl	Gramm/Deziliter
$\gamma$ -GT	Gamma-Glutamyltransferase
GlyCAM-1	Glykolisierungsabhängiges Zelladhäsionsmolekül 1
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBsAG	Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienzvirus
Hkt	Hämatokrit
HL60-Zellen	myeloische Leukämiezelllinie
HWZ	Halbwertszeit
ICAM	Intercellular adhesion molecule (interzelluläres Adhäsionsmolekül)
Ig	Immunglobulin
IL-2	Interleukin-2
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
INR	International normalized ratio (Gerinnungswert)
JPEG	Joint Photographic experts group (Bildformat)
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
LDH	Lactatdehydrogenase
LEEP-CAM	Lymphozyten-endotheliales-epitheliales-Zelladhäsionsmolekül
LFA	lymphocyte function associated antigen (engl.)
MAC-1	mucosal adhesion molecule 1 (engl.)
MAdCAM-1	mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1 (engl.)
mAK	monoklonaler Antikörper
Max.	Maximum
MCH	mean corpuscular hemoglobine (engl.)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (engl.)
MCV	mean corpuscular volume (engl.)
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
MHC	major histocompatibility complex (engl.)
Min.	Minimum
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule

---

MS	Multiple Sklerose
MTX	Methotrexat
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
PASI	Psoriasis Area and Severity Index (engl.)
Pat.	Patient
PBS	Phosphate buffered saline
PC5	Phycoerythrin-Cyanin 5
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridin-Chlorophyll-a-Proteinkomplexe
pg	Pikogramm
PGA	Physician global assessment (engl.)
PNAd	periphere (Lymph-) knotenadressine
PSGL-1	P-Selektin-Glykoproteinligand-1
RR	Blutdruck
Scr	Screening (Voruntersuchung)
S.E.M.	standard error of mean (engl.)
sCD	soluble (löslicher) cluster of differentiation
SCID	schwere kombinierte Immundefizienz
SD	Standardabweichung
sLeX	sialylLewisX
Spg200	endotheliales Sialomuzin (L-Selektin-Ligand)
SSC	side scatter (Seitwärtsstreulicht)
SUP	selektive ultraviolette Phototherapie
TBS	Tris gepufferte Saline
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
Th1-Zellen	T-Helferzellen Typ 1
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
USA	United States of America
UVA	Ultraviolette Strahlung von 315-400 nm Wellenlänge
UVB	Ultraviolette Strahlung von 280-315 nm Wellenlänge
V Beta 13.1	T-Zell- $\beta$ -Rezeptorkette (variable Region) 13.1
V Beta 3	T-Zell- $\beta$ -Rezeptorkette (variable Region) 3
v.a.	vor allem
VCAM	vaskuläres Adhäsionsmolekül
$\mu$ g	Mikrogramm
$\mu$ l	Mikroliter

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1	Psoriasis-Ätiologie und Pathogenese.....	1
1.1.1	Psoriasis als T-Zell-vermittelte (Auto-)Immunerkrankung.....	3
1.1.1.1	T-Zell-Aktivierung.....	5
1.1.1.2	Migration.....	6
1.1.1.3	Selektine.....	7
1.1.1.4	Selektin-Liganden.....	9
1.2	Bisherige Therapien .....	10
1.2.1	Lokale Therapien und Phototherapie .....	10
1.2.2	Systemische Therapien.....	11
1.3	Bedarf an neuen therapeutischen Strategien .....	11
1.4	Neue Therapieansätze .....	12
1.4.1	Migrationshemmung.....	14
1.4.2	Selektin-Inhibitoren.....	14
1.4.3	TBC1269Z.....	15
1.4.3.1	Entwicklung .....	15
1.4.3.2	Eigenschaften von TBC1269Z.....	16
2.	Zielsetzung.....	18
3.	Material und Methoden.....	20
3.1	Patienten-Demographie .....	20
3.1.1	Teilnahmebedingungen.....	20
3.2	TBC1269Z-Behandlungsprotokoll .....	22
3.2.1	Organisatorischer Ablauf der Studie.....	23
3.3	Klinische Untersuchungen.....	25
3.3.1	Anamnese, körperliche Untersuchung, Vitalzeichen .....	25
3.3.2	Beurteilung der Effektivitätsparameter .....	25
3.3.2.1	PASI .....	25
3.3.2.2	PGA.....	26
3.3.2.3	Ziel- und Vergleichsläsion .....	27
3.3.2.4	Fotografie .....	28
3.3.3	EKG.....	28
3.3.4	Laborkontrollen.....	28
3.3.5	Unerwünschte Ereignisse / Injektionsreaktionen .....	29

---

3.3.5.1	Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis .....	30
3.3.5.2	Injektionsreaktionen .....	30
3.4	Applikation der Medikation .....	30
3.5	Hautbiopsien .....	31
3.6	Histologie / Immunhistologie.....	31
3.6.1	Fotodokumentation.....	31
3.6.2	Bestimmung der Epidermisdicke .....	32
3.7	Durchflusszytometrische Untersuchungen .....	32
3.7.1	Prinzip der Durchflusszytometrie.....	32
3.7.2	Durchführung der Durchflusszytometrie .....	33
3.8	Pharmakokinetik-Untersuchungen .....	35
3.9	Datenverarbeitung und statistische Analyse.....	35
3.10	Verwendete Geräte und Materialien .....	36
4.	Ergebnisse .....	39
4.1	Demographie .....	39
4.2	Klinische Effekte durch die TBC1269Z-Therapie.....	39
4.2.1	PASI (Psoriasis area and severity index) .....	39
4.2.2	PGA (Physician global assessment) .....	42
4.2.3	Ziel- und Vergleichsläsion .....	43
4.2.4	Fotodokumentation.....	44
4.3	Histologische Untersuchungen.....	48
4.3.1	Epidermisdicke .....	48
4.3.2	Papillendicke .....	49
4.3.3	Fotodokumentation der histologischen Untersuchungen.....	49
4.4	Systemische Verfügbarkeit von TBC1269Z.....	51
4.5	Verträglichkeit der TBC1269Z-Therapie .....	52
4.5.1	Unerwünschte Ereignisse, Infektionen, Reaktionen an der Injektionsstelle....	52
4.5.2	Auswirkungen auf Vitalzeichen.....	54
4.5.3	EKG.....	57
4.5.4	Auswirkungen auf das Blutbild .....	58
4.5.4.1	Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH und MCHC .....	58
4.5.4.2	Auswirkungen auf Leukozyten und Leukozytensubpopulationen .....	60
4.5.5	Einfluss von TBC1269Z auf die Syntheseleistung der Leber und Gerinnung.....	61
4.5.6	Einfluss der Anti-Selektin-Therapie auf Niere und Elektrolythaushalt.....	64

---

4.5.7	Einfluss von TBC1269Z auf Stoffwechselprodukte.....	64
4.5.8	TBC1269Z-Therapie und die Enzyme LDH und Kreatinkinase .....	65
4.6	Durchflusszytometrische Analysen (FACS).....	66
4.6.1	T-Zellen (CD3+Zellen).....	66
4.6.2	CD4+ und CD8+T-Zellen.....	67
4.6.3	B-Zellen und NK-Zellen .....	69
5.	Diskussion .....	70
5.1	Notwendigkeit neuer innovativer Therapeutika.....	70
5.2	Verwendung von TBC1269Z zur Therapie der Psoriasis .....	71
5.3	Studiendesign.....	73
5.3.1	Statistik.....	74
5.4	Wirksamkeit von TBC1269Z.....	74
5.4.1	Vergleich mit anderen Therapien .....	75
5.4.2	Wirkungsdauer .....	77
5.4.3	Systemische Wirksamkeit.....	78
5.4.4	Anwendungsmöglichkeiten.....	79
5.5	Verträglichkeit und Sicherheit der Therapie mit TBC1269Z .....	80
5.5.1	Vitalzeichen und klinische Chemie .....	81
5.5.2	Einfluss von TBC1269Z auf immunologische Parameter .....	82
5.5.3	Panselektin-Antagonismus und Infektionen.....	85
5.5.4	Einfluss von TBC1269Z auf die Gerinnung .....	86
5.5.5	Panselektin-Antagonismus und Malignome.....	87
5.6	Einsatzgebiete von TBC1269Z.....	88
6.	Zusammenfassung .....	90
7.	Literaturverzeichnis .....	92
8.	Abbildungen, - Foto- und Tabellenverzeichnis.....	103
8.1	Abbildungen .....	103
8.2	Fotos .....	104
8.3	Tabellen.....	105
9.	Anhang .....	106
9.1	Danksagung .....	106
9.2	Lebenslauf.....	107
9.3	Eidesstattliche Erklärung .....	110

# 1. Einleitung

## 1.1 Psoriasis - Ätiologie und Pathogenese

Die Psoriasis (Schuppenflechte) ist eine durch exogene und endogene Noxen triggerbare, chronisch rezidivierend verlaufende, entzündliche Systemerkrankung. Sie betrifft vor allem die Haut, aber auch Nägel und Gelenke. In den kaukasischen Populationen tritt sie unabhängig vom Geschlecht mit einer Prävalenz von ca. 2% auf. Allein in Europa sind mindestens fünf Millionen Menschen davon betroffen (Christophers E *et al.*, 2002). Klinisch unterscheidet man verschiedene Formen der Psoriasis. Die Psoriasis vulgaris ist mit 90% die am häufigsten auftretende Variante der Schuppenflechte. Typisch für diese Form sind erythematöse Plaques mit groblamellärer silbrig-weißer Schuppung an den Extremitätenstreckseiten (Abb.1.1.1), sakral und auf dem behaarten Kopf. Exanthematisch ausgebreitete 1-2 cm große Plaques, häufig nach einem Infekt auftretend, werden als Psoriasis guttata bezeichnet. Daneben gibt es die Psoriasis inversa bei atypischer Verteilung mit z.B. Befall der Intertrigines, der Handteller und Fußsohlen. Ist das gesamte Integument betroffen, spricht man von einer Psoriasis erythrodermica. Die pustulöse Psoriasis wird unterteilt in eine palmoplantare, generalisierte und anuläre Form. Sie ist charakterisiert durch Erytheme mit konfluierenden Pusteln. Die Nagelpsoriasis äußert sich durch Grübchen, Ölflecken oder Krümelnägel. Eine Gelenkbeteiligung (Psoriasis arthropathica) tritt bei ca. 10% der Betroffenen auf. Beim peripheren Typ sind vor allem die kleinen Finger- und Zehengelenke befallen. Die schwerste Form ist durch eine destruierende Arthritis der Gelenke gekennzeichnet und wird deshalb als mutilierende Form bezeichnet. Bei HLA-B27-positiven Psoriasis-Patienten kann man auch eine Spondylarthritis finden (Sterry W *et al.*, 2004, Friedrich M *et al.*, 2003). Sowohl die Ätiologie als auch die Pathogenese der Psoriasis sind noch nicht vollständig geklärt. Im Vordergrund stehen vier pathologische Veränderungen der Haut: epidermale Hyperproliferation, gestörte epidermale Verhornung, Gefäßveränderungen (verlängerte, geschlängelte Kapillaren) und eine Entzündungsreaktion in der Epidermis und oberen Dermis. Histologisch findet sich eine akanthotisch verdickte Epidermis mit verlängerten Reteleisten. Das verbreiterte mehrschichtige Basalzellager ist Ausdruck einer erhöhten mitotischen Aktivität. Daneben zeigt sich eine Hyper- und Parakeratose mit Verlust des Stratum granulosum.



Abb. 1.1.1 Typische psoriatische Plaques mit silbrig glänzender Schuppung am Ellbogen (Philipp S).

Häufig findet sich ein ausgedehntes Ödem der dermalen Papillen. Je nach Aktivitätsgrad der Psoriasis kann man Munro-Mikroabszesse entdecken (neutrophile Granulozyten, die bis in die Hornschicht eingewandert sind und dort kleine Leukozytenherde bilden).

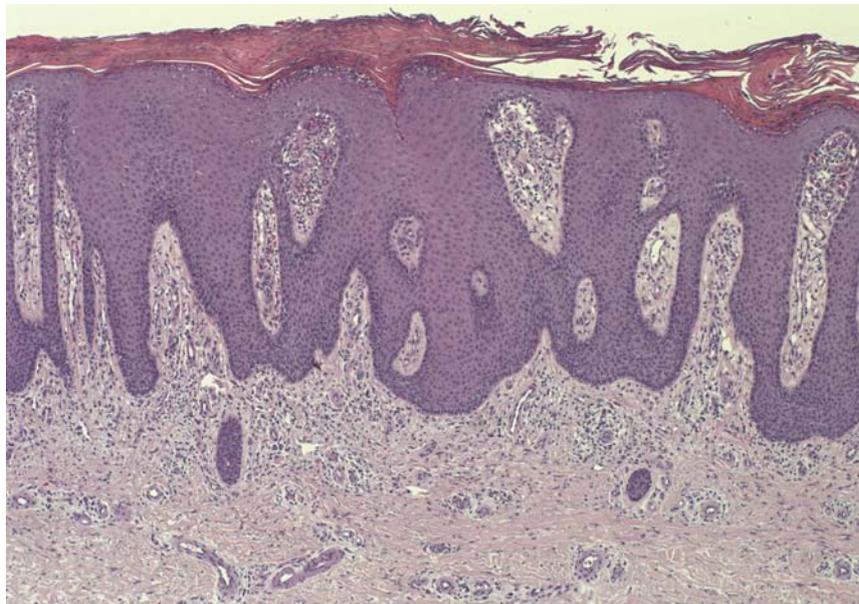


Abb. 1.1.2 Typisches histologisches Bild einer Psoriasisplaque (Röwert H).

Des Weiteren bestimmt ein perivaskuläres Infiltrat in der oberen Dermis, bestehend aus Lymphozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen, neutrophilen Granulozyten (in frühen

Läsionen) und Mastzellen, das histologische Bild der Psoriasis (Christophers E *et al.*, 2002, Gollnick H *et al.*, 2001, Kapitel 3)(Abb. 1.1.2).

### 1.1.1 Psoriasis als T-Zell-vermittelte (Auto-)Immunerkrankung

Die Untersuchungen der letzten Jahre führten zur Formulierung der Hypothese, dass die Psoriasis eine T-Zell-vermittelte (Auto-)Immunerkrankung ist, in der Zytokine eine wesentliche Rolle spielen (Valdimarsson H *et al.*, 1986, Baker BS *et al.*, 1992, Asadullah K *et al.*, 2002). 1990 konnte in Fallberichten gezeigt werden, dass eine Heilung der Psoriasis durch Knochenmarkstransplantation von gesunden Personen möglich ist, bzw. die Übertragung der Erkrankung durch Knochenmarkstransplantation von Psoriasis-Patienten erfolgen kann (Gardembas-Pain M *et al.*, 1990, Fedy DJ *et al.*, 1990). Indirekte Hinweise sprachen für eine wichtige Funktion aktivierter T-Zellen. Man entdeckte die Wirksamkeit von Ciclosporin in der Behandlung der Psoriasis. Ciclosporin wirkt unter anderem hemmend auf die T-Zell-Aktivierung durch die Blockade der Interleukin-2(IL-2)-Synthese (Bos JD *et al.*, 1989). Des Weiteren waren auch monoklonale Antikörper gegen Oberflächenmoleküle von T-Zellen wie z.B. CD(cluster of differentiation)3 und CD4 wirksam (Weinshenker BG *et al.*, 1989, Gottlieb AB *et al.*, 2000). 1995 konnte die Arbeitsgruppe um Gottlieb nachweisen, dass ein lymphozytenselektives auf IL-2 basierendes Toxin (DAB389IL2) die Psoriasis verbessern kann (Gottlieb SL *et al.*, 1995, Martin A *et al.*, 2001). Ähnliches konnten auch Krueger JG *et al.*, 2000, mit einem Antikörper gegen den IL-2-Rezeptor (CD25) zeigen (Krueger JG *et al.*, 2000). Weitere Untersuchungen belegten, dass im Serum von Psoriasis-Patienten lösliche Moleküle wie z.B. der lösliche IL-2-Rezeptor (sCD25) erhöht waren (De Rie MA *et al.*, 1991). Weitere Hinweise für die Wichtigkeit von Immunzellen in der Pathogenese der Psoriasis konnten 1996 von Tamara Wrone-Smith und Brian J. Nickoloff durch Experimente an SCID-Mäusen (SCID=severe combined immune deficiency) erbracht werden. Sie transplantierten humane Haut auf die immundefizienten Mäuse und injizierten ihnen autologe Immunzellen. Sie zeigten, dass aus dem Blut gewonnene Lymphozyten die Fähigkeit besitzen, eine psoriatische Läsion auszulösen. Nicht betroffene Haut von Psoriasis-Patienten zeigte nach Injektion der Lymphozyten das Vollbild einer psoriatischen Läsion. Normale Haut von Gesunden wurde dadurch nicht beeinflusst (Wrone-Smith T *et al.*, 1996). Desweiteren stellten sie fest, dass nur die Injektion von CD4+T-Zellen Psoriasis in zuvor nicht betroffener Haut von Psoriasis-Patienten auslösen kann, nicht jedoch CD8+T-Zellen (Nickoloff BJ *et al.*, 1999). Allerdings zeigte sich bei der Untersuchung

der transplantierten Haut nach Injektion der CD4+Zellen, dass die intradermale T-Zell-Population, die Aktivierungsmarker wie CD25 ( $\alpha$ -Kette des IL2-Rezeptors) und CD69 exprimierte, auch CD8+Zellen umfasste. Sie schlossen daraus, dass die injizierten CD4+Zellen ein passendes Mikromilieu schufen, dass schlafende, schon in der transplantierten Haut vorhandene CD8+Zellen aktivierte (Nickoloff BJ 1999). Boyman O *et al.* entwickelten 2004 ein anderes Mausmodell. Sie benutzten Mäuse, die wie die SCID-Mäuse keine B- und T-Zellen besaßen, aber zusätzlich negativ für IFN(Interferon)- $\gamma$ -I- und -II-Rezeptoren waren (AGR129-Mäuse) und nicht über funktionsfähige NK-Zellen verfügten. In diesem Modell entwickelte sich aus nicht betroffener Haut von Psoriasis-Patienten im Laufe von 4-8 Wochen spontan eine psoriatische Läsion. Bei Blockierung der T-Zellen durch einen CD3-Antikörper entwickelten sich keine psoriasisähnlichen Hautveränderungen. Dies zeigte die wichtige Rolle von lokal aktivierten und proliferierenden residenten T-Zellen, wobei CD4+T-Zellen vorzugsweise in der Dermis, CD8+T-Zellen in der Epidermis zu finden waren (Boyman O *et al.*, 2004). Andere Untersuchungen unterstützten die Wichtigkeit klonaler Expansion von T-Zellen. Chang JC *et al.* konnten zeigen, dass bei Patienten mit Psoriasis derselbe Klon über einen Zeitraum von 15 Monaten erhalten blieb. Vollmer S *et al.* konnten nachweisen, dass dominante T-Zell-Rezeptorarrangements in rezidivierenden psoriatischen Läsionen erhalten bleiben, jedoch nicht in der nicht betroffenen Haut nachweisbar sind. Das sprach ebenfalls für die wichtige pathogenetische Rolle von spezifisch rekrutierten und lokal expandierenden T-Zell-Klonen (Chang JC *et al.*, 1997, Vollmer S *et al.*, 2001). Valdimarsson H *et al.* zeigten, dass die T-Zellen intraläsional durch ein Superantigen aktiviert werden können und infolge dessen proliferieren. Diese Zellen können anschließend mit einem Autoantigen aus Keratinozyten kreuzreagieren und so autostimuliert werden. Es wird vermutet, dass es sich bei dem Superantigen um Exotoxine von Streptokokken handelt, und das Autoantigen aus Keratinozyten Ähnlichkeit mit dem M-Streptokokken-Protein besitzt (Valdimarsson H *et al.*, 1995 und 1997). An dieser Stelle sollte man erwähnen, dass neben T-Zellen in psoriatischen Läsionen auch sog. NK-T-Zellen zu finden sind. Sie sind eine Subpopulation der T-Zellen, die Oberflächenmoleküle tragen, die für natürliche Killerzellen (NK-Zellen) typisch sind, wie CD94, CD158a, CD158b und CD161. Viele Untersuchungen belegen, dass bei der Psoriasis eine Immunantwort mit einem Th1(T-Helferzelltyp 1)-Zytokinmuster vorherrscht (Schlaak JF *et al.*, 1994, Uyemura K *et al.*, 1993, Etehad P *et al.*, 1994). Sowohl die CD4+- als auch die CD8+Zellen in der

Haut von Psoriasis-Patienten sind in der Lage TNF(Tumornekrosefaktor)- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und IL-2 zu produzieren, aber weniger als 11% können IL-4 oder IL-10 exprimieren. Diese Verschiebung zeigt sich auch im Blut (Austin LM *et al.*, 1999). Die Dysbalance zwischen der sowohl kutanen als auch systemischen Überexpression von proinflammatorischen Zytokinen auf der einen Seite und der supprimierten Expression der antiinflammatorischen Zytokine auf der anderen Seite kann zur Auslösung und zum Erhalt psoriatischer Hautläsionen beitragen. Zytokine können u.a. die gesteigerte Zellteilungsrate der Keratinozyten und die Zusammensetzung des zellulären Infiltrats innerhalb einer Psoriasisplaque steuern (Asadullah K *et al.*, 1999).

### 1.1.1.1 T-Zell-Aktivierung

Für eine funktionelle T-Zell-Aktivierung sind zwei Schritte notwendig. Der erste Schritt ist das aktivierende Signal über den T-Zell-Rezeptor. Die Präsentation von Antigenen durch antigenpräsentierende Zellen (APZ) über MHC-Klasse-I-(für CD8+T-Zellen) bzw. -II-Moleküle (für CD4+T-Zellen) führt zur Antigenerkennung durch den T-Zell-Rezeptor (Tab.1.1.1.1.1). Dies setzt eine Transkriptionskaskade in Gang, die u.a. zur Expression von CD40-Liganden (CD40L) führt. APZ tragen CD40 an ihrer Oberfläche. Bei Interaktion von CD40L der T-Zellen mit CD40 auf den APZ kommt es zur Hochregulation von kostimulierenden Molekülen wie z.B. CD80/CD86 auf APZ (Shu U *et al.*, 1995, Lanzavecchia A *et al.*, 1998). Das sekundäre kostimulierende Signal vervollständigt den T-Zell-Aktivierungsprozess. Die kostimulierenden Rezeptor-Liganden-Paare (z.B. CD40-CD40L, CD80-CD28, CD58-CD2, s. Tab. 1.1.1.1.1) sind wichtig für die Initiierung und Aufrechterhaltung der T-Zell-Proliferation und Zytokinproduktion ebenso wie für Zelladhäsionsprozesse. Ohne zweites Signal können T-Zellen nicht funktionell aktiviert werden (Wingren AG *et al.*, 1995, Mueller DL *et al.*, 1989). Die T-Zell-Aktivierung, ausgelöst durch jeden Typ von Antigen, kann durch die Blockierung der Kostimulation gehemmt werden (Tab. 1.1.1.1.1). Da bei der Psoriasis das auslösende Antigen bisher nicht bekannt ist, kommt bei Überlegungen zu neuen therapeutischen Ansätzen der Kostimulation große Bedeutung zu, das macht sie zu einem attraktiven Ziel in der Entwicklung von Psoriasis-therapeutika (Gordon KB *et al.*, 2003).

Signal	APZ	T-Zelle
Signal 1	MHC-Antigen-Komplex	T-Zell-Rezeptor (CD3)
Signal 2 "Kostimulation"	CD80/CD86	CD28
	ICAM-1 (CD54)	LFA-1 (CD11a/CD18)
	LFA-3 (CD58)	CD2
	CD40	CD40Ligand (CD154)

Tab. 1.1.1.1.1 Beispiele für Signale, die für die T-Zell-Aktivierung notwendig sind. Modifiziert nach Philipp S *et al.*, 2006 (ICAM: Intercellular adhesion molecule; LFA: Lymphocyte function associated antigen).

### 1.1.1.2 Migration

T-Zellen gelangen durch Migration aus dem Blut in die Haut. Man kann diesen Vorgang in drei Schritte unterteilen (Abb. 1.1.1.2.1).

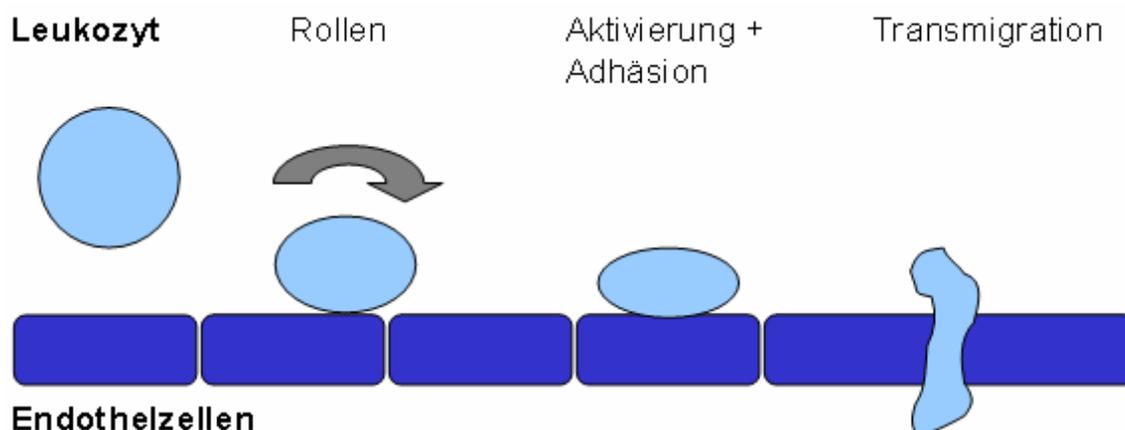


Abb. 1.1.1.2.1 Darstellung der verschiedenen Schritte der Migration (Rollen, Chemokinaktivierung, Bindung (Adhäsion) und Transmigration).

Die Leukozyten fließen im Blutstrom, dabei kommt es zu Kontakten mit der Gefäßwand. Durch die Interaktionen zwischen den Selektinen der Endothelzellen und Selektin-Liganden der Immunzellen werden vorübergehende adhäsive Kontakte vermittelt, die zu einem langsamen Rollen entlang der Gefäßwand führen. Auf der Endothelzelloberfläche angelagerte Chemokine aktivieren die Leukozyten. Dies ermöglicht die feste Anheftung der Leukozyten an das Endothel durch Adhäsion von  $\beta$ 2-Integrinen, wie LFA(lymphocyte function associated antigen)-1 oder MAC(mucosal adhesion molecule)-1 der Leukozyten, an Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie wie z.B. ICAM(intercellular adhesion molecule)-1 oder  $\beta$ 1-Integrinen wie VCAM(vascular adhesi-

on molecule)-1 der Endothelien. Das Expressionsmuster von Chemokinen und Rezeptoren bestimmt dabei, welche Zellen in einen Entzündungsherd rekrutiert werden. Interessanterweise induzieren proinflammatorische Zytokine wie IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-1 z.B. die Expression von ICAM-1 und VCAM-1 und steigern somit die Adhäsion. Im letzten Schritt kommt es dann zur Extravasation der Zellen in das Gewebe. Das Ziel der Migration der meisten Zellen bei der Psoriasis ist die Dermis, nur wenige Leukozyten besitzen die Fähigkeit bis in die Epidermis zu gelangen. Um in die Dermis zu migrieren, benutzen die Zellen meist  $\beta$ 1-Integrine, die an verschiedene extrazelluläre Matrixkomponenten binden (z.B. Kollagen-Typ 1, Fibronectin, Laminin), aber auch CD44, das an Hyaluronsäurerezeptoren, oder LFA-1, das an interstitielles ICAM-1 bindet. Um in die Epidermis zu gelangen, sind sehr komplexe Vorgänge notwendig, die bisher nur teilweise bekannt sind. Man vermutet, dass  $\alpha$ 1 $\beta$ 1-Integrine dabei eine Rolle spielen, da ihre Expression mit dem Epidermotropismus bestimmter T-Zell-Lymphome einhergeht. Außerdem entdeckte man ein Glykoprotein, das konstitutiv in der suprabasalen Epidermis exprimiert wird, das LEEP-CAM(Lymphozyten-endotheliales-epitheliales-Zelladhäsionsmolekül). Allerdings wurde der Ligand auf den Leukozyten noch nicht identifiziert. Ein weiteres wichtiges Molekül für die Migration in die Epidermis scheint  $\alpha$ E-Integrin zu sein, das von basalen und suprabasalen CD8+T-Zellen in psoriatischen Läsionen exprimiert wird, aber nicht von dermalen CD8+T-Zellen. Die Chemokin-Rezeptorenpaare CCR4/CCL17 und CCR10/CCL27, die für die integrinmedierte Adhäsion von Bedeutung sind, beeinflussen ebenfalls die Extravasation. Für die Migration in die Epidermis scheinen CXCL9 und CXCL10 von entscheidender Bedeutung zu sein (Rottman JB *et al.*, 2001). Etwa ein Drittel der CLA(kutanes lymphozytenassoziiertes Antigen)+Zellen, die als Zielorgan die Haut haben, exprimieren CCR10, während CCL27 von basalen Keratinozyten exprimiert wird (Schön MP *et al.*, 2003). Auch wenn die komplexen Vorgänge, die zur Migration von Immunzellen in die Haut führen, noch nicht komplett erforscht sind, könnte eine Unterbrechung bzw. Verhinderung der Einwanderung von Immunzellen in die Haut einen eleganten therapeutischen Ansatz darstellen.

### 1.1.1.3 Selektine

Selektine spielen bei dem ersten Schritt der Migration eine entscheidende Rolle. Sie sind eine Familie kalziumabhängiger transmembranärer Zelladhäsionsmoleküle. Selektine sind Glykoproteine, die durch eine aminoternale lectinähnliche Domäne (C-type-

Lektin) charakterisiert sind, die an Kohlehydratliganden auf der Oberfläche anderer Zellen bindet. Sie besitzen eine epidermale Wachstumsfaktoren-Domäne (EGF Domain) und eine variable Anzahl sich wiederholender Proteinstrukturen, so genannte „consensus repeats“ (CCP), die eine Homologie zu komplementbindenden Proteinen aufweisen und spezifisch für die einzelnen Selektine sind (Abb. 1.1.1.3.1).

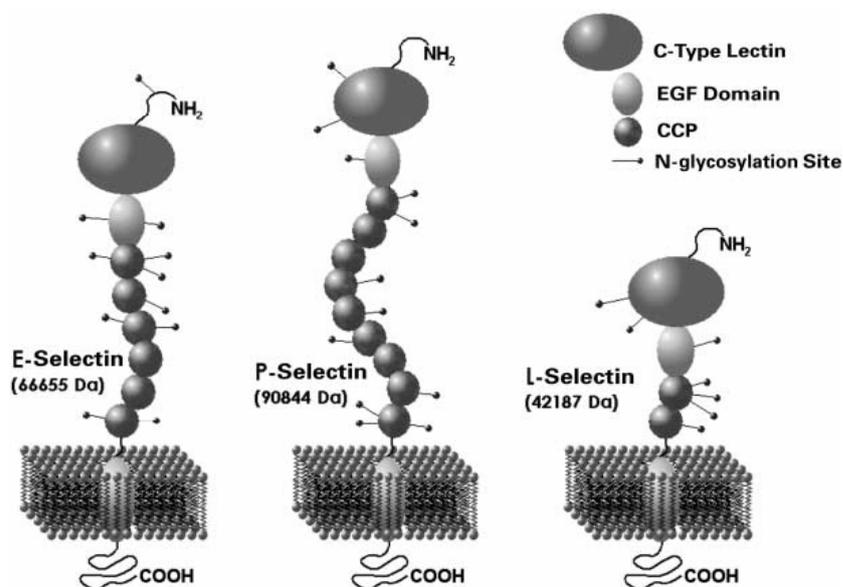


Abb. 1.1.1.3.1 Struktur der Selektine (Aydt E and Wolff G *et al.*, 2002)

Die Selektine wurden nach dem Ort benannt, an dem sie zuerst entdeckt wurden: P-Selektin auf (Blut-) Plättchen, E-Selektin auf Endothelzellen und L-Selektin auf Leukozyten (Ley K. 2003). P-Selektin (CD62P) befindet sich in den so genannten Weibel-Palade-Körperchen in Endothelzellen und in Sekretgranula von Thrombozyten und kann nach Zytokin-Stimulation innerhalb von Minuten an der Oberfläche exprimiert werden. E-Selektin (CD62E) wird auf der Transkriptionsebene reguliert und innerhalb von Stunden von aktivierten Endothelzellen präsentiert. L-Selektin (CD62L) wird konstitutiv von einigen Leukozytensubpopulationen (z.B. naiven T-Zellen) an der Oberfläche präsentiert. P- und E-Selektin spielen bei den ersten initialen Kontakten und dem Rollen auf der Endotheloberfläche in einem entzündeten Gewebe eine herausragende Rolle. L-Selektin ist u.a. wichtig für die Rückkehr („Homing“) der T-Zellen in die Lymphknoten. Die durch die Selektine vermittelte Funktionen überlappen sich bzw. können kompensatorisch von anderen übernommen werden (Schön MP *et al.*, 2003, Kaila N *et al.*, 2002). Es gibt Hinweise, dass Selektine nicht nur für das Rollen verantwortlich sind, sondern

über L-Selektin, PSGL-1 und E-Selektin auch weitere Signalfunktionen in Leukozyten und Endothelzellen auslösen können (Ley K, 2003, Vestweber D *et al.*, 1999).

#### 1.1.1.4 Selektin-Liganden

Die natürlichen Selektin-Liganden sind komplexe Makromoleküle, die bestimmte anionische Kohlenhydratstrukturen gemeinsam haben (Varki A. 1999). L-, E-, und P-Selektin binden alle an Sialyl-LewisX (sLex). Dieses Tetrasaccharid kommt als Endstück von Oligosacchariden auf vielen leukozytären und endothelialen Glykoproteinen und Glykolipiden vor. Jedes der Selektine bindet mit unterschiedlicher Affinität an spezifisch sialylierten und fucosylierten makromolekularen Liganden (Erhardt C *et al.*, 2004). Der am besten untersuchte natürliche Selektin-Ligand ist P-Selektin-Glykoprotein-Ligand-1 (PSGL-1). Er wird von allen Leukozyten an der Oberfläche präsentiert. Er besteht aus einem über Disulfidbrücken verbundenen Homodimer und bindet über eine anionische aminoterminal Peptidsequenz, die ebenfalls das Kohlenhydratepitop sLex enthält. Dieses Epitop bindet mit niedriger Affinität an P- und E-Selektin. Darüberhinaus bindet PSGL-1 hochaffin an P-Selektin über zusätzliche Bindung mit Tyrosinsulfat, aber nur schwach an E-Selektin (Kaila N *et al.*, 2002). PSGL-1 ist für ca. 90% der P-Selektin-Bindungen verantwortlich und außerdem der wichtigste L-Selektin-Ligand in entzündlichen Läsionen, wo er durch schon adhärenzte Leukozyten und Leukozytenfragmente exprimiert wird (Ley K. 2003). CD24, hauptsächlich auf neutrophilen Granulozyten zu finden, ist ebenfalls ein P-Selektin-Ligand. Die zwei Hauptliganden für E-Selektin sind E-Selektin-Ligand-1 (ESL-1) und PSGL-1. ESL-1 ist wahrscheinlich für die Bindung von myeloischen Zellen an E-Selektin wichtig. Interessant ist, dass auch L-Selektin selbst auf neutrophilen Granulozyten ein Ligand von E-Selektin ist (Vestweber D *et al.*, 1999). Die wichtigsten L-Selektin-Liganden wurden auf Endothelzellen kleiner Venen peripherer Lymphknoten identifiziert und sind bekannt als periphere Lymphknoten-Adressine (PNA<sub>d</sub>). Vier davon wurden bisher näher identifiziert: GlyCAM-1 (Glykolysierungsabhängiges Zelladhäsionsmolekül 1), CD34, S<sub>p</sub>g 200 sowie MAdCAM-1 (mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1) (Erhardt C *et al.*, 2004). Ein weiterer wichtiger Ligand, speziell bei Erkrankungen der Haut ist CLA, es bindet an alle drei Selektine: E-Selektin (Alon R *et al.*, 1994, Berg EL *et al.*, 1991), P-Selektin (Labow MA *et al.*, 1994) und L-Selektin (Jung U *et al.*, 1999, Collins RG *et al.*, 2001). T-Lymphozyten, die auf dem Weg in die Haut sind, exprimieren das sLex-tragende CLA, hervorgegangen aus einer speziellen Glykolysierung von PSGL-1 (Kupper TS *et al.*, 1997). Man vermutet,

dass CLA für die gewebspezifische Lokalisierung von kutanen T-Zellen eine dominante Rolle spielt (Picker LJ *et al.*, 1990). CLA+Zellen scheinen bevorzugt durch das Endothel des superfiziellen dermalen Plexus zu migrieren (Kunstfeld R *et al.*, 1997). Dies lässt topographisch spezialisierte mikrovaskuläre Endothelzellen in der Haut vermuten.

## 1.2 Bisherige Therapien

Bis vor ca. 20 Jahren wurde auch die schwere Psoriasis eher topisch oder mit Lichttherapien behandelt. Die Entdeckung der Behandlungsformen erfolgte dabei überwiegend empirisch. Erst durch den revolutionären Behandlungserfolg mit Ciclosporin in den 80er Jahren und die neuen Hypothesen über die T-Zell-bedingte Immunpathogenese der Schuppenflechte erlangte eine systemische Behandlung zunehmende Bedeutung (Cather J *et al.*, 2002).

### 1.2.1 Lokale Therapien und Phototherapie

Bei milder bis mäßiger Ausprägung der Schuppenflechte steht die lokale Therapie nach wie vor im Vordergrund. Seit über 80 Jahren verwendet man dabei Dithranol (synthetisches Derivat einer indischen bzw. südamerikanischen Heilpflanze (Chrysarobin)) und teerhaltige Externa (z.B. Pix lithanthracis, Liquor carbonis detergens) sowie topische Glukocorticoide. Seit Beginn der 90er Jahre kommen auch lokale Vitamin-D3-Derivate (Calcipotriol, Calcitriol, Tacalcitol) und Tazaroten, ein topisches Retinoid, zum Einsatz. Zusätzlich werden häufig noch salicylhaltige Externa zur Keratolyse (Entschuppung) benötigt (Gollnick H. *et al.*, 2001, Kapitel 8-12). In Verbindung mit topischen Therapien werden auch verschiedene Phototherapien eingesetzt. Bei der selektiven ultravioletten Phototherapie (SUP) wird entweder UVB-Strahlung kombiniert mit UVA in einer Breitpektrum-Strahlenquelle (280-320nm) oder Schmalspektrum-UVB (311nm) verwendet. Sie kann mit oder ohne zusätzliche Solebäder durchgeführt werden. Bei der Photochemotherapie wird ein Photosensibilisator (8-Methoxypsoralen) in Verbindung mit UVA-Breitpektrumlampen (Emissionspeak um 360-365 nm, Aktionsspektrum um 335 nm) eingesetzt. Psoralen kann dabei systemisch als Tablette eingenommen werden oder lokal, z.B. in Form eines Bades, appliziert werden. Die Wirkung erfolgt über eine lokale Immunsuppression (Gollnick H *et al.*, 2001, Kapitel 18). Dabei ist allerdings zu beachten, dass eine chronische Anwendung von Phototherapien bestimmte Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) induzieren kann (Honigsmann H, 1990).

## 1.2.2 Systemische Therapien

Systemische Therapien werden in schweren Fällen der Psoriasis eingesetzt, d.h. bei Befall großer Areale des Körpers oder häufigen Rezidiven, sowie der Psoriasis arthropathica. Zu den traditionellen systemischen Therapien zählen Ciclosporin (CyA), Methotrexat (MTX), Acitretin und Fumarsäure (Gollnick H *et al.*, 2001, Kapitel 13-16) In der Tab.1.2.2.1 sind die wichtigsten unerwünschten Wirkungen und die Indikationen dieser Substanzen zusammengefasst.

Substanz	Anwendung	Unerwünschte Wirkungen
Ciclosporin	Schwere Psoriasis	Nephrotoxizität, Hypertonie
Methotrexat	Schwere Psoriasis, Psoriasis arthropathica, Pustulöse Psoriasis	Hepatotoxizität, hämatopoetische Suppression, selten Agranulozytose
Acitretin	Pustulöse Formen, bei Plaque-Psoriasis als Monopräparat wenig wirksam (+UV-Therapie, Externa)	Trockenheit der Haut und Schleimhäute, Alopezie, Teratogenität, Anstieg von Blutfetten
Fumarsäure	Schwere Plaque-Psoriasis	gastrointestinale Beschwerden, Flush-Symptomatik, Lymphopenie, Eosinophilie

Tab. 1.2.2.1 Systemische Standardtherapien der Psoriasis (Gollnick H *et al.*, 2001, Kapitel 13-16).

## 1.3 Bedarf an neuen therapeutischen Strategien

Bei etwa 20% der Psoriasispatienten sind die Manifestationen der Erkrankung so ausgeprägt, dass sie nicht zufriedenstellend mit topischen Therapeutika behandelt werden können, sondern eine systemische oder Phototherapie benötigen. Trotz der Fortschritte in der Psoriasis-therapie in den letzten beiden Jahrzehnten zeigen alle Behandlungsprotokolle Limitierungen. Teilweise sind die vorhandenen Ansätze ineffektiv und führen nicht zu der gewünschten vollständigen Rückbildung der Hautveränderungen. Außerdem besitzen die bisherigen systemischen Therapien ein beträchtliches Risiko für unerwünschte Wirkungen, so dass sie meist nur für schwere Psoriasisfälle eingesetzt werden (Philipp S *et al.*, 2006). Weitere Probleme bereiten Kontraindikationen und fehlende Langzeitwirkung. Oft sind die Behandlungen für die Patienten unangenehm, mit regelmäßigen Besuchen beim Arzt oder einem Krankenhausaufenthalt verbunden. Die Lebensqualität ist durch die Psoriasis deutlich eingeschränkt, vergleichbar mit weitaus stärker behindernden und lebensbedrohlichen Erkrankungen wie z.B. Tumorerkrankungen oder chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen (Rapp SR *et al.*, 1999). Die Pati-

enten sind lebenslang durch die psoriatischen Plaques geplagt, die in allen Lebensbereichen zu einer Quelle von Problemen werden können, sei es privat oder beruflich (Mork C *et al.*, 2002, De Arruda LHF *et al.*, 2001). Wenn man die hohe Prävalenz der Schuppenflechte einbezieht, ist die ökonomische Belastung der Gesellschaft enorm (Marchetti A *et al.*, 1998). Insgesamt ist noch ein großer Bedarf an neuen innovativen Therapeutika vorhanden (Friedrich M *et al.*, 2003). Je mehr Wissen sich uns über die Entstehung der Psoriasis eröffnet, desto mehr Optionen ergeben sich für eine gezielte Therapie.

#### **1.4 Neue Therapieansätze**

Im Hinblick auf die Limitierungen der bisherigen systemischen Therapien gibt es einen großen Bedarf an spezifischeren zielgerichteten systemischen Therapien. Wie zuvor dargestellt, gilt die Psoriasis heute als T-Zell-vermittelte (Auto-)Immundermatose. Als attraktive Ziele für neue Therapeutika kommen deshalb die Hemmung der T-Zell-Aktivierung, die Eliminierung bereits aktivierter T-Zellen, sowie die Unterbrechung der Interaktion zwischen T-Zellen und APZ in Betracht. Letzteres kann auf zwei Wegen erreicht werden: durch Unterbindung der Antigenpräsentation selbst oder über Blockade der kostimulierenden Signale. Eine Neutralisation oder Antagonisierung von proinflammatorischen Zytokinen oder die Substitution von antiinflammatorischen Zytokinen sind weitere Therapiestrategien. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die aktivierten T-Zellen daran zu hindern, an ihren Wirkort zu gelangen, d.h. die Migration zu unterbinden, z.B. durch Hemmung der Adhäsion von Leukozyten an die Gefäßendothelien oder durch Minimierung der Wirkung von Chemokinen. Die neuen Kenntnisse über die Pathogenese der Psoriasis und Entwicklungen in der Biotechnologie machten es möglich, neue zielgerichtete biologische Wirkstoffe zu entwickeln. Die so genannten Biologics werden von lebenden Zellen hergestellt und täuschen entweder Handlungen normaler menschlicher Proteine vor oder treten in Interaktion mit zirkulierenden Proteinen oder zellulären Rezeptoren, um deren Wirkung zu unterbinden. Diese Moleküle sind entweder Antikörper oder Fusionsproteine. Sie können auch mit Toxinen gekoppelt werden (Philipp S *et al.*, 2006). Zurzeit befinden sich mehr als 20 Biologics in unterschiedlichen Stadien der klinischen Prüfung. Diese neuen systemischen Wirkstoffe scheinen erstaunlich wenig Organtoxizitäten aufzuweisen und nur milde unerwünschte Wirkungen, wie z.B. Erkältungsgefühl, zu verursachen. Die Infektionsrate zeigt sich nur marginal erhöht im Vergleich zu entsprechenden Placebogruppen (Cather J *et al.*, 2002). Allerdings

sind bei einzelnen Präparaten Fälle von reaktivierter Tuberkulose aufgetreten (Gottlieb AB *et al.*, 2004) sowie andere schwerwiegende Infektionen wie Lungenentzündung oder Sepsis (Philipp S *et al.*, 2006). Die klinischen Ansprechraten und der Wirkungseintritt der Präparate sind unterschiedlich. Man weiß noch nicht, warum bei manchen Patienten ein spezielles Präparat gut wirkt und bei anderen nicht. Außerdem fehlen noch Daten in der Langzeitanwendung, z.B. über die Entstehung von Tumoren (z.B. Lymphome). Aber es gibt bereits genügend Erfahrungen mit den Präparaten, um Biologics als gute Optionen für die Kurzzeittherapie, möglicherweise sogar für die Langzeittherapie, mit einem besseren Sicherheitsprofil, einer besseren Verträglichkeit und Annahme durch die Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität anzusehen (Sterry W *et al.*, 2004, Philipp S *et al.*, 2006). Einige Präparate sind inzwischen schon zur Behandlung der Psoriasis zugelassen (Tab.1.4.1).

Präparat	Zulassung seit	Indikation	Angriffspunkt
Infliximab	Oktober 2005 Oktober 2004	Psoriasis vulgaris Psoriasis-Arthritis	Chimärer mAK gegen TNF- $\alpha$
Etanercept	Oktober 2005 Dezember 2004	Psoriasis vulgaris Psoriasis-Arthritis	Fusionsprotein gegen TNF- $\alpha$ gerichtet
Efalizumab	Oktober 2004	Psoriasis vulgaris	Humaner mAK gegen CD11a (LFA1)
Adalimumab	2005	Psoriasis-Arthritis	Humaner mAK gegen TNF- $\alpha$

Tab. 1.4.1 Zugelassene Biologics zur Behandlung der Psoriasis in Deutschland (modifiziert nach Philipp S *et al.*, 2006). (mAK: monoklonaler Antikörper)

Ein Nachteil dieser großmolekularen Pharmaka besteht in der fehlenden suffizienten enteralen Resorption, so dass sie meist als Infusionen, subkutane oder intramuskuläre Injektionen verabreicht werden müssen. Außerdem besitzen sie ein besonderes Sensibilisierungspotenzial. Deshalb gibt es weitere Bestrebungen, kleinmolekulare Pharmaka zur Behandlung der Psoriasis zu entwickeln. Diese „small molecule drugs“ sind wesentlich einfacher und kostengünstiger herzustellen als die Biologics. Beispiele sind Chemokin-Rezeptor-Antagonisten wie BX 471 (CCR1-Antagonist) (Horuk R *et al.*, 2005) oder T487 (CXCR3-Antagonist) (Heise CE *et al.*, 2005; Friedrich M *et al.*, 2004).

### 1.4.1. Migrationshemmung

Die Hemmung der Migration der Immunzellen kann unter anderem durch die Blockade der Interaktion von Integrinen wie LFA-1 und VLA-4 mit ihren Liganden erreicht werden. Viele Antagonisten (Antikörper, Peptide und „small molecule drugs“) befinden sich in der Entwicklung (Yusuf-Makagiansar H *et al.*, 2002). Efalizumab, ein monoklonaler Antikörper gegen CD11a, eine Untereinheit von LFA-1, wird bereits zur Behandlung der Psoriasis eingesetzt. Auch das therapeutische Potenzial von Chemokin-Rezeptoren wird untersucht (Onuffer JJ *et al.*, 2002, Horuk R *et al.*, 2005). Von besonderem Interesse ist die Hemmung des initialen Schritts der Migration über Interaktion mit den Selektinen. Mindestens zehn Selektin-Inhibitoren befinden sich aktuell in der Entwicklung zur Behandlung der Psoriasis. Einer von ihnen ist der von uns verwendete Panselektin-Antagonist TBC1269Z (Bock D *et al.*, 2006).

### 1.4.2 Selektin-Inhibitoren

Verschiedene Klassen von Selektin-Inhibitoren wurden bisher entwickelt und getestet. Da alle Selektine sialyl-LewisX (sLex) erkennen, wandte man sich zunächst diesem Molekül zu. Monovalentes sLex selbst besitzt allerdings nur eine geringe Affinität zu den Selektinen, so dass es als Kandidat ausfiel. Man entwickelte daraufhin verschiedene auf Kohlenhydraten basierende Selektin-Inhibitoren des sialyl-LewisX-Typs, die in hohen Dosen alle Selektine hemmen (Kaila N *et al.*, 2002). Probleme machten dabei allerdings ihre geringe Affinität und unvorteilhafte Kinetik sowie die hohen Produktionskosten. Ein Beispiel ist Cylexin von Cytel. Die präklinischen Daten waren vielversprechend, aber in den klinischen Studien zeigte es sich aufgrund der kurzen Halbwertszeit und der schwachen Affinität ineffektiv (Ley K *et al.*, 2003, Schön MP *et al.*, 2002). Daneben entwickelte man monoklonale Antikörper gegen Selektine, z.B. einen humanen Anti-L-Selektin-Antikörper (BNP001) und einen monoklonalen Antikörper gegen E-Selektin (CDP850). Die präklinischen Daten von beiden ließen ein therapeutisches Potenzial vermuten. Anti-E-Selektin erwies sich dann allerdings in einer klinischen Studien zur Behandlung der Psoriasis als ineffektiv (Bhushan M *et al.*, 2002). Eine Studie mit Anti-L-Selektin (BNP001) bei Psoriasis wurde 2003 durchgeführt. Auch hier konnte keine signifikante Wirkung nachgewiesen werden (Hardtke M, 2005). Wahrscheinlich ist eine selektive Blockade von nur einem Selektin nicht ausreichend, um die Leukozytenrekrutierung zu unterbinden. Tatsächlich zeigte sich in Tierversuchen, dass eine Blockade von E- oder P-Selektin weniger wirksam ist, als eine Kombination von beiden (Is-

sekutz AC *et al.*, 2002). Eine rekombinante verkürzte Form eines PSGL-1-Immunglobulin-Fusionsproteins zeigte sich in vielen Modellen als effektiver Selektin-Inhibitor (hauptsächlich P- und L-Selektin), allerdings nicht in einer klinischen Studie mit Reperfusion nach Myokardinfarkt (Wang K *et al.*, 2002). Man beschäftigte sich auch mit den niedrigmolekularen Selektin-Inhibitoren, in denen die Zucker in sLex gegen andere Substanzen ausgetauscht wurden, mit dem Ziel, die Synthese zu vereinfachen sowie eine orale Verfügbarkeit und höhere Affinitäten zu erreichen (Slee D *et al.*, 2001). Efo-mycine M gehört zu einer neuen Familie von kleinen Molekülen, die die 3D-Struktur von sLex nachahmen. Es blockiert E- und P-Selektin und war in zwei Mausmodellen der chronischen Hautentzündung erfolgreich (Schön MP *et al.*, 2002). OC229648, ein nicht auf Kohlenhydraten basierendes Molekül, erwies sich zumindest *in vitro* und in einem Maus-Peritonitismodell als wirksam (Romano SJ *et al.*, 2001). Ein weiteres effektives Molekül dieser Gruppe ist das sLex-Mimetikum TBC1269Z, das wir in unserer klinischen Untersuchung verwendeten.

### 1.4.3 TBC1269Z

TBC1269Z oder Bimosiamose (1,6-bis[3-(3-carboxymethylphenyl)-4-(2- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]hexane) wurde von der Firma Texas Biotechnology Corporation (Texas, USA) durch so genanntes rationales Medikamentendesign entwickelt.

#### 1.4.3.1 Entwicklung

Kogan TP *et al.* entwickelten anhand der bekannten Struktur von E-Selektin und der Bindungsstelle zu sLex sowie den vermuteten wichtigsten Interaktionsstellen computerunterstützt eine Gruppe von Substanzen, die eine ähnliche Struktur wie die E-Selektin-Liganden-Bindungsstelle zeigten. Sie imitierten dabei sLex, ohne die ursprünglichen Monosaccharide des natürlichen Liganden zu verwenden. Mannose und Karboxylsäure wurden als Ersatz für die zur Bindung wichtige Fucose (Kalziumerkennungsstelle) und die Sialylsäure von sLex benutzt, sowie eine Biphenylringeinheit, um den Lactosaminmantel zu ersetzen (Kogan TP *et al.*, 1995 und 1998). Die Prüfung der biologischen Wirksamkeit zeigte, dass diese Substanzen, zumindest *in vitro*, an E-Selektin binden und so mit dem natürlichen Liganden sLex konkurrieren können. Der Vorteil dieser Glykomimetika gegenüber anderen Antagonisten, die auf Oligosacchariden basieren, sind höhere chemische Stabilität, längere Halbwertszeiten *in vivo*, mögliche orale Bioverfügbarkeit und einfachere chemische Synthese (Kogan TP *et al.*, 1995).

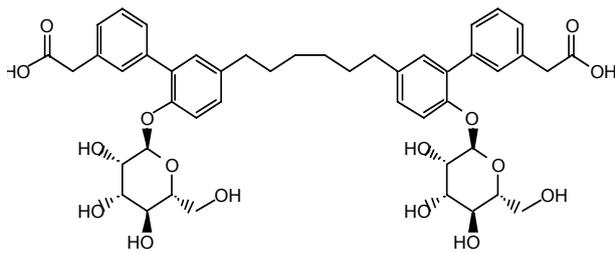


Abb. 1.4.3.1.1 Molekülstruktur von TBC1269Z.  
(Meyer M *et al.*, 2005)

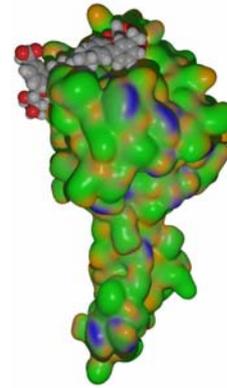


Abb. 1.4.3.1.2 Modell der  
TBC1269Z-Liganden-  
Bindungsstelle. (Aydt E, 2006)

Anschließend wurden Anstrengungen unternommen, um die Bindungsaffinität zu erhöhen. Dazu wurden Modifikationen eingebaut, z.B. weitere Mannose- und Carboxylsäuregruppen, die weitere Interaktionen mit dem Protein bereitstellen sollten. Dimere Substanzen, die mehrere Komponenten von einfachen Selektin-Antagonisten enthielten, zeigten sich dabei den monomeren Verbindungen überlegen. Am wirksamsten erwies sich TBC1269Z. In den Abb. 1.4.3.1.1 und 1.4.3.1.2 sind die Struktur von TBC1269Z und ein Modell der Bindungsstelle von TBC1269Z an P-Selektin dargestellt. In Untersuchungen mit sLex-tragenden HL60-Zellen, die an E-, P- und L-Selektin-Fusionsproteine binden, zeigte sich, dass TBC1269Z die Bindung an alle drei Selektine inhibieren kann, wenn auch besonders stark gegenüber P-Selektin. Es kann eine niedrig-energetische Konformation annehmen, in denen die zwei Mannosegruppen und eine der Carboxylgruppen sehr ähnlich gelagert sind wie die Fucose- bzw. Sialylsäuregruppe in sialydi-Lewis und somit diesen Liganden vortäuschen.

### 1.4.3.2 Eigenschaften von TBC1269Z

TBC1269Z kann als Dinatriumsalz in Lösung oder als Pulver aufbewahrt werden. Formulierungen zur intravenösen Gabe, zur subkutanen Gabe und zur Inhalation liegen vor. Die topische Anwendung befindet sich in der Entwicklung (Aydt E *et al.*, 2002, Friedrich M *et al.*, 2004). TBC1269Z und seine Salze sind nicht oral verfügbar. Es hat eine kurze Eliminationshalbwertszeit. In einer Phase-1-Untersuchung mit gesunden Probanden fand sich in einer i.v.-Dosisesskalationsstudie (0,5-30 mg/kg KG) bei der höchsten Dosis eine Eliminationshalbwertszeit von  $4,1 \pm 1$  Stunde (Meyer M *et al.*, 2005). Der Großteil der Substanz wird biliär über die Galle ausgeschieden und dann über die Fä-

zes, vornehmlich als Elternsubstanz (Meyer M *et al.*, 2005). TBC1269Z bindet potenter an E-, P- und L-Selektin als der natürliche Ligand sLex und kann mit natürlichen Liganden um die Bindung an P-Selektin konkurrieren (Kogan TP *et al.*, 1995 und 1998). Er wurde zunächst als Panselektin-Antagonist in verschiedenen präklinischen Modellen von entzündlichen Erkrankungen (z.B. Psoriasis und Asthma) angewandt (Onai Y *et al.*, 2003, Friedrich M *et al.*, 2006, Wollf G *et al.*, 2002). Für die Psoriasis wurden Modelle mit SCID-Mäusen verwendet. In einer Versuchsreihe wurde den SCID-Mäusen menschliche Haut aus psoriatischen Läsionen transplantiert. Anschließend injizierte man zweimal wöchentlich 200 mg/kg KG TBC1269Z oder PBS als Negativkontrolle über einen Zeitraum von 3 Wochen. Die Behandlung mit TBC1269Z führte zu einer Reduktion der epidermalen Dicke und des zellulären Infiltrats im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Auch in einem zweiten Maus-Psoriasis-Modell zeigte es sich wirksam. Nicht betroffene Haut von Psoriasis-Patienten wurde den SCID-Mäusen transplantiert und autologe Immunzellen injiziert. Normalerweise wird dadurch eine psoriasisforme Läsion ausgelöst. Behandelt man diese Immunzellen jedoch zuvor mit TBC1269Z (200µg/ml) und injiziert sie dann, ist der Schweregrad der Ausprägung dieser Läsionen (der mit einem semiquantitativen Psoriasis-score bestimmt wurde) reduziert (Friedrich M *et al.*, 2006).

## 2. Zielsetzung

Nach dem aktuellen Wissensstand spielt in der Pathogenese chronisch entzündlicher Erkrankungen wie der Psoriasis die unkontrollierte Einwanderung von Immunzellen in das Gewebe eine wichtige Rolle. Deshalb stellt die Hemmung der Leukozytenextravasation in die Haut einen innovativen und vielversprechenden Therapieansatz zur Behandlung der Psoriasis dar. Die Selektine sind eine Familie kalziumabhängiger Adhäsionsmoleküle, welche die Leukozytenextravasation über transiente adhäsive Kontakte der Leukozyten mit den Endothelzellen der Gefäße einleiten. TBC1269Z ist ein so genanntes „small-molecule-drug“, das die Bindungsstelle des Selektin-Liganden imitiert und deshalb an Selektine bindet. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass es kompetitiv die Bindung der Liganden an Selektine hemmt. Präklinische Psoriasismodelle lieferten Hinweise für die Wirksamkeit *in vivo*, und Untersuchungen an gesunden Probanden sowie Asthmapatienten zeigten eine gute Verträglichkeit. Wir waren dann die erste Arbeitsgruppe, welche die Gelegenheit hatte, diesen Pan-Selektin-Antagonisten bei Patienten mit Psoriasis einzusetzen. Im Rahmen einer so genannten „proof-of-concept“-Studie mit fünf Patienten wollten wir erste Nachweise der Wirksamkeit einer zweiwöchigen Behandlung mit TBC1269Z bei Psoriasis erbringen und die Sicherheit und Verträglichkeit überprüfen.

Meine Aufgaben bei dieser Studie und damit Ziele meiner Promotion waren:

- 1.0 Selbstständige Koordination der Studienabläufe.
- 2.0 Rekrutierung und Aufklärung der Patienten über das Ziel und den Aufbau der Studie, Wirkungsweise der Medikation, mögliche unerwünschte Wirkungen, Ablauf der Behandlung sowie Betreuung der Studienpatienten während der gesamten Studiendauer.
- 3.0 Applikation der Studienmedikation.
- 4.0 Durchführung der verschiedenen Wirksamkeitsuntersuchungen.
  - 4.1 Beurteilung der klinischen Wirksamkeit anhand der klinischen Parameter PASI (Psoriasis area and severity index) und PGA sowie Bewertung der Ausprägung der Psoriasis Symptome an der Injektionsstelle und einer entfernten Vergleichsläsion. Zusätzliche Dokumentation mittels Fotografie.
  - 4.2 Entnahme von Hautproben und histologische Bestimmung der Epidermis- und Papillendicke sowie fotografische Dokumentation.

- 5.0 Auswertungen der durch Revotar Biopharmaceuticals zur Verfügung gestellten Daten zur Pharmakokinetik, besonders im Hinblick auf die systemische Verfügbarkeit der Substanz TBC1269Z.
- 6.0 Durchführung folgender Sicherheitsuntersuchungen zur Beurteilung der Verträglichkeit der Substanz.
  - 6.1 Durchführung von regelmäßigen körperlichen Untersuchungen.
  - 6.2 Dokumentation unerwünschter Ereignisse.
  - 6.3 Beurteilung der Reaktionen an der Applikationsstelle.
  - 6.4 Beurteilung der Vitalzeichen.
  - 6.5 Mitbeurteilung der EKG-Untersuchungen.
  - 6.6 Entnahme entsprechender Proben und Auswertung von Blutbild, Leberwerten, Gerinnung, Nierenwerten, Stoffwechselprodukten sowie Enzymen wie LDH und Kreatinkinase.
  - 6.7 Durchführung der FACS-Analysen, um den Einfluss der Migrationshemmung auf die Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut zu charakterisieren.

Mit dieser Arbeit soll nicht nur zur Entwicklung eines innovativen Therapieansatzes zur Behandlung von Patienten mit Psoriasis beigetragen werden, sondern auch neue Erkenntnisse über einen wichtigen Schritt in der Entzündungskaskade generiert werden.

### **3. Material und Methoden**

Zahlreiche Patienten mit Psoriasis in unterschiedlicher klinischer Ausprägung werden seit Jahren an der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Charité, Universitätsmedizin Berlin, in Spezialsprechstunden und dem Psoriasis Studienzentrum betreut. Die Klinik ist ein Zentrum für die Behandlung und Erforschung der Psoriasis. Um erste Hinweise für die Wirksamkeit des Panselektin-Antagonisten TBC1269Z zur Therapie der Schuppenflechte zu finden, führten wir eine offene Pilotstudie durch. Erstmals auf der Welt wurden fünf erwachsene Patienten mit Psoriasis mit diesem Panselektin-Antagonisten behandelt.

#### **3.1 Patienten / Demographie**

Fünf Patienten, drei Männer und zwei Frauen, im Alter von 28-59 Jahren, mit mäßiger bis schwerer Psoriasis (PASI > 8) wurden in die Studie eingeschlossen. Keiner der Studienteilnehmer/innen wies eine chronische Begleiterkrankung auf, die eine medikamentöse Begleitmedikation notwendig machte. Eine Patientin nahm ein hormonelles Kontrazeptivum ein. Aus der Vorgeschichte waren weder maligne Erkrankungen noch chronische Infektionserkrankungen wie Hepatitis, HIV(Humanes Immundefizienz Virus)-Erkrankung oder Tuberkulose bekannt.

##### **3.1.1 Teilnahmebedingungen**

Um bei der Anwendung des Prüfmedikamentes das Risiko für die Gesundheit und das Wohlbefinden der Patienten zu minimieren und eine möglichst homogene Patientenpopulation zu erhalten, wurden folgende Ein-, Ausschluss- und Abbruchkriterien angewendet (Tab. 3.1.1.1- 3.1.1.3).

<b>Einschlusskriterien</b>
- Männliche oder weibliche Patienten kaukasischer Abstammung nach Vollendung des 18. Lebensjahres mit seit mindestens sechs Monaten bestehender mäßiger bis schwerer Psoriasis vulgaris (PASI > 8).
- Frauen im gebärfähigen Alter müssen sich damit einverstanden erklären zwei medizinisch akzeptierte Methoden der Empfängnisverhütung anzuwenden, vor Beginn der Studie muss eine Schwangerschaft ausgeschlossen werden.
- BMI $\geq$ 18 kg/m <sup>2</sup> ( BMI = Gewicht [kg] / Größe [cm <sup>2</sup> ] )
- Negativer HIV-, Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Test
- Unterschriebene und datierte Einwilligungserklärung des Patienten nach ausreichender Information mit genügend Zeit zur Entscheidungsfindung.

Tab.3.1.1.1 Einschlusskriterien

<b>Ausschlusskriterien</b>
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Systemische antipsoriatische Behandlung innerhalb der letzten vier Wochen (z.B. mit Methotrexat, Ciclosporin, Fumarsäure).
- Photo- bzw. Photochemotherapie innerhalb der letzten zwei Wochen.
- Antipsoriatische Therapie mit Salben oder Cremes außer Hautpflege mit Eucerin cum aqua innerhalb der letzten zwei Wochen.
- Bestehende oder in der Vorgeschichte verwendete Begleitmedikation, die die Studiendurchführung beeinflussen könnte.
- Schwere Infektionen (z.B. Hepatitis, Pneumonie, Pyelonephritis) innerhalb der letzten drei Monate, bestehende oder anamnestisch bekannte aktive Tuberkulose in der Vorgeschichte.
- Bestehende oder anamnestisch bekannte Erkrankungen, die der Studiendurchführung entgegenstehen (z.B. Malignome oder Kollagenosen).
- Kontraindikationen durch klinisch signifikante Auffälligkeiten bei der Voruntersuchung.
- Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb von drei Monaten vor Studienbeginn oder während der Studie.
- Blutspende oder vergleichbarer Blutverlust innerhalb der letzten drei Monate.
- Anamnestisch bekannte Alkohol- oder Drogenabhängigkeit in den letzten sechs Monaten vor Studienbeginn sowie ein positiver Urin-Drogentest bei der Voruntersuchung.
- Vorliegen oder Vorgeschichte irgendeiner medizinischen oder psychiatrischen Erkrankung, die einem erfolgreichen Studienabschluss entgegenstehen könnte.

Tab. 3.1.1.2 Ausschlusskriterien

<b>Abbruchkriterien</b>
- Ein Patient kann jederzeit ohne Angabe von Gründen die Teilnahme beenden.
- Die Studie kann durch den Prüfarzt vorzeitig beendet werden, falls durch die Studienteilnahme nicht tolerierbare unerwünschte Wirkungen auftreten oder Erkrankungen während der Studienteilnahme manifest werden, die die Sicherheit des Patienten gefährden bzw. die Studienteilnahme beeinträchtigen.
- Nichteinhaltung der Studienbedingungen durch den Patienten.

Tab. 3.1.1.3 Abbruchkriterien

Um eine Verfälschung der Studienergebnisse zu verhindern, wurden die Patienten zusätzlich gebeten, bestimmte diätetische Vorgaben einzuhalten (z.B. begrenzter Genuss von Alkohol, Koffein und Chinin) sowie sehr anstrengende körperliche Tätigkeit zu vermeiden.

### **3.2 TBC1269Z Behandlungsprotokoll**

Diese Phase-2-Studie wurde als offene Pilotstudie angelegt, in der alle fünf Patienten mit TBC1269Z behandelt wurden.

An den Tagen –14 bis –2 vor Studienbeginn wurde eine Voruntersuchung durchgeführt, in der die Studieneignung der Patienten festgestellt wurde. Nur Patienten, die alle Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten, wurden in die Studie eingeschlossen. Während des zweiwöchigen Behandlungszeitraumes (Tag 1-14) erhielten die Patienten tägliche Injektionen der Prüfmedikation. Während dieser Zeit wurden regelmäßig Untersuchungen zur Beurteilung der Sicherheit und Wirksamkeit der Behandlung durchgeführt. Der Behandlungsphase folgte eine ebenfalls zwei Wochen dauernde Nachbeobachtungsphase (Tag 15-28). Innerhalb des gesamten Studienzeitraumes erhielten die Patienten außer der Hautpflege mit Eucerinum cum aqua keine weitere Behandlung ihrer Schuppenflechte. Die Patienten wurden ausführlich über das Studienprotokoll aufgeklärt, erhielten ein Exemplar der Patienteninformation ausgehändigt und gaben nach ausreichender Bedenkzeit ihr schriftliches Einverständnis, bevor die ersten studienspezifischen Untersuchungen eingeleitet wurden. Die Studie wurde von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Charité der Humboldt-Universität zu Berlin, Campus Charité Mitte, begutachtet und genehmigt.

### **3.2.1 Organisatorischer Ablauf der Studie**

Die Studienteilnahme eines Patienten dauerte jeweils 4 Wochen, nicht gerechnet den Voruntersuchungstermin, der innerhalb von zwei Wochen vor Gabe der ersten Studienmedikation durchgeführt wurde. Während der Behandlungsphase wurden die Patienten an Tag 1 und Tag 14 der Studie tagesstationär betreut und hielten sich etwa sechs Stunden in der Klinik auf. An den Tagen 2-13 mussten sich die Patienten täglich zu einem etwa einstündigen Termin im Krankenhaus einfinden, an denen ihnen die Studienmedikation verabreicht wurde und die erforderlichen Sicherheitsuntersuchungen durchgeführt wurden. Nach drei und vier Wochen (Tag 21 und Tag 28) kamen die Patienten zu Nachuntersuchungen, die jeweils etwa eine Stunde in Anspruch genommen haben. Bei Teilnahme an der gesamten Studie waren insgesamt 17 Besuche der Patienten in der Klinik notwendig. Jeder Patient erhielt einen persönlichen Zeitplaner, in dem seine Termine aufgeführt waren. Bevor näher auf die einzelnen Untersuchungen und die Behandlung eingegangen wird, soll hier anhand eines Patienten exemplarisch ein Überblick über die einzelnen Studienabläufe gegeben werden (Tab. 3.2.1.1). Grau hinterlegt sind die Tage, an denen der Patient sechs Stunden im Krankenhaus bleiben musste (Tag 1 und Tag 14). An diesen Tagen wurden sowohl die Vitalzeichen mehrmals kontrolliert als auch Blut für die Pharmakokinetik zu mehreren Zeitpunkten entnommen.

Patient 001 Datum	30.12.- _____	07.1.- ___	08.1.- ___	09.1.- _____	10.1.- _____	11.1.- _____	12.1.- _____	13.1.- _____	14.1.- _____	15.1.- _____	16.1.- _____	17.1.- _____	18.1.- _____	19.1.- _____	20.1.- _____	27.1.- _____	04.2.- _____
Studientag	Scr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	21	28
Körperliche Untersuchung	x	x						x							x		x
Vitalzeichen	x	x						x							x		x
EKG	x	x						x							x		x
Blutanalyse	x	x	x		x			x			x				x		x
Pharmako- kinetik		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Immun- antwort		x						x							x		x
PASI+ PGA	x	x						x							x	x	x
Beurteilung der Zielläsion	x	x						x							x	x	x
Fotografie	x	x						x							x	x	x
Biopsie	x														x		x
Gabe der Studien- medikation		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Injektions- reaktion		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Infektions- fragebogen		x						x							x		x
Unerwünschte Wirkungen		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Begleit- medikation		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Tab. 3.2.1.1 Tabellarische Darstellung des Studienablaufs von Patient 001.

### 3.3 Klinische Untersuchungen

#### 3.3.1 Anamnese, körperliche Untersuchung, Vitalzeichen

Bei der Voruntersuchung wurden die Patienten ausführlich über ihre Krankenvorgeschichte befragt, derzeitige Beschwerden aufgenommen und eine körperliche Untersuchung durchgeführt, die u.a. den Herz-Kreislaufstatus, Perkussion und Auskultation der Lunge und des Abdomens, Lymphknotenstatus, Pupillenreaktion sowie eine Testung der Fremdreﬂexe umfasste. Diese Untersuchung wurde während der gesamten Studiendauer viermal wiederholt (Tag 1, 7, 14 und 28). Als Vitalzeichen wurden Blutdruck, Puls und Temperatur kontrolliert, besonders engmaschig an Tag 1 und Tag 14 (vor der Injektion, 2, 4 und 6 Stunden danach) und an Tag 7 (vorher und 1 Stunde danach). Bei allen Besuchen wurde nach unerwünschten Ereignissen oder zusätzlich verwendeten Medikamenten sowie an den Tagen 1, 7, 14 und 28 speziell nach Anzeichen für Infektionen gefragt. Während der Behandlung, an den Tagen 1-14 wurden die Injektionsstellen auf das Auftreten von Reaktionen wie z.B. Rötung, Schwellung, Juckreiz oder Hämatome untersucht. Alle auftretenden Reaktionen wurden beschrieben und als objektivierbares Maß der maximale Durchmesser (in cm) angegeben.

#### 3.3.2 Beurteilung der Effektivitätsparameter

Zur Beurteilung der Wirksamkeit der Therapie mit TBC1269Z wurden als Effektivitätsparameter der PASI sowie der PGA angewendet. Die Bestimmungen erfolgten bei der Voruntersuchung sowie an den Tagen 1, 7, 14, 21 und 28. Um interindividuelle Unterschiede zu vermeiden, wurden diese Untersuchungen alle von demselben Untersucher ausgeführt.

##### 3.3.2.1 PASI

Der PASI ist ein klinisches Maß zur Beurteilung des Schweregrades der Psoriasis. Er wurde 1978 von Fredriksson und Petterson etabliert (Fredriksson T *et al.*, 1978). Dazu wird der Körper in vier Regionen (Kopf, Arme, Rumpf und Beine) entsprechend einer Fläche von 10, 20, 30 und 40% der Körperoberfläche eingeteilt. Jedem dieser Körperabschnitte werden dann, je nach Ausdehnung der psoriatischen Läsionen, ein Flächenfaktor (A) sowie ein Schweregrad für Erythem, Induration und Desquamation auf einer 5-Punkte-Skala zugeordnet.

Die Berechnung des PASI erfolgt nach der in Tab.3.3.2.1.1 aufgeführten Formel. Die Graduierung ist in Schritten von 0,1 möglich und reicht von 0-72.

<b>PASI-Formular</b>	Kopf ( <b>k</b> )	Arme ( <b>a</b> )	Rumpf ( <b>r</b> )	Beine ( <b>b</b> )
Erythem ( <b>E</b> ) (5-Punkte-Skala)				
Induration ( <b>I</b> ) (5-Punkte-Skala)				
Desquamation ( <b>D</b> ) (5-Punkte-Skala)				
Summe ( <b>E+I+D</b> )				
mal Flächenfaktor <b>A (1-6)</b>				
mal Korrekturfaktor nach Körperabschnitt	0,1	0,2	0,3	0,4
Die Summe der Werte der einzelnen Körperregionen ergibt den PASI =				

<b>Flächenfaktor A:</b>	
< 10%	1
10- < 30%	2
30- < 50%	3
50- < 70%	4
70- < 90%	5
90- <100%	6

<b>5-Punkte-Skala:</b>	
keine Beteiligung	0
leicht	1
mäßig	2
stark	3
sehr stark	4

Tab. 3.3.2.1.1 Bewertungsschema für die PASI-Berechnung.

### 3.3.2.2 PGA

Der PGA ist ebenfalls ein Maß zur Einschätzung des Schweregrades der Psoriasis, bei dem eine Einteilung nach einer 7-Punkte-Skala erfolgt (Tab.3.3.2.2.1).

PGA	Schweregrad	nähere Beschreibung
1	schwerwiegend	sehr starke Erhabenheit der Plaque, Schuppung und/oder Rötung
2	mäßig bis schwerwiegend	starke Erhabenheit der Plaque, Schuppung und/oder Rötung
3	mäßig	mäßige Erhabenheit der Plaque, Schuppung und/oder Rötung
4	mild bis mäßig	zwischen Bewertungsscore 3 und 5
5	mild	leichte Erhabenheit der Plaque, Schuppung und/oder Rötung
6	fast erscheinungsfrei	zwischen Bewertungsscore 5 und 7
7	erscheinungsfrei	keine Psoriasiszeichen, allerdings können postentzündlich auftretende Hypo- oder Hyperpigmentierungen der Haut vorhanden sein

Tab. 3.3.2.2.1 Bewertungsschema für den PGA.

### 3.3.2.3 Ziel- und Vergleichsläsion

Für die Injektion der Studienmedikation wurde eine Zielläsion gewählt, die größer als 2cm<sup>2</sup> in der Fläche und möglichst an einem nicht lichtexponierten Körperteil, z.B. am Rumpf, gelegen sein sollte. Eine zweite, sowohl in Größe, Ausprägung der Psoriasis, als auch in der Lage ähnliche Läsion wurde zum Vergleich gewählt. Beide Läsionen wurden bei der Voruntersuchung festgelegt und einzeln an den Tagen 1, 7, 14, 21 und 28 von demselben Untersucher beurteilt. Zur Bewertung der Veränderung der ausgewählten Läsionen wurden folgende Parameter verwendet: Erstens die Größe (Messung des jeweils größten Durchmessers in der Länge und Breite, Angabe in cm.), zweitens die Ausprägung der Hautveränderungen der jeweiligen Läsion durch Beurteilung von Rötung, Induration und Desquamation (Tab.3.3.2.3.1).

Schweregrad der Parameter	nähere Beschreibung
0	Kein Anzeichen für Psoriasis, postentzündliche Hyper- oder Hypopigmentierung wird als Grad 0 gewertet
1	leichte Ausprägung
2	mäßige Ausprägung
3	schwere Ausprägung
4	Sehr schwere Ausprägung

Tab. 3.3.2.3.1 Bewertungsschema für die Ziel- und Vergleichsläsion (Parameter: Rötung, Induration und Desquamation). Die Angabe erfolgte dabei in Schritten von 0,5.

### 3.3.2.4 Fotografie

Um die Einschätzung des Schweregrades der Psoriasis zu objektivieren, wurden die Hauterscheinungen zusätzlich fotografisch dokumentiert. Dies erfolgte an Tag 1 vor der Behandlung, nach 7 und 14 Tagen der Behandlung und eine bzw. zwei Wochen nach Behandlung. Die Fotos wurden dabei mit einer Digitalkamera in jeweils dreifacher Ausfertigung aufgenommen und im JPEG(joint photographic expert group)-Bildformat gespeichert. Von der Ziel- und Vergleichsläsion wurden Nahaufnahmen angefertigt, außerdem wurden Übersichtsaufnahmen von Oberkörper und Beinen jeweils von vorne und von hinten gemacht. Die Gesichter wurden nicht fotografiert. Um möglichst identische Aufnahmen zu erhalten, trugen alle Patienten bereitgestellte blaue Slips und legten allen Schmuck ab.

### 3.3.3 EKG

Zur Überwachung der Herzfunktion wurde zu mehreren Zeitpunkten (Voruntersuchung, Tag 1, 7, 14, 28) ein 12-Kanal-EKG geschrieben. Es wurden die Parameter Herzfrequenz, PQ-, QRS- und QT-Zeit bestimmt. Zusätzlich wurde die QT-Zeit, korrigiert nach der Herzfrequenz, als QTc-Zeit angegeben. Die Berechnung erfolgte mittels der Formel nach Bazett ( $QTc = QT\text{-Intervall} / \sqrt{\text{RR-Intervall (in s)}}$ ). Die Beurteilungen wurden durch mich und durch eine internistische Fachärztin, Frau Dr. med. Radicke, 3Clinical Research, Berlin, durchgeführt.

### 3.3.4 Laborkontrollen

Für die Sicherheitskontrollen wurde Blut zur Untersuchung der Hämatologie, klinischen Chemie und Gerinnung abgenommen sowie eine Urinanalyse durchgeführt. Sie erfolgten bei der Voruntersuchung sowie an den Tagen 1, 2, 4, 7, 10, 14 und 28. Bei der Voruntersuchung wurde noch eine Serumprobe zur Bestimmung der HIV- und Hepatitisantikörper entnommen sowie zusätzlich bei Frauen für einen Schwangerschaftstest, der an Tag 14 wiederholt wurde. An Tag 1 und 7 wurde der Schwangerschaftstest mittels Urin durchgeführt. Alle Sicherheitsbestimmungen wurden vom Zentrallabor der Charité durchgeführt. Für alle Blutuntersuchungen wurden Stericankanülen (Braun, Melsungen, Deutschland) und Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) mit den entsprechenden Zusätzen wie z.B. EDTA oder Citrat verwendet. An Tag 1 und 14 wurde den Patienten aufgrund der mehrmaligen Blutentnahmen eine Venenverweilkanüle gelegt. Die bestimmten Parameter sind in Tab.3.3.4.1 aufgelistet.

Hämatologie (EDTA-Monovette 2,7 ml)	Erythrozyten, Leukozyten inklusive Differentialblutbild (neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten), Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC
Klinische Chemie (Lithium-Heparin-Monovette 9,0 ml)	Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Elektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium), Glucose, GOT, GPT, AP, $\alpha$ -GT, LDH, CK, Protein gesamt, Albumin, Bilirubin gesamt, Cholesterin, Triglyzeride
Gerinnung (Citrat-Monovette 3,0 ml)	Quick-Wert (Prothrombinzeit), aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit)
Serologie (Serum Gel-Monovette 7,5 ml)	HBsAG, HCV, HIV 1/2

Tab. 3.3.4.1 Durchgeführte Blutanalysen.

Für die Urinanalyse wurden Urin-Schnelltest-Streifen (Multistix 8SG) verwendet. Die Teststreifen wurden dazu kurz in den Urin getaucht und die Farben der Testfelder auf dem Teststreifen nach 60 Sekunden mit den entsprechenden Feldern auf der vorgegebenen Bestimmungstafel verglichen. Folgende Werte wurden bestimmt: pH-Wert, Leukozyten, Erythrozyten, Nitrit, Protein, Glucose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin. War ein Wert auffällig, so wurde ein Teil des Urins in eine Urin-Monovette (9,0 ml) gefüllt und zur Bestimmung des Urinstatus und Urinsediments an das Zentrallabor der Charité geschickt. Für den Schwangerschaftstest verwendeten wir den Testkit „Quick Vue HCG“. Nach Aufbringen des Urins konnte das Testergebnis nach 3 Minuten abgelesen werden.

### 3.3.5 Unerwünschte Ereignisse / Injektionsreaktionen

Alle Patienten wurden bei ihren Besuchen im Krankenhaus danach gefragt, ob unerwünschte Ereignisse aufgetreten sind. Als unerwünschtes Ereignis wird jedes als unangenehm empfundene oder unvermutet auftretende Symptom, Syndrom oder jede Erkrankung bezeichnet, die sich während der Studie entwickelte oder verschlechterte. Auch klinisch relevante pathologische Laborwerte, die z.B. eine nicht in der Studie vorhergesehene Diagnostik oder Behandlung notwendig machten, wurden als unerwünschte Ereignisse betrachtet. Die kausale Beziehung zur Studienmedikation oder der klinischen Studie selbst spielte bei der Bezeichnung als unerwünschtes Ereignis keine Rolle. Die Ereignisse wurden nach Ihrem Schweregrad eingeteilt in mild, mäßig und

schwer (Tab. 3.3.5.1). Der Kausalzusammenhang zur Studienteilnahme musste beurteilt werden. Er wurde eingestuft als wahrscheinlich, möglich, unwahrscheinlich oder nicht vorhanden.

<b>Schweregrad</b>	<b>Definition</b>
mild	unerwünschtes Ereignis beeinträchtigt das tägliche Leben nicht
mäßig	unerwünschtes Ereignis beeinflusst die Routinetätigkeiten
schwer	unerwünschtes Ereignis verhindert die Ausübung der üblichen Alltags-tätigkeiten

Tab. 3.3.5.1 Einteilung des Schweregrades eines unerwünschten Ereignisses.

### **3.3.5.1 Schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis**

Als schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis werden alle Ereignisse bezeichnet, die entweder tödlich enden, lebensbedrohend sind, eine chronische oder schwerwiegende Behinderung verursachen, einen Krankenhausaufenthalt erforderlich machen oder einen geplanten Aufenthalt verlängern, einen angeborenen Defekt nach sich ziehen sowie jedes medizinisch relevante Ereignis, das zwar nicht unmittelbar lebensbedrohend ist oder mit einem Krankenhausaufenthalt einhergeht, aber den Patienten stark beeinträchtigt oder eine Intervention erforderlich macht, um oben genannte Ereignisse zu verhindern.

### **3.3.5.2 Injektionsreaktionen**

Reaktionen an der Einstichstelle der TBC1269Z-Injektionen wurden an allen Besuchstagen der Patienten beurteilt. Wenn Reaktionen sichtbar waren, wurden sie beschrieben (z.B. Rötung, Hämatom), der Durchmesser (in cm) bestimmt sowie die Dauer der Reaktion dokumentiert.

## **3.4 Applikation der Medikation**

Jeder Patient erhielt während des Behandlungszeitraumes (Tag 1-14) täglich subkutane Injektionen mit insgesamt 600 mg TBC1269Z. Beginnend mit dem ersten Behandlungstag erfolgte die Gabe in einem 24-Stundenintervall, das nicht mehr als 2 Stunden über bzw. unterschritten werden sollte. Die tägliche Dosis von 6 ml TBC1269Z-Lösung wurde

in drei Einzelportionen von 2 ml aufgeteilt und subkutan injiziert (Sterican Kanülen Gr.18, Braun). Die Injektionen erfolgten jeweils in die bereits bei der Voruntersuchung festgelegte Zielläsion. TBC1269Z wurde uns freundlicherweise im Auftrag der Texas Biotechnology Corporation von Inveresk Research als sterile Lösung mit einer Konzentration von 100 mg/ml in 5 ml Ampullen zur Verfügung gestellt.

### **3.5 Hautbiopsien**

Hautbiopsien wurden vor Beginn der Therapie, nach 2 Wochen Therapie (Tag 14) und 2 Wochen nach Therapieende (Tag 28) jeweils aus der Zielläsion entnommen. Zur Lokalanästhesie wurde den Patienten 2-5 ml einer 1%igen Lidocainlösung injiziert. Danach wurde unter sterilen Bedingungen eine 5 mm große Stanzbiopsie entnommen. Der Wundverschluss erfolgte durch Naht mit nicht resorbierbarem Faden (Größe 3.0). Die Hautproben wurden unmittelbar nach Entnahme mittels Skalpell in zwei gleiche Teile geteilt, in Kryoröhrchen überführt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und danach bei -70°C bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt.

### **3.6 Histologie / Immunhistologie**

Von den Hautproben wurden mit Hilfe des Kryostaten bei -27°C 4 µm dünne Gefrierschnitte erstellt und auf Objektträger gezogen. Die Schnitte wurden bei Raumtemperatur 24 Stunden luftgetrocknet. Danach erfolgte eine Acetonfixierung (bei -20°C) für 10 Minuten. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Schnitte in der Tiefkühltruhe (-20°C) gelagert. Die immunhistologischen Färbungen wurden zur besseren Vergleichbarkeit am selben Tag durchgeführt. Nach einer weiteren Fixierung bei -20°C in Aceton für 10 Minuten und kurzer Trocknung wurden die Schnitte mit TBS (Tris gepufferte Saline) auf „Cover Plates“ aufgezogen. Die immunhistochemischen Untersuchungen wurden mittels der APAAP(Alkalische Phosphatase / Anti-Alkalische Phosphatase)-Methode durchgeführt. Am Ende erfolgte eine Gegenfärbung mit Mayers saurem Hämalaun für 60 Sekunden. Die Schnitte wurden dann mit Kaisers Glyceringelatine eingedeckt und bis zur Messung der Epidermisdicke bei Zimmertemperatur gelagert. Die Aufarbeitung der Proben (Anfertigung der Gefrierschnitte sowie APAAP-Färbung) wurde von Frau Nina Ludwig in unserem Labor durchgeführt.

#### **3.6.1 Fotodokumentation**

Zur Dokumentation der Veränderungen der histologischen Psoriasisparameter durch die Therapie mit TBC1269Z wurden digitale Fotos der gefärbten Gefrierschnitte mithilfe

eines Mikroskops (Olympus BX 60) in zwei verschiedenen Vergrößerungen aufgenommen. Die 40-fache Vergrößerung verwendeten wir für eine Übersichtsaufnahme von Epidermis und Dermis, die 100-fache Vergrößerung für eine Nahaufnahme der Epidermis.

### 3.6.2 Bestimmung der Epidermisdicke

Mithilfe eines Mikroskops (Olympus LH 40) mit Zählkammer erfolgte die Auswertung der Epidermisdicke bei 10-facher Vergrößerung. Ein Kästchen der Zählkammer entsprach dabei 0,1 mm. Sowohl die Epidermisdicke, als auch die Tiefe der Papillen wurde jeweils an drei bis fünf unterschiedlichen Orten gemessen (Abb. 3.6.2.1). Anschließend wurde der Mittelwert gebildet.

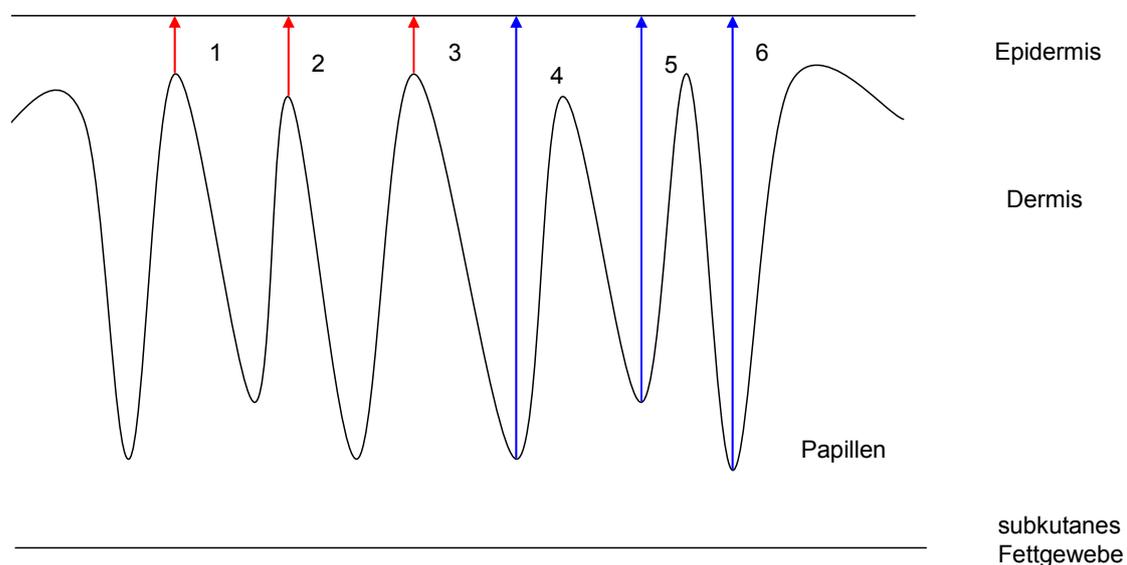


Abb. 3.6.2.1 Schematische Darstellung der Epidermisdicken- bzw. Papillennmessungen. Aus min. drei Werten wurde jeweils der Mittelwert gebildet (z.B. Werte 1, 2 und 3 (in mm) für die Epidermisdicke, Werte 4, 5 und 6 (in mm) für die Papillendicke).

## 3.7 Durchflusszytometrische Untersuchungen

### 3.7.1 Prinzip der Durchflusszytometrie

Zur Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen im Blut der Psoriasis-Patienten wurde die Durchflusszytometrie gewählt. Sie ermöglicht die Identifizierung von Zellen anhand simultaner Messung morphologischer Eigenschaften und der Expression von Antigenen nach spezifischer Immunfärbung auf Einzelzellebene. Die Zellen werden mithilfe einer Trägerflüssigkeit durch eine Kapillare gedrückt und durch die dabei erzeugte

laminare Strömung vereinzelt an einem Laserstrahl vorbeigeführt (Argonlaser, 488 nm). Die Ablenkung bzw. Streuung des Laserlichts durch die Passage der Zellen wird dabei von Fotodetektoren gemessen. Das Vorwärtsstreulicht (forward scatter, FSC), die Stärke der Lichtbeugung, die entlang der Achse des einfallenden Lichts gemessen wird, erlaubt Aussagen über die Größe der Zellen. Das Seitwärtsstreulicht (side scatter, SSC), das in einem 90 Grad Winkel zum einfallenden Licht gemessen wird, ist das Resultat von Lichtbrechung und Reflexion durch die inneren Strukturen der Zellen (Granularität). Zusätzlich dazu können die Zellen anhand der Fluoreszenzmarkierung identifiziert werden. Fluorochrome sind Moleküle, deren Elektronen durch die Lichtenergie des Lasers auf ein höheres Energieniveau steigen. Bei Rückkehr der Elektronen auf das ursprüngliche Niveau wird Energie frei, die in Form von Photonen geringerer Energie und damit größerer Wellenlänge abgegeben wird. Dieses mit bestimmter Wellenlänge emittierte Licht ist spezifisch für ein bestimmtes Fluorochrom. Diese Emission kann nach Umwandlung in elektrische Impulse von Sensoren gemessen und anschließend für die Computeranalyse digitalisiert werden. Die Intensität des emittierten Lichts korreliert dabei mit der Anzahl der an die Oberflächenmoleküle gebundenen fluoreszenzmarkierten Antikörper. Durch Verwendung verschiedener Fluoreszenzfarbstoffe, die unterschiedliche Emissionsmaxima zeigen (z.B. Fluoreszeinisothiocyanat (FITC) bei 525 nm, Phycoerythrin (PE) bei 578 nm, Phycoerythrin-Cyanin5 (PC5)/Peridin-Chlorophyll-a-Proteinkomplexe (PerCP) bei 680 nm), können durch Verwendung eines Filtersystems, das eine separate Auswertung der einzelnen Fluoreszenzen erlaubt, mehrere Signale gleichzeitig gemessen werden. Die Parameter der Ereignisse können einzeln im Histogramm oder gegeneinander im Zweiparameter-Punkthistogramm („Dot plot“) ausgewertet werden. Durch elektronische Eingrenzung („Gatung“) im „dot plot“ können Zellen mit bestimmten Parametereigenschaften getrennt analysiert werden, wodurch Aussagen über bestimmte Subpopulationen möglich sind. Es können beispielsweise in der „dot plot“-Darstellung Vorwärtsstreuung (Größe) gegen Seitwärtsstreuung (Granularität) die Populationen von Lymphozyten und Granulozyten eingegrenzt werden, um sie näher zu untersuchen.

### **3.7.2. Durchführung der Durchflusszytometrie**

An den Tagen 1, 7, 14 und 28 wurde den Patienten Blut in einem Natrium-Heparinröhrchen (9ml) entnommen und bis zur weiteren Verarbeitung bei Raumtemperatur aufbewahrt. Bei Patient 002 wurde aufgrund einer fehlenden Blutprobe an Tag 1

eine Blutentnahme an Tag 2 durchgeführt, nach bereits einmaliger Injektion der Medikation. Dieser Wert wurde dann als Ausgangswert benutzt, um die Veränderungen während der weiteren Therapie zu untersuchen. Zur Durchführung der Durchflusszytometrie wurde das Simultest IMK-Lymphocyte-Kit verwendet. Für die Messungen wurden jeweils 100 µl Vollblut des Patienten zu 20 µl des entsprechenden Antikörpergemischs pipettiert und zur Färbung im Dunkeln bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubiert. Nach Zugabe von 2 ml Lyselösung pro Röhrchen erfolgte nach guter Durchmischung mittels Minishaker eine weitere Inkubation für 10 Minuten. Nach Zentrifugation (300g, 5 Min. bei 20°C), Absaugen des Überstands und Resuspension in 2ml FACS-Puffer erfolgte eine Waschung durch erneute Zentrifugation bei 300g für 5 Minuten. Für die Messung wurden die Zellen nach Absaugen des Überstands in 0,5ml FACS-Puffer resuspendiert. Die Messungen selbst erfolgten im FACScan mit Hilfe der assoziierten Software Simulset. Für die Bestimmung der einzelnen Zellsubpopulationen (T-Zellen und B-Zellen gesamt, CD4+T-Zellen, CD8+T-Zellen und NK-zellen) wurden die in Tab. 3.7.1.1 aufgelisteten Antikörpergemische benutzt.

A	LeucoGATE (CD45 FITC/CD14 PE)
B	IgG1/IgG2a als Kontrolle
C	CD3-FITC/CD19 PE
D	CD3-FITC/CD4 PE
E	CD3-FITC/CD8 PE
F	CD3-FITC/CD16+CD56 PE

Tab. 3.7.2.1 Verwendete Antikörpergemische im Simultest IMK-Lymphocyte-Kit.

Lymphozyten wurden dabei als CD45+, CD14- Zellen identifiziert. T-Zellen wurden als CD3+, CD19- Zellen charakterisiert, CD4+ und CD8+ T-Zellen über die entsprechenden Oberflächenmarker bei CD3+ Zellen und NK-Zellen als CD3- aber CD16/CD56+ Zellen. B-Zellen wurden als CD3- und CD19+ Zellen identifiziert. Die Isotypkontroll-Antikörper (IgG1/k und IgG2a/k) dienten zur Kontrolle der unspezifischen Färbung.

Die Proben wurden nacheinander im FACScan gemessen. Die Berechnung der Absolutzahlen der Einzelpopulationen erfolgte mit der Simulset-Software (Lymphozytengesamtzahl absolut x Einzelpopulation in % / 100). Im Zentrallabor der Charité wurden die Leukozyten- und Lymphozytengesamtzahlen bestimmt.

### 3.8 Pharmakokinetik-Untersuchungen

Für die Pharmakokinetik-Untersuchungen wurde jeweils eine Lithium-Heparinmonovette entnommen. Dies wurde an allen Behandlungstagen vor der Injektion durchgeführt sowie an Tag 1 und Tag 14 zusätzlich 1, 2, 4 und 6 Stunden danach. Das Blut musste innerhalb von 5 Minuten nach der Abnahme für 10 Minuten bei 2500g, 4°C, zentrifugiert werden. Danach wurde das Plasma in zwei Sekundärgefäße überführt und bei -70°C tiefgefroren. Die Bestimmungen wurden bei Inveresk Research (Incorporating trials and CTBR, Tranent EH33, 2NE Schottland) durchgeführt. Der Transport der Proben erfolgte auf Trockeneis. Als pharmakokinetische Zielgröße wurden die Plasmaspiegel von TBC1269Z gemessen. Anhand der Messwerte wurden die maximale Plasmakonzentration und die Halbwertszeit von TBC1269Z bestimmt.

### 3.9 Datenverarbeitung und statistische Analyse

Zur Verarbeitung der Patientendaten und zum Erstellen von Tabellen, Diagrammen und Graphiken wurde das Tabellenkalkulations-Programm Microsoft Office Excel 2003 von Microsoft verwendet. Die Daten der Patienten sind zum Teil als Einzeldaten jedes Patienten, zum Teil als Mittelwerte dargestellt. Als Standardabweichung wurde die Standardabweichung (STABWN) bzw. bei den epidemiologischen Daten die Standardabweichung (STABW) aus dem Excel-Programm verwendet. Nur bei der Auswertung der FACS-Daten verwendeten wir den Standardfehler des Mittelwerts (standard error of mean = S.E.M.). Zur Berechnung der Signifikanzen wurde das Programm SPSS 12.0 angewendet. Wir benutzten sowohl den t-Test für gepaarte Proben als auch den Wilcoxon-Test für gepaarte Proben, da bei fünf Patienten weder sicher von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, noch diese sicher auszuschließen ist. Nur wenn beide Tests eine Signifikanz, d.h.  $p \leq 0,05$  aufzeigten, wurden die entsprechenden Veränderungen als signifikant gewertet. Bei anderem Vorgehen wurde dies gesondert vermerkt. Bei der Untersuchung der Ziel- und Vergleichsläsion wurde zusätzlich der Mann-Whitney-Test für nicht gepaarte Stichproben verwendet.

STABWN verwendet die folgende Formel: 
$$\sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}}$$

STABW verwendet die folgende Formel: 
$$\sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

S.E.M = Standardabweichung nach Division durch die Wurzel aus n

### 3.10 verwendete Geräte, Materialien, Chemikalien

Materialien	Hersteller / Bezugsort
<b>Medikation</b>	
TBC1269Z	Texas Biotechnology Corporation, Texas, Houston, USA über Inveresk Research, Stephen GP Williams, Tranent EH 33, 2 NE, Schottland
<b>Geräte</b>	
Zentrifuge JOUAN, MR 221 und A14	Saint-Herblain, France/Unterhaching, Dt.
12-Kanal-EKG-Gerät	Cardioline Delta 3 Plus, Remco, Italia <sup>SPA</sup> / Nihon Kohden Corp., Japan
Blutdruckmessgerät	Medka, Berlin
Tiefkühltruhe -70°C	Kendro, Hanau
Tiefkühltruhe -20°C (Premium)	Liebherr, Ochsenhausen
FACScan	Becton-Dickinson, Hamburg
Computersoftware (Apple) Simulset	Becton-Dickinson, Heidelberg
Mini-shaker 1200 U/min.	IKA, Werkstätte für Chemie und Foto, Berlin
Kryostat Jung Frigocut 2800N (-27°C, 4 µm dünne Gefrierschnitte)	Leica Instruments GmbH, Nussloch
Mikroskop (Epidermisdicke)	Olympus LH40, Hamburg
Mikroskop (Fotos Histologie)	Olympus BX 60, Hamburg
Schüttler	IKA, Werkstätte für Chemie und Foto, Berlin.
Zählkammer	Olympus, Hamburg
Digitalkamera Camedia C40 Zoom	Olympus, Hamburg
20µl und 100µl Pipette	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf-Pipette	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf-Handdispenser	Eppendorf, Hamburg

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	
Cover Plates	Thermo-Shandon, Frankfurt
Deckgläschen	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Super Frost Plus Objektträger	R. Gangenbrücke, Emmendingen
Kaisers Glyceringelatine	Merck, Darmstadt
Monovetten für Blut- und Urinanalysen	Sarstedt, Nümbrecht
Urin-Schnellteststreifen Multistix (8SG)	Combur <sup>3</sup> Test v. Roche, Mannheim
Schwangerschaftstest „Quick Vue HCG“	(Medka) Quidel Corporation, San Diego, USA
2 ml Spritzen	Braun, Melsungen
Braune Sterican-Kanülen (Gr. 18; 0,45x 25 mm)	Braun, Melsungen.
Gelbe Sterican-Kanülen (Gr. 20; 0,90x 40mm)	Braun, Melsungen
Lidocain-Lösung 1% (Xylocain)	Astra Zeneca GmbH, Wedel
5mm Biopsie-Stanze (Punch)	Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach
Faden 3-er (blau), nicht resorbierbar	Resolon monofil blau, Nürnberg
Kryoröhrchen 1,5 ml	Nunc GmbH, Wiesbaden
Falconröhrchen 5 ml (polystyrene round bottom tube)	Becton Dickinson, Heidelberg
Pipettenspitzen 100µl gelb	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf RITIPS 12,5 ml Dispensertips	Eppendorf, Hamburg
<b>Reagenzien</b>	
FACS-Puffer	PBS w/o Ca/Mg, FBS 2%, NaN <sub>2</sub> 0,1%
FACSRINSE Spüllösung	Becton-Dickinson, Erembodegem-Aalst, Belgien
PBS (w/o Ca+Mg)	PAA Laboratories, Pasching, Österreich
FBS	Biochrom, Berlin

Tab. 3.10.1 Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien

<b>SIMULTEST IMK-Lymphocyte- kit</b>		<b>Becton-Dickinson, Heidelberg</b>	
Reagenz	AK	Klon	Markierung
Reagenz A/ Leuco-GATE	CD45 CD14	2D1 M0/P9	FITC PE
Reagenz B Kontrolle	IgG1 IgG2a	X40 X39	FITC PE
Reagenz C	CD3 CD19	SK7 4G7	FITC PE
Reagenz D	CD3 CD4	SK7 SK3	FITC PE
Reagenz E	CD3 CD8	SK7 SK1	FITC PE
Reagenz F	CD3 CD16	SK7 B73.1	FITC PE
Reagenz G Lysing solution			

Tab. 3.10.2 Verwendete Antikörper und Markierungen der FACS-Messung

**Zentrallaboratorium**

Zentrallabor der Charité, Universitätsmedizin Berlin

Leiter: PD Dr. med. Dr. rer. nat. Pranav Sinha

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Demographie

Fünf Patienten, drei Männer und zwei Frauen, wurden in die Studie eingeschlossen. Sie waren zwischen 28 und 59 Jahre alt und hatten seit min. 6 Monaten eine bekannte chronische Plaque-Psoriasis. Der PASI-Score zu Studienbeginn lag zwischen 10 und 14,5. Dies entspricht einer mittelschweren Form der Psoriasis. Alle Patienten erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien, haben die Studienmedikation zwei Wochen lang erhalten und die Studie regelrecht beendet. Die demographischen Daten sind in Tab. 4.1.1 aufgelistet.

n=5	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	PASI-Score vor Therapiebeginn (Screening)
Mittelwert (+/- SD)	40,0 ± 11,8	174,8 ± 9,9	96,8 ± 15,1	31,8 ± 5,3	12,78 ± 1,9
Spannweite (Min. –Max.)	28 - 59	164 - 189	79,6 - 110,0	25,6 - 39,4	10 - 14,5

Tab. 4.1.1 Demographische Daten der Patienten, die sich einer Behandlung mit TBC1269Z unterzogen, n=5, drei Männer, zwei Frauen

### 4.2 Klinische Effekte durch die TBC1269Z-Therapie

#### 4.2.1 PASI

Als Hauptkriterium zur Beurteilung der klinischen Wirksamkeit von TBC1269Z wurde der PASI-Score verwendet. Alle fünf Patienten profitierten von der Therapie und wiesen nach 14 Tagen Behandlung eine signifikante Besserung des Hautbefundes auf. Zu Beginn der Therapie (Tag 1 direkt vor Behandlung) lagen die mittleren PASI-Werte bei  $12,76 \pm 1,9$ , nach 14 Tagen bei  $9,56 \pm 2,1$  (t-Test  $p=0,022$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ ). In Abbildung 4.2.1.1 sind die Einzelwerte der PASI-Scores von allen Patienten dargestellt. Zur besseren Veranschaulichung wählte ich noch eine weitere Abbildung (Abb. 4.2.1.2), in der die Verbesserung des PASI-Wertes in Abhängigkeit des PASI-Scores an Tag 1 dargestellt wird. Im Vergleich zum Ausgangswert zeigte sich nach einer Woche eine Besserung des PASI-Wertes um 13,54% und nach zwei Wochen um 24,59%. Schon nach 7 Tagen fand sich bei drei Patienten eine ca. 10% Verbesserung des Hautbefun-

des (Pat. 001 um 14,81%, Pat. 003 um 10,56%, Pat. 005 um 7,69%), ein vierter wies sogar eine Befundbesserung um 32,64% auf. Nur bei einem Patienten blieben die Läsionen fast unverändert. Nach 14 Tagen war bei drei Patienten eine 30-40%ige Besserung nachweisbar (Pat. 005 um 38,46%, Pat.001 um 37,78% und Pat. 002 um 29,17%), während 2 Patienten nur eine 10% Änderung des PASI aufwiesen (Pat. 003 um 10,56%, Pat. 004 um 7%).

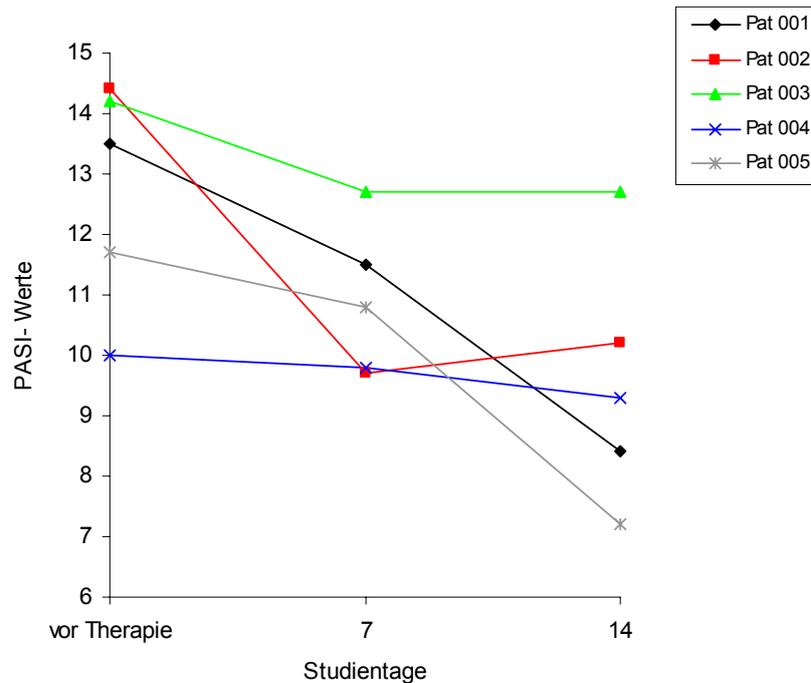


Abb. 4.2.1.1 PASI-Einzelwerte aller Patienten an Tag 1 (vor Therapie), an Tag 7 und Tag 14 der Behandlung.

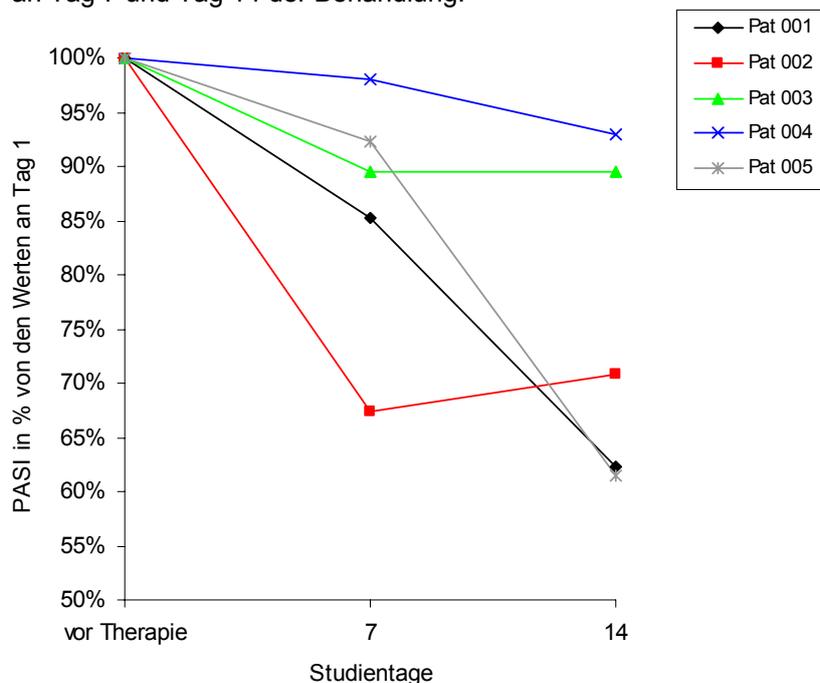


Abb. 4.2.1.2 Veränderung der PASI-Werte unter Behandlung mit TBC1269Z in % des Wertes an Tag 1 (vor Therapie).

Betrachtet man die einzelnen Parameter des PASI (Abb. 4.2.1.3 a-d), zeigt sich, dass sich vor allem das Erythem, die Induration und die Schuppung gebessert haben, während sich jedoch die Fläche der betroffenen Hautareale kaum veränderte. Allerdings waren die Veränderungen der beurteilten Parameter in den einzelnen Körperabschnitten wie Kopf, Arme, Rumpf und Beine, mit Ausnahme der Abnahme der Schuppung an den Armen (Tag1-Tag7: t-Test  $p=0,016$  bzw. Wilcoxon-Test  $p=0,046$ ), nicht signifikant.

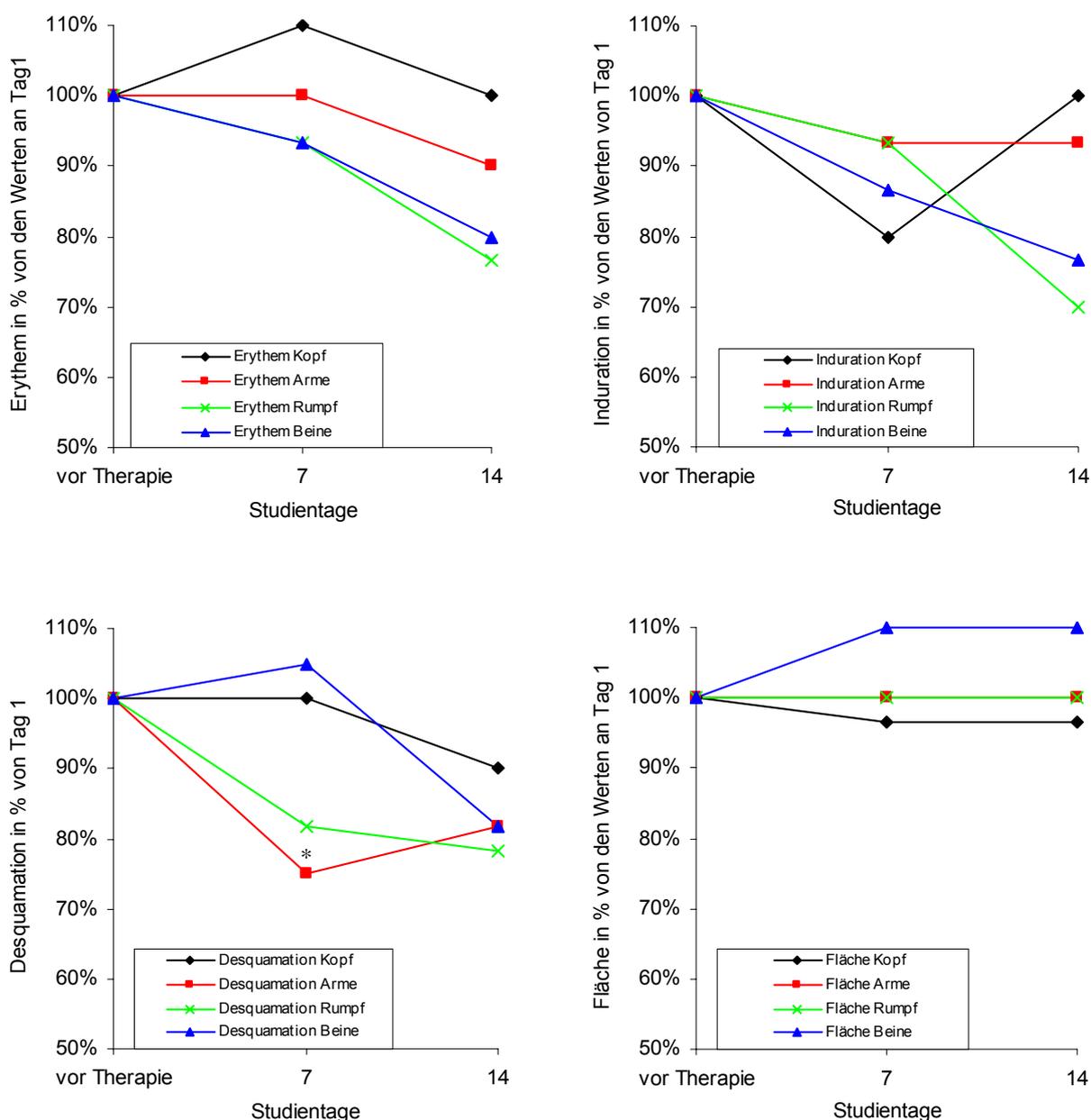


Abb. 4.2.1.3 a-d Einzelne Parameter des PASI (Mittelwerte) bezogen auf die verschiedenen Körperregionen, angegeben in % des Wertes an Tag 1 (vor Therapie). Zur besseren Übersicht wurde die Standardabweichung (SD) hier nicht dargestellt. a) Erythem b) Induration c) Desquamation d) Fläche (\* bedeutet t-Test und Wilcoxon-Test  $p<0,05$ )

Nach Absetzen der Behandlung kam es bei drei von fünf Patienten zu einer erneuten Verschlechterung des PASI-Wertes (Abb.4.2.1.4). Bei zwei Patienten stieg der PASI-Wert langsam wieder zum Ausgangswert an, ein Patient zeigte einen Rebound, d.h. eine Erhöhung des PASI-Wertes über den Ausgangswert bei Therapiebeginn. Bei den anderen beiden Patienten blieb die zuvor erlangte Besserung des Hautbefundes während des Nachbeobachtungszeitraumes konstant. Die mittlere PASI-Erhöhung von  $9,56 \pm 2,1$  auf  $12,58 \pm 4,84$  war nicht signifikant (t-Test:  $p=0,166$ , Wilcoxon-Test  $0,068$ ).

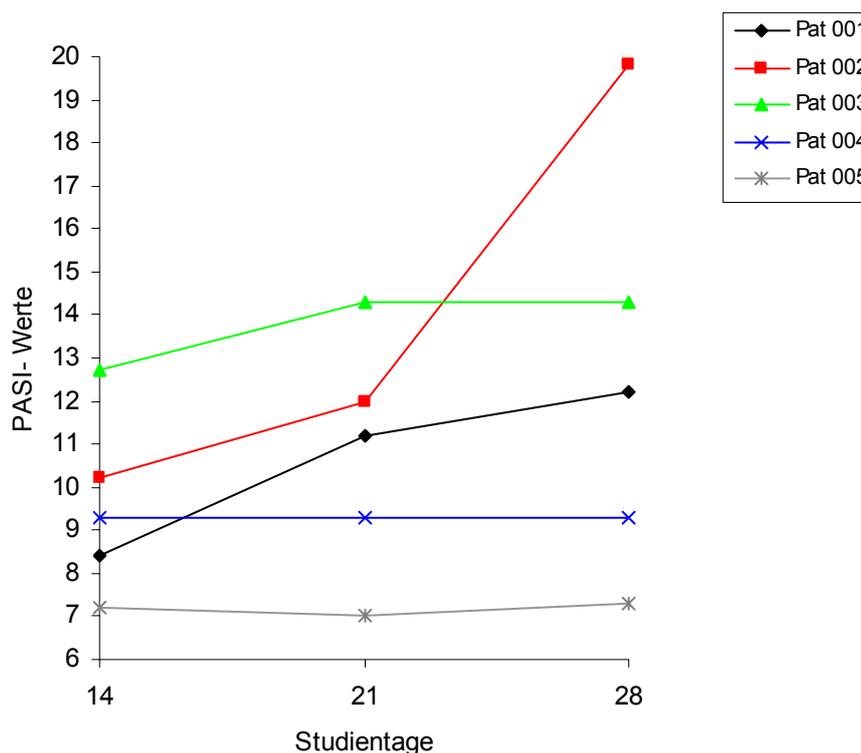


Abb. 4.2.1.4 PASI-Einzelwerte der Patienten während der zweiwöchigen Nachbeobachtungsphase.

#### 4.2.2 PGA (Physician global assessment)

Innerhalb der zwei Wochen Behandlung zeigte sich keine Besserung des PGA, die Bewertung blieb bei mäßigem Befall (PGA=3), d.h. mäßiger Rötung, Schuppung und Infiltration.

### 4.2.3 Ziel- und Vergleichsläsion

Zur Untersuchung der lokalen Wirksamkeit von TBC1269Z wurden die Parameter Rötung, Induration, Schuppung und Größe der Zielläsionen, in die die Injektionen erfolgten, mit denen der Vergleichsläsionen an anderen Lokalisationen des Körpers verglichen. Beide Läsionen zeigten klinisch eine Verbesserung der Psoriasis Symptome wie Rötung, Induration oder Schuppung. Eine Signifikanz ließ sich für die Abnahme der Schuppung der Zielläsion nachweisen (Tag 1-7: t-Test  $p=0,016$ ; Wilcoxon-Test:  $p=0,046$ ; Tag 1-14: t-Test  $p=0,034$ ; Wilcoxon-Test nicht signifikant,  $p=0,59$ ). Zwischen Injektionsort und Vergleichsläsion fanden sich keine signifikanten Unterschiede (Mann-Whitney-Test und t-Test für ungepaarte Stichproben  $p>0,05$ ). Zu beachten ist auch, dass sich zwar die Symptome der Psoriasis-Ausprägung besserten, die Größe der Läsionen sich aber kaum veränderte. Einen Überblick der Ergebnisse gibt Abb. 4.2.3.1.

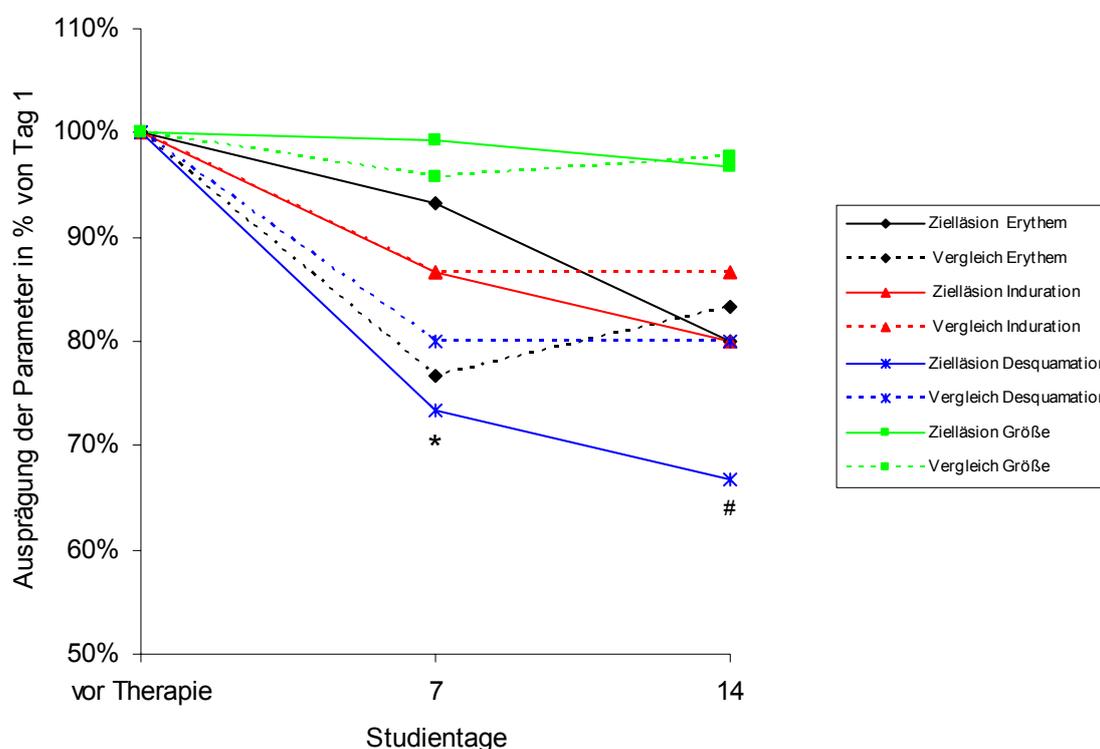


Abb. 4.2.3.1 Einzelne Parameter (Erythem, Induration, Desquamation und Fläche) der Ziel- und Vergleichsläsionen (Mittelwerte), angegeben in % des Wertes an Tag 1 (vor Therapie). Zur besseren Übersicht wurde die Standardabweichung (SD) hier nicht dargestellt. (\* bedeutet t-Test und Wilcoxon-Test  $p<0,05$ , # bedeutet nur t-Test  $p<0,05$ )

#### **4.2.4 Fotodokumentation**

Um die klinische Effektivität objektiv, unabhängig von der Beurteilung des Prüfarztes, dokumentieren zu können, wurden sowohl Übersichtsaufnahmen des Körpers als auch Fotos von der Ziel- und Vergleichsläsion gemacht. Im Folgenden werden exemplarisch Fotos von zwei Patienten gezeigt (Fotos 4.2.4.1-6).

Von Pat. 005 ist die Zielläsion dargestellt. Man kann auf den Bildern von Tag 1 und 14 erkennen, dass sich die Rötung, Induration und Schuppung gebessert haben, während die Fläche der betroffenen Hautläsion nahezu unverändert geblieben ist (Fotos 4.2.4.1 und 4.2.4.2). Der Hautbefund bleibt stabil bis Tag 28 (Fotos 4.2.4.3 und 4.2.4.4). Die Fotos von Pat. 004 zeigen die Vergleichsläsion vor und nach Behandlung. Auch hier zeigt sich ein Rückgang der Schuppung, der Induration und der Rötung (Fotos 4.2.4.5-6).



Foto 4.2.4.1 Zielläsion von Patient 005 an Tag 1



Foto 4.2.4.2 Zielläsion von Patient 005 an Tag 14



Foto 4.2.4.3 Zielläsion von Patient 005 an Tag 21



Foto 4.2.4.4. Zielläsion von Patient 005 an Tag 28



Foto 4.2.4.5 Vergleichsläsion von Patient 004 an Tag 1



Foto 4.2.4.6 Vergleichsläsion von Patient 004 an Tag 14

### 4.3 Histologische Untersuchungen

Vor der Behandlung an Tag 1, nach 14 Tagen Therapie mit TBC1269Z und optional zwei Wochen nach Therapieende wurden Hautbiopsien für die histologische Untersuchung entnommen.

#### 4.3.1 Epidermisdicke

Bei vier von fünf Patienten konnten wir einen Rückgang der Epidermisdicke feststellen, bei einem Patienten blieb sie unverändert (Abb. 4.3.1.1). Im Mittel fanden wir eine Abnahme der Dicke von  $156 \pm 42 \mu\text{m}$  auf  $120 \pm 43 \mu\text{m}$ , also um  $36 \pm 30 \mu\text{m}$ , maximal um  $80 \mu\text{m}$ . Die Abnahme war nicht signifikant (t-Test  $p = 0,075$ , Wilcoxon-Test  $p = 0,068$ ).

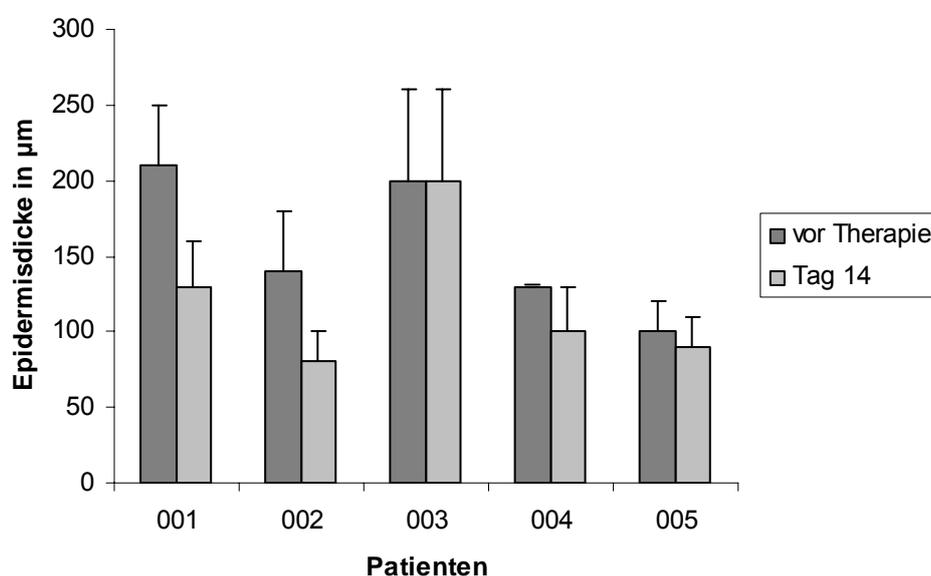


Abb. 4.3.1.1 Werte der Epidermisdicke an Tag 1 (vor Therapie) und Tag 14, angegeben als Mittelwerte (in  $\mu\text{m}$ ) nach min. dreifacher Messung + Standardabweichung (SD).

### 4.3.2 Papillendicke

Bei vier von fünf Patienten zeigte sich ein Rückgang der Papillendicke unter Therapie (Tab. 4.3.2.1), bei einem erhöhte sich die Papillendicke. Im Mittel nahm die Papillendicke um  $54,0 \pm 63,4 \mu\text{m}$  ab. Diese Abnahme war nicht signifikant (t-Test  $p=0,164$ , Wilcoxon-Test  $p=0,138$ ).

Patienten	Papillendicke an Tag 1 (in $\mu\text{m}$ )	Papillendicke an Tag14 (in $\mu\text{m}$ )
001	630±70	610±20
002	430±40	300±00
003	780±40	710±70
004	650±50	550±260
005	230±20	280±20
MW±SD	544±192,8	488±171,2

Tab. 4.3.2.1 Werte der Papillendicke an Tag 1 (vor Therapie) und Tag 14 als Mittelwerte (in  $\mu\text{m}$ ) nach min. dreifacher Messung + Standardabweichung (SD). Zusätzlich Angabe des Mittelwerts aller Patienten mit Standardabweichung (SD).

### 4.3.3 Fotodokumentation der histologischen Untersuchungen

Zur Dokumentation der Veränderungen der histologischen Psoriasis-Parameter durch die Therapie mit TBC1269Z wurden Fotos der gefärbten Gefrierschnitte angefertigt.

Wir möchten anhand der Fotos eines Patienten den sichtbaren Rückgang der psoriatischen histologischen Parameter verdeutlichen (Fotos 4.3.3.1-4). Man kann die Abnahme der Epidermisdicke erkennen, die beginnende Rückbildung der aufgetriebenen Papillen, die Verkürzung der ausgezogenen Reteleisten sowie einen Rückgang der Hyperkeratose. Des Weiteren sind die geschlängelten Kapillaren in der Dermis an Tag 14 weniger prominent, und das dermale entzündliche Infiltrat ist geringer ausgeprägt als an Tag 1.

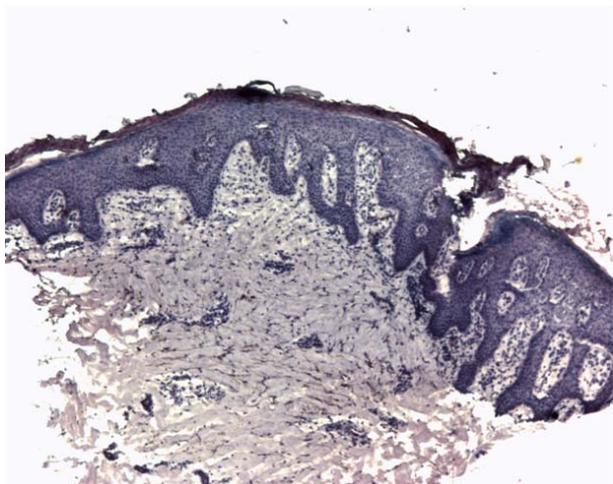


Foto 4.3.3.1 Mikroskopische Aufnahme von Pat. 002  
Tag 1, 40-fach

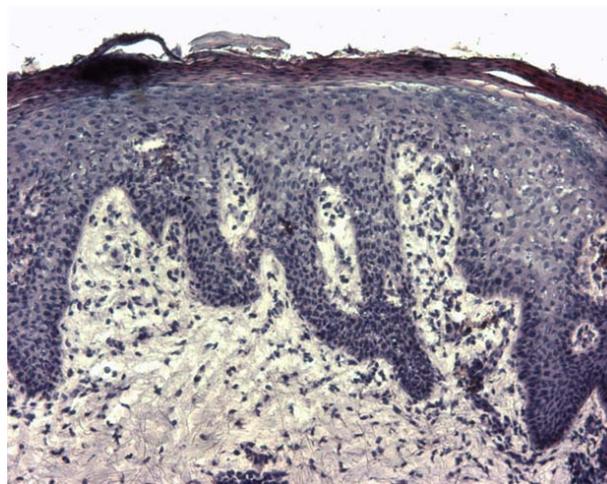


Foto 4.3.3.2 Mikroskopische Aufnahme von Pat. 002  
Tag 1, 100-fach

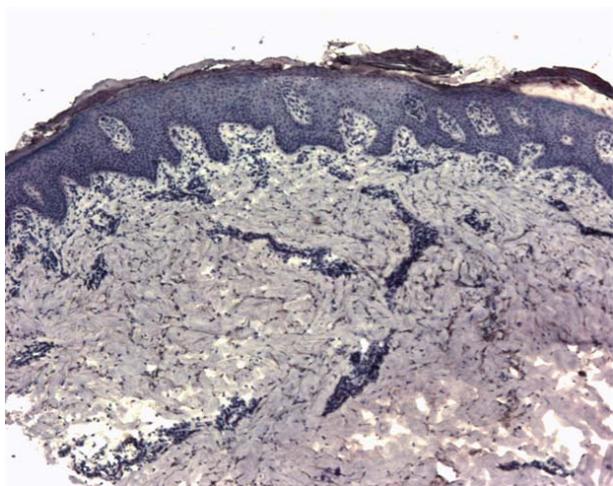


Foto 4.3.3.3 Mikroskopische Aufnahme von Pat. 002  
Tag 14, 40-fach

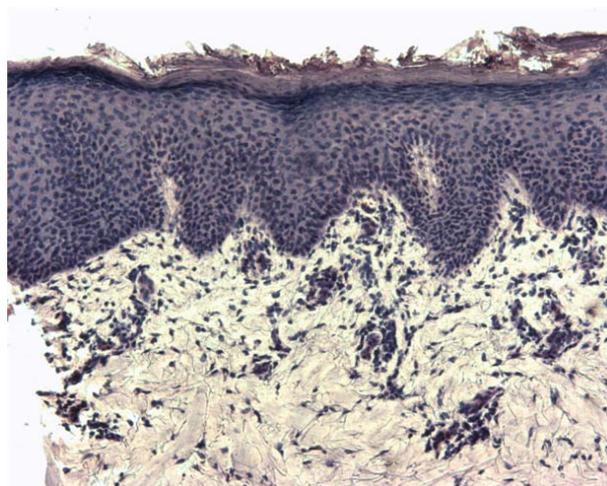


Foto 4.3.3.4 Mikroskopische Aufnahme von Pat. 002  
Tag 14, 100-fach

#### 4.4 Systemische Verfügbarkeit von TBC1269Z

Bei allen fünf Patienten, außer Patient 002 an den Tagen 3-6, waren an den Behandlungstagen messbare Plasmaspiegel zu verzeichnen. Dies zeigt die systemische Verteilung von TBC1269Z bei subkutaner Gabe. In Abb. 4.4.1 sind die täglich gemessenen Plasmaspiegel, die jeweils vor der Gabe von TBC1269Z abgenommen wurden, für alle fünf Patienten dargestellt.

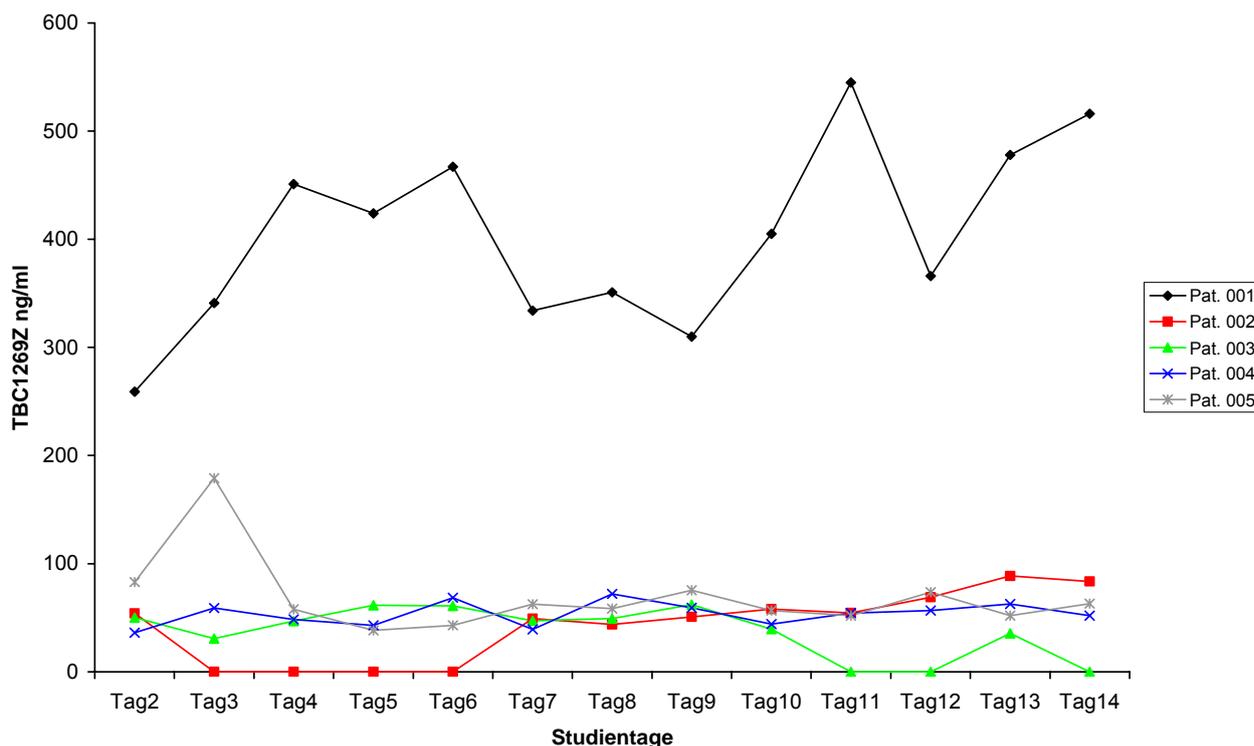


Abb. 4.4.1 Plasmakonzentrationen von TBC1269Z vor der Injektion an Tag 2-14, Angabe in ng/ml (Werte=0: nicht messbare Werte; die untere Nachweisgrenze lag bei 29,91 ng/ml).

Die fast gleich bleibenden Werte an den Tagen 2-14 sprechen für das Erreichen des Fließgleichgewichts nach 24 Stunden. Da die Höhe der Plasmaspiegel der einzelnen Patienten unterschiedlich war (Abb. 4.4.1), untersuchten wir, ob es einen Zusammenhang zwischen der Höhe des erreichten Plasmaspiegels und der Effektivität von TBC1269Z gibt. Zwischen der Höhe der erreichten Plasmaspiegel und der Verbesserung des PASI-Scores ließ sich allerdings keine positive Korrelation herstellen. Die gemessenen Plasmakonzentrationen der Patienten an Tag 1 und Tag 14, bei denen die Plasmaspiegel vor der Medikationsgabe und zusätzlich 1, 2, 4 und 6 Stunden nach TBC1269Z-Gabe erfolgten, sind in Tabelle 4.4.1 aufgeführt.

Tag	Zeitpunkt	Pat. 001	Pat. 002	Pat. 003	Pat. 004	Pat. 005
1	vor der Gabe	NM	NM	NM	NM	NM
1	1 Stunde	1540	2060	1130	2270	2360
1	2 Stunden	953	2420	1150	1780	2330
1	4 Stunden	1420	2050	1190	1660	1360
1	6 Stunden	1200	1690	953	1450	1070
14	vor der Gabe	516	83,5	NM	51,9	63,1
14	1 Stunde	2700	5100	1270	5430	3730
14	2 Stunden	2330	5400	1300	5720	3580
14	4 Stunden	2390	4650	1080	3190	2320
14	6 Stunden	1720	4630	719	2280	2550

Tab. 4.4.1 Gemessene Plasmakonzentrationen von TBC1269Z an Tag 1 und an Tag 14 in ng/ml (NM= nicht messbare Werte; die untere Nachweisgrenze lag bei 29,91 ng/ml).

Die höchsten Plasmaspiegel wurden 1 bis 4 Stunden nach der Injektion erreicht. Nach 6 Stunden an Tag 1 waren sie im Mittel um 35%, an Tag 14 um 37% gesunken. Vergleicht man die mittlere maximale Plasmakonzentration 1 Stunde nach Injektion von TBC1269Z bei der Erstgabe an Tag 1 mit der letzten Gabe an Tag 14, fällt ein leichter Anstieg der maximalen Plasmakonzentration von 1956 ng/ml auf 3770 ng/ml auf. Die mittlere Halbwertszeit von TBC1269Z stieg von  $4,9 \pm 1,9$  Stunden an Tag 1 auf  $8,4 \pm 5,8$  Stunden an Tag 14.

## 4.5 Verträglichkeit der TBC1269Z-Therapie

### 4.5.1 Unerwünschte Ereignisse, Infektionen, Reaktionen an der Injektionsstelle

Die Behandlung mit subkutanen Injektionen von TBC1269Z über zwei Wochen zeigte eine sehr gute Verträglichkeit. Während des gesamten Behandlungszeitraumes und der Nachbeobachtung kam es zu keinem schwerwiegenden unerwünschten Ereignis. Reaktionen an der Einstichstelle der Injektion in Form eines Erythems bzw. eines Hämatoms zeigten sich bei zwei Patienten (Pat. 002 und 003), allerdings bei beiden nur einmalig und von kurzer Dauer (max. 4 Tage). Sie bildeten sich trotz weiterer Therapie vollständig zurück. Leichte Infektionen sind während der gesamten Studiendauer bei zwei Pati-

enten aufgetreten. Pat. 003 zeigte eine Woche nach der Entnahme der Hautprobe eine Infektion der Biopsiestelle (Tag 7-11 der TBC1269Z-Therapie), die unter lokaler Therapie mit Gentamycin abheilte. Weiterhin entwickelte er unter Therapie eine Otitis externa (Tag 5-13), die mit Ohrentropfen (Dexamethason 0.2, Cinchocain 5.0, Butandiol) erfolgreich behandelt wurde. Pat. 004 wies zwei Wochen nach Ende der Behandlung mit TBC1269Z eine milde Otitis media auf. Eine lokale Behandlung mit Ohrentropfen (Antibiotikum) über 7 Tage führte zur vollständigen Abheilung. Aus der Vorgeschichte ist bekannt, dass die Patientin bereits 4 Wochen vor Studienbeginn eine Mittelohrentzündung durchgemacht hatte. Ansonsten äußerte Pat. 001 einmalig leichte Kopfschmerzen und einen schwachen Muskelkrampf im rechten Unterschenkel, an dem sich die Zielläsion befand. Und Pat. 005 hatte am Ende der Nachbeobachtungsphase eine unklare Erhöhung der Kreatinkinase (CK), die sich schnell normalisierte. Bei der letzten Kontrolle war die CK wieder auf 29 U/l abgesunken (Tab.4.5.1.1).

Unerwünschte Ereignisse		
Allgemein	Infektionen	Reaktionen an der Injektionsstelle
leichte Kopfschmerzen (Pat. 001)	Otitis externa (Pat. 003)	Erythem des Injektionsortes (Pat. 002 und 003)
Muskelkrampf (Pat. 001)	Infektion der Biopsiestelle (Pat. 003)	Hämatom an der Injektionsstelle (Pat. 002)
CK- Erhöhung (Pat. 005)	Otitis media (Pat. 004)	

Tab. 4.5.1.1 Überblick über die unerwünschten Ereignisse, die während der Studiendauer auftraten. Alle bildeten sich komplikationslos und vollständig zurück.

#### **4.5.2 Auswirkungen auf Vitalzeichen**

Die Behandlung mit TBC1269Z zeigte keinen signifikanten Einfluss auf Blutdruck oder Herzfrequenz. Die Verläufe der Vitalzeichen sind exemplarisch für den ersten Studientag und im Überblick über den gesamten Studienverlauf in den Abbildungen 4.5.2.1 bis 4.5.2.6 dargestellt. Pat. 004 zeigte insgesamt grenzwertig pathologische Blutdruckwerte von 140/100 mmHg, die für eine latente Hypertonie sprechen. Die erhöhten Werte traten schon bei der Voruntersuchung auf und veränderten sich unter Therapie mit TBC1269Z nicht. Außerdem wies er vereinzelt eine erhöhte Herzfrequenz in Ruhe auf, bei der Screeninguntersuchung 96/min und einmalig 104/min bei den Messungen an Tag 1 bzw. 96/min an Tag 14. An den anderen Tagen lagen die Werte im Normbereich. Eine Änderung der Körpertemperatur durch TBC1269Z ließ sich nicht feststellen. Keiner der fünf Patienten entwickelte erhöhte Temperaturen oder Fieber im Verlauf der gesamten Studie.

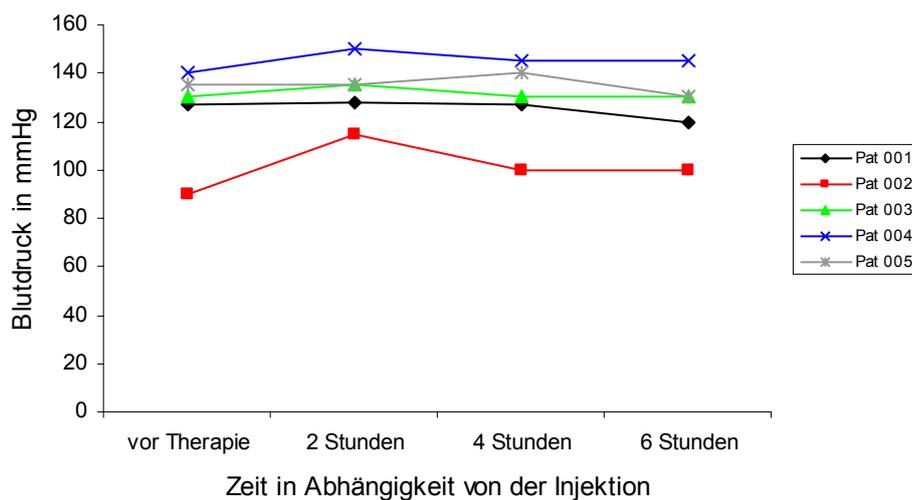


Abb. 4.5.2.1 Systolischer Blutdruck an Tag 1 im Verlauf, Angabe in mmHg.

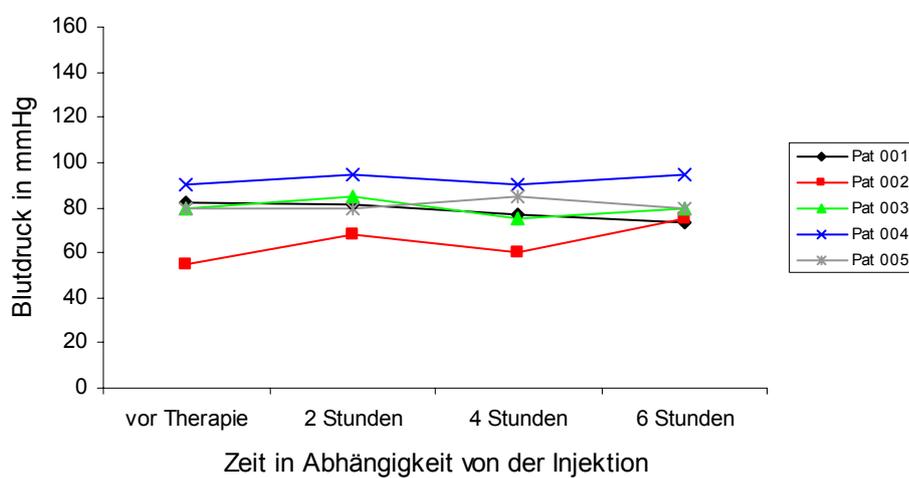


Abb. 4.5.2.2 Diastolischer Blutdruck an Tag 1 im Verlauf, Angabe in mmHg.

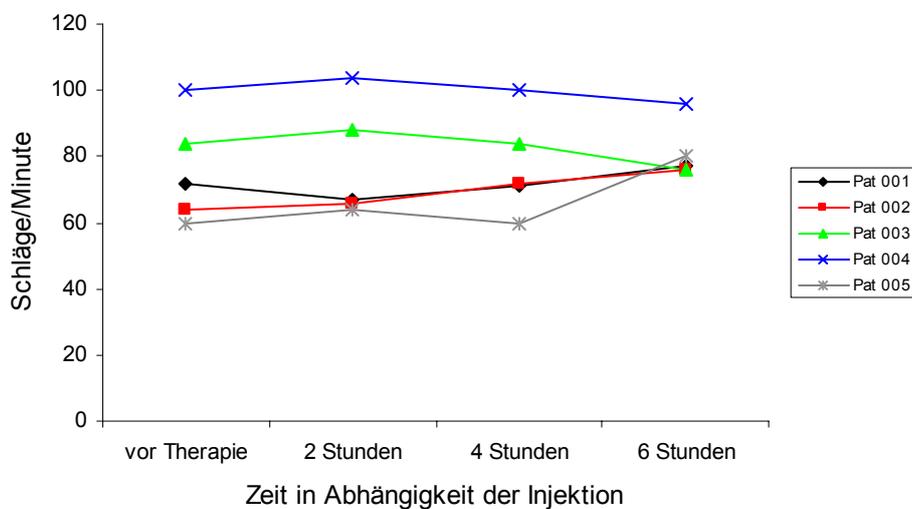


Abb. 4.5.2.3 Herzfrequenz an Tag 1 im Verlauf, Angabe in Schläge/Minute.

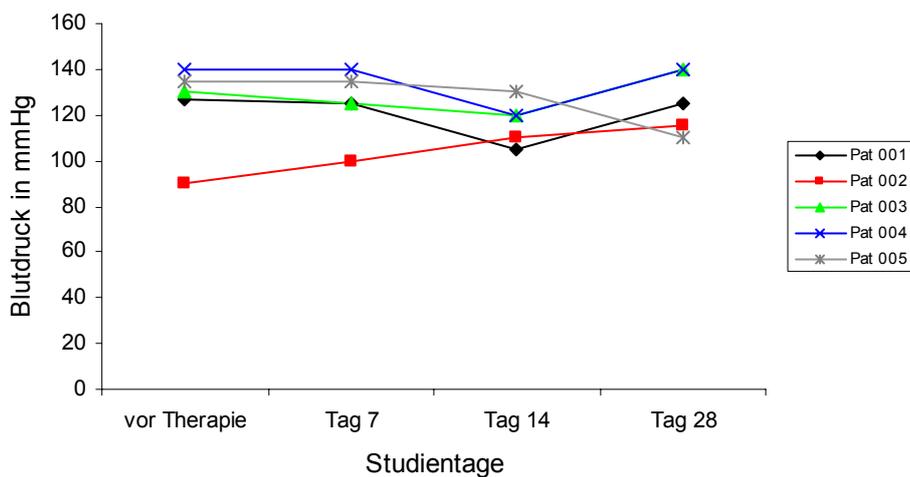


Abb. 4.5.2.4 Blutdruck systolisch im Verlauf der Studie, Angabe in mmHg.

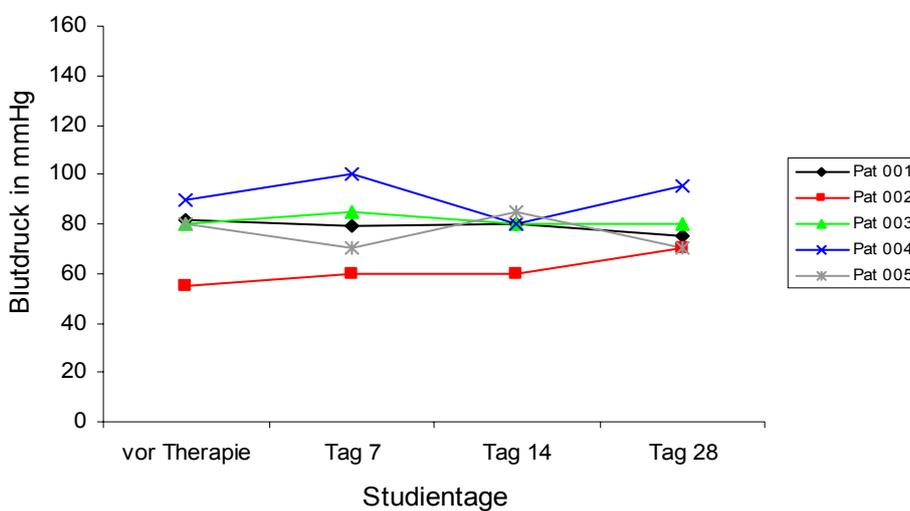


Abb. 4.5.2.5 Blutdruck diastolisch im Verlauf der Studie, Angabe in mmHg.

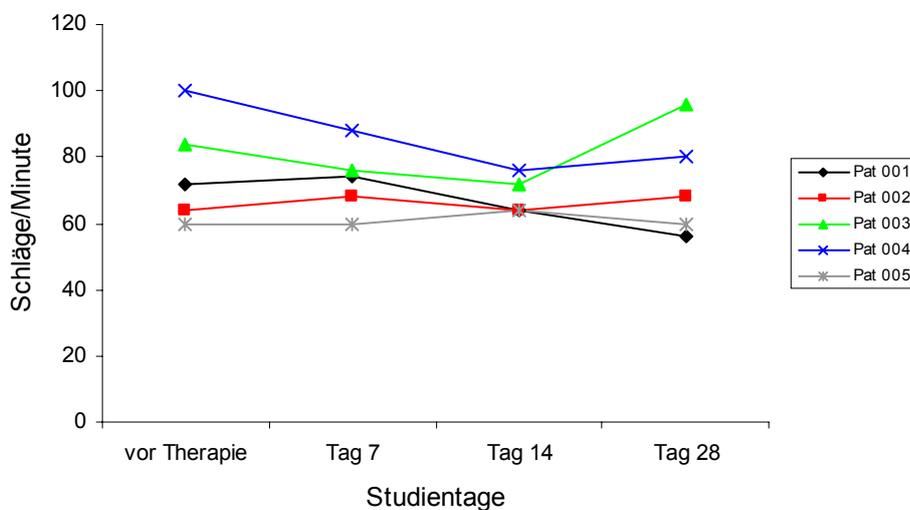


Abb. 4.5.2.6 Herzfrequenz im Verlauf der Studie, Angabe in Schläge/Minute.

### 4.5.3 EKG

Nach Auswertung aller EKGs ließen sich keine signifikanten Änderungen der Herzfrequenz bzw. des Herzrhythmus feststellen. Es fanden sich auch keine Erregungsausbreitungs- oder Rückbildungsstörungen. In Abb. 4.5.3.1 werden die Mittelwerte der Überleitungs- bzw. Vorhof- und Kammererregungszeiten wie PQ-Zeit, QRS-Komplex und QT-Zeit im Verlauf der Studie dargestellt.

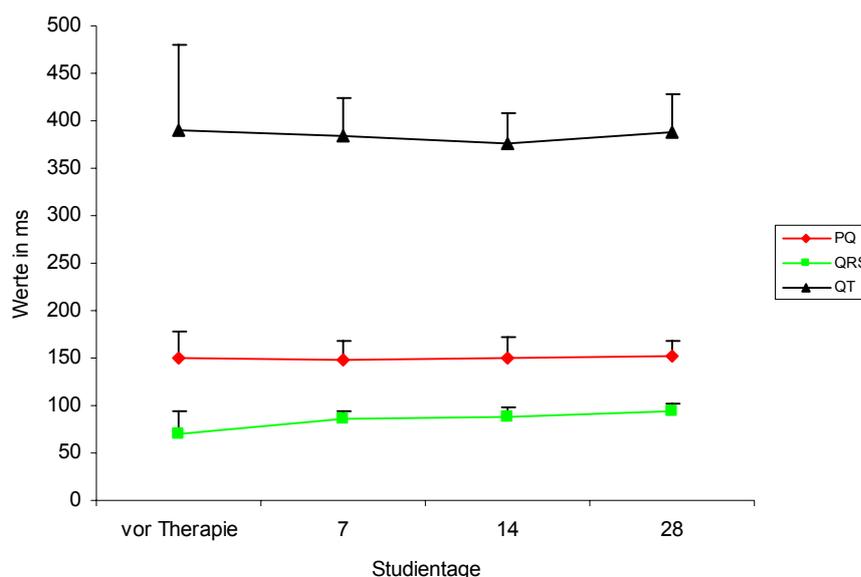


Abb. 4.5.3.1 Mittelwerte der PQ- und QT-Zeit sowie des QRS-Komplexes (Angabe in ms) aller Patienten im Verlauf der Studie + Standardabweichung (SD).

Die einzigen Auffälligkeiten betrafen die Herzfrequenz. Drei Patienten (Pat. 002, 003 und Pat. 005) zeigten im EKG eine klinisch nicht symptomatische Sinusbradykardie, die allerdings mit Ausnahme von Pat. 003 auch schon vor der ersten Medikation bestanden hatte. Die Werte lagen dabei für Pat. 002 an Studientag 1 (vor Therapie) bei 55/min, an Tag 7 bei 52/min, an Tag 14 bei 59/min und an Tag 28 bei 57/min. Pat. 005 zeigte an Tag 1 eine Frequenz von 53/min, an Tag 7 von 57/min, an Tag 14 von 59/min und an Tag 28 einen Normalwert von 60/min. Pat. 003 zeigte nur einmalig an Tag 28 eine Bradykardie von 58/min. Die Bradykardie wurde bei der Pulsauszählung nicht immer erfasst. Die manuelle Pulsauszählung wurde nicht gleichzeitig mit der EKG-Aufzeichnung durchgeführt, was diesen Unterschied erklärt. Bei der manuellen Pulsauszählung lagen die Werte meist im unteren Normbereich, d.h. bei 60-64 Schlägen pro Minute. Pat. 004 wies in den EKGs, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Vitalzeichenmessungen, eine Sinustachykardie auf (Abb. 4.5.3.2).

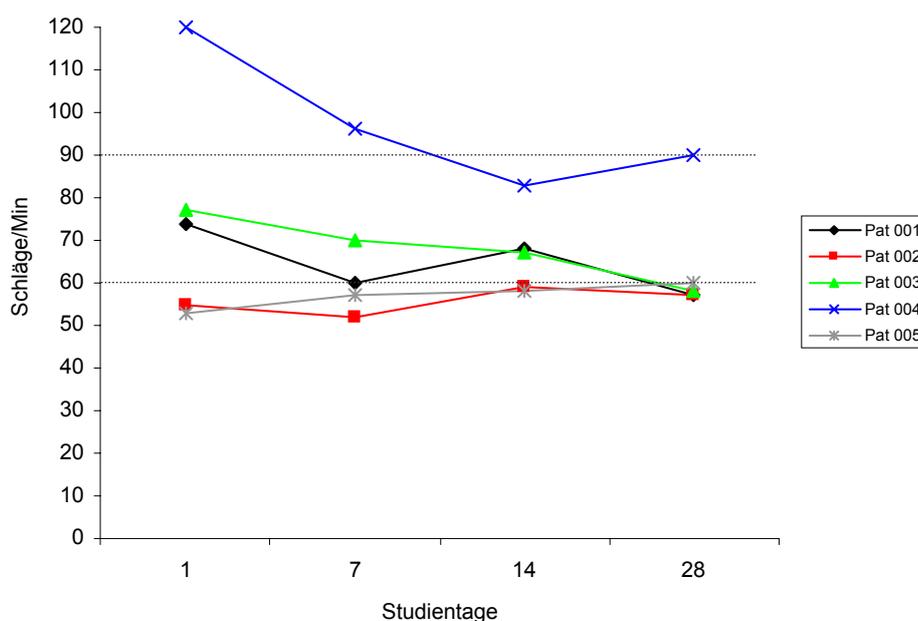


Abb. 4.5.3.2 Herzfrequenzen (in Schläge/Minute) laut EKG-Aufzeichnungen der einzelnen Patienten im Verlauf der Studie. Alle Werte unter 60/min werden als Sinusbradykardie gewertet und alle Werte über 90/min als Sinustachykardie.

#### 4.5.4 Auswirkungen auf das Blutbild

##### 4.5.4.1 Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH und MCHC

Die TBC1269Z-Therapie hatte keine klinisch relevanten Auswirkungen auf das rote Blutbild (Tab.4.5.4.1.1).

Studientag	Erythrozyten/pl	Hämoglobin in g/dl	Hämatokrit in l/l
0	4,90 ± 0,18	15,06 ± 0,77	0,44 ± 0,01
1	4,78 ± 0,31	14,72 ± 1,08	0,43 ± 0,02
2	4,89 ± 0,24	14,98 ± 1,13	0,44 ± 0,02
4	4,84 ± 0,25	14,84 ± 1,22	0,43 ± 0,03
7	4,82 ± 0,20	14,86 ± 1,00	0,43 ± 0,02
10	4,77 ± 0,17	14,68 ± 1,08	0,43 ± 0,01
14	4,69 ± 0,12	14,56 ± 0,85	0,42 ± 0,01
28	4,78 ± 0,24	14,76 ± 0,87	0,43 ± 0,02

Tab. 4.5.4.1.1 Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit (Absolutwerte) mit Standardabweichung (SD)

Die Schwankungen der Mittelwerte von Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit lagen bei weniger als 5% des Ausgangswertes. Allerdings zeigten sie alle gleichsinnig einen Anstieg der Werte von Tag 1 zu Tag 2 mit folgendem Abfall der Werte bis Tag 14. An Tag 28 waren sie wieder zu ihrem Ausgangswert zurückgekehrt. Die Hämatokritwerte von Tag 2 im Vergleich zu Tag 14 waren nur im t-Test signifikant ( $p=0,024$ ) abgefallen.

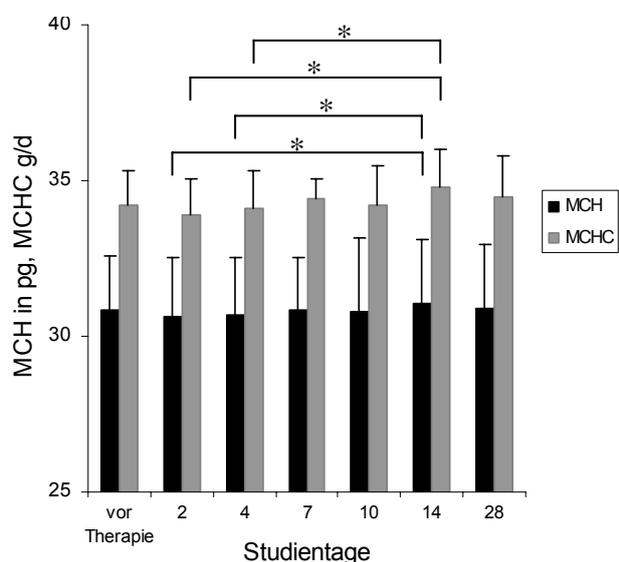


Abb. 4.5.4.1.1 Veränderungen von MCH und MCHC (Angabe in pg bzw. g/dl mit Standardabweichung SD) (\* Anstieg zwischen Tag 2 bzw. Tag 4 und Tag 14 signifikant)

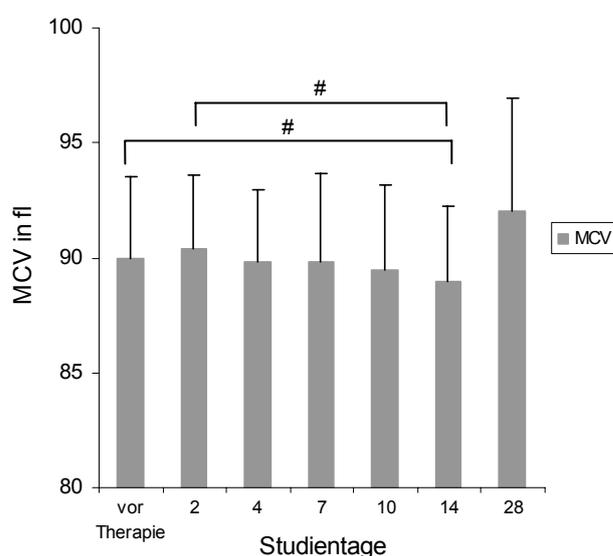


Abb. 4.5.4.1.2 Veränderungen von MCV (Angabe in fl mit Standardabweichung SD) (# Abfall zwischen Tag 1 bzw. Tag 2 und Tag 14 nur im t-Test signifikant)

Die MCH-Werte vergrößerten sich signifikant zwischen Tag 2 bzw. 4 und Tag 14, sowohl im t-Test ( $p=0,028$  bzw.  $0,011$ ) als auch im Wilcoxon-Test ( $p=0,042$  bzw.  $0,041$ ). Die MCHC-Werte nahmen ebenfalls signifikant zwischen Tag 2 bzw. Tag 4 und Tag 14 (t-Test  $p=0,009$  bzw.  $0,003$ ; Wilcoxon-Test  $p=0,043$  bzw.  $0,042$ ) zu (Abb. 4.5.4.1.1). Die MCV-Werte zeigten im t-Test einen signifikanten Abfall zwischen Tag 1 bzw. Tag 2 und Tag 14 ( $p=0,034$  bzw.  $0,025$ ), dies ließ sich im Wilcoxon-Test aber nicht bestätigen ( $p>0,05$ ) (Abb. 4.5.4.1.2). Außer den insgesamt im unteren bzw. knapp unter dem Normbereich liegenden Erythrozytenzahlen von Pat. 005 (Tag 1:  $4,47/pl$ ; Tag 10:  $4,57/pl$ , Tag 14:  $4,54/pl$ ) und minimal erhöhten MCH- (Tag 10:  $34,1$  pg, Tag 28:  $34,2$  pg) bzw. MCHC-Werten von Pat. 005 (Tag 28:  $36,3$  g/dl) und von Pat. 001 (Tag 14:  $36,4$  g/dl) lagen alle Werte der Patienten im Normbereich.

#### 4.5.4.2 Auswirkungen auf Leukozyten und Leukozytensubpopulationen

Die Leukozyten zeigten direkt nach Beginn der Therapie ein leichtes Absinken der Gesamtzahl von  $6,15/\text{nl} \pm 0,64$  auf  $5,92/\text{nl} \pm 0,51$  (97%) an Tag 2, stiegen danach (Tag 4) über den Ausgangswert auf  $6,55/\text{nl} \pm 0,73$  (107%) an, und hielten sich bis zum Ende der Behandlung bei etwa 104% vom Ausgangswert (Abb. 4.5.4.2.1). Die Veränderungen sind nicht signifikant. Die hohe Standardabweichung an Tag 28 wird durch Pat. 002 verursacht, der aufgrund einer Otitis media eine Leukozytenzahl von  $8,47/\text{nl}$  aufwies.

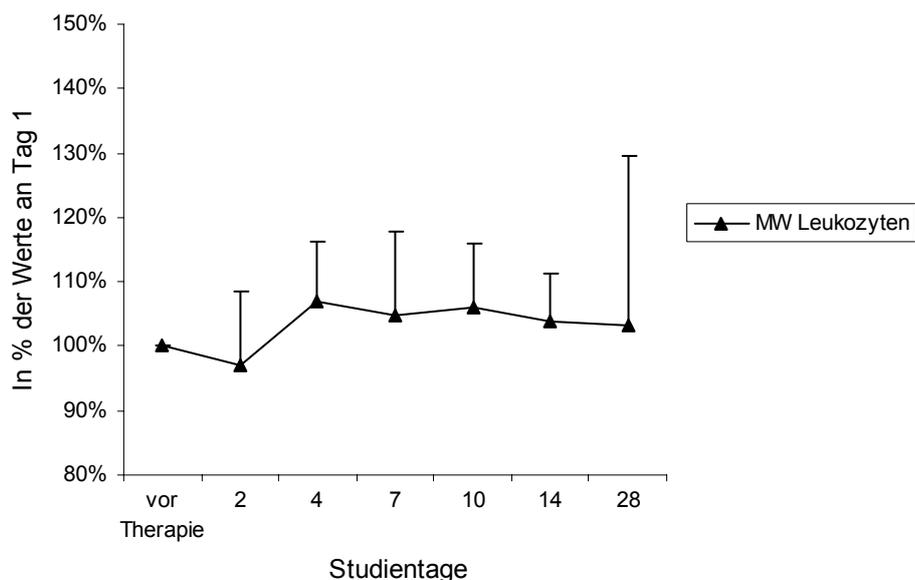


Abb. 4.5.4.2.1 Leukozytenzahlen in Prozent der Werte an Tag 1 (vor Beginn der Therapie). Angabe in % mit Standardabweichung (SD).

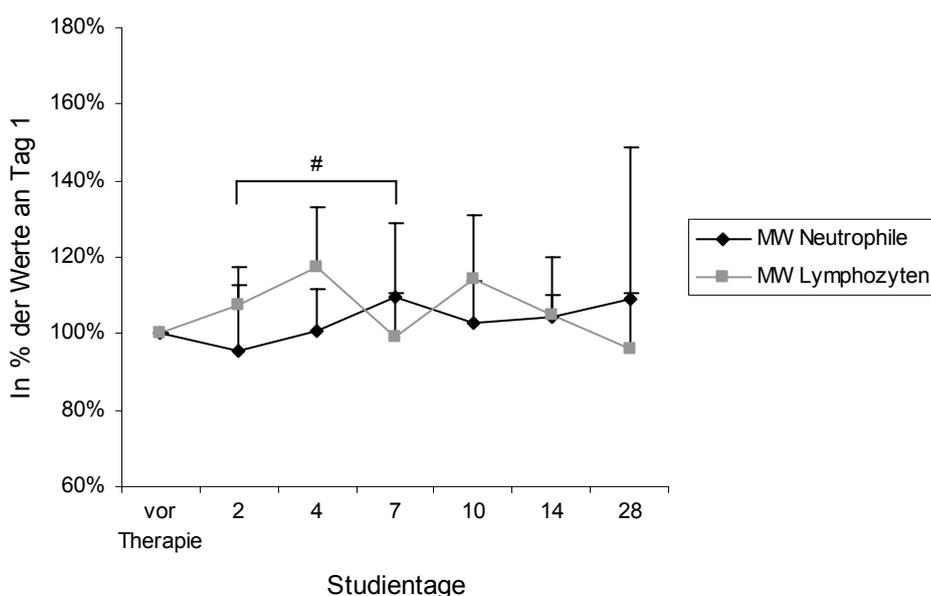


Abb. 4.5.4.2.2 Lymphozyten und neutrophile Granulozyten in Abhängigkeit der Werte an Tag 1. Angabe in % mit Standardabweichung (SD). (# Lymphozytenabfall zwischen Tag 2 und Tag 7 nur im Wilcoxon-Test signifikant  $p=0,043$ )

Die Lymphozyten zeigten einen Anstieg von Tag 1 bis Tag 4, fielen kurzzeitig ab (Tag 7), zeigten einen zweiten Gipfel an Tag 10 und fielen dann wieder ab. An Tag 28 hatten sich die Werte wieder komplett normalisiert (Abb.4.5.4.2.2). Der Abfall der Lymphozyten von Tag 2 bis Tag 7 wies im Wilcoxon-Test eine Signifikanz auf ( $p=0,043$ ), im t-Test nicht ( $p=0,055$ ). Die neutrophilen Granulozyten zeigten nur geringe Schwankungen, einen Abfall an Tag 2 auf  $3,77/\text{nl} \pm 0,83$  (95% des Ausgangswertes) und einen Anstieg auf  $4,31/\text{nl} \pm 0,68$  (109%) an Tag 7. Diese Veränderungen waren allerdings nicht signifikant. Die Absolutwerte lagen alle innerhalb der physiologischen Grenzwerte. Nur Pat. 002 wies an Tag 28 aufgrund der Otitis media einen im Vergleich zu den vorhergehenden Ergebnissen angestiegenen Neutrophilenwert auf ( $6,16/\text{nl}$ ). Die prozentual kleineren Leukozytensubpopulationen wie eosinophile oder basophile Granulozyten und Monozyten zeigten ebenfalls einen Abfall direkt nach Behandlungsbeginn (um ca. 10%), dann aber einen schwankenden Verlauf bis zum Ende der Studie. Es ließen sich keine signifikanten Veränderungen feststellen.

#### **4.5.5 Einfluss von TBC1269Z auf die Syntheseleistung der Leber und die Gerinnung**

Unter Therapie mit TBC1269Z kam es, außer einem transienten Anstieg der  $\gamma$ -GT, zu keiner signifikanten Veränderung der Leberwerte oder der Gerinnung. Allerdings fand sich ein erwähnenswerter Anstieg von Bilirubin und den Transaminasen. Nach zwei Wochen Behandlung mit TBC1269Z stieg der Bilirubinwert im Mittel von  $0,54 \text{ mg/dl} \pm 0,17$  auf  $0,74 \text{ mg/dl} \pm 0,28$  an. Drei von fünf Patienten zeigten diesen Anstieg. Die Werte selbst lagen in den physiologischen Referenzbereichen. Nur Pat. 002 wies am Tag 14 einen Bilirubinwert von  $1,1 \text{ mg/dl}$  auf, der sich außerhalb der Norm befand (Abb. 4.5.5.1). Die Leberenzyme GOT und GPT zeigten während der Behandlung keine Veränderungen. Nach Absetzen der Medikation jedoch stiegen die GPT und besonders die GOT an. Der Anstieg der GOT betraf vor allem Pat. 005, von  $12 \text{ U/l}$  an Tag 14 erhöhte sich die GOT bei ihm auf  $31 \text{ U/l}$  an Tag 28. Dies liegt außerhalb des Referenzwertes. Bei der GPT zeigte sich ein ähnliches Bild, Pat. 005 stieg von  $11 \text{ U/l}$  (Tag 14) auf  $16 \text{ U/l}$ , Pat. 004 von  $9 \text{ U/l}$  (Tag 14) auf  $19 \text{ U/l}$ , die anderen drei Patienten wiesen relativ konstante Werte auf. Im Gegensatz zur GOT blieben die Werte der GPT allerdings im Normbereich (Abb. 4.6.5.2). Die  $\gamma$ -GT zeigte von Tag 1 nach Tag 7 einen signifikanten Anstieg ( $p=0,021$ ), von Tag 2 bis Tag 14 ( $p=0,034$ ) und Tag 7 bis Tag 14 ( $p=0,035$ ) einen Abfall im t-Test. Der Tag-28-Wert der  $\gamma$ -GT ist kritisch zu werten, da hier die Werte von zwei Patienten (Pat. 003 und 004) fehlen (Abb. 4.5.5.2). Die Konzentration der Al-

kalischen Phosphatase im Blut wurde durch die Medikation nicht beeinflusst. Gesamteiweiß sowie Albumin zeigten sich vor, während und nach der Behandlung konstant.

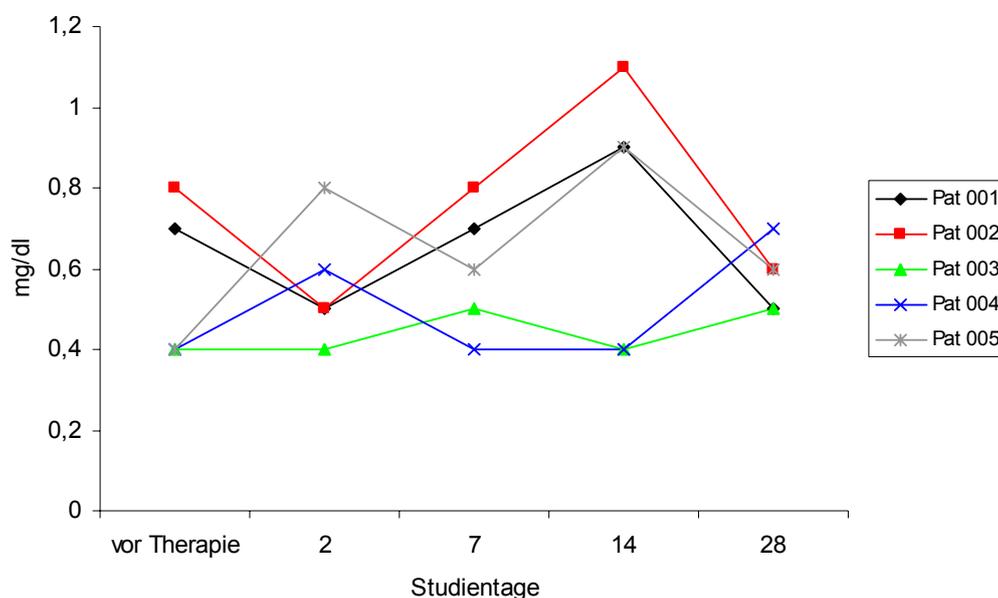


Abb. 4.5.5.1 Bilirubin im Verlauf der Studie, Angabe in mg/dl.

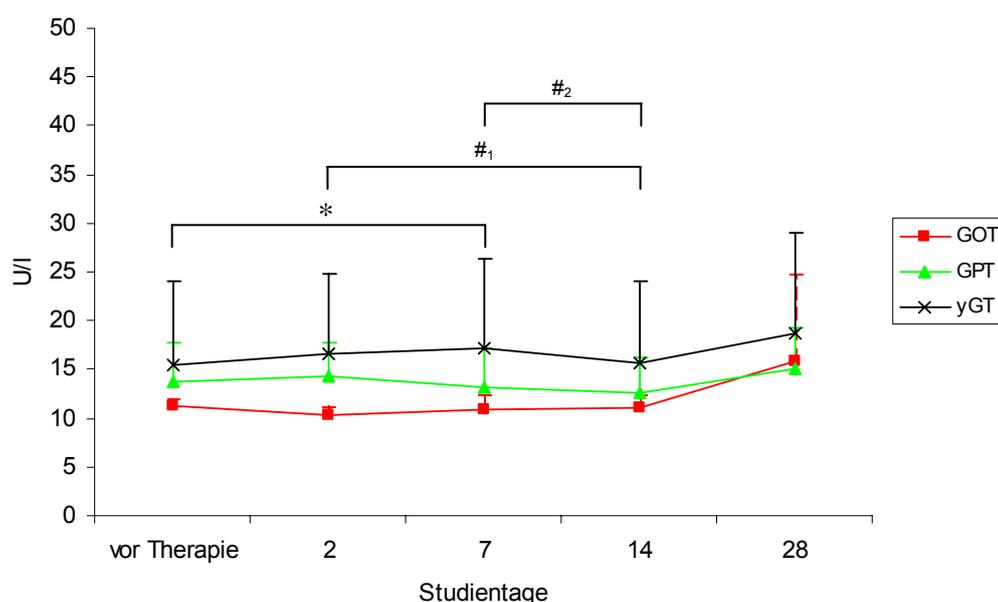


Abb. 4.5.5.2 Transaminasen und  $\gamma$ -GT während der Studie. Angabe in U/l, MW mit Standardabweichung (SD).

( $\gamma$ -GT: \* Anstieg zwischen Tag 1 und Tag 7  $p=0,021$ , signifikant im t-Test;)

( $\gamma$ -GT: #<sub>1</sub>: Abfall zwischen Tag 2 und Tag 14  $p=0,034$ , signifikant im t-Test)

( $\gamma$ -GT: #<sub>2</sub>: Abfall zwischen Tag 7 und Tag 14  $p=0,035$ , signifikant im t-Test.)

Bei der Gerinnung ließen sich keine klinisch wirksamen Veränderungen durch die Medikation feststellen. Besonders die aPTT und die INR zeigten konstante Werte. Beim Quickwert fanden sich sinkende Werte, jedoch ohne statistische Signifikanz. Die Werte bewegten sich zwischen  $110\% \pm 11,4$  an Tag 1 und  $105\% \pm 12,8$  an Tag 14. Bis Tag 28

blieb der Quickwert in diesem Bereich ( $103\% \pm 15,8$ ). Alle Werte lagen innerhalb des physiologischen Normbereichs (Abb.4.5.5.3).

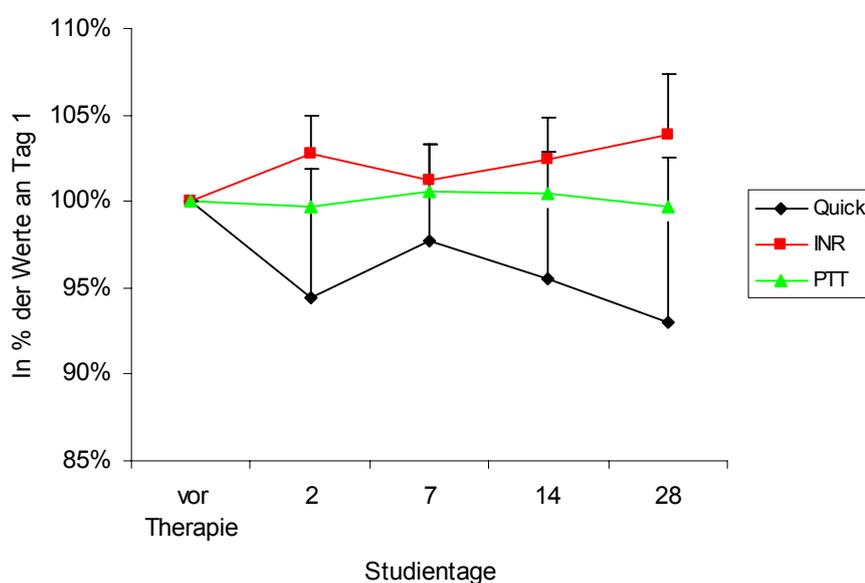


Abb. 4.5.5.3 Gerinnungsparameter in % der Werte an Tag 1. MW und Standardabweichung (SD).

Die Thrombozytenzahlen der Patienten bewegten sich während der gesamten Studiedauer im Referenzbereich (Abb. 4.5.5.4). Nach Abschluss der Medikationsgabe fielen sie jedoch signifikant ab, im Mittel von  $263/\text{nl} \pm 40,8$  an Tag 14 auf  $243/\text{nl} \pm 34,3$  an Tag 28 (t-Test  $p=0,049$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ ).

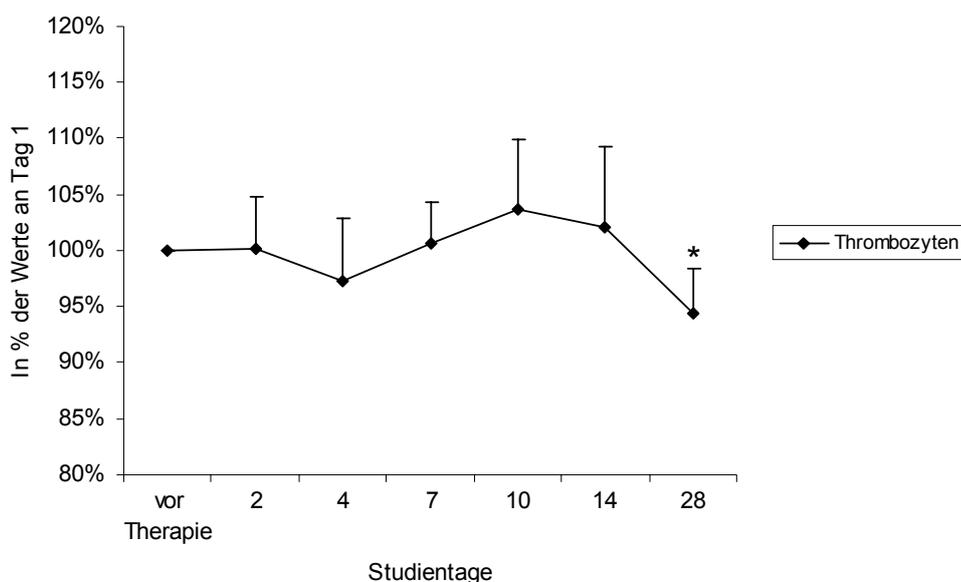


Abb. 4.5.5.4 Thrombozytenzahlen im Verlauf in % der Werte an Tag 1. MW mit Standardabweichung (SD). (\*: Abfall von Tag 14 bis Tag 28 signifikant; t-Test  $p=0,049$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ )

#### 4.5.6 Einfluss der Anti-Selektin-Therapie auf Niere und Elektrolythaushalt

Die Elektrolytkonzentrationen und die Harnsäurewerte wurden durch die Injektionen mit TBC1269Z in keiner Weise beeinflusst. Allerdings zeigte der Kreatininwert im Verlauf der Behandlung einen langsamen, aber stetigen Anstieg (Abb. 4.5.6.1). Im Mittel belief sich der Anstieg von  $0,69 \pm 0,19$  mg/dl (Tag 1) auf  $0,75 \pm 0,06$  mg/dl (Tag 14). Die Zunahme von Tag 2 zu Tag 7 war signifikant (t-Test  $p=0,031$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ ). Nach Ende der Behandlung fielen die Werte wieder ab. Die Werte bewegten sich dabei immer innerhalb der physiologischen Grenzen.

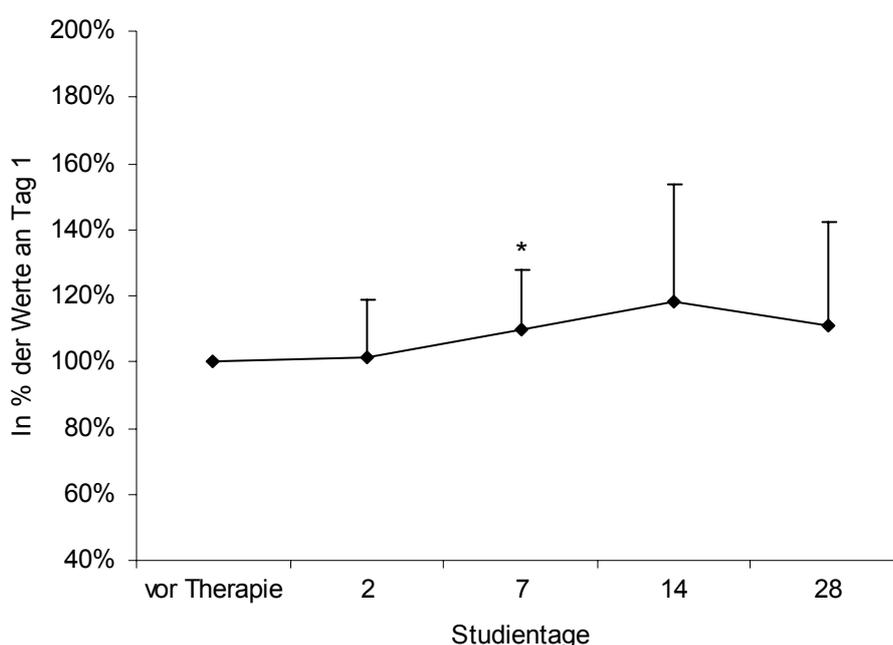


Abb. 4.5.6.1 Kreatininwerte in % der Werte an Tag 1. MW mit Standardabweichung (SD). (\*: Anstieg von Tag 2 nach Tag 7 signifikant; t-Test  $p=0,031$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ )

#### 4.5.7 Einfluss von TBC1269Z auf Stoffwechselprodukte

Die Blutzuckerwerte wurden durch TBC1269Z nicht verändert. Die Blutfette (Cholesterin und Triglyzeride) waren bei einzelnen Patienten von Anfang an erhöht, wurden aber nicht durch die Therapie beeinflusst.

#### 4.5.8 TBC1269Z-Therapie und die Enzyme LDH und Kreatinkinase

Auf die LDH nahm die Medikation keinen Einfluss. Aber die Kreatinkinase (CK) zeigte bei zwei Patienten einen deutlichen Anstieg (Abb. 4.5.8.1).

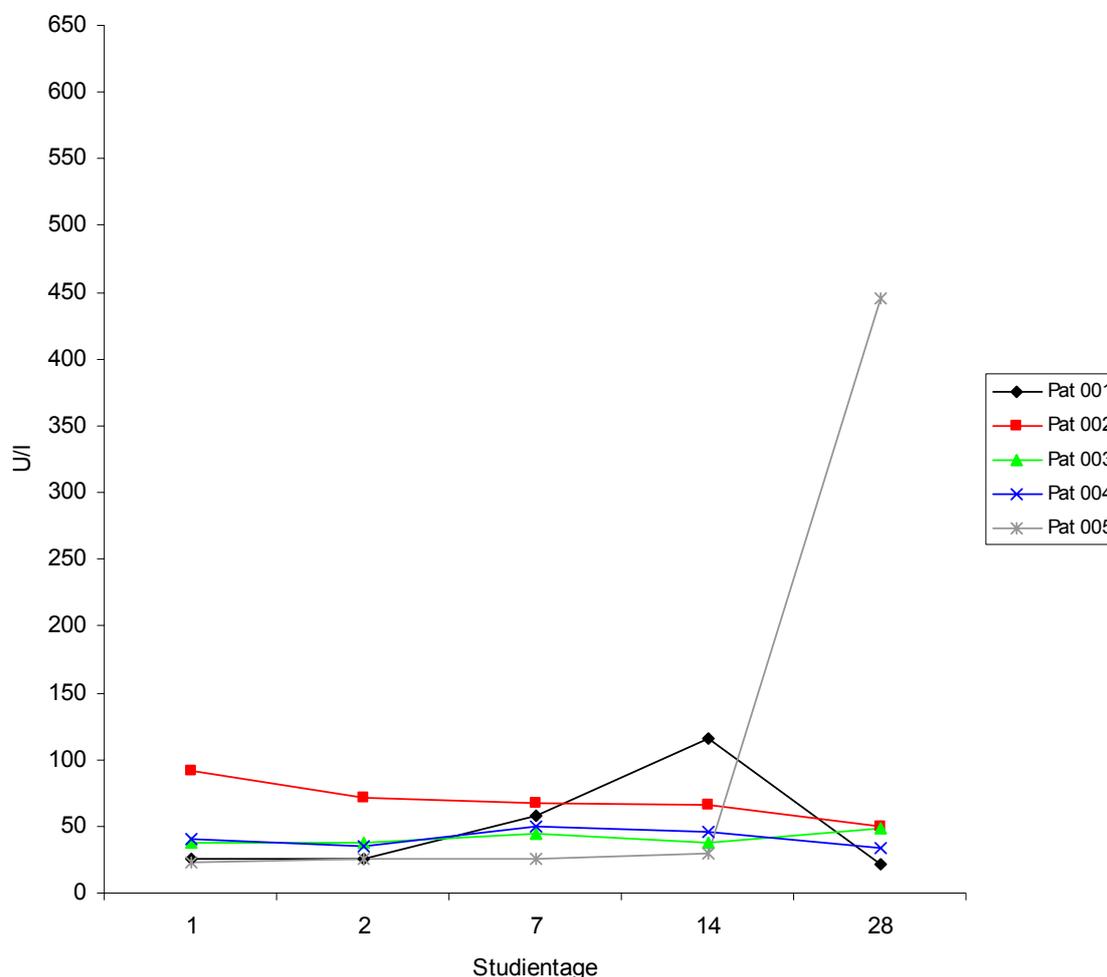


Abb. 4.5.8.1 CK-Einzelwerte im Verlauf der Studie. Angabe in U/l.  
(Referenzbereich: Frauen bis 70 U/l, Männer bis 80 U/l.)

Pat. 001 zeigte an Tag 7 eine Verdopplung und bis Tag 14 eine Vervielfachung seiner CK-Werte (116 U/l), die sich nach Absetzen von TBC1269Z normalisierten. An Tag 28 lagen die Werte für die CK mit 22 U/l wieder im Referenzbereich. Pat. 005, der während der Injektionen völlig unauffällige CK-Werte hatte (vor Behandlung 42 U/l, danach Werte zwischen 23 und 29 U/l), wies an Tag 28 plötzlich einen CK-Wert von 445 U/l auf. Klinisch zeigte der Patient keine Symptome, zur Sicherheit wurde die herzmuskelspezifische CK-MB (Kreatinkinase-Isoenzym MB) bestimmt, um einen Herzinfarkt auszuschließen. Die CK-MB lag unter 6%, war damit unauffällig. Bei einer Kontrolluntersuchung zwei Wochen später hatte der Patient wieder einen normalen CK-Wert von 28 U/l. Insgesamt

konnten keine signifikanten Veränderungen durch die Therapie mit TBC1269Z nachgewiesen werden.

## 4.6 Durchflusszytometrische Analysen (FACS)

Zur Untersuchung der Wirkungen von TBC1269Z auf die Subpopulationen der Lymphozyten im peripheren Blut führten wir FACS-Messungen durch. Uns interessierte dabei die Anzahl der T-Zellen sowie deren Untergruppen, die CD4+ bzw. CD8+T-Zellen, die Zahl der B-Zellen und der NK-Zellen.

### 4.6.1 T-Zellen (CD3+Zellen)

Die Patienten zeigten keine einheitlichen Veränderungen der T-Zell-Werte. Drei von fünf zeigten zunächst einen Abfall der Zellzahlen, zwei dagegen einen leichten Anstieg. Nach zwei Wochen fand sich bei allen Patienten, außer Pat. 005, eine Zunahme der T-Zellen (Abb.4.6.1.1).

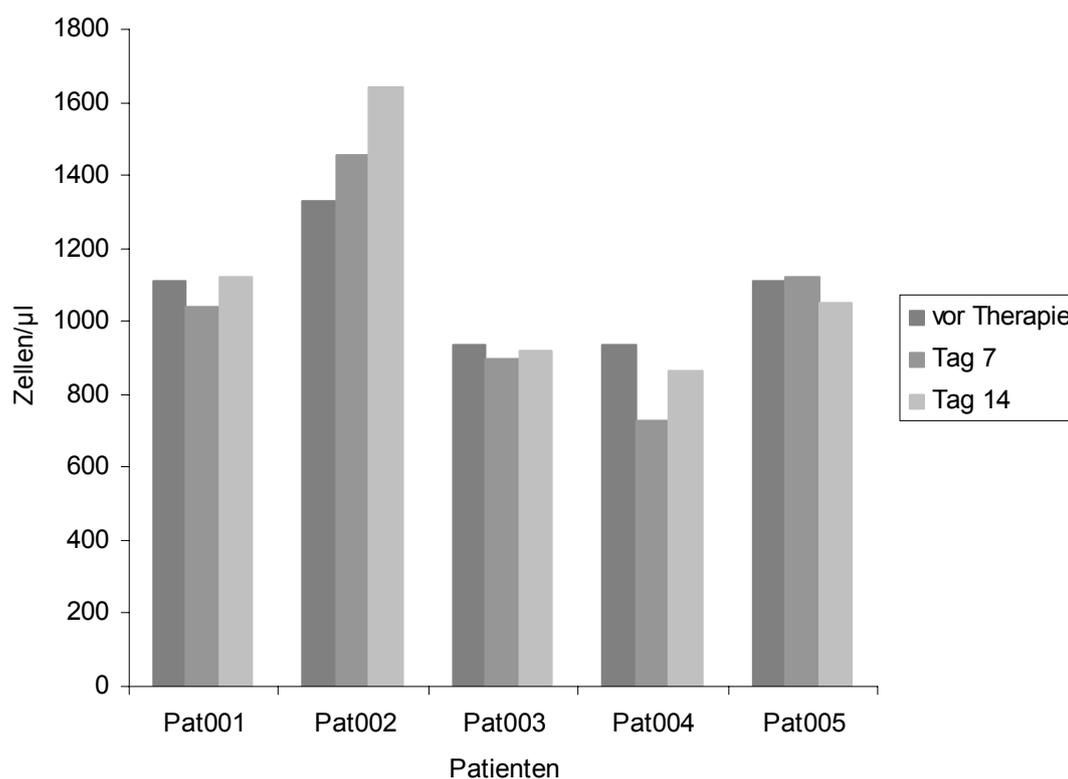


Abb. 4.6.1.1 Anzahl der T-Zellen (CD3+Zellen) im peripheren Blut dargestellt als Einzelwerte der Patienten (Zellen/ $\mu$ l).

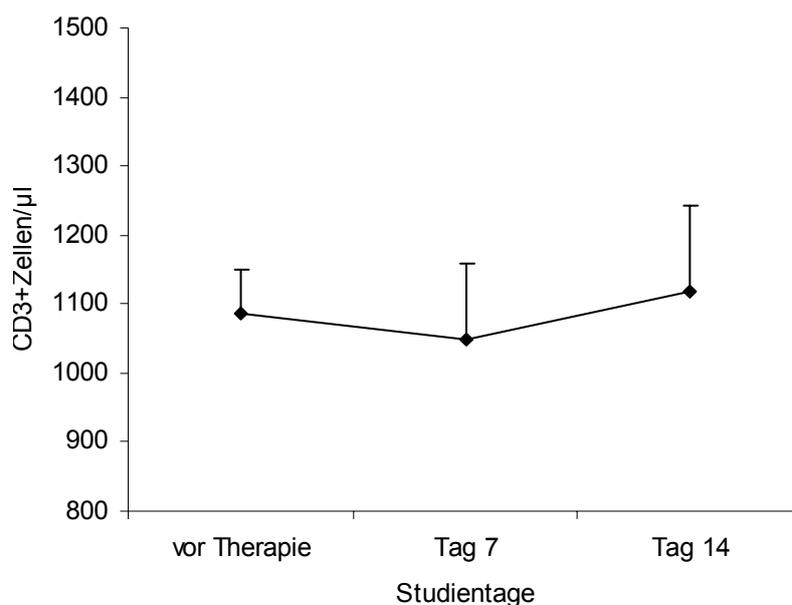


Abb. 4.6.1.2 Anzahl der T-Zellen (CD3+Zellen) im peripheren Blut als Mittelwerte mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.).

Die Veränderungen (Abb. 4.6.1.2) des Mittelwertes der T-Zellzahl waren nicht signifikant.

#### 4.6.2 CD4+ und CD8+T-Zellen

Als nächstes untersuchten wir das Verhalten der beiden wichtigsten Subpopulationen der T-Zellen, die CD4+ und CD8+T-Zellen. Bei Patient 002 stiegen die CD4+ und CD8+Zellen gleichsinnig an, wie zuvor die Gesamtzahl der CD3+Zellen. Pat. 005 war, wie bei den CD3+T-Zellen, der einzige, der in der zweiten Behandlungswoche einen Abfall der CD4+ und CD8+T-Zellen aufwies (Abb. 4.6.2.1 und Abb. 4.6.2.2).

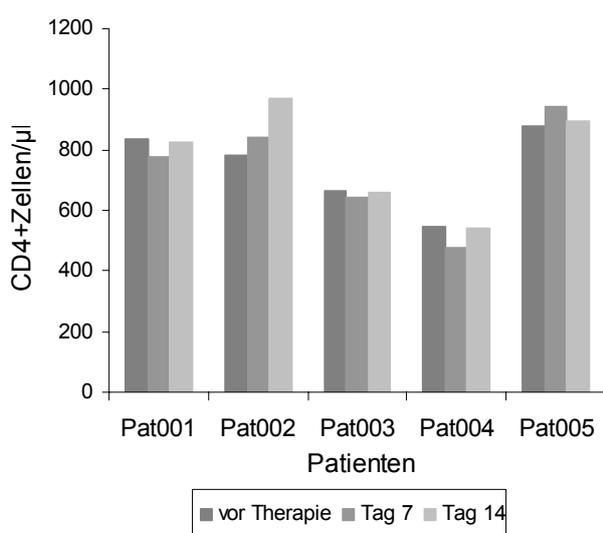


Abb. 4.6.2.1 CD4+Zellen im Blut  
Angabe in Zellen/µ

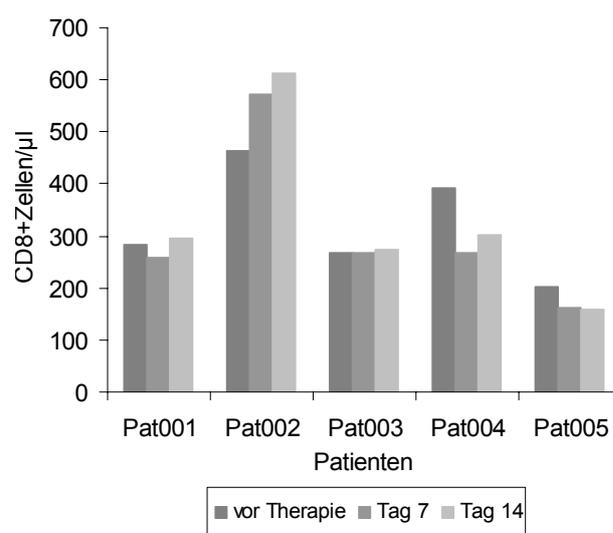


Abb. 4.6.2.2. CD8+Zellen im Blut  
Angabe in Zellen/µl.

Die Mittelwerte der CD4+ und CD8+Zellen zeigten keine signifikanten Veränderungen unter der Therapie mit TBC1269Z (Abb. 4.6.2.3 und Abb. 4.6.2.4).

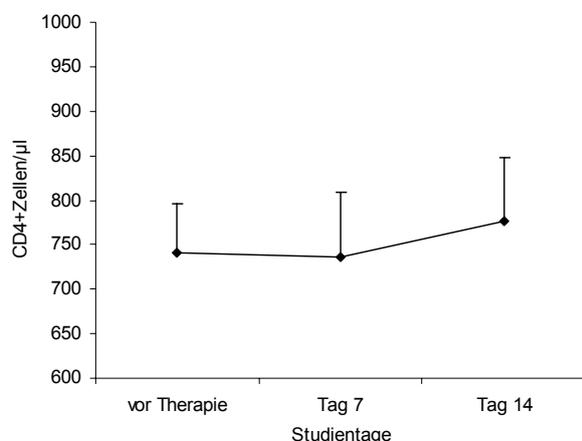


Abb. 4.6.2.3 CD4+Zellen als Mittelwerte mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.).

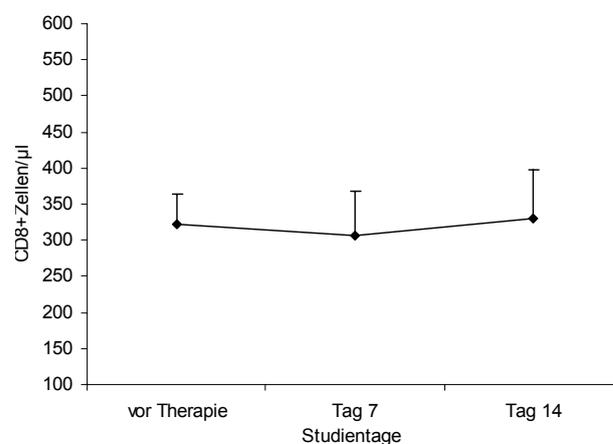


Abb. 4.6.2.4 CD8+Zellen als Mittelwerte mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.).

Interessant ist, dass zwei Wochen nach Ende der Behandlung die T-Zellen(CD3+) gesamt, die CD4+ und CD8+T-Zellen einen deutlichen Abfall im peripheren Blut zeigten, der noch unter dem Ausgangswert an Tag 1 liegt. Dies kann man gut in Abb. 4.6.2.5 erkennen, in der die Zellzahlen der CD3+T-Zellen im Vergleich mit den Subpopulationen (CD4+ und CD8+T-Zellen) dargestellt sind. Auch diese Befunde sind jedoch nicht signifikant.

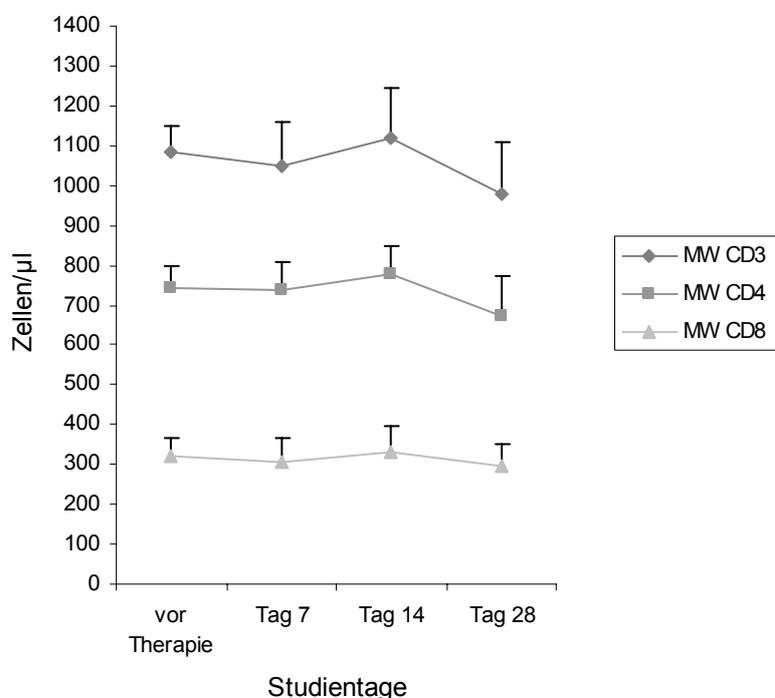


Abb. 4.6.2.5 Mittelwerte der Zellzahlen/µl der CD3+T-Zellen und ihrer Subpopulationen (CD4+ und CD8+Zellen) mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.) im peripheren Blut im Verlauf der Studie.

### 4.6.3 B-Zellen und NK-Zellen

Die B-Zellen konnten wir anhand ihrer CD19-Positivität identifizieren. Sie zeigten im Mittel einen diskreten Rückgang im peripheren Blut von  $238 \pm 23$  Zellen/ $\mu\text{l}$  an Tag 1 auf  $205 \pm 28$  an Tag 7 bzw.  $191 \pm 25$  Zellen/ $\mu\text{l}$  an Tag 14 (Abb. 4.6.3.1). Die Anzahl verringerte sich auch nach Ende der Behandlung mit TBC1269Z, so dass der Wert an Tag 28 bei  $177 \pm 46$  Zellen/ $\mu\text{l}$  lag. Die NK-Zellen ermittelten wir über ihre CD3-Negativität und CD16- sowie CD56-Positivität. Sie zeigten zunächst ein diskretes Absinken der Zahlen in den ersten sieben Tagen und dann ein Ansteigen im peripheren Blut. An Tag 1 ermittelten wir  $233 \pm 32$  Zellen/ $\mu\text{l}$ , an Tag 7  $188 \pm 27$  Zellen/ $\mu\text{l}$  und an Tag 14  $221 \pm 57$  Zellen/ $\mu\text{l}$  (Abb. 4.6.3.2). Im Gegensatz zu den T-Zellen ist die Anzahl im Blut jedoch nach Absetzen der Behandlung mit TBC1269Z nicht abgefallen, sondern weiter angestiegen auf  $258 \pm 68$  Zellen/ $\mu\text{l}$  an Tag 28. Auch diese Veränderungen waren nicht signifikant.

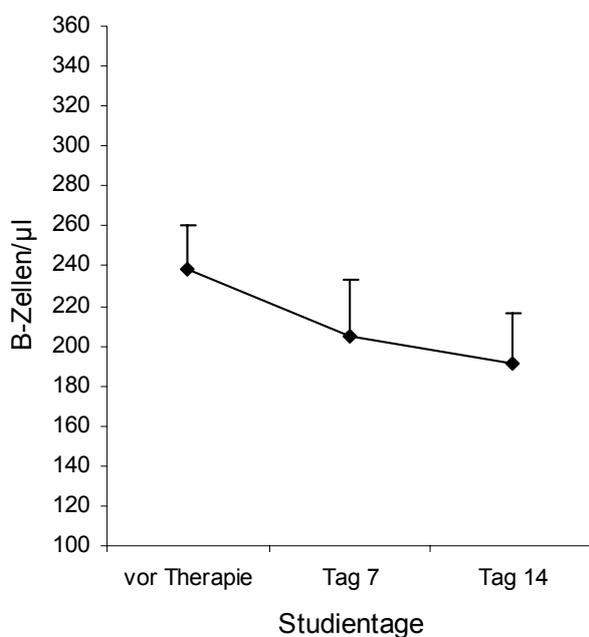


Abb.4.6.3.1 B-Zellen (CD19+)  
Mittelwert der Zellen/ $\mu\text{l}$  aller vorhandenen Patientendaten (vor Therapie n=3, sonst n=5) mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.).

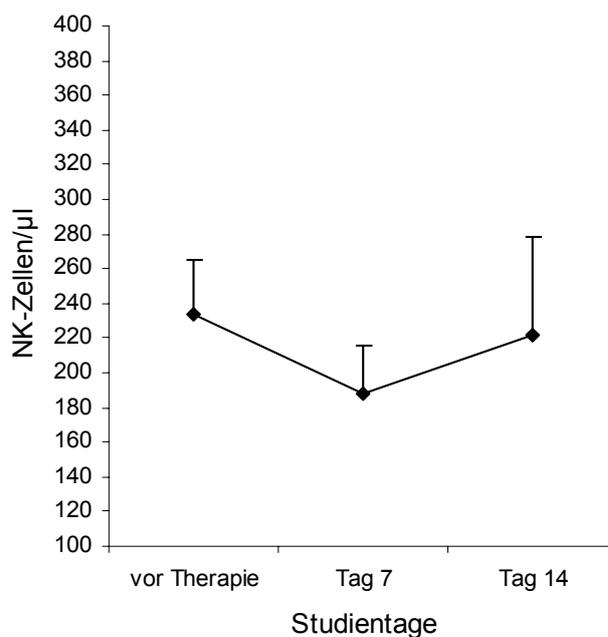


Abb. 4.6.3.2 NK- Zellen (CD56+/CD16+)  
Mittelwert der Zellen/ $\mu\text{l}$  aller vorhandenen Patientendaten (vor Therapie n=3, sonst n=5) mit Standardfehler des Mittelwerts (S.E.M.).

## 5. Diskussion

### 5.1 Notwendigkeit neuer innovativer Therapeutika

Trotz intensiver klinischer Forschung zur Entwicklung neuer Psoriasis-Therapeutika gibt es bisher keine kurative Behandlung der Psoriasis. Alle zur Verfügung stehenden Behandlungen zeigen Limitierungen: sie wirken entweder nur bei einem bestimmten Teil der Patienten oder verursachen beträchtliche unerwünschte Wirkungen. Der Bedarf an neuen, wirksameren Therapien, die vor allem ein besseres Sicherheitsprofil aufweisen und damit auch für eine Langzeittherapie geeignet sind, ist hoch. Das heute diskutierte Modell der Immunpathogenese der Psoriasis und die neuen Produktionstechniken erleichtern die Entwicklung neuer Therapeutika. Eine dieser innovativen Neuentwicklungen ist das „small molecule drug“ TBC1269Z, das hier erstmals bei Patienten mit Psoriasis zur Anwendung kam. Andere Substanzen sind die so genannten Biologics, die in lebenden Zellen produziert werden und entweder die Funktion normaler menschlicher Proteine imitieren oder durch Interaktion mit Proteinen oder Rezeptoren deren Wirkung inhibieren. Etwa 20 Biologics zur Behandlung der Psoriasis befinden sich zurzeit in unterschiedlichen Stadien der klinischen Erprobung. Einige sind zwischen 2002 und 2005 für die Behandlung der mittelschweren bis schweren Psoriasis bzw. Psoriasis-Arthritis zugelassen worden (Raptiva®, Enbrel®, Remicade® und Humira®). Es gibt bereits genügend Erfahrung mit den Präparaten, um zu belegen, dass die Biologics eine gute Option für die Kurzzeittherapie und möglicherweise sogar für die Langzeittherapie darstellen, mit einem besseren Sicherheitsprofil, einer besseren Verträglichkeit und Annahme durch die Patienten (Philipp S *et al.*, 2006).

Allerdings haben auch die Biologics ihre Einschränkungen. Die klinischen Ansprechraten und die Wirkungseintritte der Präparate sind sehr unterschiedlich. Noch ist unklar, warum nur ein Teil der Patienten auf die Behandlung anspricht. Auch fehlen zum Teil noch Daten in der Langzeiterfahrung, besonders im Hinblick auf erhöhte Risiken für Infektionen oder die Entstehung von Lymphomen (Boehncke WH *et al.*, 2003, Sterry W *et al.*, 2004). Außerdem sind ökonomische Faktoren zu berücksichtigen (Marchetti A *et al.*, 1998). Die Biologics als innovative Präparate sind zurzeit noch sehr teuer. Hier könnten die „small molecule drugs“ wie TBC1269Z eine günstige und sichere Alternative bieten. Ein weiteres Problem von Biologics, großmolekularen Proteinen, ist die Bildung von Antikörpern gegen die Substanz. In Studien mit Infliximab konnten bei 24% der Patienten

ohne weitere immunsuppressive Therapie und bei 14% mit anderer immunsuppressiver Therapie Antikörper gegen Infliximab nachgewiesen werden. Bei Morbus Crohn Patienten wurde eine Assoziation zwischen hohen Titern von Antikörpern gegen Infliximab und einem kürzeren therapeutischen Ansprechen beschrieben. Bei Etanercept konnten bei einzelnen Patienten Antikörper (je nach Untersuchung 1-4%) nachgewiesen werden, allerdings keine neutralisierenden Antikörper. Bei Efalizumab treten Antikörper gegen die Substanz in ca. 6% der Fälle auf, bisher gibt es allerdings keine Hinweise auf eine inhibitorische Wirksamkeit dieser Antikörper (Fachinformationen Remicade® 2006, Enbrel® 2006, Raptiva® 2006). TBC1269Z als kleines Molekül besitzt hier einen Vorteil. Die Antigenität eines kleinen Moleküls ist meistens geringer, als die von großen Proteinen.

## 5.2 Verwendung von TBC1269Z zur Therapie der Psoriasis

Da bei der Psoriasis die übermäßige Einwanderung von Entzündungszellen in das betroffene Gewebe eine wichtige Rolle spielt, ist die Unterbrechung dieser Einwanderung, z.B. durch Hemmung der Adhäsion an der Gefäßwand, ein interessanter Ansatzpunkt. Hierbei spielen die Selektine eine wichtige Rolle (Friedrich M *et al.*, 2003, Schön MP *et al.*, 2003, Ley K *et al.*, 2003). Sie sind für den ersten Schritt der Migration verantwortlich, vermitteln die ersten Kontakte der Leukozyten mit den Zellen der Gefäßwand, damit die Aktivierungsfaktoren, wie z.B. Chemokine, die auf der Endothelzelloberfläche angelagert sind, durch Leukozyten erkannt werden können. Die Aktivierung der Zellen bewirkt dann z.B. über Konformationsänderungen von LFA-1 eine erhöhte Affinität zu den Adhäsionsmolekülen der Immunglobulin-Superfamilie wie ICAM-1 oder ICAM-2 auf den Endothelzellen. Dies führt zu einer festen Adhärenz, die für die Auswanderung der Zellen notwendig ist (Schön MP *et al.*, 2003). E-Selektin wird auf aktivierten Endothelzellen exprimiert, P-Selektin auf Endothelzellen und Thrombozyten und L-Selektin auf vielen Leukozyten (Ley K *et al.*, 2003). Die natürlichen Liganden sind komplexe Makromoleküle, die bestimmte Kohlenhydratstrukturen auf ihrer Oberfläche tragen. Eine dieser Kohlenhydratstrukturen ist sialyl-LewisX, ein Tetrasaccharid, das als Endstück vieler leukozytärer Glykoproteine oder -lipide vorkommt (Ehrhardt C *et al.*, 2004; Varki A 1994). An dieser Stelle greift TBC1269Z ein. Es wurde durch rationales Studiendesign generiert, d.h. die gewünschte Struktur über Computermodelle entwickelt und danach chemisch synthetisiert. Seine Struktur imitiert die Selektin-Liganden-Bindungsstelle und verhindert dadurch kompetitiv die Bindung zwischen den Selektinen und ihren Ligan-

den. TBC1269Z bindet an die Selektine wesentlich potenter als der natürliche Ligand sLex (Aydt E *et al.*, 2002, Kogan TP *et al.*, 1995 und 1998). Die ersten Untersuchungen zur Wirksamkeit von TBC1269Z wurden an leukozytären Zelllinien und an SCID-Maus-Modellen vorgenommen. Es zeigte sich, dass TBC1269Z die Bindung humaner Leukozyten an E- und P-Selektin hemmen kann. Außerdem führte es nach drei Wochen Anwendung zu der Rückbildung psoriatischer Plaques bzw. verhinderte die Entstehung von Psoriasisläsionen im Mausmodell (Friedrich M *et al.*, 2006). In Phase 1 und 2 Studien wurde TBC1269Z sowohl gesunden Probanden als auch Patienten mit Asthma bronchiale inhalativ und intravenös appliziert. Alle Ergebnisse wiesen auf ein gutes Sicherheitsprofil in der Kurzzeitanwendung hin (Aydt E *et al.*, 2002).

Außer TBC1269Z sind noch weitere Selektin-Antagonisten in der Entwicklung. Einige experimentelle Ansätze, die auf Selektin-Antagonismus ausgerichtet waren, wurden allerdings aus verschiedenen Gründen nicht weiter verfolgt. Cylexin, ein kleinmolekulares sLex-Kohlenhydratanalogon, zeigte sich aufgrund der ungünstigen Pharmakokinetik (kurze HWZ) und der geringen Bindungsaffinität in klinischen Studien ineffektiv (Schön MP *et al.*, 2003). CDP-850, ein monoklonaler Anti-E-Selektin-Antikörper, zeigte in einer klinischen Studie mit 13 Patienten keine Effektivität. Er verminderte weder die klinische Symptomatik noch die Anzahl der neutrophilen Granulozyten oder Lymphozyten in der Haut (Bhusan M *et al.*, 2002). Ein monoklonaler Antikörper gegen L-Selektin wies in einer placebokontrollierten Studie mit 20 Psoriasis-Patienten ebenfalls keine klinische Wirksamkeit auf (Hardtke M, 2006).

Efomycine M, ein E- und P-Selektin-Antagonist, zeigte *in vitro* die Fähigkeit, die Bindung von Leukozyten an E- und P-Selektin zu blockieren. Bei der intravitralen Mikroskopie von Mausohrgefäßen konnte ein Rückgang der Anzahl rollender Leukozyten nachgewiesen werden. In zwei Psoriasis-Maus-Modellen fand sich ebenfalls eine Effektivität von Efomycine M. Es führte zu einer dem Immunsuppressivum Ciclosporin vergleichbaren Rückbildung der Hautläsionen. Histologisch konnte ein Rückgang der Epidermisdicke und des zellulären Infiltrats demonstriert werden (Schön MP *et al.*, 2002). Erfahrungen beim Menschen liegen noch nicht vor.

Der von uns verwendete Panselektin-Antagonist TBC1269Z zeigte sowohl in den *in vitro*-Untersuchungen als auch *in vivo* in den Maus-Modellen gute Resultate (Friedrich M *et al.*, 2006, Schön MP *et al.*, 2002). Die Selektin-Antagonisten, die nur gegen ein Selektin gerichtet sind, zeigten in den vorklinischen Untersuchungen gute Ergebnisse, versagten aber in der klinischen Anwendung. Eine mögliche Erklärung bietet die hohe Re-

dundanz der Wirkungen zwischen den einzelnen Selektinen. Die einzelnen Selektine können die Funktionen der anderen zum Teil übernehmen bzw. ersetzen, besonders E- und P-Selektin, die hauptsächlich für die Bindung der Leukozyten an die Gefäßendothelien verantwortlich sind, aber auch L-Selektin. Endothelzellen können in chronisch entzündlicher Haut nicht nur E- und P-Selektin exprimieren, sondern auch periphere Lymphknotenadressine, Liganden für L-Selektin (Schön MP *et al.*, 2003, Tietz W *et al.*, 1998). Untersuchungen von Kulidjian AA *et al.* untermauern dies. In einem Mausmodell zeigte sich bei einer durch TNF- $\alpha$  induzierten Entzündung der Haut, dass E-Selektin in die Extravasation der Leukozyten involviert, aber nicht essentiell ist. P-Selektin kann die E-Selektin-Funktion übernehmen. Funktionelle Abwesenheit von E- oder P-Selektin allein beeinträchtigte die Migration nicht, die Hemmung beider Selektine aber signifikant (Kulidjian AA *et al.*, 2002). Ein Panselektin-Antagonist wie TBC1269Z, der alle drei Selektine hemmt, könnte also besser geeignet sein, die Migration zu hemmen, als ein Antagonist gegen einzelne Selektine. Ein therapeutischer Einsatz von TBC1269Z zur Behandlung der Psoriasis erschien daher sinnvoll.

### 5.3 Studiendesign

Aus den Erfahrungen mit den anderen Selektin-Antagonisten, die in präklinischen Modellen wirksam waren, aber in klinischen Studien versagten, und dem Wissen, dass die positiven Daten aus den SCID-Maus-Modellen nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden können, entschieden wir uns zunächst im Rahmen einer kleinen offenen „proof of concept“-Studie mit 5 Patienten, erste Hinweise zur Wirksamkeit von TBC1269Z und seiner Sicherheit und Verträglichkeit bei der Behandlung der Psoriasis beim Menschen zu analysieren. Zwei Wochen sind in Anbetracht der sonst deutlich längeren Therapiezeiten, die bei der Psoriasis notwendig sind, sehr kurz. Die Toxizitätsdaten erlaubten jedoch nur eine Anwendung über zwei Wochen, da die Sicherheitsdaten bei großen Säugern über eine längere Anwendung von TBC1269Z noch fehlten. Die systemische Bioverfügbarkeit nach subkutaner Gabe war durch Untersuchungen noch nicht belegt. Darum wählten wir die intraläsionale Applikation der Substanz in eine festgelegte Zielläsion, der an anderer Lokalisation eine Vergleichsläsion gegenübergestellt wurde. Dies ermöglichte die Beurteilung lokaler Reaktionen im Vergleich zu möglichen systemischen Wirkungen. Wir führten zusätzlich Pharmakokinetik-Untersuchungen durch, um die systemische Bioverfügbarkeit zu ermitteln. Die bisher verwendete i.v.-Applikation von TBC1269Z war für unsere Studie nicht geeignet, da die kurze Halbwert-

zeit bei i.v.-Gabe (Halbwertszeit dosisabhängig bis zu 4 Stunden) (Meyer M *et al.*, 2005) eine mehrfache tägliche Gabe notwendig gemacht hätte. Bei einer chronischen Erkrankung wie der Psoriasis ist ein solches Vorgehen nicht praktikabel.

### 5.3.1 Statistik

Die Aussagekraft einer statistischen Auswertung der Daten bei einer Fallzahl von 5 Patienten ist mit Vorsicht zu beurteilen. Um einen statistisch gesicherten Nachweis der Effektivität von TBC1269Z (z.B. eine hypothetische Verbesserung der PASI-Werte um 20%) zu führen, wäre eine deutlich höhere Fallzahl erforderlich gewesen. Außerdem wäre in diesem Fall auch eine Kontrollgruppe von Patienten mit einer anderen Standardtherapie und/oder mit Placebo notwendig gewesen. Wir verfolgten mit dieser Studie aber nur das Ziel, erste Hinweise auf die Wirksamkeit und Verträglichkeit zu finden. Die statistischen Signifikanzen, die wir mittels t-Test und Wilcoxon-Test ermittelten, können auf jeden Fall als Anhaltspunkt für Wirksamkeit und Verträglichkeit benutzt werden, müssen allerdings in folgenden Studien mit höheren Fallzahlen, Placebokontrolle und längerer Therapiedauer nachgeprüft werden.

### 5.4 Wirksamkeit von TBC1269Z

Als Hauptkriterium der Wirksamkeit wurde die Veränderung des PASI-Wertes gewählt. Alle Patienten profitierten von der Therapie. Bei den untersuchten fünf Patienten zeigte sich nach der kurzen Behandlungsdauer von zwei Wochen eine signifikante Abnahme des PASI von im Durchschnitt 25%. Die klinische Besserung bestätigte sich auch im histologischen Befund. Vier von fünf Patienten wiesen eine Abnahme der Epidermisdicke auf, im Durchschnitt um  $36 \mu\text{m} \pm 30 \mu\text{m}$ , maximal um  $80 \mu\text{m}$ . Zusätzlich konnte in weiteren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe ein Rückgang der CD3mRNA in der läsionalen Haut nachgewiesen werden. Dies läßt eine Abnahme des Lymphozyteninfiltrats vermuten (Friedrich M *et al.*, 2006). Die Besserung des Hautbefundes ließ sich mit dem PGA, der ein globales Maß für den Schweregrad der Psoriasis darstellt, noch nicht erfassen.

### 5.4.1 Vergleich mit anderen Therapien

Eine Gegenüberstellung mit den Biologics, die in der Entwicklung oder bereits in der klinischen Anwendung sind, zeigt, dass die Wirksamkeit von TBC1269Z im entsprechenden Zeitrahmen den Biologics vergleichbar ist (Tab. 5.4.1.1).

Substanz	Patientenanzahl in der Studie	PASI zu Beginn	PASI-Abnahme nach zwei Wochen	Abnahme der Epidermisdicke	Abnahme der CD3+ Zellen in der Haut
<b>TBC1269Z</b>	<b>5</b>	<b>12,8 ± 1,9</b>	<b>25%</b>	<b>36 µm</b>	<b>CD3mRNA-Abnahme bei 4/5 Patienten</b>
Infliximab 5 bzw 10 mg/kg	33	22,1 ± 11,5 bzw. 26,6 ± 10,3	30 bzw. 43%	47,9 µm bzw. 33,6 µm	Ja
Etanercept 2 x 25 bzw. 50 mg/Woche	583	Median zwischen 16 und 16,9	16 bzw. 18%	Keine Angabe	Keine Angabe
Efalizumab 0,3 – 1,0 mg/kg	39	22,85 bzw. 25,7	9,5 bzw. 22%	Nach 4 Wochen: 40 µm bzw. 104 µm	Ja
Alefacept 15 mg/Woche	229	Median zwischen 14 und 20	10%	Nur Auswertung von Patienten, die als Responder eingestuft wurden (12/22): ca. 85 µm	Ja

Tab. 5.4.1.1 Vergleich unterschiedlicher Biologics mit TBC1269Z nach zwei Wochen Therapie. Als Parameter sind der PASI-Ausgangswert und die Verbesserung nach 2 Wochen in % vom Ausgangswert sowie die Abnahme der Epidermisdicke und der CD3+Zellen in der Haut angegeben (Referenzen s. Text).

Vergleicht man die von uns erhobenen Daten mit Studien von Infliximab, einem der bisher wirksamsten bekannten Biologics in der Psoriasisstherapie, führt eine zweiwöchige Behandlung zu ähnlichen Ergebnissen wie TBC1269Z. Infliximab ist ein monoklonaler Antikörper gegen TNF- $\alpha$ , welches als proinflammatorisches Zytokin in der Pathogenese der Psoriasis eine vorherrschende Rolle spielt. In einer Studie mit 33 Patienten, die entweder Placebo oder 5 bzw. 10 mg Infliximab erhielten (Gottlieb AB *et al.*, 2003, Chaudhari U *et al.*, 2001), zeigte sich nach zwei Wochen eine signifikante PASI-Abnahme von etwa 30 bzw. 43%. Auch die Reduktion der Epidermisdicke, die bei TBC1269Z im Schnitt 36 µm betrug, ist mit Infliximab vergleichbar. In der 5-mg-Gruppe betrug die Abnahme nach zwei Wochen 47.9 µm, in der 10-mg-Gruppe 33,6 µm.

Auch bei Efalizumab, das seine Wirksamkeit zum Teil wie TBC1269Z über die Migrationshemmung entfaltet, finden sich ähnliche Resultate. In einer Studie mit 39 Patienten (Gottlieb AB *et al.*, 2002) wurden die Patienten entweder mit einer Dosis von 0,3 mg/kg pro Woche oder nach einer initialen Dosis von 0,3 mg/kg KG nachfolgend mit 0,6 bzw. 1,0 mg/kg KG behandelt. Der PASI-Score verminderte sich in den beiden Gruppen nach 2 Wochen um 9,5% bzw. 22,2%. Die erste Messung der Abnahme der Epidermisdicke wurde allerdings erst nach 28 Tagen durchgeführt. Die Abnahme war signifikant und bewegte sich im Mittel um 40 µm (Dosis von 0,3 mg/kg pro Woche) bzw. 104 µm (initial 0,3 mg/kg, gefolgt von 0,6 bzw. 1,0 mg/Woche). Es zeigte sich für die beiden oben genannten Gruppen auch eine signifikante Abnahme der T-Zellen in der Epidermis, vor allem in den ersten 28 Tagen.

Etanercept ist ein Fusionsprotein, das wie Infliximab gegen TNF- $\alpha$  gerichtet ist. In der Gruppe, die 2 x 25 mg/Woche erhielt, fand sich nach zwei Wochen eine PASI-Verbesserung um 16%, bei der 2 x 50 mg-Gruppe um 18%. Leider liegen uns keine histologischen Untersuchungen vor, so dass hier kein direkter Vergleich mit unseren Ergebnissen möglich ist (Papp KA *et al.*, 2005; Gaspari AA *et al.*, 2002). Bei einer Alefacept-Studie mit 229 Patienten war der PASI-Score nach zwei Wochen um ca. 10% vermindert, nach 12 Wochen lagen die Raten je nach Dosisgruppe bei 38-53%. Unter Therapie zeigte sich auch schon nach 2 Wochen eine Verminderung der CD4+ und CD8+ Gedächtniszellen im Blut sowie der CD3+T-Zellen in der Haut (Ellis CN *et al.*, 2001, Chamian F *et al.*, 2005). Im Vergleich zu den Biologics zeigt TBC1269Z nach den ersten Daten eine gute Wirksamkeit, und eine weitere Entwicklung scheint sinnvoll.

Ein Vergleich mit den bewährten systemischen Standardtherapien ist nur begrenzt möglich. Zum einen liegen für diese Behandlungen nur wenige validierte klinische Studien vor, zum anderen findet man kaum Daten, die zum direkten Vergleich der Wirksamkeit nach 2 Wochen Therapie herangezogen werden könnten. Die klassischen Systemtherapeutika bei Psoriasis wie MTX und CyA weisen zahlreiche Nebenwirkungen (Hepatotoxizität von MTX, Nephrotoxizität und Neurotoxizität von Ciclosporin) und damit auch Kontraindikationen auf, die ihre Anwendung einschränken, speziell in der Langzeitanwendung (Philipp S *et al.*, 2006). Bei der Fumarsäure setzt die Wirkung erst spät ein, nach ca. 4-6 Wochen, da man die Dosierung aufgrund der bekannten gastrointestinalen Nebenwirkungen langsam einschleichen muss. Ein Vergleich der Wirksamkeit nach zwei Wochen ist dadurch nicht möglich.

In einer Konsensuskonferenz führender Dermatologen (Sterry W *et al.*, 2004) wurde

den Biologics eine wichtige Rolle in der jetzigen und zukünftigen Psoriasis­therapie eingeräumt, da sie ein besseres Sicherheitsprofil aufweisen. Außerdem sind sie bei Patienten einsetzbar, die gegen die bekannten systemischen Therapien Kontraindikationen besitzen. TBC1269Z könnte, ähnlich wie die Biologics, eine Bereicherung der bisher üblichen Therapieschemata darstellen.

#### 5.4.2 Wirkungs­dauer

Bei TBC1269Z zeigte sich, ähnlich wie bei Efalizumab (Leonardi CL 2004), ein rascher Verlust der Effektivität nach Absetzen. Nach Ende der Behandlung mit TBC1269Z kam es bei drei Patienten zu einem Relapse (PASI-Verschlechterung um 50%) innerhalb der zweiwöchigen Nachbeobachtungsphase, bei einem Patienten sogar zu einem Rebound (PASI-Verschlechterung über den Ausgangswert vor Therapie). TBC1269Z hat nur eine kurze Halbwertszeit, in unserer Studie nach 14 Tagen Behandlung etwa 8 Stunden, und verliert damit schnell seine migrationshemmende Wirkung. Möglicherweise befanden sich nach der kurzen Behandlungsdauer noch viele aktivierte Immunzellen in der Haut, die über eine Zytokinkaskade sofort wieder T-Zellen aus dem Blut rekrutierten, oder aber die T-Zellen, die durch TBC1269Z an der Einwanderung gehindert wurden, befanden sich noch im peripheren Blut und wanderten nach Elimination von TBC1269Z sofort wieder in die Haut ein.

Nach Absetzen von Efalizumab, das u.a. ebenfalls die Migration hemmt, trat in einer Studie bei Respondern ein Relapse im Mittel nach 59-74 Tagen auf. Die Eliminationshalbwertszeit der Substanz liegt bei 5,5-10,5 Tage, im steady-state bei 25 Tagen (Fachinformation Raptiva®, 2006). In bis zu 14% der Patienten werden Rebounds beschrieben (Leonardi CL 2004). Efalizumab wird deshalb in Form einer Dauertherapie angewendet. Das ist sicherlich auch bei TBC1269Z in Betracht zu ziehen.

Alefacept zeigt bei Respondern zum Teil eine sehr lange Wirksamkeit nach Absetzen, im Schnitt von 7-9 Monaten (Ellis CN *et al.*, 2001, Gottlieb AB, 2005). Diese lange Wirkdauer könnte an der Depletion und damit verminderter Anzahl von Gedächtnis-T-Zellen liegen, die ein erneutes Auftreten der Psoriasisläsionen verhindert. Bei einer Großzahl der Patienten ist die Anzahl der zirkulierenden CD4+ und CD8+Lymphozyten im Blut vermindert, so dass die speziellen autoreaktiven T-Zellen nicht schnell rekrutiert werden können.

Bei Infliximab und Etanercept kommt es in der Mehrzahl der Fälle nach einer Phase der Erhaltung zum Rezidiv. Infliximab wird während der Erhaltungstherapie normalerweise

in achtwöchigen Abständen verabreicht. Die mittlere terminale Halbwertszeit liegt bei 8-9,5 Tagen, es ist über mindestens 8 Wochen im Serum nachweisbar. Beendet man die Therapie, zeigt sich bei einigen ein lang anhaltender Effekt, meist aber kommt es langsam zu einem erneuten Auftreten der Hautveränderungen (Gottlieb AB *et al.*, 2003, Cassano N *et al.*, 2004). Bei Etanercept zeigten sich bei Patienten mit einer Psoriasis-Arthritis innerhalb eines Monats nach Absetzen erneut Symptome, bei der Psoriasis vulgaris trat ein Rezidiv im Schnitt nach drei Monaten auf (Fachinformation Enbrel®, 2006). Die Hemmung des Zytokins TNF- $\alpha$  führt zur Entzündungshemmung und damit Rückbildung der Psoriasisläsionen, nach Eliminierung der Antagonisten bzw. der Antikörper, und damit Beendigung der Wirkung, gewinnt die Hauterkrankung erneut an Aktivität.

### 5.4.3 Systemische Wirksamkeit

Die Pharmakokinetik-Untersuchungen in dieser Studie beweisen eine systemische Bioverfügbarkeit von TBC1269Z. Interessant im Hinblick auf die systemische Wirksamkeit ist die Gegenüberstellung der Ziel- und Vergleichsläsionen. Wir konnten bei der Abnahme des Erythems, der Schuppung, der Induration oder der Fläche der Plaques keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Läsionen finden. Dies spricht gegen eine lokale und für eine systemische Wirksamkeit von TBC1269Z. Auch die Abnahme des PASI-Scores, der ja auf den ganzen Körper bezogen ermittelt wurde und bei bloßer lokaler Wirkung keine signifikante Veränderung erfahren hätte, legt eine systemische Wirksamkeit nahe.

Die maximalen Konzentrationen, die eine, zwei bzw. vier Stunden nach Injektion von TBC1269Z erreicht wurden, schwankten bei den Patienten an Tag 1 zwischen 1190 und 2420 ng/ml bzw. an Tag 14 zwischen 1300 und 5720 ng/ml. Die 24 Stunden nach Injektion noch vorhandenen Konzentrationen bewegten sich bei vier Patienten von der unteren Nachweisgrenze (29,9 ng/ml) bis zu Werten von maximal 179 ng/ml, bei einem Patienten lagen sie permanent deutlich höher, bei 259 bis 545 ng/ml. Bei diesem Patienten (Pat. 001) haben wir weder im Sinne einer besseren Wirksamkeit noch im Sinne verstärkt auftretender unerwünschter Wirkungen eine positive Korrelation gefunden. Und bei Pat. 002, der klinisch gut auf die Therapie ansprach, lagen die Konzentrationen teilweise (Tag 3-6) unter der Nachweisgrenze von 29,9 ng/ml. Insgesamt ließ sich zwischen der Höhe der erreichten Plasmakonzentrationen und der klinischen Wirksamkeit anhand des PASI keine positive Korrelation finden.

Eine neue Phase-1-Studie (Pharmakokinetikstudie) mit TBC1269Z demonstriert, dass nach einer täglichen Gabe von 200 mg TBC1269Z pro Tag ähnliche Plasmakonzentrationen der Testsubstanz erreicht werden, wie bei der Applikation von 300 mg TBC1269Z pro Tag (Meyer M *et al.*, 2007). Das lässt uns hoffen, dass mit einer einmaligen Gabe von 200 mg eine therapeutische Wirkung erreicht werden kann.

Die höheren maximalen Plasmaspiegel bzw. die verlängerte HWZ von TBC1269Z beim Vergleich der Daten von Tag 1 und Tag 14 sprechen für eine leichte Akkumulation nach zwei Wochen täglicher Therapie. Um genauere Aussagen treffen zu können, ist es notwendig, in folgenden Studien weitere Pharmakokinetik-Untersuchungen durchzuführen, speziell in den ersten Stunden nach Injektion. Erst dann ist eine genaue Berechnung der tatsächlichen TBC1269Z-Konzentration, der Bioverfügbarkeit und der genauen Eliminationsdaten möglich.

#### 5.4.4 Anwendungsmöglichkeiten

Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von TBC1269Z ist zunächst die therapeutische Gabe in Form einer Dauertherapie in Betracht zu ziehen. Daneben besteht aber auch die Option, TBC1269Z nach Abklingen eines akuten Schubes zur Erhaltung einer Remission einzusetzen. Als Pansелеktin-Antagonist verhindert es die Einwanderung der aktivierten T-Zellen in die Haut. Dieser Prozess steht am Anfang der Entzündungskaskade. Die Anwendung von TBC1269Z in der Remission könnte die Entstehung von Hautveränderungen von vornherein verhindern. Ähnliche Überlegungen wurden schon für den Einsatz von IL-10 gemacht. Nachdem es in ersten klinischen Studien seine Wirksamkeit bei Psoriasis-Patienten bewiesen hatte (Asadullah K *et al.*, 1999), wurde in einer weiteren Studie überprüft, ob es die erscheinungsfreie Zeit verlängern kann. 17 Patienten mit bekannter Psoriasis in Remission wurden in die Studie eingeschlossen, sieben erhielten Verum und zehn Placebo. Die Patienten wurden über vier Monate beobachtet. In der Placebogruppe zeigten neun Patienten einen Relapse, in der Verumgruppe nur zwei, zudem war die Zeit bis zum Relapse in der Verumgruppe deutlich länger ( $101,6 \pm 12,6$  Tage vs  $66,4 \pm 10,4$  Tage) (Friedrich M *et al.*, 2002). Eine vergleichbare Untersuchung mit TBC1269Z wäre wünschenswert. Im Hinblick auf die hohen Kosten der Biologics während einer Dauertherapie und den unerwünschten Wirkungen der bekannten systemischen Therapeutika wie Ciclosporin, Methotrexat oder Retinoiden bei Langzeitanwendung könnte nach Ende des akuten Schubs ein Wechsel zu TBC1269Z durchaus vorteilhaft sein.

Die täglichen Besuche in der Klinik für die Injektionen waren während der Studienzeit kein Problem. Die Patienten erhielten insgesamt 6 ml TBC1269Z, d.h. drei Injektionen täglich, da man nicht mehr als 2 ml Lösung pro Injektion subkutan applizieren kann. Die tägliche subkutane Gabe von 6 ml TBC1269Z wäre für die spätere Daueranwendung sicherlich nicht optimal. Neuere Untersuchungsergebnisse zeigen, dass nach Gabe von 200 mg (= 2ml) ein Plasma-Plateau erreicht wird, das durch Gabe höherer Dosen nicht deutlich gesteigert wird (Meyer *et al.*, 2007). Dies stimmt mich optimistisch, dass in der Zukunft mit einer einmaligen Gabe eine therapeutische Wirkung zu erreichen ist. Die subkutanen Injektionen können ambulant verabreicht werden bzw. werden von den Patienten selbst durchgeführt. Gute Erfahrungen hat man dabei bereits mit den subkutan zu injizierenden Therapeutika wie Efalizumab oder Etanercept gemacht (Craze M *et al.*, 2003).

Bei leichter Psoriasis sind die lokalen Therapien eine gute Alternative, aber bei schwerem Befall mindern diese Therapieformen, wie z.B. das zeitaufwendige mehrmals tägliche Eincremen des Körpers, Verfärbungen durch lokale Therapien mit Dithranol, Geruchsbelästigung bei teerhaltigen Präparaten und die notwendigen Besuche beim Arzt oder in der Klinik für z.B. UV-Therapien, die Lebensqualität der Patienten beträchtlich (Finlay AJ *et al.*, 2004, Sterry W *et al.*, 2004). Im Vergleich zu den Biologics, die ebenfalls subkutan, intramuskulär oder sogar intravenös gegeben werden müssen, ist die subkutane Gabe von TBC1269Z eine akzeptable Darreichungsform.

Wünschenswert wäre eine Möglichkeit der oralen Gabe von TBC1269Z. Im Gegensatz zu den Biologics (Antikörper, Fusionsproteine etc.), die bei der oralen Aufnahme verdaut und damit unwirksam gemacht werden, ist es denkbar, eine oral verfügbare Verabreichungsform von TBC1269Z, einem kleinmolekularen Selektin-Antagonisten, zu entwickeln. Außerdem ist eine topische Applikation von TBC1269Z in der Entwicklung. In einer Phase-2a-Studie konnten erste Hinweise für die Verträglichkeit und Wirksamkeit einer 1%-Bimosiamose (TBC1269Z)-Mikroemulsion nachgewiesen werden (Friedrich M *et al.*, 2004).

## **5.5 Verträglichkeit und Sicherheit der Therapie mit TBC1269Z**

Die zweiwöchige Therapie mit TBC1269Z war insgesamt sehr gut verträglich und zeigte nur marginale Änderungen der untersuchten Sicherheitsparameter. Während der gesamten Studiendauer kam es zu keinem schwerwiegenden unerwünschten Ereignis. Alle aufgetretenen Symptome waren mild bis mäßig schwer ausgeprägt und bildeten sich

vollständig zurück. Nur bei den drei Reaktionen an der Injektionsstelle (Erythem bzw. Hämatom bei 2/5 Patienten) ist die Medikation als möglicherweise ursächlich angesehen worden. Dies ist bei der subkutanen Injektion von Medikamenten nicht ungewöhnlich, schon das Einbringen einer Lösung in die Haut kann eine Irritation verursachen.

### 5.5.1 Vitalzeichen und klinische Chemie

Die Ergebnisse der Sicherheitsuntersuchungen wie Vitalzeichen (Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur) und EKG veränderten sich während der Studie nicht signifikant. Bei den körperlichen Untersuchungen fanden sich keine pathologischen Befunde. Die grenzwertig erhöhten Blutdruckwerte von Pat. 004 (140/100) waren schon vor Studienbeginn bekannt und veränderten sich unter der Therapie nicht. Außerdem wies dieser Patient vereinzelt eine erhöhte Herzfrequenz in Ruhe auf, bei der Screeninguntersuchung 96/min und einmalig 104/min bei den Messungen an Tag 1 bzw. 96/min an Tag 14. An den anderen Tagen lagen die Werte im Normbereich. Da die erhöhten Herzfrequenzen bereits beim Screening auftraten und jeweils an den Tagen, in denen längere Klinikaufenthalte nötig waren, könnte auch Nervosität durch Studienuntersuchungen und Studiendurchführungen dafür verantwortlich sein.

Im EKG zeigte sich bei drei Patienten eine klinisch nicht signifikante Sinusbradykardie, die allerdings mit Ausnahme von Pat. 003 auch schon vor der ersten Medikation bestanden hatte und sich durch die Therapie nicht verstärkte. Pat. 003 zeigte die Bradykardie nur einmalig in der Nachbeobachtungsphase. Bei jungen Menschen oder Menschen, die in ihrer Jugend sportlich aktiv waren, ist eine Herzfrequenz von unter 60/min unbedenklich, solange sie nicht dauerhaft besteht oder mit klinischen Symptomen wie Schwindel einhergeht (Löllgen H *et al.*, 2001).

Bei den weiteren Sicherheitsuntersuchungen (Blutbild, Nierenparameter, Leberparameter, Blutfette, Glucose, Gerinnung) zeigten sich nur wenige signifikanten Veränderungen während der zweiwöchigen Behandlungsdauer mit TBC1269Z. Einzelne Werte für Bilirubin, GOT und die Kreatinkinase lagen außerhalb des Referenzbereichs. Bilirubin war bei Pat. 002 an Tag 14 einmalig über den Normbereich erhöht. Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der Bilirubinwerte während der Studie, aber bei drei von fünf Patienten erhöhte sich der Bilirubinwert unter Therapie. Dies könnte am Abbau von TBC1269Z liegen, das zum großen Teil über die Galle und nachfolgend über die Fäzes ausgeschieden wird (Meyer M *et al.*, 2005). TBC1269Z könnte die Bilirubinausscheidung in die Gallekanälchen kompetitiv hemmen. Die weiteren Leberparameter wie Alka-

lische Phosphatase, Albumin und Transaminasen waren während der Therapie konstant, nur die  $\gamma$ -GT zeigte einen transienten signifikanten Anstieg bis Tag 7, gefolgt von einem Abfall in der zweiten Woche. Nach Absetzen der Medikation jedoch stiegen die GPT und besonders die GOT an. Der Anstieg der GOT lag vor allem an Pat. 005, von 12 U/l an Tag 14 erhöhte sich die GOT bei ihm auf 31 U/l an Tag 28. Dies liegt außerhalb des Referenzbereichs. Wir vermuten, dass die Gründe dafür außerhalb der TBC1269Z-Therapie zu suchen sind.

An Tag 28 war ebenfalls die zuvor völlig unauffällige CK dieses Patienten auf 445 U/l erhöht. Ein Herzinfarkt konnte aufgrund der gemessenen unauffälligen CK-MB ausgeschlossen werden. Auf Nachfrage gab der Patient eine außergewöhnliche sportliche Belastung durch Joggen an, die auch mit einem Muskelkater einherging. Durch Muskelschädigung sind sowohl die erhöhte CK als auch die erhöhte GOT gut zu erklären. Eine aus Sicherheitsgründen durchgeführte Kontrolle nach zwei Wochen zeigte, dass sich die CK wieder komplett normalisiert hatte (28U/l). Auch Pat. 001 wies während der zweiwöchigen Behandlung einen leichten Anstieg der CK auf. Er hatte über Muskelkrämpfe im rechten Unterschenkel geklagt. Dies könnte die erhöhten CK-Werte erklären, die sich an Tag 28 bereits wieder normalisiert hatten.

Die Nieren wurden in ihrer Funktion nicht beeinflusst, die Elektrolyte (Natrium, Kalium und Kalzium) sowie die Harnsäure veränderten sich durch die Studienteilnahme nicht. Kreatinin zeigte einen signifikanten Anstieg von Tag 2 bis Tag 7, die Werte bewegten sich aber innerhalb des Referenzbereichs. Diese Tendenz ist in weiteren Studien nochmals genauer zu betrachten. Bisher wird TBC1269Z nicht als nephrotoxisch betrachtet.

Die knapp unter dem Normbereich liegenden Werte der Erythrozyten von Pat. 005 waren schon vor Studienbeginn bekannt und veränderten sich nicht. Die einzigen signifikanten Veränderungen des Blutbildes betrafen die Werte von MCH und MCHC, die sich von Tag 2 und Tag 4 bis Tag 14 erhöhten, und MCV, die sich von Tag 1 bis Tag 14 verminderten. Bei zwei Patienten lagen einzelne Werte knapp über dem oberen Normwert. Dies sollte in folgenden Untersuchungen beobachtet werden.

### **5.5.2 Einfluss von TBC1269Z auf immunologische Parameter**

Die Leukozyten und ihre Subpopulationen (Lymphozyten, neutrophile Granulozyten usw.) zeigten keine signifikanten Änderungen oder pathologischen Werte außerhalb des Referenzbereiches. In den durchflusszytometrischen Untersuchungen der Lympho-

zyten (CD3+Zellen) und ihrer Untergruppen (CD4+, CD8+Zellen) wiesen die Werte der fünf Patienten eine große Variabilität auf, eine Signifikanz der Veränderungen konnten wir nicht feststellen. Drei von fünf Patienten zeigten zunächst einen diskreten Abfall der CD3+Zellen, zwei dagegen einen leichten Anstieg. Nach einer Woche fand sich bei allen Patienten, außer Pat. 005, eine Zunahme der T-Zellen. Im Durchschnitt fielen die CD3+Zellen in der ersten Woche von  $1085 \pm 65$  Zellen/ $\mu$ l an Tag 1 auf  $1049 \pm 109$  Zellen/ $\mu$ l ab, dann stiegen sie in der zweiten Woche auf  $1119 \pm 124$  Zellen/ $\mu$ l an.

Ähnliches gilt für die Mittelwerte der CD4+ und CD8+Zellen. Im Gegensatz zu TBC1269Z findet sich durch die Migrationshemmung bei Efalizumab bei 40-50% der Patienten eine anhaltende asymptomatische Leukozytose. Die Werte sind dabei auf das 2,5-bis 3,5-fache des oberen Grenzwertes gesteigert. Die erhöhten Werte treten innerhalb der ersten 24 Stunden nach der ersten Dosis auf, bleiben unter Therapie erhöht und bilden sich nach Ende der Therapie meist innerhalb von 8 Wochen zurück. Alle Lymphozyten sind davon betroffen, am wenigsten deutlich die CD4+Zellen und die NK-Zellen (Fachinformation Raptiva®, 2006).

Unter der Therapie mit TBC1269Z verminderte sich die CD3mRNA-Expression in der läsionalen Haut bei 4/5 Patienten um bis zu 63%. Dies legt die Vermutung nahe, dass bei diesen Patienten die Anzahl der Lymphozyten in der Haut abgenommen hat (Friedrich M *et al.*, 2006). Die Anzahl peripherer T-Zellen (CD3+) im Blut zeigte jedoch keine signifikanten Veränderungen, auch wenn sich bei 4/5 Patienten in der zweiten Woche ein tendenzieller Anstieg im peripheren Blut feststellen ließ. Wie lässt sich das erklären? Was passiert mit den Leukozyten, die an der Einwanderung in die Haut gehindert werden?

Für ein Verbleiben der Zellen im Blut spricht, dass es nach Absetzen von TBC1269Z relativ schnell zu einer erneuten Verschlechterung des Hautbefundes gekommen ist, d.h. die noch im Blut vorhandenen Zellen nach Ende der Selektin-Blockade in die Haut einwandern und die Entzündungsreaktion wieder in Gang setzen. Aber die Anzahl der T-Zellen im Blut ist in unseren Untersuchungen nicht signifikant gestiegen. Eine Erklärung dafür wäre eine T-Zell-Depletion. Bisher gibt es in der Literatur keine Hinweise, dass TBC1269Z oder Selektine selbst eine Rolle bei der T-Zell-Depletion spielen. Aber weitere Interaktionen von TBC1269Z sind denkbar, z.B. über die direkte Blockierung von Zell-Zell-Signalwegen. Hicks AER *et al.* vermuten, dass selbst die migrationshemmende Wirkung von TBC1269Z nicht über kompetitive Hemmung der Selektinbindung an die Liganden zustande kommt, sondern TBC1269Z z.B. E-Selektin als mögliches moleku-

lares Target für die antiinflammatorischen Effekte nutzen könnte (Hicks AER *et al.*, 2005). Die Apoptose der Zellen wäre eine weitere Möglichkeit. In einer Untersuchung eines neuen Anti-PSGL1-Antikörpers konnte dessen Fähigkeit T-Zellen in Apoptose zu bringen, demonstriert werden (Huang CC *et al.*, 2005). Deshalb ist es auch möglich, dass TBC1269Z durch die Verhinderung der Interaktion zwischen Selektinen und PSGL-1 Apoptose in T-Zellen induzieren könnte. In einer geplanten Folgestudie sollten die peripheren Leukozyten auf ihre Apoptosefähigkeit untersucht werden.

Wenn die T-Zellen nicht depletiert werden und nicht in Apoptose gehen, ist dann eine Einwanderung in andere Organe als die Haut denkbar? Die Selektine sind allerdings nicht nur spezifisch für die Migration in die Haut verantwortlich. E-Selektin z.B. wird bei Entzündungen in den Gefäßen vieler Gewebe exprimiert, u.a. in Gelenken bei Arthritis oder in Herz- und Nierentransplantaten, die eine Abstoßung erfahren (Tedder TF *et al.*, 1995). TBC1269Z reduzierte z.B. die Infiltration von mononukleären Zellen in Nierentransplantate bei Ratten und verlängerte so deren Überleben (Langer R *et al.*, 2004). In Untersuchungen mit selektindefizienten Mäusen zeigte sich auch die Wichtigkeit aller drei Selektine beim Rollen von Leukozyten in Kremasterven oder bei der Migration in das Peritoneum (Tedder TF *et al.*, 1995). Die Selektine spielen also bei der Einwanderung von Leukozyten in viele Gewebe eine Rolle.

Teilweise können aber auch Integrine, z.B. VLA-4, die Rolle von Selektinen übernehmen, besonders in Gefäßen ohne große Scherkräfte (Gaboury JP *et al.*, 1994). In einer Untersuchung von Kulidjian AA *et al.* über die Rolle von E- und P-Selektin bei der Migration von T-Zellen in die Haut (Mäuse) zeigte sich, dass beiden Selektinen besonders bei TNF- $\alpha$  induzierten Entzündungen eine wichtige Rolle zukommt. Bei Hemmung beider Selektine resultierte aber nie eine komplette Blockade der Leukozytenmigration (maximal um 80%). Sie vermuten, dass neben L-Selektin VLA-4 selektinunabhängig ein Rollen der Leukozyten ermöglicht. Eine Einwanderung der Zellen in andere Organe ist bei einer kompletten Selektin-Blockade also denkbar.

Bei L-Selektin-defizienten Mäusen war die Einwanderung von Lymphozyten zwar in die sekundären lymphatischen Organe, wie Lymphknoten oder Peyer-Plaques, deutlich vermindert, resultierte dafür aber in einer Erhöhung der Anzahl residenter Lymphozyten in der Milz (Tedder TF *et al.*, 1995). Auch bei der Metastasierung von Tumoren spielen Selektine eine organspezifische Rolle. In einer Untersuchung von E-Selektin-positiven bzw. E-Selektin-negativen-Melanomzellen in Mäusen, die E-Selektin entweder konstitutiv in allen Organen oder nur speziell in der Leber exprimierten, zeigte sich, dass sich in

beiden Gruppen jeweils Lungentumore entwickelten, aber nur die E-Selektin-positiven Zellen auch zu einer Lebermetastasierung führten (Gassmann P *et al.*, 2004). Bei der Absiedlung des Tumors in die Lunge scheint E-Selektin in diesem Fall keine Rolle zu spielen, wohl aber bei der Ausbreitung in die Leber. Ob und in welchem Ausmaß die an der Migration in die Haut gehinderten Zellen in andere Organe einwandern können, ist bisher nicht untersucht worden, bleibt aber eine interessante Fragestellung, die es noch zu klären gilt.

### 5.5.3 Panselektin-Antagonismus und Infektionen

Während unserer Studie wurde besonders streng auf das Auftreten von Infektionen geachtet. Bei einem Patienten (Pat. 003) kam es am siebten Tag nach der Entnahme zu einer lokalen Entzündung der Hautprobenentnahmestelle, die man mit der immunsuppressiven Wirkung von TBC1269Z in Verbindung bringen könnte. Dagegen spricht, dass bei der zweiten Hautprobe nach 14 Tagen Behandlung mit TBC1269Z keine Entzündung auftrat, und auch bei keinem der anderen Patienten. Im Übrigen finden sich auch bei immunkompetenten Patienten nach einer Probeentnahme hin und wieder lokale Entzündungsreaktionen. Derselbe Patient entwickelte eine milde Otitis externa, wahrscheinlich begünstigt durch den Psoriasisbefall des Gehörgangs. Und 12 Tage nach Absetzen der Behandlung mit TBC1269Z, also zu einem Zeitpunkt, an dem dessen Wirkung aufgrund der kurzen Halbwertszeit (8 Stunden) schon beendet war, wurde bei Pat. 004 eine Otitis media diagnostiziert. Eine ursächliche Wirkung ist daher unwahrscheinlich. Trotzdem sollte man, wie bei allen Medikamenten, die das Immunsystem beeinflussen, bei weiteren Studien gezielt auf auftretende Infektionen achten, auch im Vergleich zu den dann notwendigen Kontrollgruppen (Placebo).

Manche Autoren vermuten, dass ein erhöhtes Risiko für Infektionen die Langzeitanwendung von Panselektin-Antagonisten unmöglich machen könnte (Ley K *et al.*, 2003, Vestweber D *et al.*, 1999). Dazu sind noch keine Daten vorhanden, aber Hinweise kann man anhand einer genetisch bedingten Erkrankung finden, bei der die Patienten einen Defekt der Selektin-Liganden-Expression aufweisen, genannt Leukozytenadhäsionsdefizit Typ II (LAD-II). Das ist eine sehr seltene Erkrankung; in den USA wurden fünf Fälle beschrieben, international finden sich vor allem Berichte aus dem mittleren Osten. Verursacht wird sie durch eine Mutation in einem Gen, das sLex fukosyliert. Der Defekt liegt in der Regulierung der Guanosin-5-Diphosphat-D-Mannose-Dehydratase, die Mannose in Fukose überführt. Der wichtigste Selektin-Ligand sLex fehlt bei der LAD-II.

Dieser Defekt entspricht weitgehend der Hemmung der Selektin-Bindung an sLex durch TBC1269Z. Typische Haut- bzw. Schleimhautinfektionen mit Leukozytose und Abwesenheit von Eiter können beobachtet werden, vor allem im Kindesalter. Die neutrophilen Granulozyten sind reif, zeigen Vakuolen und toxische Granula bei Vorhandensein einer Infektion. Es gibt keine Defekte der Lymphozyten oder Antikörperfunktion. Bezüglich Infektionen ist bei den Betroffenen eine prophylaktische Antibiose nicht erforderlich. Probleme bei chirurgischen Eingriffen wurden nicht beobachtet. Häufig leiden die Erwachsenen unter einer chronischen Parodontose, und bei bakteriellen Infektionen ist eine aggressive first-line-Antibiotikatherapie notwendig (Nervi SJ *et al.*, 2006, Etzioni A *et al.*, 2000). Aber Patienten mit LAD-II sterben meist nicht durch Infektionen. Im Gegensatz dazu ist die Infektionsgefahr bei dem LAD-I, der einen Defekt der  $\beta$ -Integrine aufweist, viel größer. Ein Anhaltspunkt dafür, dass eine langfristige Gabe eines Panselektin-Antagonisten unmöglich ist, lässt sich daraus nicht ableiten. Erste Daten weisen darauf hin, dass es bei einer Gabe von TBC1269Z über drei Monate weder bei Ratten noch bei Hunden zu einer erhöhten Infektanfälligkeit gekommen ist (Bock D *et al.*, 2006).

#### 5.5.4 Einfluss von TBC1269Z auf die Gerinnung

Aufgrund der Expression von P-Selektin auf Thrombozyten interessierte uns besonders, ob die Blockade der Selektine einen Einfluss auf die Blutgerinnung hat. Im Rahmen der Studie kam es zu keiner signifikanten Änderung der Gerinnungsparameter aPTT, INR oder des Quickwerts. Auch die Anzahl der Thrombozyten bewegte sich im Referenzbereich. Sie zeigten während der Therapie einen wechselhaften Verlauf, bei 3/5 Patienten einen leichten Anstieg, so dass im Mittel die Werte auf 102% an Tag 14 anstiegen. Interessant ist allerdings, dass alle fünf Patienten nach Ende der Therapie einen signifikanten Abfall der Thrombozytenzahlen aufwiesen, im Durchschnitt auf 94,38% an Tag 28. Im Mittel fielen die Werte von  $263/\text{nl} \pm 40,8$  an Tag 14 auf  $243/\text{nl} \pm 34,3$  an Tag 28 ab (t-Test  $p=0,049$ , Wilcoxon-Test  $p=0,043$ ). Ob eine längere Gabe von TBC1269Z die Gerinnung beeinflussen kann, muss in den folgenden Studien erfasst werden. Der Abfall der Thrombozyten nach Aufhebung der Selektin-Blockade könnte u.a. über eine verstärkte Anlagerung der Blutplättchen an Endothelzellen bedingt sein. Aktivierte Thrombozyten können direkt an Endothelzellen adhären. Über thrombozytäre Membranglykoproteine wie Glykoprotein(GP)Ib/IX können sie initiale Kontakte zu P-Selektin und Kollagen-immobilisiertem von-Willebrand-Faktor auf aktivierten Endothelzellen herstellen. Über Integrine, wie z.B. einen Kollagenrezeptor ( $\alpha 2\beta 1$ -Integrin), und die entspre-

chenden Komponenten der extrazellulären Matrix wird die Thrombozytenadhäsion an das Endothel dann stabilisiert (Thielen CE, 2003).

### 5.5.5 Panselktin-Antagonismus und Malignome

Wie bei allen immunmodulatorischen Substanzen muss an die Beeinflussung bzw. Entstehung von Malignomen gedacht werden. Wichtig hierbei könnte zusätzlich die Rolle der Selektine bei der Ausbreitung von Tumoren sein. Erste Hinweise auf die Rolle der Selektine für die Metastasenbildung wurden in Untersuchungen gewonnen, die zeigten, dass experimentelle Bildungen von Metastasen bei Kolonkarzinomen E-Selektin-abhängig waren. Die Expression von sLex war in Kolon- und Mammakarzinomen gegenüber normalem Gewebe erhöht, in den Lebermetastasen sogar noch höher als im Primärtumor. Andere Studien weisen ebenfalls darauf hin, dass Selektine bei verschiedenen Karzinomen (Magen-, Blasen- und Pankreaskarzinome) die metastatische Absiedlung beeinflussen (Gassmann P *et al.*, 2004). Die Verminderung der P-Selektin-Expression kann andererseits aber auch bei kolorektalen Tumoren die Einwanderung inflammatorischer Zellen mit folgender Regression hemmen und zu einem fortgeschrittenen Tumorstadium führen (Peeters CF *et al.*, 2005).

In einem Mausmodell für Brustkrebs konnte nachgewiesen werden, dass der Verlust des E-Selektin-Liganden sLex den metastatischen Prozess in der Lunge beschleunigen kann, da die Zellen der primären Tumormasse leichter entkommen können (Monzavi-Karbassi B *et al.*, 2005). Die Blockade von den Selektinen könnte also auf der einen Seite eine Metastasierung behindern, aber auf der anderen Seite könnte ein Tumor auch aggressiver wachsen, da die Immunzellen gehindert werden, in den Tumor einzuwandern. Wie eine komplette Selektin-Blockade sich auf die Ausbreitung von Malignomen auswirkt, muss in weiteren Untersuchungen noch gezeigt werden. Möglicherweise ist sogar ein therapeutischer Einsatz stadienspezifisch denkbar. Bei Spinalzellkarzinomen ist die Expression von E-Selektin erhöht. Im Verlauf der Entdifferenzierung des Tumors steigt die E-Selektin-Expression weiter an, um im fortgeschrittenen metastasierten Stadium wieder abzufallen. Diese Befunde unterstützen die Hypothese, dass die hohe Selektin-Expression in einem frühen Stadium eine Metastasierung erleichtert, wohingegen in einem weit fortgeschrittenen metastasierten Stadium die Selektin-Expression abnimmt, um den Tumor vor der Einwanderung von Immunzellen zu „schützen“ (Lieder AM *et al.*, 2005). Eine Selektin-Blockade könnte als adjuvante Therapie z.B. dazu dienen, eine Metastasierung zu vermeiden.

## 5.6 Einsatzgebiete von TBC1269Z

Neben der Behandlung der Psoriasis sind noch weitere Einsatzgebiete von TBC1269Z denkbar. Untersuchungen weisen auf die Wirksamkeit in der Behandlung des allergischen Asthmas hin. Das Asthma ist charakterisiert durch eine erhöhte Anzahl von Leukozyten, z.B. eosinophilen und neutrophilen Granulozyten, vorwiegend CD4+Lymphozyten und Mastzellen im peribronchialen Gewebe. In Untersuchungen an Gefrierschnitten von tumorfreien Lungenresektaten von Tumorpatienten konnte gezeigt werden, dass die Interaktion von PSGL-1 und P-Selektin eine dominante Rolle bei der T-Zell-Migration aus der Zirkulation in das peribronchiale Gewebe spielt. Und in FACS-Messungen wiesen die peripheren neutrophilen und eosinophilen Granulozyten von Asthmapatienten eine erhöhte PSGL-1-Expression auf (Aydt E *et al.*, 2002). TBC1269Z könnte hier die Leukozytenrekrutierung hemmen. In einer placebokontrollierten Studie mit zwölf Patienten konnte nach viertägiger Behandlung mit TBC1269Z die späte Reaktion der Atemwege, anhand des FEV<sub>1</sub> (forciertes Ausatemungsvolumen) gemessen, um 50% gegenüber Placebo gesenkt werden (Beeh KM *et al.*, 2006). Andere Forscher halten auch Untersuchungen zur Behandlung chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen (COPD) für sinnvoll (Romano SJ, 2005).

Ein weiteres Einsatzgebiet könnte in der Transplantationsmedizin liegen. In einem Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass TBC1269Z durch Reduktion der Leukozyteninfiltration die Abstoßung eines Nierentransplantats hemmte. Zusätzlich wurde TBC1269Z mit drei weiteren Immunsuppressiva kombiniert, die unterschiedliche Angriffspunkte besitzen. TBC1269Z wirkte synergistisch mit allen drei Substanzen. Denkbar wäre ein späterer kombinierter Einsatz, um die unerwünschten Wirkungen anderer Immunsuppressiva durch Dosisreduktion zu mildern (Langer R *et al.*, 2004).

Nicht zu vergessen ist auch die mögliche Anwendung von TBC1269Z bei anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis, dem Morbus Crohn oder der Multiplen Sklerose (MS), bei denen die Leukozytenextravasation pathophysiologisch eine wichtige Rolle spielt. Bei der rheumatoiden Arthritis gibt es gegensätzliche Ergebnisse zu den Selektinen. Erhöhte Spiegel von E- und P-Selektinen wurden sowohl in den entzündeten Gelenken als auch in löslicher Form im Blut von Patienten mit aktiver rheumatoider Arthritis nachgewiesen. Einige antiinflammatorische Medikamente führten in Remissionsphasen zu einem Abfall der Expression. Aber in Tiermodellen zeigten sich unterschiedliche Resultate bzgl. der Wirksamkeit der Blockade einzelner Selektine.

In einem Modell findet sich sogar eine verstärkt auftretende Arthritis in E- und P-Selektin-defizienten Mäusen. Die Autoren postulieren entweder eine weitere Funktion der Selektine im Sinne einer Regulierung von Zytokin- und Chemokinproduktion oder eine veränderte Immunantwort durch Kompensationsmechanismen bei der gestörten Homöostase der Leukozytenmigration, z.B. über erhöhte IL-1 $\beta$ -Sekretion (Ruth JF *et al.*, 2005).

Bei Morbus Crohn zeigte sich in Untersuchungen bei Patienten mit aktiver Erkrankung eine Erhöhung des löslichen E-Selektins im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Bei Morbus-Crohn-Patienten in der Remission bzw. Colitis-ulcerosa-Patienten fand sich dagegen ein niedrigerer Spiegel von P- und E-Selektin als bei den Kontrollen (Magro F *et al.*, 2004). Welche Bedeutung den Selektinen tatsächlich zukommt, ist noch nicht geklärt, aber eine Selektin-Blockade könnte therapeutisch wirksam sein.

Bei der MS gibt es unterschiedliche Ergebnisse über die Wichtigkeit von Selektinen. Bei Patienten mit intermittierend auftretender MS konnten erhöhte Plasmaspiegel von P- und E-Selektinen während eines Schubs nachgewiesen werden (Kuenz B *et al.*, 2005). Und in einer Modellerkrankung (EAE = experimentelle Autoimmun-Enzephalomyelitis), die die frühe Entzündungsphase nachahmt, konnte gezeigt werden, dass Antikörper gegen PSGL-1, E- und P-Selektin sowie CLA das Rollen und die Adhärenz von humanen und murinen Th1-Zellen an entzündeten Hirngefäßen blockierten (Piccio L *et al.*, 2005). Dagegen kamen Engelhardt B *et al.* in Mausmodellen zu dem Ergebnis, dass die T-Zellen zwar PSGL-1 exprimierten, aber PSGL-1 nicht für die Adhärenz der T-Zellen an die P-Selektin-exprimierenden Hirngefäßendothelien verantwortlich ist (Engelhardt B *et al.*, 2005). Auch Battistini L *et al.* untersuchten durch intravitale Mikroskopie im Mausmodell die Rolle von PSGL-1. Sie fanden Hinweise, dass vor allem die CD8+T-Zellen von Patienten mit akuter MS die Fähigkeit zur Adhäsion an Hirngefäßendothelien aufwiesen, und PSGL-1 für die bevorzugte Rekrutierung der CD8+Zellen verantwortlich ist (Battistini L *et al.*, 2003). Dies sind interessante Informationen im Hinblick auf die selektive Blockade bestimmter Lymphozytenpopulationen in der MS, in der sich TBC1269Z bewähren könnte.

## 6.0 Zusammenfassung

In der hier vorgelegten Arbeit wurde erstmalig der Pansselektin-Antagonist TBC1269Z zur Behandlung der Psoriasis beim Menschen eingesetzt. Das Ziel dieser „proof of concept“-Studie bestand darin, erste Nachweise der Wirksamkeit von TBC1269Z zu erbringen, und die Sicherheit und Verträglichkeit zu überprüfen. Dazu habe ich bei fünf Patienten (drei Männern, zwei Frauen) über einen Zeitraum von zwei Wochen täglich intra-läsional 600 mg TBC1269Z appliziert.

Alle Patienten profitierten von der Therapie. Als relevante Wirksamkeitsparameter wurde der PASI, der PGA und die Epidermisdicke untersucht. Am Ende der Behandlung zeigte sich eine signifikante Reduktion des PASI um durchschnittlich 25%. Die histologischen Untersuchungen ergaben bei vier der fünf Patienten eine Abnahme der Epidermisdicke. Auch die CD3mRNA-Expression dieser Patienten in der Haut nahm ab. Nach Absetzen der Behandlung kam es bei drei von fünf Patienten zu einem Relapse, d.h. einer erneuten Verschlechterung des PASI-Werts. Die pharmakokinetischen Daten belegen messbare Plasmaspiegel an den Behandlungstagen, also eine systemische Verteilung nach subkutaner Gabe. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Veränderung der Psoriasis-Symptome zwischen den Zielläsionen, in die die Substanz appliziert wurde, und den gewählten Vergleichsläsionen an anderen Stellen des Körpers gefunden, was für eine systemische Wirksamkeit spricht. Insgesamt war die Behandlung mit TBC1269Z sehr gut verträglich. Die aufgetretenen unerwünschten Ereignisse (insgesamt 9) waren alle nur mild bis mäßig stark ausgeprägt und bildeten sich vollständig zurück. Zur Erfassung der Sicherheit führten wir körperliche Untersuchungen durch, bestimmten die Vitalzeichen, zeichneten EKGs auf und haben verschiedene Laborparameter wie z.B. Transaminasen und Kreatinin gemessen. Durch die Therapie mit TBC1269Z ließ sich keine signifikante Beeinflussung anderer Organsysteme feststellen. Erwähnenswert ist jedoch der Anstieg von Bilirubin bei drei von fünf Patienten, im Mittel von  $0,54 \text{ mg/dl} \pm 0,17$  auf  $0,74 \text{ mg/dl} \pm 0,28$ , auch wenn er nicht signifikant war. TBC1269Z wird zum großen Teil über die Galle und nachfolgend über die Fäzes ausgeschieden, darum könnte es kompetitiv die Bilirubinausscheidung in die Gallekanälchen hemmen. Interessanterweise wurde nach Ende der Therapie ein signifikanter Abfall der Thrombozyten von  $263/\text{nl} \pm 40,8$  an Tag 14 auf  $243/\text{nl} \pm 34,3$  an Tag 28 gefunden.

Zur Untersuchung des Einflusses von TBC1269Z auf die Leukozytenpopulationen im peripheren Blut führten wir FACS-Analysen durch. Wir bestimmten dazu die Anzahl der T-Zellen und deren Subpopulationen (CD4+ und CD8+Zellen), der B- und NK-Zellen im Verlauf der Studie. Wir konnten keine signifikanten Veränderungen dieser immunologischen Parameter feststellen. Bei zwei Patienten traten leichte Infektionen auf.

Manche Autoren vermuten, dass eine langanhaltende Hemmung der Selektine aufgrund eines gesteigerten Risikos für Infektionen gefährlich sein könnte. Dagegen spricht jedoch die Tatsache, dass Patienten mit einem genetischen Defekt der Selektin-Liganden-Expression (LAD-II) i.a. nicht an schweren Infektionen leiden.

Zudem weisen erste Daten darauf hin, dass es bei einer Gabe von TBC1269Z über drei Monate weder bei Ratten noch bei Hunden zu einer erhöhten Infektanfälligkeit gekommen ist. Damit scheinen die möglichen Gefahren einer langfristigen Gabe eines Panselektin-Antagonisten nicht zu groß zu sein. Die Bedeutung der Selektine für die Malignombildung wird unterschiedlich diskutiert. Einerseits kann eine metastatische Absiedlung durch ihre Blockade vermindert werden, andererseits gibt es Hinweise dafür, dass die Hemmung der Einwanderung inflammatorischer Zellen in die Tumore ein aggressiveres Wachstum fördern kann.

Zusammenfassend konnten in dieser Arbeit Hinweise für die Wirksamkeit eines Panselektin-Antagonisten bei der Behandlung von Psoriasis-Patienten erbracht werden, und eine gute Verträglichkeit und Sicherheit in der Kurzzeitanwendung über zwei Wochen beobachtet werden. Als nächstes ist es wichtig, diese Erkenntnisse durch placebokontrollierte Studien mit einer höheren Patientenanzahl und einer längeren Behandlungsdauer zu verifizieren. Der Einsatz von TBC1269Z bei anderen Erkrankungen, bei denen die Leukozytenextravasation eine wichtige Rolle spielt, z.B. bei allergischem Asthma, der Multiplen Sklerose oder der rheumatoiden Arthritis und Morbus Crohn, kann aufgrund der Erkenntnisse aus unserer Studie ebenfalls in Betracht gezogen werden.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Alon R, Rossiter H, Wang X, Springer TA, Kupper TS; Distinct cell surface ligands mediate T lymphocyte attachment and rolling on P and E selectin under physiological flow. *J Cell Biol* 127(5):1485-95, 1994
2. Asadullah K, Döcke WD, Ebeling M, *et al.* Interleukin 10 treatment of psoriasis: clinical results of a phase 2 trial. *Arch Dermatol* 135:187-192, 1999
3. Asadullah K, Volk H-D, Sterry W; Novel Immunotherapies for Psoriasis. *Trends in Immunology* 23(1), 2002
4. Asadullah K, Docke WD, Volk HD, Sterry W; Pathophysiological role of cytokines in psoriasis. *Drugs Today* 35:913-924, 1999
5. Austin LM, Ozawa M, Kikuchi T, Walters IB, Krueger JG; The majority of epidermal T cells in Psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. *J Invest Dermatol.* 113(5):752-9, 1999
6. Austin ML, Coveb TR, Bhardwaj N, Steinman R, Krueger JG; Intraepidermal lymphocytes in psoriatic lesions are GMP-17 (TIA-1)+CD8+CD3+CTLs as determined by phenotypic analysis. *J Cutan Pathol* 25:79-88, 1998
7. Aydt E, Wolff G; Development of pan-selectin antagonist: a new treatment strategy for chronic inflammation in asthma. *Pathobiology* 70(5):297-301, 2002
8. Baker BS, Fry L; The immunology of psoriasis. *Br J Dermatol* 126:1-9, 1992
9. Battistini L, Piccio L, Rossi B, *et al.* CD8+ T- cells from patients with acute multiple sclerosis display selective increase of adhesiveness in brain venules: a critical role for P-selectin glycoprotein ligand-1. *Blood* 101:4775-4782, 2003
10. Beeh KM, Beier J, Meyer M, Buhl R, Zahlten R, Wolff G; Bimosiamose, an inhaled small-molecule pan-selectin antagonist, attenuates late asthmatic reactions following allergen challenge in mild asthmatics: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical cross-over trial. *Pulm Pharmacol Ther* 19(4):233-41, 2006
11. Berg EL, Yoshino T, Rott LS, *et al.* The cutaneous lymphocyte antigen is a skin homing receptor for the vascular lectin endothelial cell-leucocyte adhesion molecule 1. *J Exp Med* 174(6):1461-6; 1991
12. Bhusan M, Bleiker TO, Ballsdon AE, *et al.* Anti-E-selectin is ineffective in the treatment of psoriasis: a randomized trial. *British Journal of Dermatology* 146:824-831, 2002

13. Bock D, Philipp S, Wolff G; Therapeutic potential of selectin antagonists in psoriasis. *Expert Opin Investig Drugs* 15(8):963-79, 2006
14. Boehncke WH, Immunomodulatory drugs for psoriasis (editorial). *BMJ* 327:634-635, 2003
15. Boehncke WH, Friedrich M, Mrowietz U, *et al.* Stellenwert von Biologics in der Psoriasis-Therapie: Ein Konsensus-Papier der Arbeitsgruppe Psoriasis, Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung. *JDDG* 8(1), 2003
16. Bos JD, Meinardi MMHM, Van Joost TH, Heule F, Powles AV, Fry L; Use of cyclosporin in psoriasis. *Lancet* 2(8678-8679):1500-1502, 1989
17. Botsios C, Ostuni P, Todesco S; Incidence and management of infusion reactions to infliximab in 186 Italian patients with rheumatoid arthritis: the Padua experiment. *Reumatismo* 57(1):44-51, 2005
18. Boyman O, Hefti HP, Conrad C, Nickoloff BJ, Suter M, Nestle OF; Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T-cells and tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 199(5):731-736, 2004
19. Cassano N, Loconsole F, Amoruso A, *et al.* Infliximab monotherapy for refractory psoriasis: preliminary results. *Int J Immunopathol Pharmacol* 17(3):373-80, 2004
20. Cather J, Menter A; Novel Therapies for Psoriasis. *Am J Clin Dermatol* 3:159-173, 2002
21. Chamian F, Lowes MA, Lin SL, *et al.* Alefacept reduces infiltrating T cells, activated dendritic cells and inflammatory genes in psoriasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(6): 2075-2080, 2005
22. Chang JC, Smith LR, Froning KJ, *et al.* Persistence of T-cell clones in psoriatic lesions. *Arch. Dermatol* 133:703-708, 1997
23. Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB; Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis. A randomised trial. *Lancet* 357:1842-47, 2001
24. Christophers E; Epidemiologie. In:Christophers E, Mrowietz U, Sterry W, eds.; *Psoriasis auf einen Blick*. 1.Ausgabe, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, Deutschland, 3-7, 2002
25. Christophers E; Pathogenese. In:Christophers E, Mrowietz U, Sterry W, eds.; *Psoriasis auf einen Blick*. 1.Ausgabe, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, Deutschland, 13-18, 2002
26. Collins RG, Jung U, Ramirez M, *et al.* Dermal and pulmonary inflammatory disease in E-selectin and P-selectin double-null mice is reduced in triple-selectin-null mice. *Blood* 98(3):727-35, 2001

27. Craze M, Young M; Integrating biologic therapies into a dermatology practice: practical and economic considerations. *J Am Acad Dermatol* 49(2):139-42, 2003
28. De Arruda LHF, De Moraes APF; The impact of psoriasis on quality of life. *Br J Dermatol* 144(58):39-43, 2001
29. De Rie MA, Hammerlinck F, Hintzen RQ, Bos JD, van Lier RA; Quantitation of soluble CD27, a T-cell activation antigen, and soluble interleukin-2 receptor in serum from patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res* 283:533-34, 1991
30. Eedy DJ, Burrows D, Bridges JM, Jones EGC; Clearance of severe psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. *BMJ* 300:908, 1990
31. Ellis CN, Krueger GG; Treatment of chronic plaque psoriasis by selective targeting of memory effector T lymphocytes. *N Engl J Med* 345:248-55, 2001
32. Engelhardt B, Kempe B, Merfeld-Clauss S, *et al.* P-selectin glycoprotein ligand 1 is not required for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL and C57BL/6 mice. *J Immunol* 175(2):1267-75, 2005
33. Erhardt C, Kneuer C, Bakowsky U; Selectins - an emerging target for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56:527-549, 2004
34. Ettehadi P, Greaves MW, Wallach D; Elevated tumor necrosis factor alpha biological activity in psoriatic skin lesions. *Clin Exp Immunol* 96:146-51, 1994
35. Etzioni A, Tonetti M; Leucocyte adhesion deficiency II - from A to almost Z. *Immunol Rev* 178:138-47, 2000
36. Alefacept Product Approval Information, U.S. Food and Drug Administration, Rockville MD, USA, created September 16, 2003; (accessed 06.08.2006 at: <http://www.fda.gov/cder/biologics/products/alefbio013003.htm>)
37. Fachinformation Enbrel (25mg) Stand 06/06; Rote Liste online; Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Postfach 110171, 10831 Berlin, Dt., 2005 (accessed 06.08.2006 at <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>)
38. Fachinformation Raptiva Stand 03/06; Rote Liste online; Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Postfach 110171, 10831 Berlin, Dt., 2005 (accessed 06.08.2006 at <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>)
39. Fachinformation Remicade Stand 02/06, Rote Liste online, Rote Liste online; Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Postfach 110171, 10831 Berlin, Dt., 2005 (accessed 06.08.2006 at <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep>)
40. Finlay AJ, Ortonne JP; Patient satisfaction with Psoriasis therapies: an update and introduction to biologic therapy. *J Cutan Med Surg* 8(5):310-20, 2004
41. Fredriksson T, Petterson U; Severe psoriasis - oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 157:238-44, 1978

42. Friedrich M, Bock D, Philipp S, *et al.* Pan-selectin antagonism improves psoriasis manifestation in mice and man. *Arch Dermatol Res* 297(8):345-51, 2006
43. Friedrich M, Döcke WD, Klein A, *et al.* Immunomodulation by interleukin-10 therapy decreases the incidence of relapse and prolongs the relapse-free interval in psoriasis. *J Invest Dermatol* 118(4):672-7, 2002
44. Friedrich M, Philipp S, Sabat R, Asadullah K, Sterry W; Einsatz von Biologicals bei Psoriasis in der Dermatologie; *Z Rheumatol* 62:439-449, 2003
45. Friedrich M, Berry K, Kersey K, *et al.* Anti-CXCR3 therapy in patients with psoriasis vulgaris: evaluation in a phase 2a randomized, placebo controlled clinical trial. European Congress on Psoriasis, Paris, France, 2004
46. Friedrich M, Vollhardt K, Zahlten R, Philipp S, Sterry W, Wolff G; Demonstration of antipsoriatic efficacy of a new topical formulation of a small molecule selectin antagonist bimosiamose. European Congress on Psoriasis, Paris, France, 2004
47. Gaboury JP, Kubes P; Reductions in physiologic shear rates lead to CD11/CD18-dependent, selectin-independent leucocyte rolling *in vivo*. *Blood* 83:345-350, 1994
48. Gardembas-Pain M, Ifrah N, Foussard Ch, Boasson M, Saint André JP, Verret JL; Psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. *Arch Dermatol* 126:1523, 1990
49. Gaspari AA, Gottlieb A, Kang S; Enbrel improves the clinical and pathologic features of psoriasis. *J Invest Dermatol* 119 (172) :236, 2002
50. Gaßmann P, Enns A, Haier J; Role of tumor cell adhesion and migration in organ-specific metastasis formation. *Onkologie* 27:577-82, 2004
51. Gilhar A, Ullmann Y, Kerner H, *et al.* Psoriasis is mediated by a cutaneous defect triggered by activated immunocytes: induction of psoriasis by cells with natural killer receptors. *J. Invest. Dermatol* 119:384-391, 2002
52. Gollnick H, Bonnekoh B; Kapitel 3: Histopathologie der Psoriasis. In: Gollnick H, Bonnekoh B, eds.; *Psoriasis - Pathogenese, Klinik und Therapie*, 1.Auflage, Deutschland: unimed Verlag, 75-82, 2001
53. Gollnick H, Bonnekoh B; Kapitel 8-12: 8.Adjuvantien, 9.Therapie der Psoriasis mit Dithranol, 10.Topischer Glukocorticoid-Einsatz zur Therapie der Psoriasis, 11.Retinoide in der topischen Anwendung:Tazaroten, 12.Vitamin-D3-Analoga. In: Gollnick H, Bonnekoh B, eds.; *Psoriasis - Pathogenese, Klinik und Therapie*, 1.Auflage, Deutschland: unimed Verlag, 149-215, 2001

54. Gollnick H, Bonnekoh B; Kapitel 13-16: 13.Methotrexat, 14.Fumarat-Therapie, 15.Ciclosporin, 16.Systemische Retinoidtherapie. In: Gollnick H, Bonnekoh B, eds.; Psoriasis - Pathogenese, Klinik und Therapie, 1.Auflage, Deutschland: uni-med Verlag, 216-274, 2001
55. Gollnick H, Bonnekoh B; Kapitel 18: Behandlung mit UV-Strahlen. In: Gollnick H, Bonnekoh B, eds.; Psoriasis - Pathogenese, Klinik und Therapie, 1.Auflage, Deutschland: unimed Verlag, 281-297, 2001
56. Gordon KB, McCormick TS; Evolution of Biologic Therapies for the Treatment of Psoriasis. *SKINmed* 2(5):286-294, 2003
57. Gottlieb AB, Lebwohl M, Shirin S, *et al.* Anti-CD4 monoclonal antibody treatment of moderate to severe psoriasis vulgaris: results of a pilot, multicenter, multiple-dose, placebo-controlled study. *J Am Acad Dermatol* 43:595-604, 2000
58. Gottlieb AB, Krueger JG, Wittkowski K, Dedrick R; Psoriasis as a model for T- cell mediated disease. *Arch Dermatol* 138:591-600, 2002
59. Gottlieb AB, Chaudhari U, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG; Infliximab monotherapy provides rapid and sustained benefit for plaque-type psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 48(6):892-35, 2003
60. Gottlieb AB, Masud S, Ramamurthi R, *et al.* Pharmacodynamic and pharmacokinetic response to anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody (infliximab) treatment of moderate to severe psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 48(1):68-75, 2003
61. Gottlieb AB, Evans R, Li S, *et al.* Infliximab induction therapy for patients with severe plaque psoriasis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 51:534-42, 2004
62. Gottlieb AB; Alefacept for psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 64:58-60, 2005
63. Gottlieb SL, Gilleaudeau P, Johnson R, *et al.* Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte pathogenic basis. *Nat Med* 1: 442-447, 1995
64. Hardtke M; Systemische Therapie der Psoriasis mit dem Anti-L-Selektin BNP 001. Dissertation, Medizinische Fakultät der Charité, Universitätsmedizin Berlin, 2006
65. Heise CE, Pahuja A, Hudson SC, *et al.* Pharmacological characterization of CXC chemokine receptor 3 ligands and a small molecule antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 313(3):1263-71,2005

66. Hicks AER, Abbott KB, Dodd P, Ridger VC, Hellewell PG, Norman KE; The anti-inflammatory effects of a selectin ligand mimetic, TBC-1269, are not a result of competitive inhibition of leucocyte rolling *in vivo*. *J Leucoc Biol* 77:59-66, 2005
67. Honigsmann H; Phototherapy and Photochemotherapy. *Semin Dermatol.* 9(1):84-90, 1990
68. Horuk R; BX 471: a CCR 1 antagonist with anti-inflammatory activity in man. *Mini Rev Med Chem* 5(9):791-804, 2005
69. Huang CC, Lu YF, Wen SN, *et al.* A novel apoptosis-inducing anti-PSGL-1 antibody for T cell-mediated diseases. *Eur J Immunol* 35(7):2293-49, 2005
70. Issekutz AC, Issekutz TB; The role of E-selectin and P-selectin and VLA-4 in T-lymphocyte migration to dermal inflammation. *J Immunol* 168:1934-1939, 2002
71. Jung U, Ley K; Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J Immunol.* 162(11):6755-62, 1999
72. Kaila N, Thomas BE; Design and synthesis of sialyl Lewisx mimics as E- and P-Selectin Inhibitors. *Medicinal Research Review* 22:6, 566-601, 2002
73. Kogan TP, Dupré B, Bui H, *et al.* Novel synthetic inhibitors of selectin-mediated cell adhesion: synthesis of 1,6-Bis[3-(3-carboxymethylphenyl)-4-(2- $\alpha$ -D-manno-pyranosyloxy)Phenyl]hexane (TBC 1269). *J. Med. Chem* 41:1099-1111, 1998
74. Kogan TP, Dupré B, Keller KM, Scott IL, Bui H, Market RV, Beck PJ, Voytus JA, Revelle BM, Scott D; Rational design and synthesis of small molecule, non-oligosaccharide selectin inhibitors: ( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)biphenyl-substituted carboxylic acids. *J. Med. Chem* 38:4976-4984, 1995
75. Krueger JG, Walters IB, Miyazawa M, *et al.* Successful *in vivo* blockade of CD25 (high-affinity interleukin 2 receptor) on T-cells by administration of humanized anti-Tac antibody to patients with psoriasis. *J Acad Dermatol* 43:448-58, 2000
76. Kuenz B, Lutterotti A, Khalil M, *et al.* Plasma levels of soluble adhesion molecules sPECAM-1, sP-selectin and sE-selectin are associated with relapsing-remitting disease course of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 167(1-2):143-9, 2005
77. Kulidjian AA, Issekutz AC, Issekutz TB; Differential role of E-selectin and P-selectin in T Lymphocyte migration to cutaneous inflammatory reactions induced by cytokines. *Int Immunol* 14(7):751-60, 2002
78. Kunstfeld R, Lechleitner S, Groger M, Wolff K, Petzelbauer P; HECA-452+ T cells migrate through superficial vascular plexus but not through deep vascular plexus endothelium. *J Invest Dermatol* 108(3):343-8, 1997

79. Kupper TS, Fuhlbrigge RC, Kieffer DJ, Armerding D; Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. *Letters to nature: Nature* 389:978-981, 1997
80. Labow MA, Norton CR, Rumberger JM, *et al.* Characterization of E-selectin deficient mice. Demonstration of overlapping function of the endothelial selectins. *Immunity* 1(8):709-20, 1994
81. Langer R, Wang M, Stepkowski SM, *et al.* Selectin inhibitor Bimosiamose prolongs survival of kidney allografts by reduction in intragraft production of cytokines and chemokines. *J Am Soc Nephrol* 15:2893-2901, 2004
82. Lanzavecchia A; Licence to kill. *Nature* 393:413-414, 1998
83. Leonardi CL; Efalizumab in the treatment of psoriasis. *Dermatologic therapy* 17:394-400, 2004
84. Ley K; The role of selectins in inflammation and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 9(6):263-8, 2003
85. Lieder AM, Prior TG, Wood KJ, Werner JA; The relevance of adhesion molecules in the classification of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res.* 25(6B):4141-7, 2005
86. Magro F, Araujo F, Pereira P, Meireles E, Diniz-Ribeiro M, Velosom FT; Soluble selectins, sICAM, sVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 49(7-8):1265-74, 2004
87. Marchetti A, LaPensee K, An P; A pharmaeconomic analysis of topical therapies for patients with mild to moderate stable plaque psoriasis: a US study. *Clin Ther* 20:851-869, 1998
88. Martin A, Gutierrez E, Muglia J, *et al.* A multicenter dose-escalation trial with denileukin diftitox (ONTAK, DAB 389IL2) in patients with severe psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 45:871-81, 2001
89. Meyer M, Jilma B, Zahlten R, Wolff G; Physicochemical properties, safety and pharmacokinetics of bimosiamose disodium after intravenous administration. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 43(10):463-71, 2005
90. Meyer M, Beyer D, Vollhard K *et al.* The pharmacokinetics of subcutaneously injected bimosiamose disodium in healthy male volunteers. *Biopharm Drug Dispos.* 28:475-484, 2007
91. Monzavi-Karbassi B, Whitehead TL, Joushegany F, *et al.* Deficiency in surface expression of E-selectin ligand promotes lung colonization in a mouse model of breast cancer. *Int J Cancer* 117(3):398-408, 2005

92. Mork C, Wahl A; Improved quality of life among patients with psoriasis after supervised climate therapy at the Canary Islands. *J Am Acad Dermatol* 47:314-6, 2002
93. Mueller DL, Jenkins MK, Schwartz RH; An accessory cell-derived costimulatory signal acts independently of protein kinase C activation to allow T cell proliferation and prevent the induction of unresponsiveness. *J Immunol* 142:2617-2628, 1989
94. Nickoloff BJ; The Immunologic and Genetic Basis of Psoriasis. *Arch Dermatol* 135:1104-1110, 1999
95. Nickoloff BJ; The cytokine network in psoriasis. *Arch. Dermatol* 127:871-884, 1991
96. Nickoloff BJ, Wrono-Smith T; Injection of pre-psoriatic skin with CD4+T-Cells induces psoriasis. *Am J Pathol* 155:145-58, 1999
97. Nervi SJ, Schwarz RA; O'Neill Shigeoka A (†), Sidor MI; Leucocyte adhesion deficiency. e-medicine (main office Omaha, Nebraska, USA), last update July 11, 2006 (accessed 07.08.2006 at: <http://www.emedicine.com/ped/topic1302.htm>)
98. Onuffer JJ, Horuk R; Chemokines, chemokine receptors and small molecule antagonists: recent developments. *Trends Pharmacol Sci* 23(10):459-67; 2002
99. Papp KA, Tying S, Lahfa M, *et al.* A global phase III randomized controlled trial of etanercept in psoriasis: safety, efficacy, and effect of dose reduction. *British Journal of Dermatology* 152:1304-1312, 2005
100. Peeters CF, Ruers TJ, Westphal JR, de Waal RM; Progressive loss of endothelial P-selectin expression with increasing malignancy in colorectal cancer. *Lab Invest* 85(2):248-56, 2005
101. Philipp S, Ludwig N, Sterry W; Psoriasis und Psoriasis-Arthritis: Erfahrungen mit Biologics. *hautnah dermatologie* 2:60-66, 2006
102. Philipp S, Ludwig N, Sterry W, Sabat R; Biologics als neue Therapieoptionen in der Behandlung der Psoriasis und Psoriasis-Arthritis. *Akt Dermatol* 32:201-210, 2006
103. Philipp S, Wolk K, Kreutzer S *et al.* The evaluation of psoriasis therapy with biologics leads to a revision of the current view of the pathogenesis of this disorder. *Expert Opin Ther Targets* 10(6):817-831, 2006
104. Piccio L, Rossi B, Colantonio L, *et al.* Efficient recruitment of lymphocytes in inflamed brain venules requires expression of cutaneous lymphocyte antigen and fucosyltransferase-VII. *J Immunol* 174(9):5805-13, 2005
105. Picker LJ, Terstappen LWMM, Rott LS, Streeter PR, Stein H, Butcher EC; Differential expression of homing-associated adhesion molecules by T-cell subsets in man. *J Immunol* 145:3247-55, 1990

106. Product Approval Information Alefacept, U.S. Food and Drug Administration, Rockville MD, USA, created September 16, 2003 (accessed 06.08.2006 at: <http://www.fda.gov/cder/biologics/products/alefbio013003.htm>)
107. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML; Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *J Am Acad Dermatol* 41:401-7, 1999
108. Romano SJ; Selectin antagonists: therapeutic potential in asthma and COPD. *Treat Respir Med.* 4(2):85-94, 2005
109. Romano SJ, Slee D; Targeting selectins for the treatment of respiratory diseases. *Curr Opin Investig Drugs* 2:907- 913, 2001
110. Rottman JB, Smith TL, Ganley KG, Kikuchi T, Krueger JG; Potential role of chemokine receptors CXCR3, CCR4, and the integrin alphaEbeta7 in the pathogenesis of psoriasis vulgaris. *Lab Invest* 81(3):335-347, 2001
111. Ruth JH, Amin MA, Woods JM, *et al.* Accelerated development of arthritis in mice lacking endothelial selectins. *Arthritis Res Ther.* 7(5):R959-970, 2005
112. Schlaak JF, Buslau M, Jochum W, *et al.* T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 102(2):145-9, 1994
113. Schön MP, Krahn T, Schön M, *et al.* Efomycine M, a new specific inhibitor of selectin, impairs leukocyte adhesion and alleviates cutaneous inflammation. *Nature Medicine* 8:366-72, 2002
114. Schön MP, Zollner TM, Boehncke WH; The Molecular Basis of Lymphocyte Recruitment to the skin: clues for pathogenesis and selektive therapies of inflammatory disorders. *J Invest Dermatol* 121:951-962, 2003
115. Shu U, Kuniwa M, Wu CY, *et al.* Activated T cells induce interleukin-12 production by monocytes via CD40-CD40 ligand interaction. *Eur J Immunol* 25:1125, 1995
116. Slee DH, Romano SJ, Yu J, *et al.* Development of potent non-carbohydrate imidazole-based small molecule selectin inhibitors with anti-inflammatory activity. *J Med Chem* 44:2094-2107, 2001
117. Sterry W, Paus R; Psoriasis. In: Sterry W, Paus R, eds.; *Checkliste Dermatologie*, 5.Auflage, Deutschland: Georg Thieme Verlag, 296-309, 2004
118. Sterry W, Barker J, Boehncke WH, *et al.* Biological therapies in the systemic management of psoriasis: International Consensus Conference. *Br J Dermatol* 151(69):3-17, 2004
119. Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P; The selectins: vascular adhesion molecules. *The FASEB J* 9:866-73, 1995

120. Thielen CE; Die Bedeutung der p38-MAP-Kinase für die Thrombozyten-induzierten chemotaktischen Veränderungen in Endothelzellen. Dissertation, Technische Universität München, 2004
121. Tietz W, Allemand Y, Borges E, *et al.* CD4+ T- cells migrate into inflamed skin only if they express ligands for E- and P-Selectin. *The Journal of Immunology* 161:963-970, 1998
122. Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, Modlin RL, Nickoloff BJ; The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. *Dermatol* 101:701-705; 1993
123. Valdimarsson H, Baker BS, Jonsdottir I, Fry L; Psoriasis: a disease of abnormal keratinocyte proliferation induced by T lymphocytes. *Immunology today* 7:256-259, 1986
124. Valdimarsson H, Baker BS, Jonsdottir I, Powles A, Fry L; Psoriasis: a T-cell mediated autoimmune disease induced by streptococcal superantigens? *Immunol today* 16:145-149, 1995
125. Valdimarsson H, Sigmundsdóttir H, Jónsdóttir I; Is psoriasis induced by streptococcal superantigens and maintained by M-protein-specific T cells that cross-react with keratin? *Clin exp Immunol* 107: Suppl 1:21-24, 1997
126. Varki A; Selectin ligands review. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 7390-7397, 1994
127. Vestweber D, Blanks JE; Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiological Reviews* 79(1):181-213, 1999
128. Vissers WH, Arndtz CH, Muys L, Van Erp PE, de Jong EM, van de Kerkhof PC; Memory effector (CD45RO+) and cytotoxic (CD8+) T cells appear early in the margin zone of spreading psoriatic lesions in contrast to cells expressing natural killer receptors, which appear late. *Br J Dermatol* 150(5):852-9, 2004
129. Vollmer S, Menssen A, Prinz JC; Dominant lesional T cell receptor rearrangements persist in relapsing psoriasis but are absent from nonlesional skin: evidence for a stable antigen-specific pathogenic T cell response in psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol* 117(5):1296-301, 2001
130. Wang K, Zhou X, Zhou Z, *et al.* Recombinant soluble P-Selectin glycoprotein ligand Ig (rPSGL-Ig) attenuates infarct size and myeloperoxidase activity in a canine model of ischemia reperfusion. *Thromb haemost* 88:149-154, 2002
131. Weinshenker BG, Bass BH, Ebers GC, Rice GP; Remission of psoriatic lesions with muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3) treatment. *J Am Acad Dermatol* 20(6):1132-3, 1989

132. Wingren AG, Parra E, Varga M, *et al.* T cell activation pathways: B7, LFA-3, and ICAM-1 shape unique T cell profiles. *Crit Rev Immunol* 15: 235-253, 1995
133. Wrone-Smith T, Nickoloff BJ; Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J Clin Invest* 98:1878-1887, 1996
134. Yamada M, Yanaba K, Hasegawa M, *et al.* Regulation of local and metastatic host-mediated anti-tumour mechanisms by L-selectin and intercellular adhesion molecule-1; *Clin Exp Immunol* 143(2):216-27, 2006
135. Yusuf-Makiagansar H, Anderson ME, Yakovleva TV, Murray JS, Siahaan TJ; Inhibition of LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 as therapeutic approach to inflammation and autoimmune diseases. *Med Res Rev* 22(2):146-167, 2002

## 8. Abbildungs,- Foto- und Tabellenverzeichnis

### 8.1 Abbildungen

Abb. 1.1.1	Typische psoriatische Plaques mit Schuppung (Philipp S) .....	2
Abb. 1.1.2	Typisches histologisches Bild einer Psoriasisplaque (Röwert H) .....	2
Abb. 1.1.1.2.1	Darstellung der verschiedenen Schritte der Migration.....	6
Abb. 1.1.1.3.1	Struktur der Selektine (Aydt E and Wolff G <i>et al.</i> , 2002) .....	8
Abb. 1.4.3.1.1	Molekülstruktur von TBC1269Z (Meyer M <i>et al.</i> , 2005).....	16
Abb. 1.4.3.1.2	Modell der TBC1269Z-Ligandenbindungsstelle (Aydt E, 2006) .....	16
Abb. 3.6.2.1	Darstellung der Epidermisdicken- bzw. Papillenmessungen.....	32
Abb. 4.2.1.1	PASI-Einzelwerte aller Patienten .....	40
Abb. 4.2.1.2	Veränderung der PASI-Werte in % der Werte an Tag 1 .....	40
Abb. 4.2.1.3	Einzelne Parameter des PASI in % des Wertes an Tag 1.....	41
Abb. 4.2.1.4	PASI-Einzelwerte während der Nachbeobachtungsphase.....	42
Abb. 4.2.3.1	Parameter der Ziel- und Vergleichsläsion in % des Wertes an Tag 1 ...	43
Abb. 4.3.1.1	Werte der Epidermisdicke an Tag 1 und Tag 14.....	48
Abb. 4.4.1	Plasmakonzentrationen von TBC1269Z.....	51
Abb. 4.5.2.1	Systolischer Blutdruck an Tag 1 im Verlauf.....	55
Abb. 4.5.2.2	Diastolischer Blutdruck an Tag 1 im Verlauf .....	55
Abb. 4.5.2.3	Herzfrequenz an Tag 1 im Verlauf .....	55
Abb. 4.5.2.4	Blutdruck systolisch im Verlauf der Studie .....	56
Abb. 4.5.2.5	Blutdruck diastolisch im Verlauf der Studie .....	56
Abb. 4.5.2.6	Herzfrequenz im Verlauf der Studie .....	56
Abb. 4.5.3.1	Mittelwerte der PQ- und QT-Zeit sowie des QRS-Komplexes.....	57
Abb. 4.5.3.2	Herzfrequenzen laut EKG-Aufzeichnungen .....	58
Abb. 4.5.4.1.1	Veränderungen von MCH und MCHC.....	59
Abb. 4.5.4.1.2	Veränderungen von MCV .....	59
Abb. 4.5.4.2.1	Leukozytenzahlen in Prozent der Werte an Tag 1 .....	60
Abb. 4.5.4.2.2	Lymphozyten und neutrophile Granulozyten.....	60
Abb. 4.5.5.1	Bilirubin im Verlauf der Studie.....	62
Abb. 4.5.5.2	Transaminasen und $\gamma$ -GT während der Studie.....	62
Abb. 4.5.5.3	Gerinnungsparameter in % der Werte an Tag1 .....	63
Abb. 4.5.5.4	Thrombozytenzahlen im Verlauf in % der Werte an Tag 1.....	63

Abb. 4.5.6.1	Kreatininwerte in % der Werte an Tag 1 .....	64
Abb. 4.5.8.1	CK-Einzelwerte im Verlauf der Studie. Angabe in U/l.....	65
Abb. 4.6.1.1	Anzahl der T-Zellen (CD3+Zellen) im peripheren Blut .....	66
Abb. 4.6.1.2	Anzahl der T-Zellen (CD3+Zellen) im peripheren Blut (MW).....	67
Abb. 4.6.2.1	CD4+Zellen im Blut .....	67
Abb. 4.6.2.2	CD8+Zellen im Blut .....	67
Abb. 4.6.2.3	CD4+Zellen als Mittelwerte .....	68
Abb. 4.6.2.4	CD8+Zellen als Mittelwerte .....	68
Abb. 4.6.2.5	Mittelwerte der CD3+T-Zellen und ihrer Subpopulationen .....	68
Abb. 4.6.3.1	B-Zellen (CD19+) .....	69
Abb. 4.6.3.2	NK- Zellen (CD56+/CD16+) .....	69

## 8.2 Fotos

Foto 4.2.4.1	Zielläsion von Patient 005 an Tag 1 .....	45
Foto 4.2.4.2	Zielläsion von Patient 005 an Tag 14 .....	45
Foto 4.2.4.3	Zielläsion von Patient 005 an Tag 21 .....	46
Foto 4.2.4.4	Zielläsion von Patient 005 an Tag 28 .....	46
Foto 4.2.4.5	Vergleichsläsion von Patient 004 an Tag 1 .....	47
Foto 4.2.4.6	Vergleichsläsion von Patient 004 an Tag 14 .....	47
Foto 4.3.3.1	Mikroskopische Aufnahme Pat. 002, Tag 1, 40-fach.....	50
Foto 4.3.3.2	Mikroskopische Aufnahme Pat. 002, Tag 1, 100-fach.....	50
Foto 4.3.3.3	Mikroskopische Aufnahme Pat. 002, Tag 14, 40-fach.....	50
Foto 4.3.3.4	Mikroskopische Aufnahme Pat. 002, Tag 14, 100-fach.....	50

### 8.3 Tabellen

Tab. 1.1.1.1.1	Beispiele für Signale, die für die T-Zell-Aktivierung notwendig sind .....	6
Tab. 1.2.2.1	Systemische Standardtherapien der Psoriasis.....	11
Tab. 1.4.1	Zugelassene Biologics zur Behandlung der Psoriasis.....	13
Tab. 3.1.1.1	Einschlusskriterien .....	21
Tab. 3.1.1.2	Ausschlusskriterien .....	21
Tab. 3.1.1.3	Abbruchkriterien .....	22
Tab. 3.2.1.1	Tabellarische Darstellung des Studienablaufs von Patient 001 .....	24
Tab. 3.3.2.1.1	Bewertungsschema für die PASI-Berechnung .....	26
Tab. 3.3.2.2.1	Bewertungsschema für den PGA.....	27
Tab. 3.3.2.3.1	Bewertungsschema für die Ziel- und Vergleichsläsion.....	27
Tab. 3.3.4.1	Durchgeführte Blutanalysen .....	29
Tab. 3.3.5.1	Einteilung des Schweregrades eines unerwünschten Ereignisses .....	30
Tab. 3.7.2.1	Verwendete Antikörpergemische im Simultest IMK-Lymphocyte-Kit.....	34
Tab. 3.10.1	Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien .....	37
Tab. 3.10.2	Antikörper und Markierungen der FACS- Messung.....	38
Tab. 4.1.1	Demographische Daten der Patienten .....	39
Tab. 4.3.2.1	Werte der Papillendicke an Tag 1 und Tag 14 .....	49
Tab. 4.4.1	Plasmakonzentrationen von TBC1269Z an Tag 1 und Tag 14 .....	52
Tab. 4.5.1.1	Überblick über die unerwünschten Ereignisse .....	53
Tab. 4.5.4.1.1	Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit.....	58
Tab. 5.4.1.1	Vergleich unterschiedlicher Biologics mit TBC1269Z.....	75

## 9. Anhang

### 9.1 Danksagung

Ich möchte allen danken, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit behilflich waren, insbesondere:

- Herrn Professor Dr. med. Wolfram Sterry für die Vergabe dieses interessanten Themas und die Möglichkeit, diese Studie an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsmedizin Berlin, durchzuführen.
- Herrn Dr. med. Markus Friedrich für die wissenschaftliche Betreuung meiner Arbeit und die jahrelange gute Zusammenarbeit im Psoriasis Studienzentrum.
- Herrn Dr. med. Robert Sabat für seine Hilfe und die interessanten Denkanstöße im letzten Abschnitt der Arbeit.
- Frau Brigitte Ketel für die Einarbeitung und Unterstützung bei den FACS-Messungen sowie Hilfe bei den Fotografien der histologischen Präparate.
- Frau Nina Ludwig für die Anfertigung der Gefrierschnitte und die Durchführung der APAAP-Färbungen.
- Dem Team der Station 160T (Tagesstation) für die freundlichen Aufnahme und Unterstützung bei den teilstationären Aufenthalten der Patienten.
- Frau Dr. med. Radicke, 3ClinicalResearch, Berlin, für die Auswertung der EKGs.
- Herrn Dr. med. Röwert für das histologische Foto einer typischen Psoriasisläsion.
- Herrn Dr. Ewald Aydt, Revotar, für die Abbildung der TBC1269Z-Liganden-Bindungsstelle.
- Herrn Dr. med. Gerhard Wolff, Herrn Dr. Daniel Bock und weiteren Mitarbeitern von Revotar für die gute Zusammenarbeit und die Überlassung der Pharmakokinetikdaten.
- Allen Mitarbeitern der Interdisziplinären Gruppe Molekulare Immunpathologie, einschließlich der Mitarbeiter des Psoriasis Studienzentrums, für das freundliche Arbeitsklima und Ihre stetige Unterstützung.
- Frau Dr. med. Beate Becker, Frau Dr. Stefanie Endersfelder und Herrn Dr. Volker Wirth für das geduldige Korrekturlesen dieser Arbeit.
- Meinen Eltern sowie meinem Lebenspartner Hermann Weinreich, die durch Ihren Beistand und Ihre Ermunterungen die Erstellung dieser Arbeit erst möglich gemacht haben.

## **9.2 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

## Publikationen

1. Friedrich M, Döcke WD, Klein A, Philipp S, Volk HD, Sterry W, Asadullah K; Low-dose long-term treatment with rIL-10 decreases the incidence of relapse and of prolongs the relapse-free interval in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 118:672-7, 2002
2. Friedrich M, Philipp S, Sabat R, Asadullah K, Sterry W; Use of biologicals in psoriasis. *Z Rheumatol*, 62:439-49, 2003
3. Friedrich M, Bock D, Philipp S, Ludwig N, Sabat R, Wolk K, Schröter-Maas S, Aydt E, Kang S, Dam TN, Zahlten R, Sterry W, Wolff G: Pan- Selectin antagonism improves psoriasis manifestation in mice and man. *Arch Dermatol Res*. 297(8):345-51, 2006
4. Philipp S, Ludwig N, Sterry W; Psoriasis und Psoriasis-Arthritis: Erfahrungen mit Biologics. *hautnah dermatologie* 22(2):60-66, 2006
5. Bock D, Philipp S, Wolff G; Therapeutic potential of selectin antagonists in psoriasis. *Expert Opin Investig Drugs* 15(8):963-79, 2006
6. Zappel K, Philipp S, Sterry W, Blume-Peytavi U; Topische, systemische und Phototherapie für Psoriatiker. *Pädiatrie hautnah* 2:80-84, 2006
7. Philipp S, Ludwig N, Sterry W, Sabat R; Biologics als neue Therapieoptionen in der Behandlung der Psoriasis und Psoriasis-Arthritis. *Akt Dermatol* 32:201-210, 2006
8. Philipp S, Wolk K, Kreuzer S, Wallace E, Ludwig N, Roewert J, Höflich C, Volk HD, Sterry W, Sabat R; The evaluation of psoriasis therapy with biologicals leads to a revision of the current view of the pathogenesis of this disorder. *Expert Opin Ther Targets* 10(6):817-831, 2006
9. Philipp S, Schulze P, Sterry W; Psoriasis "non-vulgaris" – Sonderformen der Psoriasis. *Ärztliche Praxis Dermatologie Allergologie* 2:30-36, 2007

Berlin,

Sandra Philipp

### 9.3 Eidesstattliche Erklärung

#### Erklärung

„Ich, Sandra Philipp, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Psoriasis-Therapieversuch mit dem Panselektin-Antagonisten TBC1269Z, selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

.....

Datum, Unterschrift