

# 1. EINLEITUNG

## 1.1 Aktinische Keratose

Aktinische Keratosen sind definiert als Plattenepithelkarzinome in situ. Sie zählen zur Gruppe des hellen Hautkrebses. (1) Epidemiologische Studien zeigen ein weltweites Ansteigen der Prävalenz für aktinische Keratosen innerhalb der letzten zehn Jahre. In England liegt die Prävalenz der aktinischen Keratosen bereits bei 5,9-15,4%, in den USA zwischen 11-26% und in Australien zwischen 37-55%. (2-4) Aktinische Keratosen stellen somit die häufigste Neoplasie in der hellhäutigen Bevölkerung dar. Aufgrund der Tendenz, sich in ein invasives Plattenepithelkarzinom zu transformieren, gelten sie als frühzeitig behandlungsbedürftig. Die Transformationsraten liegen bei etwa 6-16% innerhalb von 10-25 Jahren. Bei der lokalen Behandlung sollte beachtet werden, dass aktinische Keratosen nicht nur punktuell auftreten, sondern in der Regel flächenhafte Hautareale betreffen. (5)

Klinisch imponieren die aktinischen Keratosen als schuppige, hyperkeratotische, teilweise gerötete Läsionen an den sonnenexponierten Hautarealen. (6) Zusätzlich finden sich Entzündungsreaktionen, Pigmentveränderungen und die charakteristischen Merkmale der vorzeitigen Hautalterung (Dermatoheliose). (7) Histologisch lässt sich eine Proliferation von transformierten und neoplastisch veränderten Keratinozyten in der Epidermis erkennen. (8)

Zu den Risikofaktoren für die Transformation normaler gesunder in neoplastische Keratinozyten zählt vor allem die chronische und intermittierende hochdosierte Ultraviolettbestrahlung (UV). UV-Strahlung wirkt hierbei als Initiator und Promotor in der epithelialen Tumorentstehung. (9) Weitere Risikofaktoren für die Entstehung aktinischer Keratosen sind die PUVA-Therapie, Röntgenbestrahlung, Radioisotope, Arsen- und Teerexposition sowie genetische Syndrome wie Epidermolysis bullosa, Epidermodysplasia verruciformis und Xeroderma pigmentosum. Auch die Beteiligung humaner Papillomviren (HPV) konnte mit der Entstehung aktinischer Keratosen in Zusammenhang gebracht werden. (10-12) Dabei wurde eine Prävalenz von HPV in epithelialen Neoplasien von ungefähr 82% bei immunsupprimierten Patienten und von ungefähr 36% bei immunkompetenten Patienten beobachtet. (13) In neueren Studien

konnte auch nachgewiesen werden, dass chronische Immunsuppression bei der Entstehung von epithelialen Tumoren bei transplantierten Patienten eine große Rolle spielt. (14-16) Etwa 40% der immunsupprimierten Patienten entwickeln Plattenepithelkarzinome innerhalb von 10-25 Jahren nach einer Transplantation. (17-19)

## **1.2 Epitheliale Photokarzinogenese**

UV-Strahlung gilt als Hauptrisikofaktor bei der Entstehung von hellem Hautkrebs. Man unterscheidet kurzwellige UV-B-Strahlung (290-320 nm), welche vor allem für direkte Schäden an der DNS verantwortlich gemacht wird und langwellige UV-A-Strahlung (320-400 nm), welche indirekt über eine Erhöhung von reaktiven Sauerstoffspezies zu Schäden an der DNS führt. Die davon am häufigsten betroffenen Basen sind Thymin und Cytosin. Sie bilden die typischen „hot spots“ für UV-induzierte DNS-Schäden und Mutationen. (20-21) Ein Austausch dieser beiden Basen führt zu einer Thymindimerisierung. Nach hochdosierter UV-Exposition imponieren klinisch akute Entzündungsreaktionen mit Rötung und Ödembildung an den betroffenen Hautarealen. Dies resultiert aus einem Ansteigen der Gefäßpermeabilität, wodurch auch den Entzündungszellen wie Leukozyten und Makrophagen der Weg von der peripheren Zirkulation in das entzündete Gewebe erleichtert wird. (22-23) Histologisch zeigen sich als Antwort auf eine hochdosierte UV-Exposition eine vermehrte Bildung von apoptotischen Zellen, den sogenannten Sonnenbrandzellen, sowie eine Gefäßdilatation und eine Ansammlung eines lymphohistiozytären Infiltrates. (8) Der Entzündungsprozess wird durch ein Ansteigen von Prostaglandinen noch verstärkt. (24) Die vermehrte Produktion von Prostaglandinen, vor allem Prostaglandin E2 (PGE2), wird ebenfalls durch UV-Strahlung induziert. (25) Bei der chronischen und intermittierend-hochdosierten UV-Exposition kommen diese Effekte kumulativ zum Tragen. Hierbei kommt es zur Entstehung der lichtbedingten Hautalterung („Photoaging“) sowie der Photokarzinogenese. Bei der lichtbedingten Hautalterung zeigt sich klinisch eine vermehrte Faltenbildung sowie inhomogene Hyperpigmentierung der exponierten Hautareale. (8, 26) Histologisch lässt sich eine Verdickung in der

Epidermis, die sogenannte Akanthose, beobachten. Diese dient der Haut als Schutzbarriere, um das Eindringen von weiteren UV-Strahlen abzuschwächen.

Bei der Photokarzinogenese handelt es sich um einen schrittweise verlaufenden Prozess, bei dem es durch die chronische UV-Strahlung zu einer gesteigerten Proliferation aktinisch geschädigter Zellen in der Epidermis kommt. Klinisch zeigen sich multiple aktinische Keratosen, welche sich als hyperkeratotische Papulae und Plaques, mit rauem Tastbefund und inhomogener Pigmentierung, sowie entzündlicher Begleitreaktion präsentieren. Die klinische Entwicklung sogenannter aktinischer Keratosen entspricht histologisch einer Proliferation von transformierten und neoplastisch veränderten Keratinozyten in der Epidermis. Als pathogenetischer Mechanismus kommt es hierbei indirekt zur Aktivierung des „mitogen-activated-protein-kinase“ (MAPK)-Signalweges mit dem Endziel der gesteigerten Proliferation sowohl normaler als auch geschädigter Zellen in der Epidermis. (27)

Als Schutz gegenüber der Proliferation von veränderten Zellen nimmt das Tumorsuppressorgen p53 eine zentrale Rolle ein. Bei einer Schädigung in der DNS der epithelialen Zellen bewirkt es über eine Transaktivierung von p21 einen Zellzyklusstopp, um der Zelle genügend Zeit für Reparaturmechanismen zu gewährleisten. Ist der Schaden irreparabel, führt p53 zur Apoptose und verhindert somit eine maligne Entartung dieser Zelle (Abbildung 1). p53 gilt jedoch als das am häufigsten veränderte Gen bei der UV-induzierten Entstehung von hellem Hautkrebs wie aktinischen Keratosen. (9, 21, 28-29) Durch Mutagene geschädigtes p53 kann seine Schutzmechanismen dadurch nicht mehr entfalten. Durch einen Funktionsverlust von p53 erhalten die betroffenen epithelialen Zellen eine Apoptoseresistenz und einen Proliferationsvorteil gegenüber den nicht geschädigten epithelialen Zellen, so dass es zur malignen Entartung dieser Zellen kommen kann. Die Rolle von p53 in der Tumorentstehung wurde bereits bei einer Vielzahl anderer Tumorerkrankungen beschrieben, wie zum Beispiel in Lungen-, Mamma- und Kolonkarzinomen. (30-32)

In mehreren Studien mit immunsupprimierten Patienten konnte nachgewiesen werden, dass dem körpereigenen Immunsystem eine weitere Schlüsselrolle in der Tumorabwehr zukommt. (14, 16, 33) T-Zellen sind hierbei ein wichtiger Bestandteil in der Abwehr von Entzündungsreaktionen und der Tumorentstehung. Zytotoxische T-Zellen erkennen veränderte epitheliale Zellen und können diese durch Auslösen von Apoptose beseitigen. T-Helferzellen (Th) und hierbei vor allem die Th1-Zellen wirken induzierend auf die zytotoxischen T-Zellen und können durch Verstärkung von

Entzündungsvorgängen die veränderte Zielzelle noch zusätzlich schädigen. (35-37) Durch verstärkte UV-Bestrahlung kommt es aber zu einem Verlust von Langerhans-Zellen und einer Vermehrung von T-Suppressorzellen, was insgesamt zu einer lokalen und systemischen Immunsuppression führt. (34) Diese wird wiederum durch die gesteigerte Prostaglandin E2-Synthese verstärkt. Prostaglandin E2 hemmt hierbei die Differenzierung der T-Helferzellen in Th1-Zellen. Dadurch kommt es zu einem Überwiegen der Th2-Antwort, welche weniger effektiv in der Tumorabwehr fungiert. Ein weiterer UV-assoziiertes Effekt konnte für die Induktion des „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) beschrieben werden. Eine erhöhte Expression von VEGF führt zu einer gesteigerten epithelialen Vaskularisierung und unterstützt somit das Tumorwachstum. Auch diese Wirkung scheint von Prostaglandin E2 noch zusätzlich verstärkt zu werden (38).

### **1.3 Behandlungsoptionen**

Zur Behandlung der aktinischen Keratosen steht eine Vielzahl von Therapieverfahren zur Verfügung. Zu diesen zählen Kryotherapie, Kürrettage, Dermabrasion und Laserabtragung. (39-40) Diese Maßnahmen sind jedoch in ihrer Durchführung invasiv und häufig nur für einzelne Läsionen anwendbar. Dem gegenüberzustellen sind neuere Therapieverfahren, wie zum Beispiel photodynamische Therapie, topisches 5-Fluorouracil und Imiquimod. (41-45) Sie werden von Dermatologen als Alternative für die flächenhafte lokale Behandlung der aktinischen Keratosen genutzt, da sie eine gute Effektivität besitzen und zufriedenstellende kosmetische Ergebnisse erzielen. (46) Sie können jedoch auch starke Entzündungsreaktionen hervorrufen, welche nicht von jedem Patienten toleriert werden und gehören zu den deutlich teureren Therapieoptionen.

In den letzten Jahren kam es zur Einführung neuer Behandlungskomponenten in der Tumorthherapie. Hier ist unter anderem die Gruppe der Cyclooxygenase-Inhibitoren zu nennen, zu denen auch die topische Form von Diclofenac zählt. 2001 wurde Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure als Behandlungsoption zur Therapie der aktinischen Keratose in England, Deutschland und Schweden zugelassen. Seine Wirksamkeit wurde bereits in mehreren Studien nachgewiesen. (47-50) Topisch angewandtes

Diclofenac zeigt ein nur geringes Nebenwirkungsspektrum mit milder Rötung und mildem Juckreiz, wodurch es sich besonders für die großflächige Behandlung der aktinischen Keratosen eignet.

### **1.3.1 Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure**

Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure (HS) wird als Solaraze® Gel kommerziell vertrieben. Der aktive Wirkstoff ist hierbei Diclofenac. Die HS dient dabei unterstützend beim Transport von Diclofenac in die Epidermis der aktinisch geschädigten und entzündeten Areale. (51) Diclofenac ist ein Arylessigsäurederivat aus der Gruppe der nicht-steroidalen-Antirheumatika (NSAR), welches die Cyclooxygenase (COX) hemmt. Innerhalb dieser Gruppe wird Diclofenac in topisch aufgetragener Form als der Wirkstoff mit der höchsten antiinflammatorischen Aktivität beschrieben. (52) Die Wirksamkeit von Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure bei aktinischen Keratosen konnte bereits in einigen randomisierten, doppel-blinden, placebo-kontrollierten Studien bestätigt werden, der genaue Wirkmechanismus ist jedoch noch unklar. (47, 49-50) Diesbezügliche Untersuchungen setzten dabei ihren Schwerpunkt auf die Funktion von COX und Prostaglandin E2. Von COX existieren die beiden Isoformen COX-1 und COX-2. Beide induzieren die Synthese von Prostaglandin E2 aus Arachidonsäure (AA). (53). Für Prostaglandin E2 konnte gezeigt werden, dass es einen Einfluss auf die Lymphozytenproliferation und die zytotoxische Aktivität von T-Zellen und Natürlichen Killerzellen (NK) hat. (36-37, 54) COX-2 scheint an der Induktion der Angiogenese und Proliferation von Tumoren sowie an einer Inhibition der Apoptose beteiligt zu sein. (55-60) In Studien konnte bereits eine erhöhte COX-2-Expression in Tumoren des Kolon, der Prostata, der Mamma, des Pankreas, der Blase und des Endometriums sowie in epithelialen Tumoren nachgewiesen werden. (61-68)

Ausgehend von den dargestellten Auswirkungen von COX-2 bzw. Prostaglandin E2 auf die Tumorentstehung (Abbildung 2) soll in dieser Studie die Wirkung des nichtselektiven COX-2-Hemmers Diclofenac in topisch aufgetragener Form überprüft werden. Mit Hilfe der spezifischen Parameter COX-2, CD3 und CD8 soll die Wirkung auf Entzündungsreaktionen, mit den Parametern Granzyme B, p53 und p21 auf Apoptose- und Zellzyklusvorgänge, mit dem Parameter Ki67 auf die Proliferation von epithelialen

Tumorzellen sowie mit dem Parameter CD31 auf die Angiogenese in aktinischen Keratosen evaluiert werden. Hauptziel dieser Studie war somit die Exploration der pathophysiologischen Hauptwirkmechanismen von Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure in der Tumorabwehr aktinischer Keratosen. Zusätzlich sollte auch in dieser Studie noch einmal die Effektivität und Sicherheit in der Behandlung aktinischer Keratosen mit Diclofenac 3% in 2,5% Hyaluronsäure kontrolliert werden.

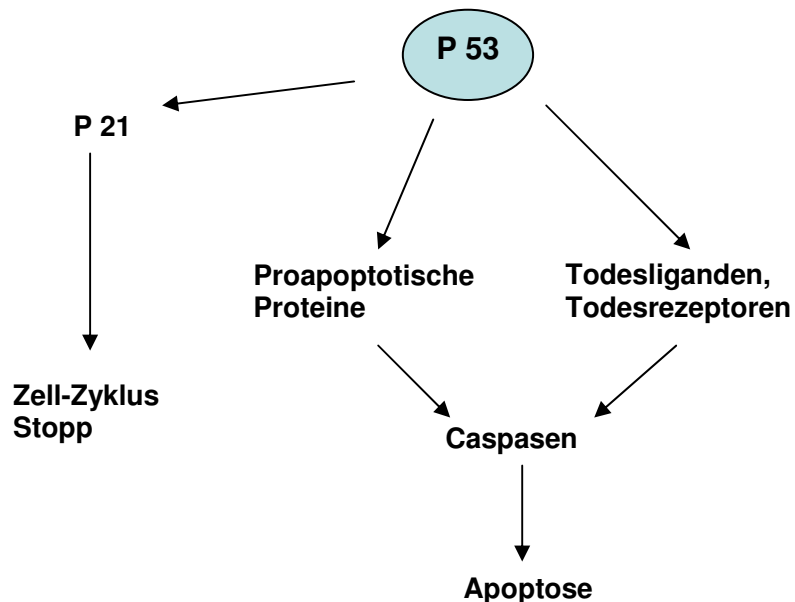


Abbildung 1: Hauptmechanismen von Protein p53 in der Tumorabwehr.

1. Induktion von Apoptose durch Aktivierung proapoptotischer Proteine und Todesliganden mit entsprechenden Todesrezeptoren;
2. Anhalten des Zellzyklus in geschädigten Zellen über Transaktivierung von Protein p21