

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

DISSERTATION

Fortschritte in Diagnostik und Therapie der physikalischen
Urtikaria

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marina Gorczyza (geb. Abajian)

aus Akhalkalaki, Georgien

Datum der Promotion: 07.12.18

Inhaltsverzeichnis

1. Abstrakt.....	3
2. Einleitung	5
3. Zielstellung	8
4. Material und Methoden.....	8
5. Ergebnisse.....	13
6. Diskussion	16
7. Zusammenfassung.....	20
8. Referenzen.....	21
9. Eidesstattliche Erklärung.....	24
10. Anteilserklärung Publikationen.....	25
11. Publikation Studie 1	27
12. Publikation Studie 2	32
13. Publikation Studie 3.....	35
14. Publikation Studie 4.....	40
15. Lebenslauf	43
16. Publikationsliste	46
17. Danksagung	47

1. Abstrakt

Die physikalische Urtikaria (phU) gehört zur Gruppe der Nesselsucht, bei der die typischen Beschwerden (juckende Quaddeln mit Reflexerythem und/oder Angioödeme) nach Kontakt mit spezifischen physikalischen Stimuli (z.B. Kälte, Wärme, Reibung, UV-Licht) auftreten. Die Diagnosestellung beruht auf der Durchführung von Provokationstestungen, die zur Entwicklung der Symptome am Ort des Einwirkens des relevanten physikalischen Reizes führen. Provokationstestungen von hoher Qualität erfordern standardisierte und reproduzierbare Verfahren und objektive Analysetechniken. Diese sind derzeit nur bedingt gegeben und bedürfen deutlicher Verbesserung. Das größte Problem bei der Betreuung von phU-Patienten stellt jedoch das weitest gehende Fehlen spezifischer Therapieoptionen dar. Die derzeit effektivsten Behandlungsstrategien beruhen auf der Vermeidung des jeweiligen Reizes und/oder einer Symptom-unterdrückenden medikamentösen Therapie. Das Ziel dieser Arbeit ist die Verbesserung existierender Provokationsverfahren, welche die Diagnosestellung und Erfassung der Schwere der Erkrankung bei Patienten mit phU (speziell bei Kälteurtikaria (KU) sowie bei Symptomatischem Dermographismus (SD)) ermöglichen sollen. Des Weiteren soll diese Arbeit zur Optimierung bisheriger medikamentöser Therapieoptionen sowie zur Untersuchung anderer Behandlungsmöglichkeiten bei KU als Modelerkrankung der phU beitragen. Hierzu wurden 2 Validierungsstudien durchgeführt: Validierung eines vereinfachten Provokationsinstrumentes (FricTest® 4.0) zur Diagnostik und Bestimmung der Krankheitsschwere bei 30 Patienten mit SD sowie Validierung eines verbesserten Peltier-Effekt-basierten Instruments (TempTest® 4.0) zur Diagnostik und Messung der kritischen Schwellentemperatur bei 30 Patienten mit KU. Weiterhin wurde in einer doppelblinden Placebo-kontrollierten Studie die Wirksamkeit und Sicherheit der Dosiserhöhung des Antihistaminikums Rupatadin bei 23 KU-Patienten untersucht. In einer weiteren retrospektiven Studie mit 26 KU-Patienten wurde die Wirksamkeit einer antibiotischen Therapie mit Doxycyclin untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die neuen Provokationsinstrumente eine bessere Diagnostik und genauere Bestimmung der Schwelle des jeweiligen Triggers ermöglichen. Somit wird die Feststellung der Schwere der Erkrankung und Kontrolle des Therapieerfolges erleichtert. Eine Dosiserhöhung von Antihistaminika bis auf das Vierfache ist wirksam und sicher in der Therapie der KU als Modelerkrankung für andere Formen der phU. Bei der Untersuchung der Wirksamkeit von Doxycyclin in KU

konnte gezeigt werden, dass eine Subgruppe von KU-Patienten von dieser Behandlung profitieren kann.

Abstract

Physical urticaria (phU) is a subgroup of chronic urticaria in which itchy wheal and flare type skin lesions and/or angioedema can be reproducibly induced by different specific physical stimuli (e.g. cold, heat, rubbing, sunlight.) acting on the skin. Symptoms are usually limited to the skin areas exposed to the eliciting stimulus. Diagnosis of phU is based on the results of skin provocation testing with potentially relevant trigger. Furthermore, measurements of individual trigger thresholds should be done, which allow to evaluate disease activity and response to treatment. The quality of these tests depends on the availability of standardized provocation procedures and objective analysis techniques, which are presently limited and require considerable improvement. However, the greatest problem in the management of phU patients is the lack of specific therapeutic options. The treatment relies on two basic principles: avoidance of eliciting stimuli and inhibition of symptom development with medicamentous therapy. Therefore, the goal of this work is to improve and validate standardized provocation instruments for the diagnosis and assessment of disease activity in patients with phU (particularly in chronic cold urticaria (ColdU) and symptomatic dermographism (SD)). A further aim of this work is to optimize the current therapy and to investigate other treatment options. To this end, two validation studies were conducted: Validation of a simplified provocation instrument (*FricTest*[®] 4.0) for diagnosis and threshold testing in 30 patients with SD and validation of an improved Peltier effect-based instrument (*TempTest*[®] 4.0) for critical temperature threshold measurements in 30 patients with chronic ColdU. In another double-blind placebo-controlled trial the efficacy and safety of 20 and 40mg rupatadine in 23 ColdU patients was assessed. In a further retrospective study with 26 ColdU patients, the efficacy of antibiotic therapy with doxycycline was investigated. It could be shown that the new validated instruments enable better diagnosis, evaluation of disease activity and therapy control of phU. The use of increased doses of antihistamines up to fourfold is effective and safe in ColdU therapy as a model disease for other forms of phU. A subgroup of patients with ColdU can also benefit from doxycycline treatment.

2. Einleitung

Die physikalische Urtikaria (phU) ist eine Subgruppe der chronischen induzierbaren Urtikaria (CindU) und ist durch das Auftreten typischer urtikarieller Hautveränderungen nach Kontakt mit spezifischen physikalischen Faktoren gekennzeichnet. Die Stimuli werden wie folgt gegliedert: mechanisch (Reibung, Druck, Vibration), thermisch (Kälte, Wärme) und elektromagnetische Wellen (UV-Licht) (1). Entsprechend des jeweiligen auslösenden Reizes spricht man von Symptomatischem Dermographismus (SD), Druckurtikaria (DU), Vibrationsurtikaria (VU), Kälteurtikaria (KU), Wärmeurtikaria (WU) und Lichturtikaria (LU). Die Hautveränderungen, bestehend aus Rötung, Quaddelbildung, Juckreiz und/oder Angioödem, treten fast immer innerhalb weniger Minuten nach Kontakt mit dem jeweiligen Stimulus auf und sind häufig an Haut oder Schleimhäuten lokalisiert. Jedoch auch generalisierte Reaktionen mit Quaddelbildung am ganzen Körper sowie andere allgemeine Symptome bis hin zum lebensbedrohlichen anaphylaktischen Schock können dabei auftreten (2).

Der Anteil von phU an der Gesamtheit der chronischen Urtikaria beträgt ca. 15-25% und betrifft häufig junge Erwachsene. Die häufigsten Formen hierbei sind SD und KU mit einer Prävalenz von jeweils 5% und 0,05% in der Gesamtbevölkerung (3, 4)

Die zugrundeliegenden Ursachen der phU bleiben bisher unbekannt. Die Diagnosestellung beruht im Wesentlichen auf Anamnese und Durchführung von Provokationstestungen. Darüber hinaus werden individuelle Schwellenwerte für den jeweiligen Trigger bestimmt. Dies ermöglicht eine Beurteilung über die Krankheitsaktivität sowie Kontrolle des Therapieerfolges (1).

SD, auch als "Urtikaria factitia" bekannt, ist die häufigste Unterform der phU und macht die Hälfte aller Fälle von phU aus (5). Das klinische Bild ist durch das Auftreten juckender, streifenförmiger Quaddeln charakterisiert, die innerhalb von wenigen Minuten nach der Provokation auftreten und für 1,5 – 2h andauern (6). Die Diagnose eines SD wird durch die detaillierte Anamnese und durch positive Ergebnisse von Provokationstestungen bestätigt. Die einfachste Methode ist, die Haut mit einem glatten stumpfen Gegenstand zu kratzen (7, 8). Im Rahmen eines Expertentreffens 1996 wurde festgelegt, dass die Diagnose dann bestätigt ist, wenn innerhalb von 10 min nach der Provokation mit einem moderaten Streichreiz $<36 \text{ g/mm}^2$ (353 kPa) eine Quaddel auftritt (9). Während dieser Konsens die Grundlage für eine Diagnose liefert, unterscheiden

sich die SD-Patienten stark hinsichtlich ihrer Krankheitsaktivität und des Therapieansprechens. Somit ist es notwendig, standardisierte und reproduzierbare Provokationstestungen für die Bestimmung der individuellen Schwellenwerte zu entwickeln. Dies ermöglicht ein individualisiertes Management und eine optimale Therapie von SD-Patienten. Das erste Instrument, das eine quantitative Abschätzung der Schwellenwerte ermöglichte, war ein feder-gestütztes Dermographometer. Es konnte manuell eingestellt werden und erzeugte Scherkräfte mit einem vertikalen Druck von 196, 353 und 589 kPa (10, 11).

2013 berichteten *Mlynek et al.* über ein neues Instrument, den Dermographometer *FricTest*[®] 3.0. Dieses Instrument besteht aus einem Kunststoffkamm mit sechs glatten Stahlstiften mit einer Länge von 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 und 5,0 mm (Abb. 1a). Um den erforderlichen Druck auszuüben, wird das Instrument mithilfe einer Kunststoffschablone vertikal über die Haut gestrichen. In den Studien mit dem *FricTest*[®] 3.0 konnte gezeigt werden, dass die vier längsten Stifte (3,5, 4,0, 4,5 und 5,0 mm), die durch Kratzen einen vertikalen Druck von 275, 441, 647 bzw. 912 kPa verursachen, bei der Quaddelbildung am effektivsten sind (12). Aufgrund dieser Kenntnisse haben wir eine neue, vereinfachte Version des Instrumentes, den *FricTest*[®] 4.0, entworfen. Dieses Gerät hat einen einfacheren Aufbau und besteht aus einem flachen, 85x9x55 mm großen Kunststoffkamm mit vier rundköpfigen Kunststoffstiften je 3 mm im Durchmesser und 3,0, 3,5, 4,0 und 4,5mm in der Länge (Abb. 1b). Im Rahmen dieser Arbeit wurde das *FricTest*[®] 4.0 mit dem älteren *FricTest*[®] 3.0 verglichen und validiert.

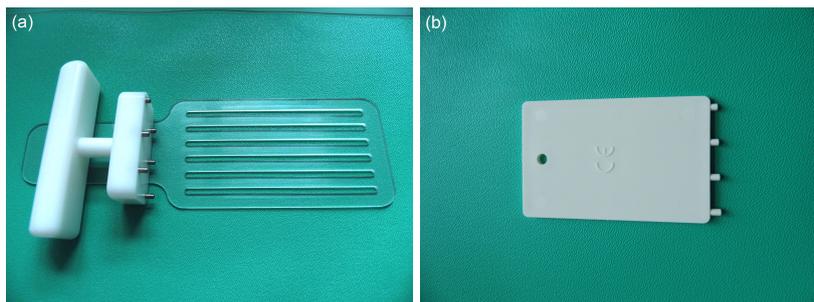


Abb. 1: (a) *FricTest*[®] 3.0 mit Kunststoffschablone
(b) *FricTest*[®] 4.0.

Die KU ist eine der häufigsten Formen der pHU und ist durch das Auftreten von juckenden Quaddeln und/oder Angioödemem gekennzeichnet, die sich nach der direkten Exposition der Haut oder Schleimhäute gegenüber Kälte entwickeln (13). Bei großflächiger Kälteexposition, wie beispielsweise Schwimmen im kalten Wasser, kann es allerdings auch zu systemischen Reaktionen, wie generalisierter Quaddelbildung, Kreislaufbeschwerden bis hin zum anaphylaktischen Schock, kommen. Kontakt der

Rachenschleimhaut mit eiskalten Getränken oder Speisen kann bei einigen Patienten zu Zungenschwellung und Larynxödemen führen (2). Infolgedessen haben unbehandelte oder nicht ausreichend behandelte KU-Patienten ein hohes Risiko, in potenziell lebensbedrohliche Zustände zu geraten. Aus diesem Grund ist die Prognose des potenziellen Risikos durch Bestimmung der individuellen Schwellentemperatur (*critical temperature threshold, CTT*) und dessen Eingrenzung durch eine adäquate Therapie wichtig. CTT ist die höchste Temperatur, bei der eine Kälteprovokation noch zu einer Quaddelbildung führt. Bei den meisten KU-Patienten liegen diese Temperaturen zwischen 4 und 26°C (14).

Die meist verbreitete Provokationsmethode zur Diagnostik der KU ist die fünf-minütige Applikation eines schmelzenden Eiswürfels auf der Haut des Patienten (15). Jedoch gibt diese Testung grundsätzlich keine Auskunft über die Schwellentemperatur. Zu diesem Zweck wurde ein elektronisches Gerät entwickelt (TempTest[®]), das den Peltier-Effekt nutzt und eine standardisierte und gleichzeitige Testung unterschiedlicher Temperaturen von 4–42°C ermöglicht (16) (Abb. 2a).

Das Hauptproblem dieser Geräte, die eine standardisierte und reproduzierbare Hautprovokation ermöglichen, sind ihre Herstellungskosten. Zum Beispiel betragen die Kosten für ein TempTest[®] der dritten Generation (TempTest[®] 3.0) mehr als 20.000 €. Aus diesem Grund haben wir zusammen mit den Ingenieuren der Firma Freyer & Siegel (Hennigsdorf, Deutschland) ein preiswerteres Instrument entwickelt, den TempTest[®] 4.0 (Abb. 2b).

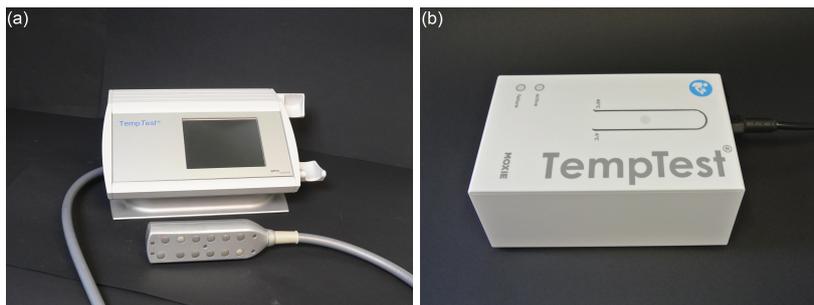


Abb. 2: (a) TempTest[®] 3.0. Temperaturkopf mit 12 thermoelektrischen Elementen.

(b) TempTest[®] 4.0 mit 2 mm breitem und 350 mm langem Peltier-Element, kontinuierlicher Temperaturverlauf von 4 bis 44°C.

Dieses Instrument hat ein einzelnes 2 mm breites Peltier-Element mit einer Gesamtlänge von 350 mm, das einen kontinuierlichen Temperaturgradienten von 4 bis 44°C entlang seiner Länge aufweist. Aufgrund der U-förmigen Konstruktion seines Temperaturelements hat das TempTest[®] 4.0 Betriebsabmessungen von 163 mm in der Länge und 26 mm in der Breite, so dass das Temperaturelement vollständig von der volaren Oberfläche des Unterarms bedeckt werden kann.

Die größte Schwierigkeit bei der Betreuung der pHU Patienten stellt das Fehlen effektiver, spezifischer Therapieoptionen dar. Die derzeit effektivsten Behandlungsstrategien von pHU beruhen auf der Empfehlung zur vollständigen Vermeidung des jeweiligen Reizes und dem Versuch einer Symptom-unterdrückenden medikamentösen Therapie (1). Die einzige zugelassene Therapie ist die symptomatische Therapie mit H1-Antihistaminika in Standarddosis, die häufig aber unzureichend ist (17). Deshalb ist die Untersuchung anderer therapeutischer Ansätze essenziell.

3. Zielstellung

Das Ziel der hier beschriebenen Arbeiten ist die Verbesserung der Diagnostik und Therapie der pHU. Hierzu wurden insgesamt vier klinische Studien durchgeführt: Zwei zur Verbesserung und Validierung standardisierter Provokationsverfahren zur Diagnostik von SD (Studie 1) und KU (Studie 2), eine zur Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit der Dosiserhöhung von Antihistaminika (Studie 3) und eine Studie zur Wirksamkeit der antibiotischen Therapie mit Doxycyclin bei KU-Patienten (Studie 4).

4. Material und Methoden

Die Validierungsstudien für das *FricTest*[®] 4.0 und *TempTest*[®] 4.0 (Studie 1 und 2) wurden gemäß der durch die Ethikkommission der Charité - Universitätsmedizin Berlin erteilten Genehmigung, während der klinischen Routineuntersuchungen, durchgeführt. Alle Teilnehmer haben spezifische Informationen erhalten und eine Einwilligung unterschrieben.

Im Rahmen der Validierungsstudie für das *FricTest*[®] 4.0 wurden insgesamt 30 Patienten mit einem länger als 6 Wochen bestehenden Symptomatischen Dermographismus und 30 gesunde Probanden untersucht. Die Provokationstestungen wurden während der Routineuntersuchung im Rahmen unserer spezialisierten Urtikaria-Sprechstunde durchgeführt. Patienten haben keine systemischen und topischen Steroide, keine topischen Antihistaminika sowie keine Mastzellstabilisatoren in den

letzten 2 Wochen vor der Untersuchung eingenommen oder verwendet. Orale Antihistaminika wurden mindestens 72h vor der Testung abgesetzt.

Die Provokation der urtikariellen Symptome wurde parallel im Bereich der volaren Unterarme mit den beiden FricTest[®] Instrumenten durchgeführt. Hierfür wurde das FricTest[®] 4.0 (Moxie, Berlin, Deutschland) perpendicular zur Haut gehalten, so dass ausreichend Druck ausgeübt werden konnte. Die Haut wurde ca. 10 cm lang quer gestrichen. Die Provokation mit dem FricTest[®] 3.0 wurde parallel auf dem anderen Unterarm durchgeführt. Hierzu wurde das Gerät (Biomedizinische Werkstatt der Charité, Berlin, Deutschland) einmal über die Oberfläche des volaren Unterarmes von rechts nach links geschoben. Um den genauen Druck auf der Haut ausüben zu können, wurde hierbei eine 2mm dicke Kunststoffschablone verwendet.



Abb. 3: Positives Testergebnis: Quaddel und Erythembildung 10 Minuten nach der Provokation mit Scherkräften (FricTest[®] 4.0).

Die Hautreaktion wurde 10 Minuten nach der Testung abgelesen. Das Ergebnis wurde als positiv beurteilt, wenn eine ≥ 3 mm breite Quaddel an der Einwirkungsstelle der Scherkräfte aufgetreten ist (Abb. 3) Patienten wurden zusätzlich gebeten ihren Juckreiz mithilfe einer verbalen Ratingskala (VRS) von 0 bis 10 zu dokumentieren.

Für die statistische Analyse der normal verteilten Daten wurde der Student's *t* Test für gepaarte Daten angewendet.

Im Rahmen der Validierungsstudie für das TempTest[®] 4.0 (Studie 2) wurde die Leistung des neuen Gerätes mit der Leistung des TempTest[®] 3.0 verglichen. Es wurden 30 gesunde Probanden (20 Frauen und 10 Männer im Alter von 22-53 Jahren, Medianalter 33 Jahre), sowie 30 KU-Patienten (7 Männer und 23 Frauen im Alter von 15-69 Jahre, Medianalter 45 Jahre) aus der Urtikaria-Sprechstunde der Charité – Universitätsmedizin Berlin in die Studie eingeschlossen. Systemische Steroide, Antihistaminika, Mastzellstabilisatoren, Antidepressiva sowie topische Steroide und topische Antihistaminika wurden 2 Wochen vor der Testung abgesetzt.

Die Provokation wurde bei jedem Teilnehmer in zufälliger Reihenfolge innerhalb 1h durchgeführt. Hierfür wurde das TempTest[®] 3.0 auf dem linken volaren Unterarm platziert, um die Auswirkung der Temperaturen von 4°C bis 26°C auf die Haut zu untersuchen. Für die Provokation mit dem TempTest[®] 4.0 wurde der rechte volare

Unterarm des Teilnehmers auf das Gerät gelegt und die Haut mit Temperaturen von 4°C bis 44°C stimuliert. Die Provokationszeit für die beiden Geräte betrug 5 Minuten und die Ablesung erfolgte 10 Minuten nach der Testung. Das Auftreten einer Quaddel wurde als positive Reaktion beurteilt. Als individuelle Schwellentemperatur für das TempTest® 3.0 (CTT) wurde die höchste Temperatur dokumentiert, die noch zu einer Quaddelbildung führte. Als CTT für das TempTest® 4.0 wurde die höchste Temperatur festgelegt, bei der noch eine ≥ 2 mm breite Quaddel auftrat (Abb. 4a,b).

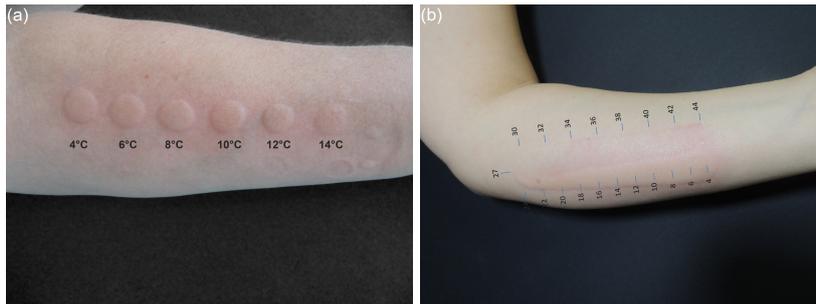


Abb. 4: (a) Quaddelbildung nach Provokation mit TempTest® 3.0. Die Schwellentemperatur (CTT) - höchste Temperatur, die noch eine Quaddel auslöst, liegt bei 14°C; (b) positive Reaktion nach Provokation mit TempTest® 4.0. Die CTT (höchste Temperatur bei der noch eine ≥ 2 mm breite Quaddel auftritt) liegt bei 27°C.

Die statistische Analyse der Daten wurde mithilfe des Student's *t* Tests durchgeführt. Die Korrelation zwischen den mit TempTest® 3.0 und 4.0 gemessenen CTTs wurde mit Pearson's Correlation berechnet.

Die dritte Studie im Rahmen dieser Arbeit diente der Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit der Dosiserhöhung von Antihistaminika bei Patienten mit KU. Hierfür wurde eine doppelblind-placebo kontrollierte klinische Studie mit 20 und 40 mg Rupatadin in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin und der Abteilung für Dermatologie des Hospital del Mar Barcelona durchgeführt. Die Studie wurde durch die Ethikkommissionen beider Zentren genehmigt und wurde entsprechend der Direktiven der Deklaration von Helsinki und den internationalen Leitlinien „*Good Clinical Practice*“ durchgeführt. Die clinicaltrials.gov Nummer lautet NCT01605487. Alle Teilnehmer haben am Anfang der Studie die Einwilligungserklärung unterschrieben. Es wurden insgesamt 24 Patienten mit Kälteurtikaria (6 Männer und 18 Frauen von 19-68 Jahren, mittleres Alter 45 Jahre) in die Studie eingeschlossen. Die Fallzahl wurde mittels einer Power von 80% (gepaarter *t*-Test), eines zweiseitigen Signifikanzniveaus von 5% und eines mittelgroßen Effekts von 1,2 Standardabweichungen abgeschätzt. Voraussetzung für Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, war das Vorliegen einer chronischen, seit über sechs Wochen bestehenden KU, sowie Erfüllung aller Einschluss- und keiner der

Ausschlusskriterien. Patienten wurden durch ein Zufallsprinzip in 6 Gruppen unterteilt. Sie bekamen entweder 20 oder 40 mg Rupatadin oder Placebo innerhalb einer Woche mit anschließender 2-wöchiger Washout-Phase, bevor ein Wechsel zu der nächsten Studienmedikation erfolgte (Abb. 5).

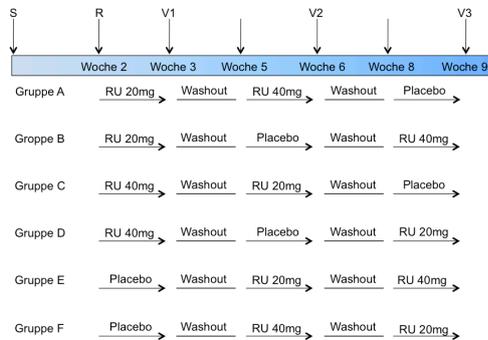


Abb. 5: Studiendesign. Abkürzungen: RU, Rupatadin; S, Screening; R, Randomisierung; V1, V2 und V3, Studienvisiten zur Bestimmung der Schwellentemperatur, Schwellenzeit sowie Evaluierung von unerwünschten Ereignissen.

Primärer Endpunkt der Studie war die Veränderung der Schwellentemperatur (CTT) und Schwellenzeit (*critical stimulation time threshold, CSTT*) nach der Behandlung mit Rupatadin in verschiedenen Dosierungen. Als CTT wurde die höchste Temperatur, die nach einer 5-minütigen Provokation zu einer Quaddelbildung führte, definiert. Für die Bestimmung der CTT-Werte wurde das TempTest® 3.0 auf 4 bis 26°C in Intervallen von 2°C gekühlt und für 5 Minuten auf der medialen Seite des Unterarms der Patienten platziert. Ergebnisse wurden 10 Minuten nach der Messung abgelesen und dokumentiert. Zur Evaluierung der Wirksamkeit von Rupatadin wurden alle Patienten aufgrund ihrer CTT-Werte nach der Behandlung in 3 Gruppen unterteilt: „vollständige Therapieansprecher“, die keine Quaddeln mehr entwickelt haben, „partielle Therapieansprecher“, die eine Verbesserung in CTT $\geq 4^{\circ}\text{C}$ im Vergleich mit Placebo zeigten und „Nicht-Ansprecher“, bei denen sich die CTT nach Einnahme von Rupatadin um weniger als 4°C im Vergleich mit Placebo verbessert hat.

CSTT war als die kürzeste Zeit bei der es zur Quaddelentstehung kommt definiert. Hierfür wurde die Haut des volaren Unterarms mittels TempTest® 3.0 für 0,5 bis 5 Minuten (Messintervall 30 Sek.) jeweils bei 4°C provoziert. Die Ablesung der Testergebnisse erfolgte 10 Minuten nach abgeschlossener Provokation. Aufgrund ihrer CSTT-Werte wurden die Patienten in 3 Gruppen unterteilt: „vollständige Therapieansprecher“, die keine Quaddeln mehr nach der Behandlung entwickelt haben, „partielle Therapieansprecher“, die nach der Behandlung eine CSTT Steigerung $\geq 0,5$ min im Vergleich mit Placebo zeigten und „Nicht-Ansprecher“, bei denen sich die CSTT nach der Behandlung im Vergleich mit Placebo nicht geändert hat.

Zusätzlich wurden vor Studienbeginn und nach Studienabschluss bei allen Patienten eine körperliche Untersuchung, Routine Laboruntersuchungen sowie EKG durchgeführt. Darüber hinaus wurden alle Probanden bei jeder Studienvisite nach neu aufgetretenen unerwünschten Ereignissen, die möglicherweise während der Behandlungsphase oder während der Washout-Phase aufgetreten sind, gezielt befragt.

Die CTT und CSTT sind als Median-Werte dargestellt und die Signifikanz der Differenzen wurde mithilfe des nicht-parametrischen Wilcoxon Tests bestimmt. Das individuelle Ansprechen der Patienten wurde mithilfe des Fisher's Exact Tests analysiert.

Im Rahmen der vierten Studie wurde die Wirksamkeit der antibiotischen Therapie bei KU untersucht. Dafür wurden Daten von 26 KU-Patienten (6 Männer und 20 Frauen) aus der Urtikaria-Sprechstunde der Charité - Universitätsmedizin Berlin retrospektiv analysiert. Das mittlere Alter der Patienten war 41 Jahre (Standardabweichung (SA) 17), die mittlere Krankheitsdauer war 7,2 (SA 6) Jahre. Die mittlere CTT betrug 14°C (SA 6). Alle Patienten wurden mit 200 mg/tgl Doxycyclin 7 bis 28 Tage (Mittlerer Therapiedauer 18,5 (SA 5)) behandelt: ein Patient über 7 Tage, 4 über 10 Tage, 2 über 14 Tage, 18 über 21 Tage und einer über 28 Tage. Bei 2 der Patienten (8%) wurde Doxycyclin als Monotherapie durchgeführt, die restlichen 24 Patienten (92%) haben zusätzlich H1-Antihistaminika eingenommen. Das Ansprechen auf die Therapie wurde mindestens 48h nach dem Absetzen von Antihistaminika mithilfe von Provokationstestungen evaluiert. Bei 24 Patienten wurde TempTest[®] 3.0, bei einem Patienten der Eiswürfeltest durchgeführt und ein Patient wurde mittels eines kalten Handbades mit einer Wassertemperatur von 15°C provoziert. Die Testergebnisse wurden 10 Minuten nach der Provokation abgelesen. Die höchste Temperatur, bei der noch eine Quaddel entstand, wurde als CTT dokumentiert. Aufgrund ihrer CTT-Werte nach der Behandlung wurden die Patienten in 3 Gruppen unterteilt: „vollständige Therapieansprecher“, die nach Provokation mit der niedrigsten Temperatur (4°C) keine Quaddeln mehr entwickelt haben, „partielle Therapieansprecher“, die eine Verbesserung in CTT $\geq 4^{\circ}\text{C}$ im Vergleich mit Baseline zeigten und „Nicht-Ansprecher“, bei denen sich die CTT um weniger als 4°C im Vergleich mit Baseline verbessert hat.

Die statistische Auswertung wurde mithilfe Student's *t* Test durchgeführt und ein *p*-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

5. Ergebnisse

Im Folgenden sind die Ergebnisse der ersten Studie, der Validierungsstudie für FricTest® 4.0, dargestellt (18). Alle 30 SD-Patienten und keiner der gesunden Probanden zeigten eine positive Reaktion auf die mit FricTest® 3.0 und 4.0 in der höchsten Trigger-Stärke durchgeführten Provokation. Dieses Ergebnis zeigt, dass das FricTest® 4.0 eine 100%-ige Sensitivität und Spezifität für die Diagnose des SD hat. Die Anzahl der Patienten, die positiv auf entsprechende Stiftlängen der beiden Instrumente reagierten, war vergleichbar (Abb. 6). Darüber hinaus produzierten beide Instrumente, in Abhängigkeit von ihrer Stiftlänge, vergleichbare Quaddeldurchmesser (Abb. 7). Die Intensität des Juckreizes war bei beiden Instrumenten vergleichbar. Der Mittelwert betrug $3,53 \pm 0,40$ für FricTest® 4.0 und $3,73 \pm 0,43$ für FricTest® 3.0. Die Differenz zwischen den beiden Bewertungen war statistisch nicht signifikant ($p=0,59$).

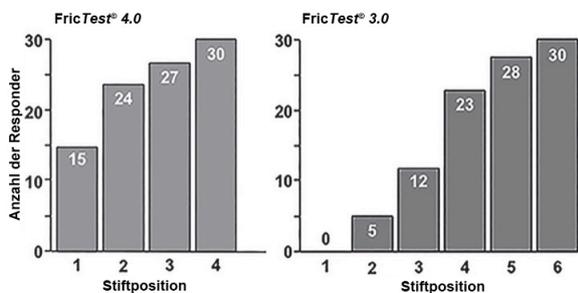


Abb. 6: Positives Testergebnis (Quaddelbildung ≥ 3 mm) bei unterschiedlichen Reizschwellen gemessen bei SD-Patienten 10 min nach der Provokation mit FricTest® 4.0 und FricTest® 3.0.

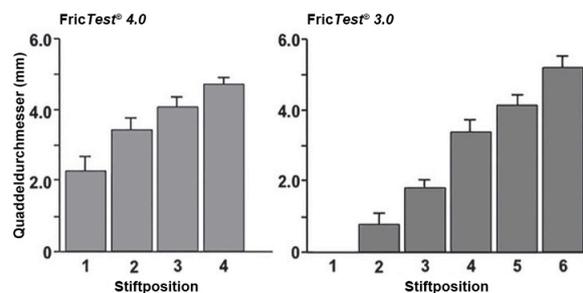


Abb. 7: Breite der Quaddel (Mittelwert \pm Standardfehler) hervorgerufen durch unterschiedliche Stiftlängen von FricTest® 4.0 und FricTest® 3.0.

Die Ergebnisse der ebenfalls bereits publizierten zweiten Studie, der Validierungsstudie für TempTest® 4.0, sind nachstehend zusammengefasst (19).

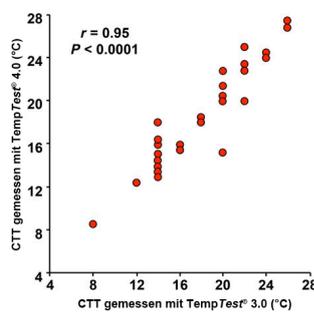


Abb. 8: Korrelation zwischen CTT-Werten gemessen mit TempTest® 3.0 und TempTest® 4.0.

Bei allen 30 KU-Patienten und keinem der gesunden Probanden konnte eine typische Quaddelbildung mit TempTest® 3.0 sowie TempTest® 4.0 ausgelöst werden. Die CTT-Werte lagen dabei im Bereich von 8 bis 28°C. Der Mittelwert (\pm SF) für das TempTest® 3.0 lag bei 18°C (\pm 0,85) und für das TempTest® 4.0 bei 18,5°C (\pm 0,89). Es bestand eine hoch signifikante Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den CTT-Werten einzelner Patienten gemessen mit TempTest®

3.0 und 4.0 (Abb. 8). Bei 25 Patienten (83%) lag die CTT-Differenz bei 2°C, was der Unterschied zwischen den einzelnen Elementen vom TempTest® 3.0 ist. Nur in einem Fall überstieg die Differenz 4°C.

Die Daten der dritten Studie, der Studie zur Wirksamkeit der Dosiserhöhung des Antihistaminikums Rupatadin bei Patienten mit KU, wurden in *Acta Derm Venereol* veröffentlicht (20). In die Studie wurden insgesamt 24 KU-Patienten eingeschlossen. Ein Patient hat die Studie aus persönlichen Gründen abgebrochen somit wurden die Daten von 23 Patienten analysiert. Die CSTT-Bestimmung nach Einnahme von 40 mg Rupatadin war bei einem Patienten aufgrund eines technischen Problems nicht möglich. Die medianen CTT-Werte für die Placebo-Gruppe lagen bei 14°C (<4 bis 24) und für Rupatadin 20 und 40 mg bei 10°C (<4 bis 24) und 4°C (<4 bis 24) (Abb. 9a). Beide medianen CTT-Werte nach der Behandlung mit 20 und 40 mg Rupatadin waren statistisch signifikant geringer als diese bei Placebo. Allerdings war der Unterschied zwischen den beiden Rupatadin-Dosen statistisch nicht signifikant. Eine individuelle statistische Analyse hat jedoch gezeigt, dass 17/23 (74%) und 18/22 (81%) der Patienten insgesamt eine Verbesserung unter der Therapie mit Rupatadin erreichten, dabei waren 7/23 (30%) und 11/22 (50%) Patienten beschwerdefrei unter Einnahme von 20 respektive 40 mg Rupatadin (Abb.9b).

Die Medianwerte für CSTT in der Placebo-Gruppe betrugen 1,5 min (1 - >5). Die medianen CSTT-Werte für Rupatadin 20 und 40 mg lagen bei 3 (1 - >5) bzw. 5 min (1 - > 5). Die beiden letzten Werte waren statistisch signifikant ($p < 0,001$) höher, als in der Placebo-Gruppe (Abb. 10a). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Medikamentendosen konnte allerdings auch hier nicht gezeigt werden. Die Responder-Analyse zeigte einen Anstieg der CSTT- Werte um $\geq 0,5$ min. bei 15/23 (65%) und 18/22 (81%) der Patienten nach der Behandlung mit Rupatadin 20 und 40 mg respektive. 9/23 (39%) und 11/22 (50%) Patienten waren bei der Provokation nach der Behandlung mit 20 bzw. 40 mg Rupatadin symptomfrei (Abb. 10b).

Es wurden insgesamt 25 unerwünschte Ereignisse (AEs) beobachtet und nach Behandlungsgruppen wie folgt verteilt: Placebo (n = 7), Rupatadin 20 mg (n = 7) und Rupatadin 40 mg (n = 11). Der Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen war statistisch nicht signifikant. Nur ein Patient berichtete über Schläfrigkeit im Zusammenhang mit 40 mg Rupatadin.

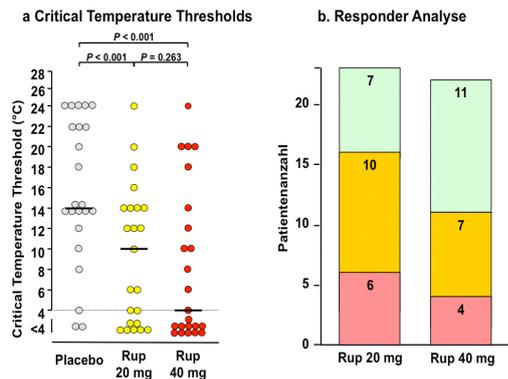


Abb. 9: (a) Schwellentemperaturwerte (CTT) nach der Kälteprovokation. Durch die Horizontallinien sind Median-Werte dargestellt. Signifikanz der Differenz zwischen diesen Werten wurde mithilfe des Wilcoxon nicht-parametrischen Tests berechnet. (b) Therapie mit Rupatadin schützt vor Auftreten der KU-Symptome. Unterteilung der Patienten in 3 Gruppen aufgrund ihrer, nach der Behandlung gemessenen, CTT-Werte: „vollständige Therapieansprecher“, die nach der Provokation mit der niedrigsten Temperatur 4°C keine Quaddeln mehr entwickelt haben (*grün*), „partielle Therapieansprecher“, die eine Verbesserung in CTT $\geq 4^\circ\text{C}$ im Vergleich mit Placebo zeigten (*orange*) und „Nicht-Ansprecher“, bei denen die CTT sich nach Einnahme von Rupatadin $< 4^\circ\text{C}$ im Vergleich mit Placebo verbessert hat (*rosa*).

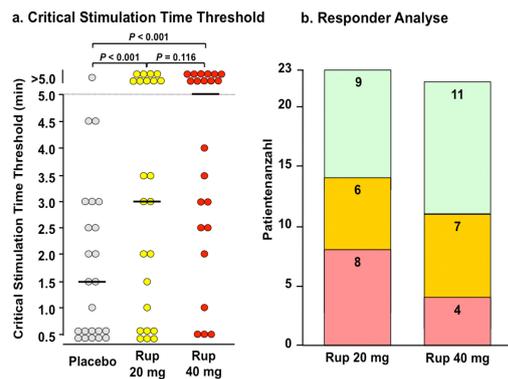


Abb. 10: (a) Schwellenzeit (CSTT) nach der Kälteprovokation. Durch die Horizontallinien sind Median-Werte dargestellt. Signifikanz der Differenz zwischen diesen Werten wurde mithilfe des Wilcoxon nicht-parametrischen Tests berechnet. (b) Patienten wurden aufgrund ihrer CSTT-Werte nach der Behandlung in 3 Gruppen unterteilt: „vollständige Therapieansprecher“, keine Quaddelbildung nach 5 Min Provokation bei 4°C (*grün*), „partielle Therapieansprecher“, Reduktion der CSTT $\geq 0,5^\circ\text{C}$ Min (*orange*) und „Nicht-Ansprecher“, Reduktion der CSTT $< 0,5$ Min (*rosa*).

Im folgenden Absatz sind die Ergebnisse der vierten Studie - Wirksamkeit von Antibiotika bei KU - zusammengefasst (21). Die statistische Datenanalyse zeigte keine signifikante Reduktion der CTT-Werte unter Doxycyclin-Therapie im Vergleich mit der Baseline ($p=0,5$). CTT nach der Therapie lag bei 12°C (SA 8) vs. Baseline CTT, mit 14°C (SA 6). Eine Subpopulation von KU-Patienten (5 von 26, 19%) zeigte jedoch eine vollständige Beschwerdefreiheit nach der Antibiotikatherapie, d.h. keine Quaddelbildung nach der Provokation mit 4°C . Vier weitere Patienten (15%) zeigten ein partielles Ansprechen auf die Therapie mit einer Reduktion der CTT-Werte um $\geq 4^\circ\text{C}$ (Abb. 11). Das Ansprechen auf die Therapie korrelierte weder mit der Dauer oder Schwere der Erkrankung, noch mit dem Alter, Geschlecht der Patienten oder der Behandlungsdauer. Weitere statistische Analysen zeigten keinen Unterschied zwischen den Baseline CTT-Werten bei Therapieansprechern und Nicht-Ansprechern. Allerdings hatten die Patienten, die nach der Therapie mit Doxycyclin beschwerdefrei waren, eine niedrigere Baseline-CTT im Vergleich zu den Patienten, die nur eine partielle Verbesserung zeigten ($p=0,01$) (Abb. 12a,b).

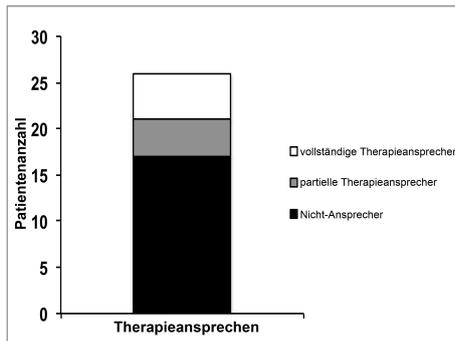


Abb. 11: Therapieansprechen von KU-Patienten auf Doxycyclin (n=26). Unterteilung anhand der gemessenen CTT-Werte nach der Behandlung in 3 Gruppen: „vollständige Therapieansprecher“, keine Quaddelbildung nach Provokation mit der niedrigsten Temperatur (4°C); „partielle Therapieansprecher“, Verbesserung der CTT um $\geq 4^\circ\text{C}$ im Vergleich mit Baseline; „Nicht-Ansprecher“, Verbesserung der CTT um $< 4^\circ\text{C}$ im Vergleich mit Baseline.

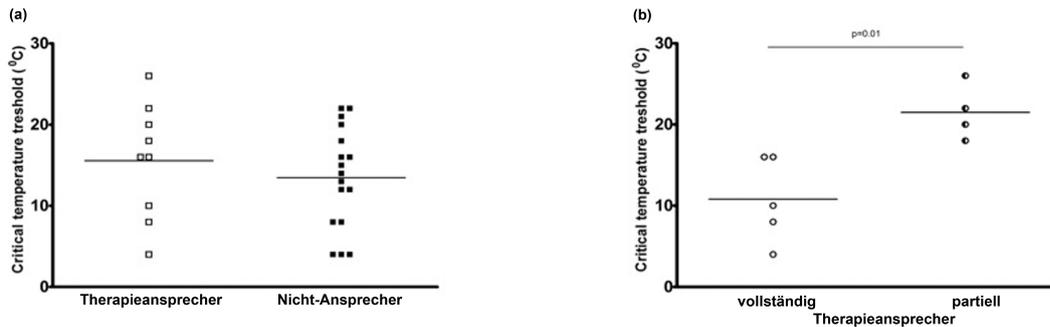


Abb. 12: (a) Unterschied zwischen den CTT-Werten nach der Behandlung bei der Therapieansprecher und Nichtansprecher ist nicht statistisch signifikant ($p > 0.05$). (b) KU-Patienten mit niedrigeren Ausgangs-CTT-Werten zeigen besseres Ansprechen auf Antibiotika. Patienten die nach der Therapie mit Doxycyclin beschwerdefrei sind, haben eine niedrigere Baseline-CTT im Vergleich zu den Patienten, die nach der Therapie nur eine partielle Verbesserung zeigen ($p = 0.01$).

6. Diskussion

Im Rahmen der hier beschriebenen Arbeiten wurden zwei neue vereinfachte und preisgünstigere Instrumente zur Diagnostik und Bestimmung der Triggerschwelle bei den häufigsten Formen der pHU (Symptomatischer Dermographismus und Kälteurtikaria) untersucht und validiert.

In der ersten Studie wurde das FricTest[®] 4.0 mit dem FricTest[®] 3.0 verglichen und validiert. 2013 berichteten Mlynek et al. über die Anwendung des FricTest[®] 3.0 zur Diagnostik des SD und zur Bestimmung der Triggerschwelle (12). Aus den Ergebnissen der Studie folgt, dass das FricTest[®] 3.0 eine 100%-ige Sensitivität und Spezifität in der Diagnose des SD hat. Zur Bestimmung der Triggerschwelle waren allerdings nur die 3,0, 3,5, 4,0 und 4,5 mm langen Stifte relevant. Basierend auf diesen Erkenntnissen haben wir das Instrument modifiziert und vereinfacht. Das FricTest[®] 4.0 besteht aus einem kleineren Kunststoffkörper mit 3,0, 3,5, 4,0 und 4,5 mm langen Stiften. Das Instrument zeigte in der Validierungsstudie auch eine 100%-ige Spezifität und Sensitivität in der Diagnostik des SD. Eine Abstufung der Quaddelbildung, die durch verschiedene Stiftlängen ausgelöst wird, ermöglicht eine semiquantitative Bestimmung der

Triggerschwelle. Aus den Ergebnissen lässt sich in diesem Fall kein exakter mathematischer Wert ableiten. Die durch unterschiedliche Stiftlängen des *FricTest*[®] 4.0 ausgelöste Quaddelbildung wird als leicht, mittelschwer, schwer und sehr schwer klassifiziert. Das ermöglicht eine objektive Aussage über die Aktivität der Erkrankung. Diese Unterteilung ist Voraussetzung für eine individualisierte Therapie. Durch die geringen Anschaffungskosten und die einfache Handhabung des *FricTest*[®] 4.0 kann das Instrument eine breite Anwendung im klinischen Alltag finden und zum besseren Verständnis der Erkrankung beitragen. Durch wiederholte Bestimmung der Triggerschwelle im Laufe der Erkrankung können beispielsweise natürliche tageszeitliche oder durch andere Faktoren bedingte Schwankungen der Triggerschwelle untersucht und charakterisiert werden. Ein weiterer Aspekt der Forschung, in dem das *FricTest*[®] 4.0 angewendet werden kann, ist die Untersuchung der Beeinträchtigung der Lebensqualität von SD-Patienten in Abhängigkeit von der Triggerschwelle. Die standardisierte und reproduzierbare Provokation mit dem *FricTest*[®] 4.0 ermöglicht außerdem seine Anwendung in klinischen Studien. Eine klinische Studie, in dem das *FricTest*[®] 4.0 Gerät bereits seine Verwendung gefunden hat, wurde vor kurzem veröffentlicht (22). Hier wurde die Wirksamkeit und Sicherheit eines IgE-Antagonisten (Omalizumab) bei Patienten mit SD untersucht. Zur Diagnostik und Untersuchung der Effektivität der Behandlung wurde das *FricTest*[®] 4.0 angewendet.

Im Verlauf der zweiten Validierungsstudie wurden *TempTest*[®] 3.0 und *TempTest*[®] 4.0 anhand der von ihnen generierten CTT-Werte miteinander verglichen. Die Bestimmung der CTT-Werte ermöglicht eine genauere Diagnostik, Auskunft über die Krankheitsaktivität der KU sowie eine bessere Kontrolle des Therapieerfolges (14, 16). Obwohl das *TempTest*[®] 3.0 diese Aufgabe sehr zufriedenstellend erfüllte, führten die erheblichen Produktionskosten zu einer nur geringen Verbreitung des Gerätes in Kliniken bzw. Studienzentren.

In Zusammenarbeit mit der Firma Freyer und Siegel wurde das Nachfolgemodell *TempTest*[®] 4.0 entwickelt und validiert. Die Ergebnisse der Studie zeigten eine 100%ige Sensitivität und Spezifität des neuen Gerätes in der Diagnostik der KU. Darüber hinaus konnte eine hohe statistisch signifikante Korrelation zwischen den mit den *TempTest*[®] 3.0 und 4.0 gemessenen CTT-Werten gezeigt werden ($p < 0,0001$). Die lineare Gestaltung des *TempTest*[®] 4.0 ermöglicht eine Bestimmung der CTT-Werte mit einer Genauigkeit von $\pm 1^\circ\text{C}$ zwischen 4°C und 44°C und kann darüber hinaus nicht nur

für KU, sondern auch zur Bewertung der CTT-Werte bei Wärmeurtikaria angewendet werden (1, 23, 24). Die Kosten für das neue Gerät betragen weniger als 10% der Anschaffungskosten seines Vorgängers. Somit ist das TempTest[®] 4.0 für eine breitere Anwendung im klinischen Alltag geeignet. Die Anwendung des TempTest[®] 4.0 zur Bestimmung der CTT trägt zur Vertiefung unserer Kenntnisse über das klinische Bild und den natürlichen Verlauf der KU bei. Eine Untersuchung der Korrelation zwischen CTT und der Schwere der Erkrankung wird eine Unterteilung der KU-Patienten, je nach ihrer Krankheitsaktivität, in unterschiedliche Subgruppen ermöglichen. Dies führt wiederum zu einer individualisierten Therapie. Wiederholte CTT-Messungen im Laufe der Erkrankung ermöglichen eine Untersuchung der natürlichen Schwankungen der Schwellentemperatur bei KU-Patienten, und führen somit zur besseren Charakterisierung des Krankheitsverlaufs.

Durch die standardisierte und reproduzierbare Kälteprovokation mit TempTest[®] 4.0 ist die Voraussetzung für dessen Anwendung auch in klinischen Studien gegeben. Eine klinische Studie, in der TempTest[®] 4.0 zur Diagnostik der KU und Bestimmung von CTT-Werte angewendet wird, wird aktuell in der Klinik für Dermatologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Hierbei wird die Wirksamkeit und Sicherheit eines IL-1-Inhibitors (Rilonacept) bei KU-Patienten untersucht.

Die Ergebnisse der dritten klinischen Studie bestätigen in erster Linie die Ergebnisse bisheriger Studien, in denen sich das Antihistaminikum Rupatadin in einer Dosis von 20 mg in der Symptomreduktion der KU wirksam zeigte (25-27). Zusätzlich steigerte die Dosiserhöhung auf 40 mg die Effektivität des Antihistaminikums gegenüber Placebo. Die Behandlung mit Rupatadin in den beiden untersuchten Dosierungen wurde gut vertragen und die Dosissteigerung führte nicht zum vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen z.B. wie der Sedierung.

Im Rahmen der Studie wurden Schwellentemperatur und Schwellenzeit der Quaddelbildung bestimmt. Beide Methoden zeigten eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0,001$) in allen Behandlungsgruppen.

Die doppelte Dosis von Rupatadin (20 mg) wurde wegen seiner bereits in früheren Urtikaria-Studien demonstrierten höheren Wirksamkeit gegenüber der Standarddosis (10 mg) ausgewählt (25, 27, 28). Die 20 mg Dosis zeigte eine signifikante Effektivität auch in unserer Studie. Unter der Dosiserhöhung auf 40 mg haben mehr Patienten eine partielle und komplette Beschwerdefreiheit erreicht im Vergleich mit 20 mg. Allerdings

war der Unterschied zwischen den beiden Dosierungen statistisch nicht signifikant. Ein Grund für diese Ergebnisse könnte die geringe Anzahl der Patienten (n=23) sein. Da die KU aber mit 0,05% Prävalenz in der Gesamtbevölkerung zu den seltenen Erkrankungen gehört, war eine größere Fallzahl nicht möglich. Unter der 40 mg Dosierung waren 11 von 22 Patienten (50%) asymptomatisch und nur 3 (13%) therapierefraktär. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen anderer früherer Antihistaminika-Studien mit Desloratadin (4/15 Nicht-Ansprecher), Rupatadin (3/21 Nicht-Ansprecher) und Bilastin (1/20 Nicht-Ansprecher) (25, 29, 30). Wie auch bei anderen Urtikariaformen scheint es bei KU eine Subgruppe von Patienten zu geben, die auf die Therapie mit H1-Antihistaminika nicht ansprechen. Die genauen Gründe dafür sind bislang noch unklar. Eine mögliche Ursache könnte sein, dass bei einem Teil der Patienten neben oder statt Histamin weitere proinflammatorische Mediatoren pathogenetisch relevant sind (31-35). Zur besseren Charakterisierung dieser Patienten sind weitere Studien erforderlich.

Diese Studie trägt im Wesentlichen zum besseren Verständnis der Anwendung von Antihistaminika in der Behandlung der KU bei. Es konnte gezeigt werden, dass Rupatadin in der Behandlung der KU hocheffektiv ist. Dosiserhöhung führt zur Steigerung der Effektivität ohne Häufung von Sedierung und anderen Nebenwirkungen.

Orale Tetracycline, unter anderem Doxycyclin, werden seit den 1950-iger Jahren in der Behandlung nicht bakterieller dermatologischer Erkrankungen vielfältig eingesetzt (36). Eine erfolgreiche Behandlung der KU mit Antibiotika wurde bereits in früheren Fallberichten beschrieben. 1996 berichteten *Moeller* et al. über Symptom-Remission in 5 von 10 KU-Patienten nach Tetracyclin-Behandlung (4). In unserer Studie profitierten 34% der KU-Patienten von der Behandlung mit Doxycyclin. Die Hälfte zeigte dabei eine komplette Beschwerdefreiheit. Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz zwischen unseren Ergebnissen und früheren Befunden könnte die größere und somit repräsentativere Anzahl der eingeschlossenen Patienten (n=26) sein. Das Therapieansprechen in unserer Studie wurde mithilfe standardisierter Provokationsverfahren (TempTest[®] 3.0, Eiswürfel-Test oder kaltes Handbad) bei jedem Patienten gegenüber der Baseline beurteilt, während *Moeller* et al. die Provokationstestungen nur bei einzelnen Patienten nach der Therapie durchführten. Unsere Daten zeigen, dass KU-Patienten mit niedriger Ausgangs-CTT besser auf die Therapie ansprechen, als Patienten mit höherer Ausgangs-CTT. Anhand dieser

Ergebnisse ist es allerdings nicht möglich nur mit Hilfe der CTT-Werte das Therapieansprechen zu prognostizieren.

Die Wirksamkeit der Tetracycline und ihrer Derivate in der Therapie inflammatorischer Hauterkrankungen ist vermutlich primär durch deren entzündungshemmende Eigenschaften bedingt. Diese nicht-antibiotischen Effekte sind auf eine Inhibition der Angiogenese, der Neutrophilen-Chemotaxis und von proinflammatorischen Zytokinen zurückzuführen (37). Der genaue Wirkmechanismus von Doxycyclin bei KU ist bislang unbekannt. Zu erwägen ist eine kurative Wirkung auf subklinische chronische Infekte. Allerdings ist die Evidenz für eine Relevanz von bakteriellen Infekten bei KU niedrig (38). Die Wirksamkeit von Doxycyclin bei der KU wird am ehesten durch dessen immunregulatorische Aktivität bzw. hemmende Wirkung auf die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen erklärt, die eine erhebliche Rolle in der Pathogenese der KU spielen (39).

Der orale Einsatz von Doxycyclin stellt eine wirksame systemische Therapie bei einer Subgruppe von KU-Patienten dar. Die Untersuchung des genauen Wirkmechanismus wird zum besseren Verständnis des Pathomechanismus der Erkrankung führen und eine Therapieprognose ermöglichen.

7. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei neue, vereinfachte und preisgünstigere Instrumente zur Diagnostik und Bestimmung der Triggerschwelle bei den häufigsten Formen der pHU (Symptomatischer Dermographismus und Kälteurtikaria) entwickelt und validiert. Die beiden neuen Instrumente (FricTest[®] 4.0 und TempTest[®] 4.0) schaffen Voraussetzungen für eine standardisierte und reproduzierbare Bestimmung der jeweiligen Triggerschwelle und sind dabei weitaus erschwinglicher durch ihre geringen Herstellungs-/Anschaffungskosten. Eine genauere Messung der Triggerschwelle ermöglicht einerseits eine schnelle und einfache Diagnosestellung bei gleichzeitiger Bestimmung der Krankheitsaktivität und Kontrolle des Therapieeffektes. Darüber hinaus geht aus der vorliegenden Arbeit hervor, dass die Gabe des H1-Antihistaminikums Rupatadin die Symptome der KU effektiv reduziert. Zudem ist eine Dosissteigerung nachweislich wirksam, was die aktuellen Leitlinien unterstützt. Vor allem aber zeigt sich, dass eine hochdosierte Therapie sicher und verträglich ist: Somnolenz, Schwindel und Kopfschmerz als Ausdruck möglicher zentral-nervöser

Nebenwirkungen sind nach Dosiserhöhung nicht häufiger als unter Standarddosis aufgetreten.

Zum ersten Mal wurden die Effekte einer antibiotischen Therapie mit Doxycyclin in einer größeren Gruppe von KU-Patienten untersucht. Zwar konnte eine signifikante Verbesserung der KU-Beschwerden mit der Therapie nicht erreicht werden, dennoch wurde eine Untergruppe der Patienten identifiziert, die niedrigere Ausgangs-CTT-Werte hatten und ein komplettes Ansprechen auf die Therapie zeigten.

Diese Arbeit trägt zu einer Verbesserung der Diagnostik und Therapie der pHU bei und gibt zusätzlich neue Ansatzpunkte zur weiteren Forschung auf diesem Gebiet. Für eine individualisierte Patientenbetreuung sollten sich weitere standardisierte, klinische und grundlagenwissenschaftliche Studien anschließen. So kann die Anzahl der optimal therapierten und beschwerdefreien Patienten langfristig erhöht werden.

8. Referenzen

1. Magerl M, Altrichter S, Borzova E, Gimenez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, Meshkova RY, Zuberbier T, Metz M, Maurer M. The definition, diagnostic testing, and management of chronic inducible urticarias - The EAACI/GA(2) LEN/EDF/UNEV consensus recommendations 2016 update and revision. *Allergy*. 2016;71(6):780-802.
2. Wanderer AA, Grandel KE, Wasserman SI, Farr RS. Clinical characteristics of cold-induced systemic reactions in acquired cold urticaria syndromes: recommendations for prevention of this complication and a proposal for a diagnostic classification of cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1986;78(3 Pt 1):417-23.
3. Breathnach SM, Allen R, Ward AM, Greaves MW. Symptomatic dermatographism: natural history, clinical features laboratory investigations and response to therapy. *Clin Exp Dermatol*. 1983;8(5):463-76.
4. Moller A, Henning M, Zuberbier T, Czarnetzki-Henz BM. [Epidemiology and clinical aspects of cold urticaria]. *Hautarzt*. 1996;47(7):510-4.
5. Kontou-Fili K, Borici-Mazi R, Kapp A, Matjevic LJ, Mitchel FB. Physical urticaria: classification and diagnostic guidelines. An EAACI position paper. *Allergy*. 1997;52(5):504-13.
6. Fleischer M, Grabbe J. [Physical urticaria]. *Hautarzt*. 2004;55(4):344-9.
7. Taskapan O, Harmanyeri Y. Evaluation of patients with symptomatic dermatographism. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(1):58-62.
8. Magerl M, Borzova E, Gimenez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, Metz M, Mlynek A, Maurer M, Eaaci/Ga2Len/Edf/Unev. The definition and diagnostic testing of physical and cholinergic urticarias--EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV consensus panel recommendations. *Allergy*. 2009;64(12):1715-21.
9. Black AK, Lawlor F, Greaves MW. Consensus meeting on the definition of physical urticarias and urticarial vasculitis. *Clin Exp Dermatol*. 1996;21(6):424-6.
10. Bettley FR. A device for the measurement of factitious urticaria. *J Invest Dermatol*. 1962;39:1.

11. Borzova E, Rutherford A, Konstantinou GN, Leslie KS, Grattan CE. Narrowband ultraviolet B phototherapy is beneficial in antihistamine-resistant symptomatic dermographism: a pilot study. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(5):752-7.
12. Mlynek A, Vieira dos Santos R, Ardelean E, Weller K, Magerl M, Church MK, Maurer M. A novel, simple, validated and reproducible instrument for assessing provocation threshold levels in patients with symptomatic dermographism. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(4):360-6; quiz 6.
13. Krause K, Degener F, Altrichter S, Ardelean E, Kalogeromitros D, Magerl M, Metz M, Siebenhaar F, Weller K, Maurer M. [Cold-induced urticaria and angioedema. Classification, diagnosis and therapy]. *Hautarzt.* 2010;61(9):743-9.
14. Mlynek A, Magerl M, Siebenhaar F, Weller K, Vieira Dos Santos R, Zuberbier T, Zalewska-Janowska A, Maurer M. Results and relevance of critical temperature threshold testing in patients with acquired cold urticaria. *Br J Dermatol.* 2010;162(1):198-200.
15. Krause K, Zuberbier T, Maurer M. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cold contact urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010;10(4):243-9.
16. Siebenhaar F, Staubach P, Metz M, Magerl M, Jung J, Maurer M. Peltier effect-based temperature challenge: an improved method for diagnosing cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(5):1224-5.
17. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Canonica GW, Church MK, Ensina LF, Gimenez-Arnau A, Godse K, Goncalo M, Grattan C, Hebert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Abdul Latiff AH, Mathelier-Fusade P, Metz M, Nast A, Saini SS, Sanchez-Borges M, Schmid-Grendelmeier P, Simons FE, Staubach P, Sussman G, Toubi E, Vena GA, Wedi B, Zhu XJ, Maurer M, European Academy of A, Clinical I, Global A, Asthma European N, European Dermatology F, World Allergy O. The EAACI/GA(2) LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update. *Allergy.* 2014;69(7):868-87.
18. Schoepke N, Abajian M, Church MK, Magerl M. Validation of a simplified provocation instrument for diagnosis and threshold testing of symptomatic dermographism. *Clin Exp Dermatol.* 2015;40(4):399-403.
19. Magerl M, Abajian M, Krause K, Altrichter S, Siebenhaar F, Church MK. An improved Peltier effect-based instrument for critical temperature threshold measurement in cold- and heat-induced urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(10):2043-5.
20. Abajian M, Curto-Barredo L, Krause K, Santamaria E, Izquierdo I, Church MK, Maurer M, Gimenez-Arnau A. Rupatadine 20 mg and 40 mg are Effective in Reducing the Symptoms of Chronic Cold Urticaria. *Acta Derm Venereol.* 2016;96(1):56-9.
21. Gorczyza M, Schoepke N, Krause K, Hawro T, Maurer M. Patients with chronic cold urticaria may benefit from doxycycline therapy. *Br J Dermatol.* 2017;176(1):259-61.
22. Maurer M, Schutz A, Weller K, Schoepke N, Peveling-Oberhag A, Staubach P, Muller S, Jakob T, Metz M. Omalizumab is effective in symptomatic dermographism-results of a randomized placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(3):870-3 e5.
23. Bullerkotte U, Wieczorek D, Kapp A, Wedi B. Effective treatment of refractory severe heat urticaria with omalizumab. *Allergy.* 2010;65(7):931-2.
24. Chang A, Zic JA. Localized heat urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 1999;41(2 Pt 2):354-6.
25. Metz M, Scholz E, Ferran M, Izquierdo I, Gimenez-Arnau A, Maurer M. Rupatadine and its effects on symptom control, stimulation time, and temperature

- thresholds in patients with acquired cold urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;104(1):86-92.
26. Di Leo E, Nettis E, Cassano N, Foti C, Delle Donne P, Vena GA, Vacca A. Treatment of acquired cold urticaria with rupatadine. *Allergy.* 2009;64(9):1387-8.
27. Martinez-Escala ME, Curto-Barredo L, Carnero L, Pujol RM, Gimenez-Arnau AM. Temperature thresholds in assessment of the clinical course of acquired cold contact urticaria: a prospective observational one-year study. *Acta Derm Venereol.* 2015;95(3):278-82.
28. Dubertret L, Zalupca L, Cristodoulo T, Benea V, Medina I, Fantin S, Lahfa M, Perez I, Izquierdo I, Arnaiz E. Once-daily rupatadine improves the symptoms of chronic idiopathic urticaria: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Dermatol.* 2007;17(3):223-8.
29. Siebenhaar F, Degener F, Zuberbier T, Martus P, Maurer M. High-dose desloratadine decreases wheal volume and improves cold provocation thresholds compared with standard-dose treatment in patients with acquired cold urticaria: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(3):672-9.
30. Krause K, Spohr A, Zuberbier T, Church MK, Maurer M. Up-dosing with bilastine results in improved effectiveness in cold contact urticaria. *Allergy.* 2013;68(7):921-8.
31. Kaplan AP, Garofalo J, Sigler R, Hauber T. Idiopathic cold urticaria: in vitro demonstration of histamine release upon challenge of skin biopsies. *N Engl J Med.* 1981;305(18):1074-7.
32. Wasserman SI, Ginsberg MH. Release of platelet factor 4 into the blood after cold challenge of patients with cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1984;74(3 Pt 1):275-9.
33. Gruber BL, Baeza ML, Marchese MJ, Agnello V, Kaplan AP. Prevalence and functional role of anti-IgE autoantibodies in urticarial syndromes. *J Invest Dermatol.* 1988;90(2):213-7.
34. Andersson T, Wardell K, Anderson C. Human in vivo cutaneous microdialysis: estimation of histamine release in cold urticaria. *Acta Derm Venereol.* 1995;75(5):343-7.
35. Hermes B, Prochazka AK, Haas N, Jurgovsky K, Sticherling M, Henz BM. Upregulation of TNF-alpha and IL-3 expression in lesional and uninvolved skin in different types of urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103(2 Pt 1):307-14.
36. Schaller M, Schofer H, Homey B, Gieler U, Lehmann P, Luger TA, Ruzicka T, Steinhoff M. Aktueller Stand der systemischen Rosazea-Therapie. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2016;14 Suppl 6:29-37.
37. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(2):258-65.
38. Kranke B, Mayr-Kanhauser S, Aberer W. *Helicobacter pylori* in acquired cold urticaria. *Contact Dermatitis.* 2001;44(1):57-8.
39. Su W, Wan Q, Han L, Huang J, Chen X, Chen G, Zheng SG, Liang D. Doxycycline exerts multiple anti-allergy effects to attenuate murine allergic conjunctivitis and systemic anaphylaxis. *Biochem Pharmacol.* 2014;91(3):359-68.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marina Gorczyza, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Fortschritte in Diagnostik und Therapie der physikalischen Urtikaria* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Frau Marina Gorczyza hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Schoepke N, **Abajian M**, Church MK, Magerl M. Validation of a simplified provocation instrument for diagnosis and threshold testing of symptomatic dermographism. Clin Exp Dermatol. 2015

Beitrag im Einzelnen:

Konzipierung der Studie erfolgte in Zusammenarbeit zwischen Prof. Dr. med. M. Magerl, Dr. med. N. Schoepke und M. Gorczyza. Rekrutierung von Patienten und Probanden, praktische Durchführung der Provokationstestungen, Dokumentation der Daten erfolgte durch Dr. med. N. Schoepke und M. Gorczyza. M. Gorczyza fertigte einige Textabschnitte an (Material und Methoden) und leistete Mitarbeit bei der Korrektur des Artikels.

Publikation 2: Magerl M, **Abajian M**, Krause K, Altrichter S, Siebenhaar F, Church MK. An improved Peltier effect-based instrument for critical temperature threshold measurement in cold- and heat-induced urticaria. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2015

Beitrag im Einzelnen:

Die Ausarbeitung des Studiendesigns wurde in Diskussion zwischen Prof. Dr. med. M. Magerl und M. Gorczyza erarbeitet. Die Datenerhebung einschließlich der Rekrutierung von Patienten und Probanden, Durchführung der Provokationstestungen, Dokumentation und Systematisierung der Daten erfolgte durch M. Gorczyza.

M. Gorczyza führte die Literaturrecherche durch und stellte sie für die Verfassung des Manuskriptes bereit, fertigte Textabschnitte an in der Einleitung sowie im Material- und Methoden-Teil und leistete Mitarbeit bei der Korrektur des Artikels.

Publikation 3: Abajian M, Curto-Barredo L, Krause K, Santamaria E, Izquierdo I, Church MK, et al. Rupatadine 20 mg and 40 mg are Effective in Reducing the Symptoms of Chronic Cold Urticaria. Acta Derm Venereol. 2016

Beitrag im Einzelnen:

Die Studie wurde in Zusammenarbeit von Prof. Dr. med. M. Maurer, Prof. Dr. Ana Giménez-Arnau, PD. Dr. med. K. Krause und M Gorczyza konzipiert. M. Gorczyza erstellte und erarbeitete das Studien-Protokoll und bereitete den Ethikantrag vor. Organisation und Durchführung der klinischen Studie (Rekrutierung der Patienten, Durchführung der Provokationstestungen, Führung der Studiendokumentation) sowie Erstellung der Datenbank erfolgte selbstständig durch M. Gorczyza unter Supervision von PD Dr. med. Krause. M. Gorczyza überprüfte die statistische Analyse und leitete Diskussion mit Koautoren über Interpretation der Studienergebnisse. Graphische Darstellungen wurden von Prof. MK Church zusammen mit M. Gorczyza erstellt. Verfassung des Manuskriptes erfolgte durch M. Gorczyza und wurde anschließend von Ko-Autoren überprüft.

Publikation 4: Gorczyza M, Schoepke N, Krause K, Hawro T, Maurer M. Patients with chronic cold urticaria may benefit from doxycycline therapy. Br J Dermatol. 2017

Beitrag im Einzelnen:

Die initiale Idee für das Manuskript stammte von Prof. Dr. med. M. Maurer und M. Gorczyza. M. Gorczyza führte die selbstständige und eigenverantwortliche Erhebung und Systematisierung der Daten. Die statistische Auswertung der Daten und graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte durch M. Gorczyza mit Unterstützung von Dr. med. T. Hawro. Verfassen und Einreichung des Manuskriptes erfolgte durch M. Gorczyza. Es erfolgte eine kritische Revision des Manuskripts durch Prof. Dr. med. M Maurer.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

INVESTIGATIVE REPORT

Rupatadine 20 mg and 40 mg are Effective in Reducing the Symptoms of Chronic Cold Urticaria

Marina ABAJIAN¹, Laia CURTO-BARREDO², Karoline KRAUSE¹, Eva SANTAMARIA³, Iñaki IZQUIERDO³, Martin K. CHURCH¹, Marcus MAURER¹ and Ana GIMÉNEZ-ARNAU²

¹Department of Dermatology and Allergy, Allergie-Centrum Charité/ECARF, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany, ²Department of Dermatology, Hospital del Mar, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), Universitat Autònoma de Barcelona, and ³Department of Clinical Development, J. Uriach & Co., SA, Barcelona, Spain

Chronic cold urticaria (ColdU) is a rare disease characterized by mast cell-mediated wheals and angioedema following cold exposure. Second-generation H₁-antihistamines, such as rupatadine, are the recommended first-line therapy. As of yet, the effects of rupatadine up-dosing on development of ColdU symptom have only been partially characterized. Two-centre, randomized, double-blind, 3-way crossover, placebo-controlled study in patients with a confirmed ColdU was designed to assess the effects of up-dosing of rupatadine. A total of 23 patients were randomized to receive placebo, rupatadine 20 mg/day, and rupatadine 40 mg/day for 1 week. The primary outcome was change in critical temperature thresholds and critical stimulation time thresholds after treatment. Secondary endpoints included assessment of safety and tolerability of rupatadine. Both 20 and 40 mg rupatadine were highly effective in reducing critical temperature thresholds ($p < 0.001$) and critical stimulation time thresholds ($p < 0.001$). In conclusion, rupatadine 20 and 40 mg significantly reduced the development of chronic cold urticaria symptom without an increase in adverse effects. Key words: rupatadine; chronic cold urticarial; H₁-antihistamine; up-dosing.

Accepted May 27, 2015; Epub ahead of print Jun 3, 2015

Acta Derm Venereol 2015; XX: XX–XX.

Ana Giménez-Arnau, Department of Dermatology, Hospital del Mar, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), Universitat Autònoma de Barcelona, Passeig Marítim 25-29, ES-08003 Barcelona, Spain. E-mail: 22505aga@comb.cat

Chronic cold urticaria (ColdU) is a rare, but severe and potentially life-threatening, form of chronic physical urticaria in which, in addition to urticarial wheals, angioedema and anaphylaxis may also occur after ingestion of cold foods or extended exposure to cold (1). However, patients exhibit a wide variability in terms of the risk of systemic symptoms and even life-threatening complications when untreated or undertreated. It is essential, therefore, to be able to predict the potential risk that each

individual patient faces and how this may be ameliorated by therapy (2).

To assist with the diagnosis of ColdU, guidelines published by EAACI/GA²LEN/EDF/WAO¹ recommend provocation testing by applying a cold stimulus to the skin, usually the volar forearm. Traditionally, this has been done by applying an ice cube to the skin or testing with cool packs or cold-water baths (3, 4). However, while these techniques assist in diagnosis, they do not provide information about temperature and stimulation time thresholds at which patients will start to develop symptoms. This knowledge is essential in order to establish disease severity and monitor the effectiveness of treatment. The critical temperature threshold (CTT) at which a patient starts to develop symptoms may be determined by using TempTest[®] 3.0, a Peltier effect-based electronic device for simultaneous provocation of 12 discrete 10 mm² areas of the skin, with temperatures ranging from 4°C to 26°C and an accuracy of <2°C (5). Alternatively, the critical stimulation time threshold (CsTT) may be evaluated by exposing the skin to 4°C and assessing the development of wheals at 30-s intervals from 0.5 to 5 min.

The first-line therapy in ColdU recommended by the current EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guidelines is symptomatic relief with second-generation H₁-antihistamines. If standard doses are not effective the guidelines recommend increasing the dosage up to 4-fold in order to better control the symptoms (6). Recent data have shown that the use of high doses of second-generation antihistamines is significantly more effective in ColdU than standard dose treatment (7–9).

Rupatadine is a potent second-generation antihistamine approved for the treatment of the symptoms of allergic rhino-conjunctivitis and urticaria that has also been shown to possess anti-platelet-activating factor (PAF) activity (10, 11). Clinical trials in allergic rhini-

¹The Dermatology Section of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), the EU-funded network of excellence, the Global Allergy and Asthma European Network (GA²LEN), the European Dermatology Forum (EDF), and the World Allergy Organization (WAO).

tis and chronic urticaria have shown rupatadine to be well tolerated and free from untoward cardiovascular, cognitive or psychomotor effects (12, 13), all important properties for a drug to be used in higher doses.

The aim of this study was to assess the efficacy of 2-fold and 4-fold dose increments from the licensed dose of rupatadine against the development of symptoms of ColdU following provocation with TempTest® 3.0. The outcome measures were changes in CTT and CsTT.

MATERIALS AND METHODS (see Appendix S1²)

RESULTS

The effects of rupatadine vs. placebo were tested in a 3-way crossover, double-blind trial (Fig. 1). Although 24 patients were enrolled in the study, one dropped out for personal reasons unrelated to the study drug. Consequently, data analysis has been performed on the remaining 23 patients. The estimation of CsTT on 40 mg rupatadine was lost for one patient due to a technical error.

Effect of rupatadine on critical temperature thresholds

Fig. 2a shows the CTTs for patients having taken placebo, rupatadine 20 mg or rupatadine 40 mg for one week. The median CTT for the production of wheals for the placebo group was 14°C (range <4°C to 24°C). The median CTT for rupatadine 20 mg and 40 mg were 10°C (range <4°C to 24°C) and 4°C (range <4°C to 24°C), respectively. Both of these median values were significantly ($p < 0.001$) lower than that of placebo. There was no significant difference between drug doses.

Responder analysis (Fig. 2b) shows that 7/23 (30%) and 11/22 (50%) patients were wheal-free on provoca-

tion following treatment with 20 and 40 mg rupatadine, respectively, after one week of treatment. Adding partial responders as well (patients whose CTT decreased by $\geq 4^\circ\text{C}$) showed responder rates of 17/23 (74%) and 18/22 (81%) for treatment with 20 and 40 mg rupatadine, respectively.

Effect of rupatadine on critical stimulation time thresholds

Fig. 3a shows the CsTTs for patients having taken placebo, rupatadine 20 mg or rupatadine 40 mg for one week. The median CsTT for the production of wheals for the placebo group was 1.5 (1→5) min. The median CsTT for rupatadine 20 and 40 mg were 3.0 (1→5) and 5.0 (1→5) min, respectively. Both of these median values were significantly ($p < 0.001$) greater than that of placebo. There was no significant difference between drug doses.

Responder analysis (Fig. 3b) shows that 9/23 (39%) and 11/22 (50%) patients were symptom-free on provocation following treatment with 20 and 40 mg rupatadine, respectively. Adding partial responders (patients whose CsTT increased by ≥ 0.5 min), showed responder rates of 15/23 (65%) and 18/22 (81%) for treatment with 20 and 40 mg rupatadine, respectively.

Safety assessments

A total of 25 adverse events (AEs) were reported and distributed by treatment groups as follows: placebo ($n = 7$), rupatadine 20 mg ($n = 7$) and rupatadine 40 mg ($n = 11$). The distribution of the number of patients with at least one AE was not statistically different between treatment groups. Only one patient reported somnolence related with 40 mg dose. Few patients reported headache (2 cases with placebo, 1 with 20 mg, and 1 with 40 mg rupatadine). Other AEs, included tiredness (1 case with placebo and 2 with 40 mg), cold (2 cases with placebo, 2 with 20 mg, 1 with 40 mg) and 1 increase in liver enzymes with 40 mg. No electrocardiography (ECG) changes were seen. All of these AEs were not considered to be drug-related. All AEs resolved spontaneously and no patients withdrew from the study because of them. One serious AE (thoracic vertebra fracture) occurred in one patient during the treatment with rupatadine 40 mg, for which the patient was hospitalized and recovered. This AE was considered as not related to the study drug.

DISCUSSION

This trial has confirmed previous studies (2, 9, 16) where rupatadine improved clinical symptoms in ColdU with doses of 20 mg and shows how also 40 mg daily for one week is highly significant compared with placebo in reducing wheal formation following cold provocation. Furthermore, the safety profile of the drug appeared excellent at both doses.

²<http://www.medicaljournals.se/acta/content/?doi=10.2340/00015555-2150>

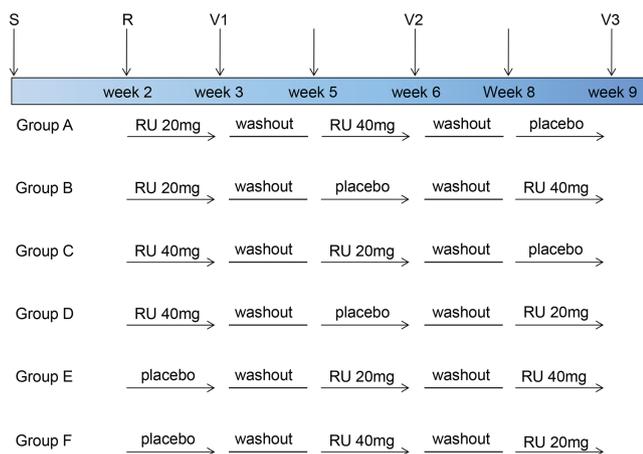


Fig. 1. Study design. RU: rupatadine; S: screening visit; R: randomization visit; V1, V2 and V3: visit at which critical temperature and stimulation time thresholds were determined and safety was evaluated.

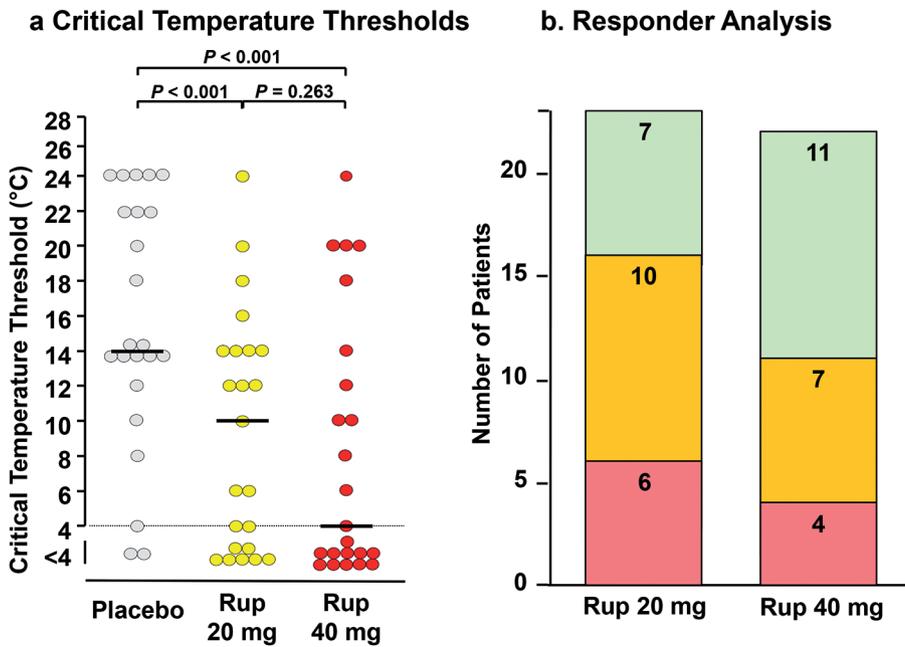


Fig. 2. (a) Critical temperature thresholds (CTTs) for the production of wheals following cold provocation. Horizontal lines indicate medians. The levels of significance values are for differences in the median CTTs calculated using Wilcoxon non-parametric test. (b) Rupatadine treatment protects from cold-induced wheal responses. Considering the CTT response assessed after each treatment period all patients were divided into 3 groups: complete responders (no evidence of a whealing response at 4°C, green column), partial responders (reduction in CTT ≥ 4°C, orange column) and non-responders (reduction in CTT less than 4°C, pink column).

This study measured provocation thresholds by 2 methods, assessment of the temperature threshold for whealing and the time taken for provocation at 4°C to induce wheals. Analysis by Spearman’s rank correlation analysis showed these methods to be highly correlated ($p < 0.001$) in all treatment groups. Furthermore, the observation that treatment with 20 mg rupatadine resulted in 9/23 (39%) patients being symptom-free is not significantly different from the 11/21 (52%) symptom-free patients reported by Metz et al. (9) using an ice cube test for provocation.

The lower dose of 20 mg rupatadine was chosen because of its demonstrated greater effectiveness than

the 10 mg dose in reducing chronic urticaria symptoms (13) and the effectiveness of this dose in 3 previous ColdU studies (2, 9, 16). This dose also afforded highly significant protection in this study. While not statistically significant, there were more patients partially and completely symptom-free following treatment with 40 mg rupatadine.

Three patients (13%) of 23 did not show clinical improvement on up-dosing of rupatadine. These observations are consistent with other antihistamines, such as desloratadine (4/15 non-responders) (17), rupatadine (3/21 non-responders) (9) and bilastine (1/20 non-responder) (8). While the reasons for this are not known,

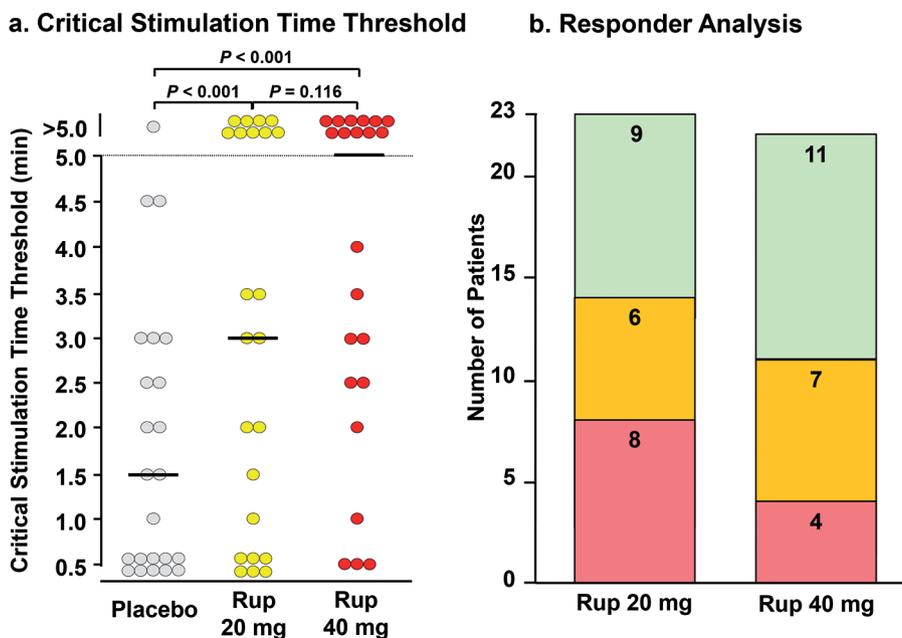


Fig. 3. (a) Critical stimulation time threshold (CsTTs) for the production of wheals following cold provocation. Horizontal lines indicate medians. The levels of significance values are for differences in the median CsTTs calculated using Wilcoxon non-parametric test. (b) Considering the CsTT response assessed after each treatment period all patients were divided into 3 groups: complete responders (no evidence of a whealing response after 5 min provocation with 4°C, green column), partial responders (reduction in CsTT ≥ 0.5 min, orange column) and non-responders (reduction in CsTT < 0.5 min, pink column).

it suggests that, as in other forms of urticaria (6), there is a subgroup ColdU patients who do not respond to H1-antihistamines. Further studies are needed to better characterize these patients.

In conclusion, this study has contributed importantly to our understanding of the use of H₁-antihistamines in ColdU. As we have shown, rupatadine is highly effective in reducing the symptoms of ColdU. Increasing the dose to 20 and 40 mg daily appears to increase effectiveness of the drug without showing increased sedation or an increase in other unwanted effects.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Lluïsa Carnero, Marina Frömming and Sascha Petz for the excellent technical assistance, Josep Giralt (J. Uriach & Co., SA) and Tomasz Hawro for their help with statistical analysis and all participating patients.

The study was funded by an unrestricted grant from J. Uriach & Co., SA, Barcelona, Spain.

Conflicts of interest. ES and II are employed by R&D department of J. Uriach & Co., S.A. The authors declare no other conflicts of interest.

REFERENCES

1. Abajian M, Mlynek A, Maurer M. Physical urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012; 12: 281–287.
2. Martinez-Escala ME, Curto-Barredo L, Carnero L, Pujol RM, Gimenez-Arnau AM. Temperature thresholds in assessment of the clinical course of acquired cold contact urticaria: a prospective observational one-year study. *Acta Derm Venereol* 2015; 95: 278–282.
3. Kaplan AP, Beaven MA. In vivo studies of the pathogenesis of cold urticaria, cholinergic urticaria, and vibration-induced swelling. *J Invest Dermatol* 1976; 67: 327–332.
4. Magerl M, Borzova E, Gimenez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, et al. The definition and diagnostic testing of physical and cholinergic urticarias – EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV consensus panel recommendations. *Allergy* 2009; 64: 1715–1721.
5. Krause K, Zuberbier T, Maurer M. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cold contact urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010; 10: 243–249.
6. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Canonica GW, et al. The EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update. *Allergy* 2014; 69: 868–887.
7. Siebenhaar F, Degener F, Zuberbier T, Martus P, Maurer M. High-dose desloratadine decreases wheal volume and improves cold provocation thresholds compared with standard-dose treatment in patients with acquired cold urticaria: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 672–679.
8. Krause K, Spohr A, Zuberbier T, Church MK, Maurer M. Up-dosing with bilastine results in improved effectiveness in cold contact urticaria. *Allergy* 2013; 68: 921–928.
9. Metz M, Scholz E, Ferran M, Izquierdo I, Gimenez-Arnau A, Maurer M. Rupatadine and its effects on symptom control, stimulation time, and temperature thresholds in patients with acquired cold urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010; 104: 86–92.
10. Merlos M, Giral M, Balsa D, Ferrando R, Queralt M, Puigdemont A, et al. Rupatadine, a new potent, orally active dual antagonist of histamine and platelet-activating factor (PAF). *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280: 114–121.
11. Church MK. Efficacy and tolerability of rupatadine at four times the recommended dose against histamine- and platelet-activating factor-induced flare responses and ex vivo platelet aggregation in healthy males. *Br J Dermatol* 2010; 163: 1330–1332.
12. Izquierdo I, Merlos M, Garcia-Rafanell J. Rupatadine: a new selective histamine H1 receptor and platelet-activating factor (PAF) antagonist. A review of pharmacological profile and clinical management of allergic rhinitis. *Drugs Today (Barc)* 2003; 39: 451–468.
13. Dubertret L, Zalupeca L, Cristodoulo T, Benea V, Medina I, Fantin S, et al. Once-daily rupatadine improves the symptoms of chronic idiopathic urticaria: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Dermatol* 2007; 17: 223–228.
14. Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, Magerl M, Altrichter S, Vieira Dos Santos R, et al. Acquired cold urticaria: clinical picture and update on diagnosis and treatment. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32: 241–245.
15. Siebenhaar F, Staubach P, Metz M, Magerl M, Jung J, Maurer M. Peltier effect-based temperature challenge: an improved method for diagnosing cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1224–1225.
16. Di Leo E, Nettis E, Cassano N, Foti C, Delle Donne P, Vena GA, et al. Treatment of acquired cold urticaria with rupatadine. *Allergy* 2009; 64: 1387–1388.
17. Magerl M, Pisarevskaja D, Staubach P, Martus P, Church MK, Maurer M. Critical temperature threshold measurement for cold urticaria: a randomized controlled trial of H(1)-antihistamine dose escalation. *Br J Dermatol* 2012; 166: 1095–1099.

Appendix S1.

MATERIALS AND METHODS

The study was a 2-centre, randomized, double-blind, 3-way crossover, placebo-controlled study in which patients with a confirmed diagnosis of ColdU of at least 6 months' duration were recruited from the Departments of Dermatology Charité-Universitätsmedizin, Berlin and Hospital del Mar, Barcelona. The study was approved by the ethics committee and regular authorities of Berlin and Barcelona (EudraCTnumber: 2011-004094-93) and was conducted according to the Declaration of Helsinki and applicable local and European laws and regulations. The clinicaltrials.gov number is NCT01605487. All participants signed informed consent at the beginning of the study.

Patients

Patient recruitment began in June 2012 and the study was completed in September 2013. A total number of 24 patients (6 males and 18 females, mean age 45 years, age range 19–68 years) participated in the study. The group size was estimated based on the significance level of 0.05 and a power of 80% and a medium effect of 1.2 standard deviations (SD). All women of childbearing potential were required to use effective contraception for the duration of the study. Exclusion criteria included a history of significant gastroenterological, neurological, cardiac, oncological, psychiatric, renal, or liver diseases that could have interfered with patient safety or the conduct of the study. Patients with a history of hypersensitivity or an allergic reaction to rupatadine or other H₁-antihistamines were also excluded. Before the start of the study, the participants followed washout periods of 7 days for H₁-antihistamines or anti-leukotrienes, 28 days for oral or 3 months for depot corticosteroids and 28 days for immunosuppressants/immunomodulators, such as cyclosporine A, dapson, methotrexate, mycophenolate, and chloroquine. The administration of ketoconazole, erythromycin or potential inhibitors of the isoenzyme CYP3A4 of the cytochrome P450 was also forbidden.

Study design

Patients with ColdU were randomized according to a balanced experimental design. Each of the 6 possible sequences of placebo, rupatadine 20 mg, or rupatadine 40 mg was applied to an equal number of patients once daily (morning intake) for one week with a 2-week washout period before crossing over to the next treatment group (Fig. 1). The study medication was provided by J. Uriach & Co.: S.A. The tablets of placebo and rupatadine were enclosed in identical blisters. During the treatment phase 4 tablets of placebo, or 2 tablets of rupatadine each of 10 mg and 2 tablets of placebo, or 4 tablets of rupatadine each of 10 mg daily were given. Tablets were taken each morning on a daily basis during the treatment period.

Study outcome

The main study outcomes were the determination of critical temperature (CTT) and critical stimulation time (CsTT) thresholds after provocation with TempTest® 3.0, defined respectively as the highest temperature and shortest time of wheal appearance (14). CTT was determined using a TempTest® 3.0 (7, 15). The temperature head of this device, which was placed directly on the volar surface of the forearm, consists of 12 elements, each 10 mm in diameter, arranged in 2 parallel rows. The device was set to deliver temperatures of 26, 24, 22, 20, 18, 16, 14, 12, 10, 8, 6 and 4°C (each ±0.1°C) to the skin for a constant period of 5 min. A positive response is the development of a wheal assessed 10 min after removing the TempTest® 3.0 from the skin, the appearance of wheals is measured. The highest temperature at which a wheal reaction was observed was recorded as CTT. In patients who did not develop a wheal at the lowest temperature tested (4°C) the CTT was recorded as <4°C. To evaluate the effectiveness of treatment all patients were divided into 3 groups according to their response on CTT after provocation with TempTest® 3.0: "complete responders" who did not show any wheals on provocation, "partial responders" who showed a reduction in CTT ≥4°C compared with placebo treatment and "non-responders" who showed a reduction in CTT less than 4°C in comparison with CTT on placebo.

CsTT was evaluated using the same instrument by exposing the skin to 4°C for 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 and 5.0 min. Ten min after the instrument was removed the resulting wheals were observed. The lowest of the 10 time-points at which a wheal appeared was recorded as the CsTT. If no wheal was apparent after 5 min of provocation, the CsTT was recorded as >5 min. According to their response on CsTT the patients were divided into 3 groups: "complete responders" who did not develop any wheals on provocation testing, "partial responders" who showed an increase in CsTT ≥0.5 min in comparison with placebo treatment and "non-responders" who did not show any differences in CsTT compared with placebo.

At each visit patients were asked if they had experienced any adverse events (AEs) over the previous week and during washout periods. AEs were classified according to severity and relationship to therapy. No formal approach for the assessment of somnolence was used. General physical examination, ECG and laboratory blood analyses including differential blood count, sodium, potassium, chloride, calcium liver enzymes, creatin kinase, creatinine and urea were performed at the screening and the final visit.

Statistical analysis

The results for CTT and CsTT are expressed as median (with range) and the significance of differences calculated using Wilcoxon non-parametric test. The significance values for the numbers of individual patients responding or not responding to treatments were calculated using Fisher's exact test.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationen M. Gorczyza (geb. Abajian)

1. Metz M, Schutz A, Weller K, **Gorczyza M**, Zimmer S, Staubach P, Merk HF, Maurer M. Omalizumab is effective in cold urticaria-results of a randomized placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(3):864-7 e5.
2. **Gorczyza M**, Schoepke N, Krause K, Hawro T, Maurer M. Patients with chronic cold urticaria may benefit from doxycycline therapy. *Br J Dermatol*. 2017;176(1):259-61.
3. Greve J, Strassen U, **Gorczyza M**, Dominas N, Frahm UM, Muhlberg H, Wiednig M, Zampeli V, Magerl M. Prophylaxis in hereditary angioedema (HAE) with C1 inhibitor deficiency. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2016;14(3):266-75.
4. **Abajian M**, Curto-Barredo L, Krause K, Santamaria E, Izquierdo I, Church MK, Maurer M, Gimenez-Arnau A. Rupatadine 20 mg and 40 mg are Effective in Reducing the Symptoms of Chronic Cold Urticaria. *Acta Derm Venereol*. 2016;96(1):56-9.
5. Schoepke N, **Abajian M**, Church MK, Magerl M. Validation of a simplified provocation instrument for diagnosis and threshold testing of symptomatic dermatographism. *Clin Exp Dermatol*. 2015;40(4):399-403.
6. Magerl M, **Abajian M**, Krause K, Altrichter S, Siebenhaar F, Church MK. An improved Peltier effect-based instrument for critical temperature threshold measurement in cold- and heat-induced urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(10):2043-5.
7. **Abajian M**, Schoepke N, Altrichter S, Zuberbier T, Maurer M. Physical urticarias and cholinergic urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;34(1):73-88.
8. Krause K, Gimenez-Arnau A, Martinez-Escala E, Farre-Albadalejo M, **Abajian M**, Church MK, Maurer M. Platelet-activating factor (PAF) induces wheal and flare skin reactions independent of mast cell degranulation. *Allergy*. 2013;68(2):256-8.
9. **Abajian M**, Maurer M, Schoepke N. [Chronic spontaneous urticaria: An autoimmune disease?]. *Hautarzt*. 2013;64(9):675-82; quiz 83-4.
10. **Abajian M**, Mlynek A, Maurer M. Physical urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2012;12(4):281-7.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken.

Ich danke dem Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) der meinen Forschungsaufenthalt in Deutschland erst ermöglichte.

Mein Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. med. Marcus Maurer für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit und für seine wissenschaftliche und methodische Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Karoline Krause, die mich bei der Bearbeitung stets durch zielführende Diskussionen und Hilfestellung begleitet und unterstützt hat.

Insbesondere möchte ich mich auch bei allen Beteiligten, die in den Studien partizipierten und erst die Realisierung dieser Arbeit ermöglicht haben bedanken.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle auch meinen Großeltern Lamara und Hovhannes Melikyan sowie meiner Familie für die unermüdliche Stärkung und Motivierung danken. Ohne deren Unterstützung wäre diese Arbeit nicht entstanden.